

Управление оптическими свойствами тканей десны и дентина зуба человека на лазерных линиях в диапазоне 200–800 нм

А.А.Селифонов, В.В.Тучин

Экспериментально исследовано изменение оптических параметров ткани десны и дентина зуба человека in vitro при аппликации 99.5%-ного раствора глицерина. Изучена кинетика полного пропускания в спектральном диапазоне 200–800 нм на характерных лазерных линиях. Показано, что эффективности оптического просветления, выраженные в виде увеличения полного пропускания в процентах к исходному, для ткани десны в диапазоне излучения лазеров 200–800 нм могут существенно (на порядок) различаться. При этом абсолютные значения оптического пропускания в УФ области сравнительно невелики из-за сильного поглощения эндогенными хромофорами исследуемых типов тканей, а в видимой и ближней ИК областях – наоборот, значительны, что обусловлено отсутствием сильных поглощающих хромофоров. Эффективность просветления дентина во всей видимой и ближней ИК областях спектра составляет в среднем 25% за 300 мин иммерсии образца в 99.5%-ном растворе глицерина. Представленные результаты необходимы для повышения эффективности лазерной терапии и методов оптического мониторинга морфологических изменений биотканей с целью ранней диагностики заболеваний.

Ключевые слова: десна, дентин, глицерин, оптическое просветление, спектры полного пропускания, эксимерные лазеры, гармоника YAG: Nd-лазера, титан-сапфировый лазер.

1. Введение

В последние десятилетия лазерные технологии все шире применяются во многих областях медицины, в частности в стоматологии и косметологии, а также для обеспечения различных видов воздействия на мягкие и твердые ткани [1, 2]. Хорошие клинические результаты дает использование лазерных методик при удалении конкрементов в труднодоступных местах организма человека [3], при лечении отоларингологических заболеваний [4], в физиотерапии при коррекции неврологических заболеваний [5] и др.

При поглощении излучения биологическими тканями основные физические процессы сводятся к локальному нагреву распределенных в них поглотителей (хромофоров), к проявлению внутреннего фотоэффекта, электролитической диссоциации молекул и комплексов; кроме того, происходит ослабление ионных связей и ион-дипольного взаимодействия биомолекул. Лазерное излучение в диапазоне длин волн 850 – 1300 нм поглощается

преимущественно водой, биологическими структурами (в первую очередь липидами, включая мембраны клеток) и растворенным в тканях кислородом. Последнее приводит к образованию высокоэнергетического синглетного кислорода, энергия которого реализуется в форме неизбирательного фотодинамического эффекта без участия экзогенных фотосенсибилизаторов [6, 7]. Первичные свободнорадикальные реакции индуцируют активацию клеточного звена (лейкоцитов, фибробластов, кератиноцитов и др.), что выражается в увеличении бактерицидности лазерной терапии. Время жизни синглетного кислорода в воде составляет около 3 мкс, а в клетках и тканях оно может быть на порядок меньше из-за высокой реактивной способности кислорода, поэтому среднее расстояние, пройденное его молекулой, может быть очень малым. Для достижения последующих биологических эффектов очень важна локализация фотосенсибилизаторов, а также лазерного излучения именно в месте ожидаемого воздействия [8, 9].

С использованием лазерного излучения можно селективно воздействовать, например, на корни волос, пигментные пятна, лечить акне, осуществлять лазерную фракционную абляцию кожи (омолаживание коллагена), улучшая ее внешний вид и увеличивая проницаемость для микрочастиц, лекарственных средств и др. [10–12].

В работе [13] изучались оптические характеристики тканей стенки толстой кишки человека in vitro в спектральном диапазоне 350 – 2500 нм. На основе измеренных спектров диффузного отражения, а также полного и коллимированного пропускания выполнен расчет коэффициентов поглощения, рассеяния и фактора анизотропии рассеяния с помощью инверсного метода Монте-Карло. Авторами [14] исследовалась кинетика коллимированного пропускания тканей стенки желудка под действием водного 40%-ного раствора глюкозы. Было установлено, что применение этого оптического просветляющего аген-

А.А.Селифонов. Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского, Россия, 410012 Саратов, ул. Большая Казачья, 112; e-mail: selif-ei@yandex.ru

В.В.Тучин. Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия, 634050 Томск, просп. Ленина, 36; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410028 Саратов, ул. Рабочая, 24; Институт биохимии им. А.Н.Баха, Федеральный исследовательский центр РАН «Фундаментальные основы биотехнологии», Россия, 119071 Москва, Ленинский просп., 33; e-mail: tuchinvv@mail.ru

Поступила в редакцию 12 декабря 2019 г.

та (ОПА) увеличивает глубину проникновения света с 5% до 15% (в зависимости от выбранного спектрального диапазона). Изменение кинетики коллимированного пропускания твердой мозговой оболочки человека *in vitro* в диапазоне 400–700 нм под действием 40%-ного раствора глюкозы описано в [15]. Из этих измерений был определен коэффициент проницаемости твердой мозговой оболочки для глюкозы, который составил $(1.3 \pm 0.13) \times 10^{-4}$ см/с. При исследовании оптических свойств тканей стенки прямой кишки в диапазоне 200–1000 нм, обработанной водно-глицериновыми растворами, авторами [16] было установлено формирование «динамических» окон прозрачности биоткани с высокой эффективностью в УФ области спектра, которые образуются при иммерсионном просветлении и только на время действия просветляющего агента. Обработка тканей стенки прямой кишки создает два новых оптических окна с пиками эффективности пропускания на 230 и 300 нм, что открывает возможность разработки клинических процедур для постановки диагноза или лечения в ультрафиолетовом диапазоне.

Эффективно применение лазеров в хирургии. Операционные раны, выполненные с помощью излучения диодных лазеров ($\lambda = 808 - 980$ нм) и твердотельного YAG:Nd-лазера (1064 нм) отличаются от традиционных отсутствием кровотечения, сохранением микроциркуляторного русла вокруг операционного поля, стерильностью, сохранением жизнеспособности краев раны, меньшими болевыми ощущениями и, как следствие, значительно более коротким периодом реабилитации [17].

В стоматологии лазерное излучение может использоваться как катализатор для активации перекисных соединений при отбеливании зубов. Лазерное облучение вызывает в тканях гомогенный фототермолиз в виде ярко выраженного фототермического эффекта, при котором эндогенными хромофорами являются различные формы гемоглобина, вода, а также белковые структуры и тканевый детрит [18] или экзогенные красители [19] и фотокаталитические наночастицы [20]. Использование лазерного или яркого светодиодного излучения целесообразно при любых хирургических и терапевтических вмешательствах на мягких тканях челюстно-лицевой области [21].

Взаимодействие интенсивного импульсного излучения лазера с твердыми тканями зуба приводит к разрушению кристаллической решетки гидроксиапатита за счет поглощения излучения и резкого возрастания кинетической энергии –ОН-групп гидроксиапатита, а также испарения гидратной оболочки кристалла в течение микросекунд, так называемый «микровзрыв» [18]. В этом заключаются значительные преимущества лазерной технологии препарирования твердой ткани зуба перед традиционным препарированием с помощью контактного бора. В результате множественных микровзрывов на препарированной поверхности образуется множество кратеров, что приводит к значительному увеличению площади соприкосновения тканей зуба с пломбировочным материалом. При этом сохраняются эмалевые призмы на границе обработки, отсутствуют микротрещины, остаются открытыми дентинные каналы и сохраняется активность одонтобластов в зоне обработки, что приводит к значительному ускорению развития вторичного и третичного дентина на этапе реабилитации после установки пломбы [22]. Лазерная терапия широко применяется и при лечении мягких тканей периодонта [23]. Для нехирургической пе-

риодонтальной терапии с проявлением антибактериальных эффектов рекомендуется применять YAG:Er-лазер (2940 нм) с энергией импульсов 140–160 мДж и частотой их следования 10 Гц [24]. Клинические исследования 25 случайно отобранных пациентов, показали, что комбинированный курс терапии YAG:Er-лазера (2940 нм) и YAG:Nd-лазера (355 нм) может быть полезен при лечении воспалительных заболеваний пародонта, особенно в труднодоступных местах, таких как глубокие десневые карманы [25].

Было установлено, что большое разнообразие используемых лазеров, экспериментальных установок и способов доставки излучения приводит к различным клиническим результатам лечения пациентов, что обуславливает острую необходимость в исследованиях взаимодействия лазерного излучения с твердыми и мягкими тканями как в стоматологии, так и в других областях медицины, включая количественные исследования оптических свойств на лазерных длинах волн [26]. В обзорной статье [27] авторами рассмотрены общие принципы оптического просветления биотканей, а также применение этого метода при изучении биологических процессов в костной и зубной тканях с расчетом на будущую трехмерную визуализацию.

Значительное рассеяние УФ, видимого и ближнего ИК излучений биологическими тканями, включая ткани десны и дентин зуба, в сочетании с сильным поглощением на отдельных длинах волн ограничивает транспорт зондирующего излучения через поверхностные слои биоткани на достаточную глубину, что является одной из проблем лазерной медицины. Снижение рассеяния с помощью иммерсионного просветления биотканей – это один из возможных путей решения данной проблемы, обеспечивающий повышение эффективности оптических методов диагностики и лечения заболеваний [28]. Для иммерсионного просветления биологических тканей применяются как гиперосмотические агенты (глюкоза, сорбитол, глицерин, полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, диметил сульфоксид), так и растворы, имеющие нормальную осмолярность (рентгеноконтрастное вещество йогексол и др.) [29–33].

В настоящей работе изучена кинетика полного пропускания образцов тканей десны и дентина зуба человека *in vitro* при иммерсии образцов тканей в 99.5%-ном растворе глицерина, а также определена эффективность оптического просветления тканей в спектральном диапазоне 200–800 нм на характерных лазерных линиях.

2. Материалы и методы

Для измерения коэффициентов пропускания образцов биологических тканей в спектральном диапазоне 200–800 нм использовался двухлучевой спектрофотометр Shimadzu UV-2550 (Япония) с интегрирующей сферой. Источником излучения служила галогеновая лампа с фильтрацией излучения в исследуемом спектральном диапазоне. Предельное разрешение спектрометра составляло 0.1 нм. Нормировка спектров перед началом измерений проводилась с помощью эталонного отражателя BaSO₄.

На рис.1 показано расположение образца при регистрации спектров полного пропускания. Все эксперименты проводились при комнатной температуре (~25 °C) и нормальном атмосферном давлении.

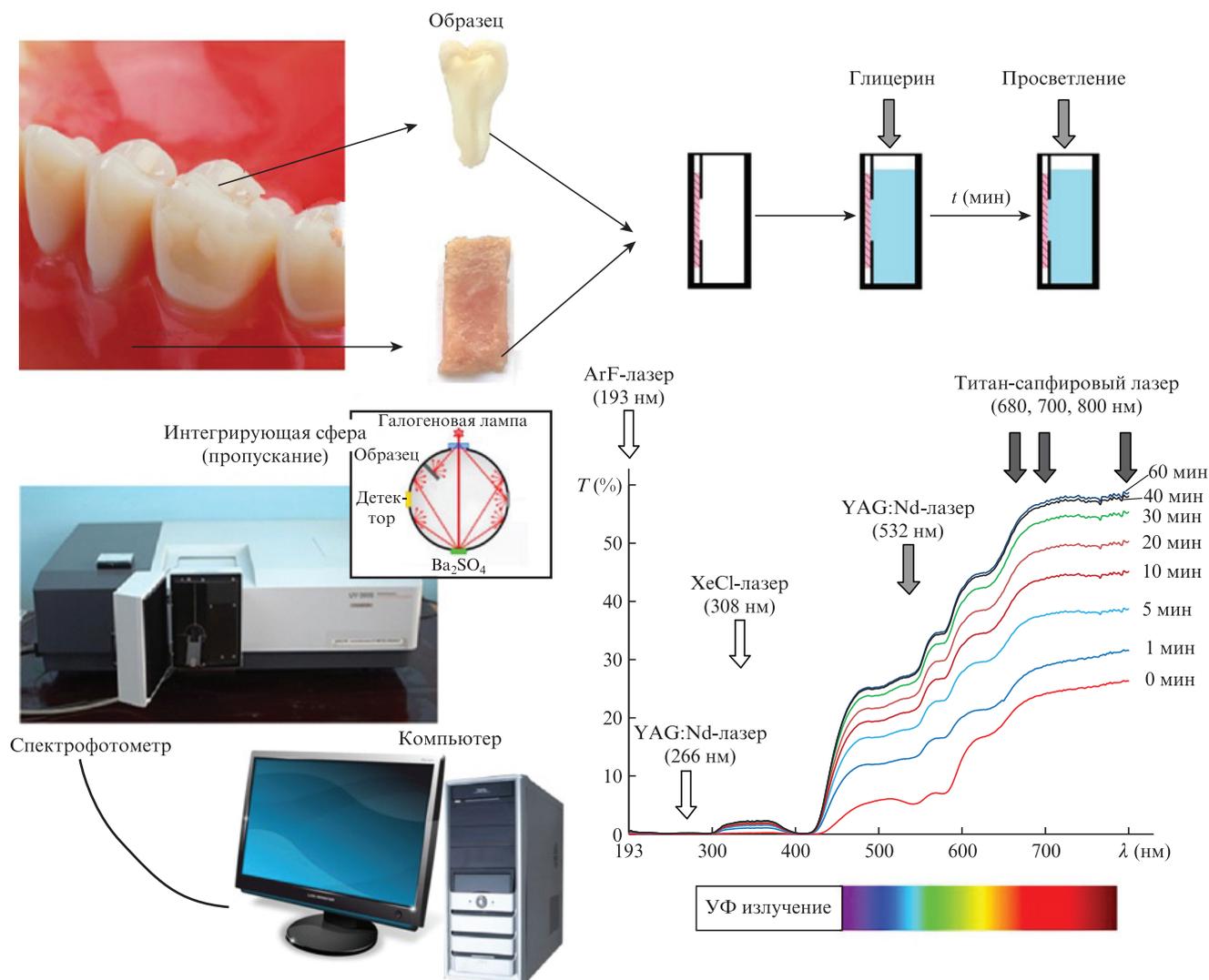


Рис.1. Экспериментальная схема для измерений *in vitro* полного пропускания образцов десны и дентина зуба человека при их иммерсии в 99.5%-ном растворе глицерина.

Материалом для исследования *in vitro* служили зубы (моляры), удаленные у пациентов в возрасте от 15 до 25 лет в стоматологической клинике по ортодонтическим показаниям. Удаленные зубы хранили в физрастворе в холодильнике. Влажные зубы разрезали алмазным диском на срезы толщиной около 1 мм вдоль оси роста и протравливали их 35%-ной ортофосфорной кислотой в течение 15 с, а затем кислоту удаляли струей воды. Далее с помощью щетки и 95%-ного раствора этилового спирта поверхность очищали от продуктов распиливания и других внешних загрязнителей, для чего спил (образец) помещали в ультразвуковую ванну Techsonic UD100 SH-45 L на 10 мин, после чего протирали его безворсовой салфеткой, смоченной в спирте. Образцы высушивали на воздухе в течение суток. Микрофотографии срезов дентина получены на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) MIRA 2 LMU. Толщины спилов (образцов) биоткани измеряли микрометром в нескольких точках образца и усредняли. Точность каждого измерения составляла ± 10 мкм. Всего в эксперименте исследовалось десять образцов, взятых от разных зубов.

Материалом для исследования *in vitro* послужили также срезы ткани десны мужчины в возрасте 68 лет, умершего от острой коронарной недостаточности и не имев-

шего патологических изменений тканей ротовой полости. Полученные биоптаты хранили в замороженном состоянии до начала эксперимента. Эксперименты *in vitro* выполняли на 10 образцах срезов ткани десны. Толщины образцов биоткани измеряли микрометром, для чего ткань десны помещали между двумя предметными стеклами (толщину которых затем вычитали); измерения проводили в нескольких точках образца и усредняли. Точность каждого измерения составляла ± 10 мкм. В среднем толщина образцов срезов ткани десны была равна 0.48 ± 0.06 см. Среднеквадратичное отклонение (SD) рассчитывали по формуле

$$SD = \sqrt{\sum_{i=1}^n (\bar{l} - l_i)^2 / n(n-1)}, \quad (1)$$

где n – число исследованных образцов; l_i – толщина i -го образца биоткани; \bar{l} – среднее значение толщины. Все эксперименты проводились при комнатной температуре ($\sim 25^\circ\text{C}$).

В качестве иммерсионного агента использовался 99.5%-ный раствор глицерина марки ЧДА (Россия). Глицерин ($C_3H_5(OH)_3$) – это бесцветная вязкая жидкость с молекулярной массой $M = 92.1$ г/моль. Он является пред-

ставителем трехатомных спиртов, гигроскопичен, не ядовит и не имеет запаха. Глицерин широко распространен в живой природе и играет важную роль в процессах обмена веществ в организмах животных, является компонентом многих пищевых продуктов, кремов, косметических средств и применяется как просветляющий агент [29].

3. Результаты и их обсуждение

Зуб человека состоит из корня, шейки и коронки, покрытой эмалью, – самой твердой тканью зуба. Дентин составляет основную массу зуба, имеет светло-желтую окраску и обладает некоторой эластичностью; он прочнее кости и цемента, но в 4–5 раз мягче эмали и состоит из межклеточного вещества, пронизанного обуславливающими его трофику дентинными канальцами (тубулами) с внутренним диаметром от 0.5 до 4 мкм (в зависимости от области зуба) (рис.2). Среднее число дентинных канальцев на единицу объема (плотность) в средней части дентина корня зуба значительно меньше, чем в средней части дентина коронки зуба. Плотность канальцев в дентине, расположенном ближе к внешней части зуба, также значительно отличается от плотности вблизи окклюзионной трещины. Можно считать, что зуб представляет собой пучки согласованных природных световодов. Извитая форма световодов определяет высокую эффективность освещения пульпы практически независимо от того, каким образом свет попадает на внешнюю поверхность зуба. Волноводный эффект существенно более выражен в дентине, чем в эмали, где светопроводящими элементами являются эмалевые призмы [34].

Десна человека состоит из тканевой оболочки, покрывающей верхнюю и нижнюю челюсти и окружающей зубы. Защитная функция ткани десны определяется наличием в ее составе гиалуроновой кислоты, макро- и микрофагов, плазмы и др. Благодаря своей коллагеновой структуре, образующейся из фибробластов, ткани десны обладают достаточно высокой плотностью. С оптической точки зрения ткань десны можно отнести к фиброзным тканям, в основном состоящих из многократно перепле-

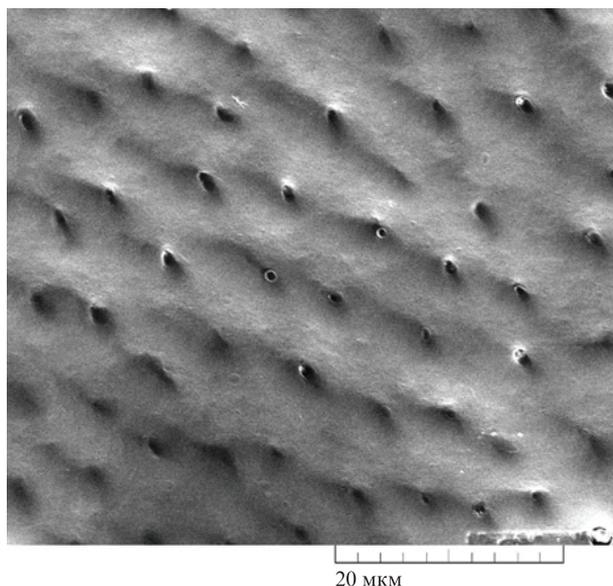


Рис.2. Электронная микрофотография (СЭМ) одного из исследуемых образцов – поперечного среза зуба человека в области средней части дентина коронки зуба (увеличение в 5000 раз).

Табл.1. Средние значения толщины и веса образцов десны ($n = 10$) и дентина ($n = 10$) до и после иммерсии в 99.5%-ном растворе глицерина.

Характеристики образца	Образец	
	Десна	Дентин
Начальная толщина (мм)	0.59 ± 0.06	0.81 ± 0.06
Конечная толщина (мм)	0.48 ± 0.06	0.80 ± 0.06
Начальный вес (мг)	467 ± 6	189 ± 2
Конечный вес (мг)	421 ± 7	190 ± 2

тенных друг с другом коллагеновых волокон, вокруг которых находится внутритканевая жидкость, содержащая протеогликаны, гликопротеины, белки, полисахаридные комплексы и т.д. [35].

Глицерин является высокоэффективным средством для оптического просветления биотканей. Как сильный гигроскопический агент, глицерин сначала вытягивает воду из ткани за счет осмоса, а затем, проникая в ткань, связывает внутритканевую межклеточную воду, повышая тем самым концентрацию растворимых компонентов в оставшейся воде и увеличивая ее показатель преломления [2, 16].

Средние значения толщины и веса образцов до и после просветления представлены в табл.1. Можно видеть, что после иммерсии образцов мягкой ткани десны человека в 99.5%-ном растворе глицерина их толщина в среднем уменьшается, что объясняется дегидратацией ткани и ее соответствующим сжатием. При воздействии глицерина на твердые образцы дентина их толщина заметно не меняется.

Уменьшение размеров, некоторое сжатие и потеря веса образцов при использовании гиперосмотических агентов для оптического просветления мягких биологических тканей наблюдались авторами [36, 37].

Спектры полного пропускания (СПП) образцов десны и дентина представлены на рис.3. В УФ диапазоне СПП десны имеют ярко выраженные провалы, характерные для полос поглощения белков, а также гемоглобина крови. В областях около 415–420 нм и 540–580 нм наблюдаются провалы, соответствующие полосам поглощения оксигемоглобина (415, 542 и 576 нм) [38]. Поглощение воды в исследуемом диапазоне 200–800 нм пренебрежимо мало. В УФ диапазоне СПП для обоих видов ткани имеют также спад, характерный для полос поглощения белков соединительной ткани в виде коллагеновых и ретикулярных волокон. После иммерсии образцов ткани десны в 99.5%-ном растворе глицерина полосы поглощения эндогенных хромофоров десны (оксигемоглобина) становятся менее выраженными, что связано с меньшей вероятностью эффективного поглощения фотонов при их прохождении через просветленный (менее рассеивающий) образец биоткани. Значения коэффициентов полного пропускания как десны, так и дентина возрастают во всем диапазоне длин волн (рис.3) по отношению к исходному состоянию образцов (до иммерсии в глицерине), что говорит об уменьшении рассеяния света образцами в результате их иммерсии в глицерине. Поскольку глицерин не имеет полос поглощения во всем исследуемом диапазоне 200–800 нм [2], то увеличение пропускания не сопровождается изменениями формы спектров.

Кинетические зависимости коэффициента полного пропускания исследуемых образцов биологических тканей, измеренные для ряда длин волн, используемых в ла-

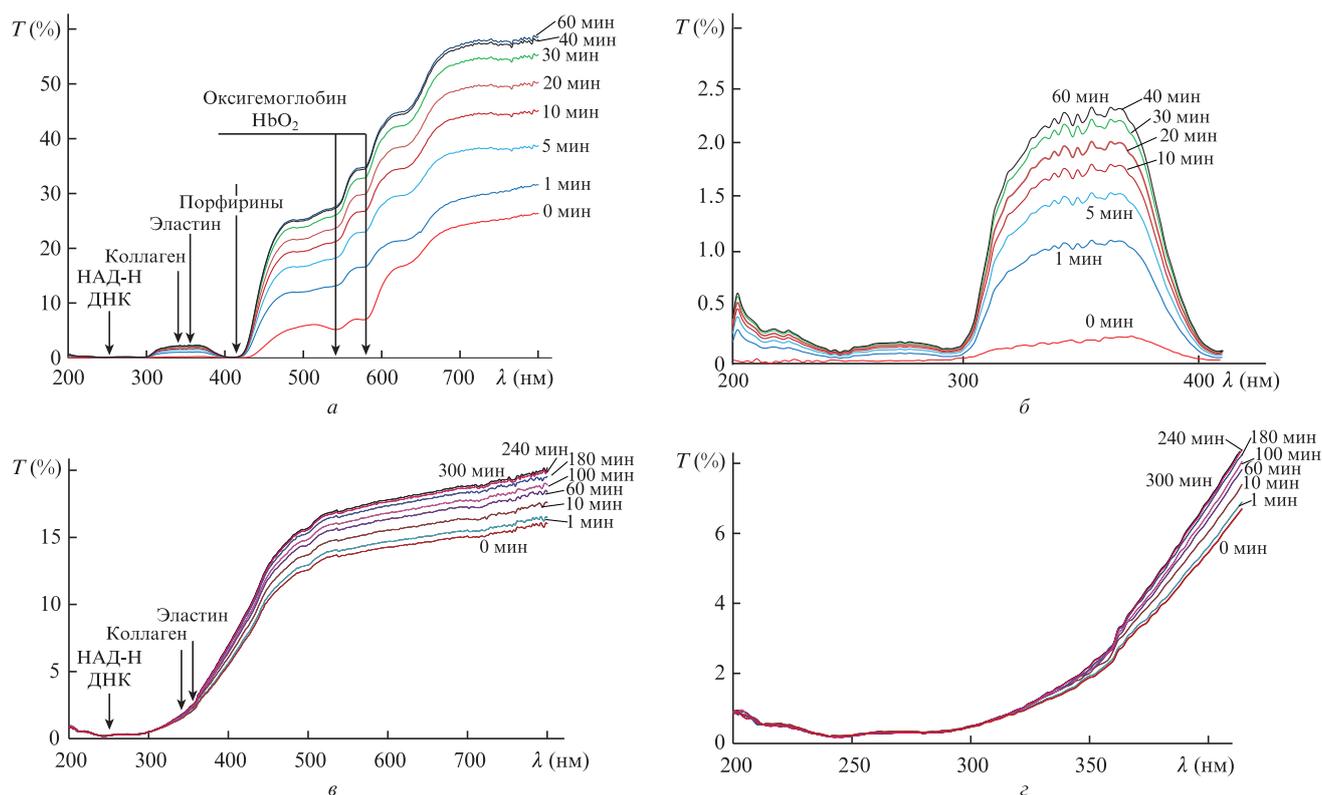


Рис.3. Кинетика спектров полного пропускания при иммерсии глицерином образцов десны (а, б) и дентина зуба человека (в, г); спектры показаны как во всем диапазоне длин волн, 200–800 нм (а, в), так и с увеличением в УФ диапазоне 200–400 нм (б, г); на рисунке схематически представлены области поглощения основных эндогенных хромофоров биологических тканей.

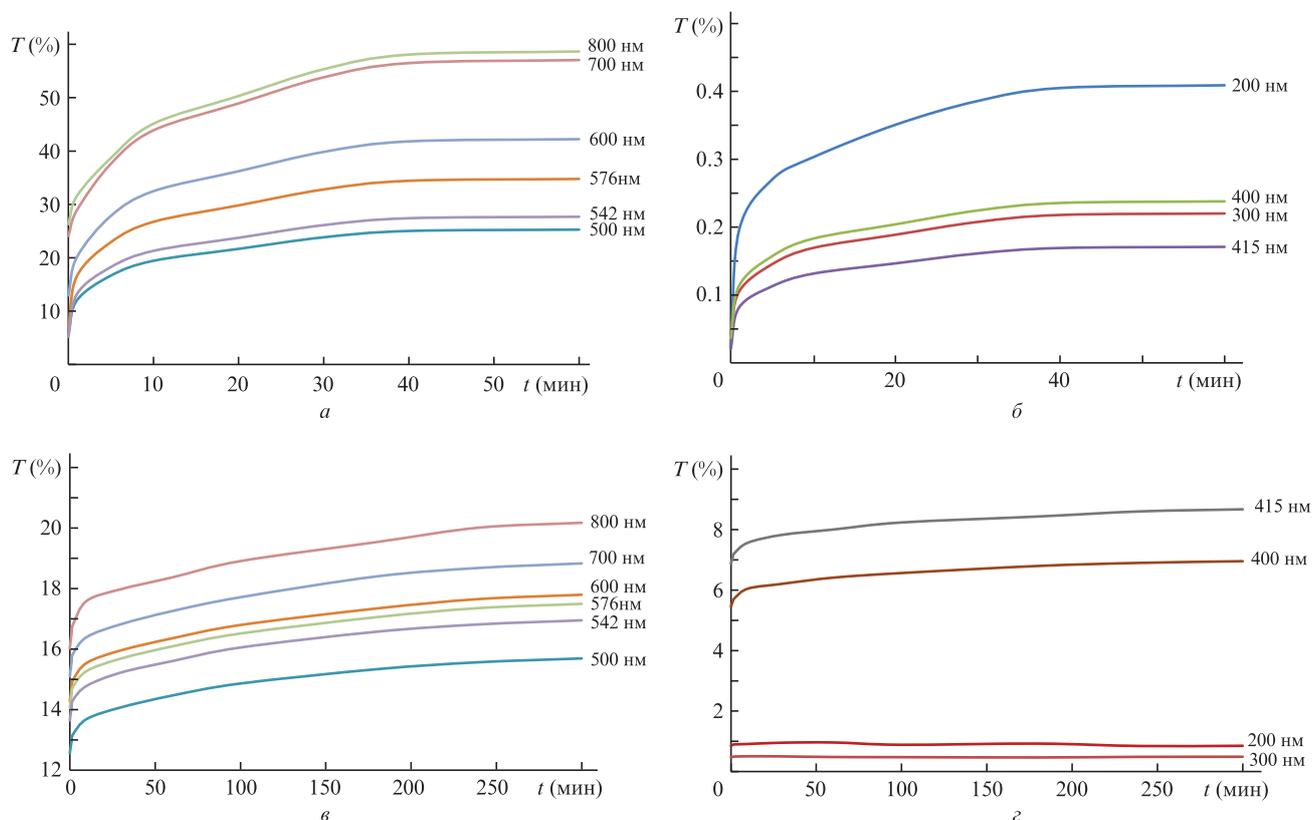


Рис.4. Кинетические зависимости коэффициентов полного пропускания $T(t)$ образцов ткани десны (а, б) и дентина (в, г) для разных длин волн при воздействии 99.5%-ного раствора глицерина.

зерных медицинских системах, представлены на рис.4. Видно, что при взаимодействии глицерина с образцами

происходит постепенное увеличение коэффициента пропускания в диапазоне 200–800 нм.

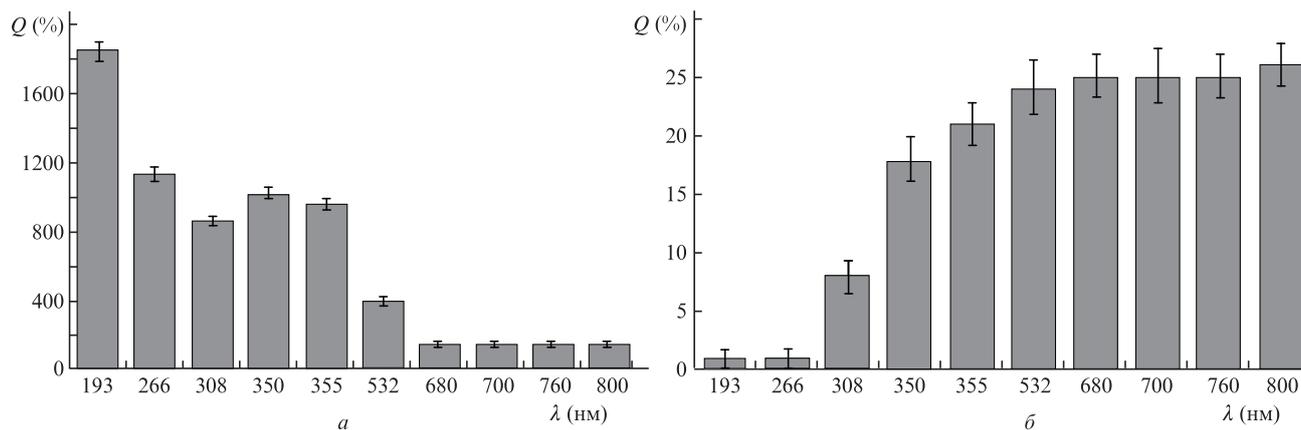


Рис.5. Диаграмма эффективности оптического просветления на разных длинах волн десны (а) и дентина (б) после иммерсии в 99.5%-ном растворе глицерине.

Основным источником рассеяния света в биотканях является неоднородность показателя преломления, обусловленная различием его значений для разных компонентов биотканей, т.е. митохондрий, ядер, других оргanelл и цитоплазмы клеток или для внутритканевой жидкости и структурных элементов соединительной (фиброзной) ткани (коллагеновых и эластиновых волокон). При введении в биоткань иммерсионной жидкости с большим показателем преломления, чем у внутритканевой жидкости, происходит частичное замещение внутритканевой жидкости иммерсионным агентом, что вызывает выравнивание показателей преломления рассеивателей (например, коллагеновых волокон) ткани и окружающей их среды и, как следствие, значительное снижение светорассеяния [27, 29–32].

Важным параметром для количественной оценки достигаемого просветления ткани является эффективность просветления [32]

$$Q(T) = \frac{T(t) - T(t=0)}{T(t=0)} \times 100\%, \quad (2)$$

где $T(t=0)$ – коэффициент пропускания в начальный момент времени; $T(t)$ – коэффициент пропускания в момент времени t . Результаты расчета эффективности просветления ткани десны и дентина при длинах волн, характерных для медицинских лазеров, представлены на рис.5 и в табл.2. В медицинской практике наиболее часто используются эксимерные лазеры (ArF, 193 нм; XeCl, 308 нм; XeF, 351 нм), азотный лазер (337.1 нм), аргоновый лазер (351.1, 363.8, 488.0 и 514.5 нм), гелий-неоновый лазер (543.3, 632.8 нм), титан-сапфировый лазер (680–1100 нм), YAG: Nd-лазер (1064 нм) и его вторая, третья и четвертая гармоники (532, 355 и 266 нм соответственно [2]).

Из результатов расчета эффективности просветления по экспериментальным данным следует, что наибольшая эффективность достигается на длине волны 200 нм, близ-

кой к длине волны эксимерного ArF-лазера (193 нм) для ткани десны человека за 60 мин действия глицерина и составляет 1847%. Хотя абсолютное значение пропускания на этой длине волн невелико из-за сильного поглощения и составляет всего 0.4%, увеличение числа прошедших фотонов оказывается значительным, что способствует успешной регистрации УФ сигналов с больших глубин ткани. В видимой и ближней ИК областях, в пределах так называемого «первого терапевтического окна прозрачности» [2], эффективность просветления существенно ниже и в среднем составляет немногим более 100%–200%, однако из-за отсутствия сильных полос поглощения эндогенных хромофоров в этой области спектра абсолютные значения пропускания достаточно большие и достигают 60%.

Отметим, что поскольку в среднем толщина исследованных образцов ткани десны человека в процессе иммерсии в 99.5%-ном растворе глицерина немного уменьшается в результате дегидратации и осмотического сжатия, эффективность просветления оценивалась также по изменению коэффициента эффективного ослабления. Коэффициент пропускания образца ткани определялся приближенным соотношением [29]

$$T \approx \exp(-\mu_{\text{eff}}l),$$

где $\mu_{\text{eff}} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')}$ – эффективный коэффициент ослабления (см^{-1}); l – толщина образца биоткани (см); μ_a – коэффициент поглощения (см^{-1}); $\mu_s' = (1-g)\mu_s$ – приведенный коэффициент рассеяния (см^{-1}); g – параметр анизотропии рассеяния; μ_s – коэффициент рассеяния (см^{-1}).

Тогда эффективность просветления с учетом влияния толщины образца может быть введена как относительная величина уменьшения μ_{eff} :

$$Q(\mu_{\text{eff}}) = \frac{\mu_{\text{eff}}(t=0) - \mu_{\text{eff}}(t)}{\mu_{\text{eff}}(t)} \times 100\%. \quad (3)$$

Табл.2. Эффективность просветления ткани десны в течение 60 мин и дентина в течение 300 мин при иммерсии в 99.5%-ном растворе глицерина.

Эффективность просветления (%) (среднее значение, $n = 10$)	Длина волны (нм)									
	Эксимерные лазеры			Гармоники YAG: Nd-лазера			Титан-сапфировый лазер			
	193	308	350	266	355	532	680	700	760	800
Десна	1847±60	857±25	1016±30	1133±40	952±30	396±25	141±19	137±18	128±17	134±19
Дентин	1±1	8±2	18±3	1±1	21±3	24±4	25±3	25±4	25±3	26±3

Эффективность просветления, оцененная по уменьшению коэффициента ослабления μ_{eff} , составила для длин волн эксимерных лазеров ~20% (193 нм), 17% (308 нм) и 25% (351 нм); для гармоник YAG:Nd-лазера – 12% (266 нм), 24% (355 нм) и 45% (532 нм), а для длин волн титан-сапфировых лазеров – 51% (680 нм), 52% (700 нм) и 51% (760–800 нм).

Эффективность просветления дентина в УФ области в течение 300 мин иммерсии образца в 99.5%-ном растворе глицерина изменяется от 1% до 20% (рис.5,б), а абсолютные значения пропускания – от 0.5% до 6% (рис.4,з) по мере роста длины волны. В видимой и ближней ИК областях эффективность просветления дентина в среднем составляет 25% (рис.5,б), при том что абсолютные значения пропускания составляют от 15% до 20% (рис.4,в). Эти результаты подтверждают возможность формирования «динамических» окон прозрачности тканей с очень высокой эффективностью в УФ области спектра, которые образуются при иммерсионном просветлении и только на время действия просветляющего агента [16].

Используя результаты других авторов, полученные для других тканей, можно указать на перспективы повышения эффективности просветления. В ряде работ эффективность оптического просветления биологических тканей (в частности кожи и костей черепа мелких животных, кожи человека) определяется при регистрации спектров коллимированного пропускания (ex vivo) или диффузного отражения (in vivo) [30, 32, 36]. Так, авторами [30] было установлено увеличение коллимированного пропускания кожи крысы в экспериментах ex vivo при ее просветлении 40%-ным раствором глюкозы. Аналогичные зависимости были получены авторами [39] при исследовании оптических свойств кожи лабораторной мыши после оптического просветления с применением 84.4%-ного раствора глицерина при измерении спектров коллимированного пропускания и установлено увеличение сигнала в 20–40 раз (ex vivo) и на 16% (in vivo) для определенных длин волн.

Видно, что при взаимодействии глицерина с образцами десны и дентина человека происходит постепенное увеличение коэффициента пропускания как в УФ диапазоне, так и в видимой области спектра. В диапазоне 300–400 нм преобладает рассеяние излучения, поскольку в этой области поглощают коллаген и эластин. После иммерсии в 99.5%-ном растворе глицерина происходит выравнивание показателей преломления данных рассеивателей биотканей и значительное уменьшение рассеяния. В этом диапазоне длин волн наблюдается большая эффективность просветления ткани десны. В районе 400 нм преобладает поглощение, вызванное наличием порфиринов и оксигемоглобина в ткани десны, которые являются эндогенными хромофорами биологической ткани.

Таким образом, для исследований in vivo эффективности просветления десны можно использовать спектроскопию диффузного отражения, а в некоторых патологических случаях, например при наличии у пациента десневого кармана, можно измерить и пропускание ткани с использованием световодов.

4. Заключение

В работе исследованы оптические характеристики тканей десны и дентина зуба человека in vitro при воздействии на них 99.5%-ного раствора глицерина. Насыщение

10 образцов ткани десны (толщиной ~0.6 мм) этим раствором происходит полностью в течение 30–55 мин, что способствует увеличению глубины проникновения оптического излучения в биоткань с различной эффективностью в зависимости от длины волны. Выявлено, что наибольшая эффективность просветления ткани десны человека in vitro наблюдается в УФ области, и его максимальное значение превышает 1800%. Максимальная эффективность просветления образцов дентина оказалась значительно меньшей, 15%–25% в ближней УФ, видимой и ближней ИК областях спектра. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения высококонцентрированного раствора глицерина (99.5%) в качестве оптического просветляющего агента для управления оптическими характеристиками исследуемых биологических тканей – особенно эффективно для тканей десны человека. Наблюдается увеличение полного пропускания прошедшего через образец излучения, что говорит о снижении рассеивающих свойств образца. Представленные результаты могут быть использованы в стоматологии для лазерной терапии как мягких тканей пародонта, так и твердых тканей зубов, включая фотодинамическую и фототермическую терапию, а также для оптической диагностики стоматологических заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства РФ (грант № 14.W03.31.0023).

В настоящей работе не проводилось каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

1. Приезжев А.В., Тучин В.В., Луговцов А.Е., Кириллин М.Ю. *Квантовая электроника*, **49** (1), 3 (2019) [*Quantum Electron.*, **49** (1), 3 (2019)].
2. Тучин В.В. *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях* (М.: Физматлит, 2010).
3. Allameh F., Razzaghi M., Fallah-Karkan M., Hosseini B., Tayyebi Azar A., Hossein Rahaviani A., Ranjbar A., Ghiasy S. *J. Laser Med. Sci.*, **10**, 179 (2019).
4. Afify Abdelrashid N., El-Sayed Ayoub H., Mamdouh Abdelkader A. *J. Laser Med. Sci.*, **10**, 325 (2019).
5. Ordahan B., Yavuz Karahan A. *J. Laser Med. Sci.*, **34**, 1281 (2019); doi.org/10.1007/s10103-019-02828-y
6. Красновский А.А. *Фотодинамическое действие и синглетный кислород* (М.: Биофизика, 2004, с. 305).
7. Semyachkina-Glushkovskaya O.V., Sokolovski S.G., Goltsov A., Gekaluyk A.S., Saranceva E.I., Bragina O.A., Tuchin V.V., Rafailov E.U. *Progr. Quantum Electron.*, **55**, 112 (2017).
8. Hamblin M.R. *Photochem. Photobiol.*, **94**, 199 (2018).
9. Tuchin V.V. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **2**, 030201-1-31 (2016).
10. Генина Э.А., Долотов Л.Е., Башкатов А.Н., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **46**, 502 (2016) [*Quantum Electron.*, **46**, 502 (2016)].
11. Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Chekhonatskaya M.L., Terentyuk G.S., Navolokin N.A., Khlebtsov B.N., Khlebtsov N.G., Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. *Lasers Surg. Med.*, **50**, 1025 (2018).
12. Генина Э.А., Ксенофонтова Н.С., Башкатов А.Н., Терентюк Г.С., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **47**, 561 (2017) [*Quantum Electron.*, **47**, 561 (2016)].
13. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Кочубей В.И., Рубцов В.С., Колесникова Е.А., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **44**, 779 (2014) [*Quantum Electron.*, **44**, 779 (2014)].
14. Genin V.D., Genina E.A., Kapralov S.V., Grishaev V.A., Tuchin V.V., Lazareva E.N., Bashkatov A.N. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **5**, 030302 (2019).
15. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В. *Изв. Саратовского ун-та. Новая сер. Сер. Физика*, **18**, 32 (2018).
16. Carneiro I., Carvalho S., Henrique R., et al. *J. Biophoton.*, **1**, e201900181 (2019)

17. Altshuler G.B., Belikov A.V., Skrypnik A.V., Feldchtein F., Pushkareva A.E., Shatilova K.V., Cernavin I., Tuchin V.V. *J. Biomed. Opt.*, **21**, 125001 (2016).
18. Фриго Л., Аоки А., Алмейда-Лопес Л. *Лазеры в стоматологии*. (М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018, с. 350).
19. Tuchin V.V., Genina E.A., Bashkatov A.N., Simonenko G.V., Odovskaya O.D., Altshuler G.B. *J. Lasers Surg. Med.*, **33**, 296 (2003).
20. Genina E.A., Bashkatov A.N., Simonenko G.V., Odovskaya O.D., Tuchin V.V., Altshuler G.B. *J. Biomed. Opt.*, **9**, 828 (2004).
21. Romanos G. *J. Indian Soc. Periodontol.*, **19**, 490 (2015).
22. Alikhasi M., Monzavi A., Ebrahimi H., Pirmoradian M., Shamshiri A., Ghazanfari R. *J. Lasers Med. Sci.*, **10**, 211 (2019).
23. Genina E.A., Titorenko V.A., Belikov A.V., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. *J. Biomed. Opt.*, **20** (12), 128004 (2015).
24. Seraj B., Ghadimi S., Hakimih N. *Lasers Med. Sci.*, **7**, 6 (2019).
25. Sumra N., Kulshrestha R., Umale V. *J. Cosmet. Laser Ther.*, **21**, 255 (2019).
26. Sağlam M., Köseoğlu S., Taşdemir I., Erbak Yılmaz H., Savran L., Sütçü R. *J. Periodontal Res.*, **52**, 853 (2017).
27. Jing D., Yi Y., Luo W., Zhang S., Yuan Q., Wang J., Lachika E., Zhao Z., Zhao H. *J. Dental Res.*, **98**, 621 (2019).
28. Mills M.P., Rosen P.S., Chambrone L., Wang H.-L. *J. Periodontol.*, **89**, 737 (2018).
29. Tuchin V.V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics* (Bellingham, WA: SPIE Press., 2015, p. 866).
30. Tuchina D.K., Timoshina P.A., Tuchin V.V., Bashkatov A.N., Genina E.A. *IEEE J. Select. Top. Quantum Electron.*, **25**, 7200508 (2019).
31. Carneiro I., Carvalho S., Henrique R., Oliveira L.M., Tuchin V.V. *J. Biophoton.*, **12**, e201800333 (2019).
32. Bashkatov A.N., Berezin K.V., Dvoretzkiy K.N., Chernavina M.L., Genina E.A., Genin V.D., Kochubey V.I., Lazareva E.N., Pravdin A.B., Shvachkina M.E., Timoshina P.A., Tuchina D.K., Yakovlev D.D., Yakovlev D.A., Yanina I.Yu., Zhernovaya O.S., Tuchin V.V. *J. Biomed. Opt.*, **23**, 091416 (2018).
33. Chen Y., Liu Sh., Liu H., Tong Sh., Tang H., Zhang Ch., Yan Sh., Li H., Yang G., Zhu D., Wang K., Wang P. *Anal. Chem.*, **91**, 9371 (2019).
34. Грисимов В., Радлинский С. *ДентАрт.*, **1**, 26 (2006).
35. Кудрин И.С. *Анатомия органов полости рта* (М.: Медицина, 1968, с. 361).
36. Genin V.D., Tuchina D.K., Sadeq A.J., Genina E.A., Tuchin V.V., Bashkatov A.N. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **2** (1), 010303 (2016).
37. Тучина Д.К., Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В. *Биофизика*, **63** (5), 989 (2018) [*Biophysics*, **63** (5), 791 (2018)].
38. Zhou Y., Yao J., Wang L. *J. Biomed. Opt.*, **6** (21), 061007 (2016).
39. Genina E.A., Bashkatov A.N., Sinichkin Yu.P., Tuchin V.V. *Opt. Spectrosc.*, **109**, 225 (2010).