

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

На правах
рукописи



Селифонов Алексей Андреевич

**Исследование биофизических основ управления оптическими свойствами
биологических тканей для оптимизации фототерапии
заболеваний полости рта**

Специальность 03.01.02 – биофизика

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
чл.- кор. РАН, д.ф.-м.н.,
профессор, В.В. Тучин

Саратов 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ.....	5
	Актуальность темы и степень ее разработанности	5
1.	АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЙ	20
1.1.	Терапевтическое применение изменения (управления) оптических параметров биотканей.....	20
1.2.	Оптические методы, применяемые для диагностики и лечения заболеваний, а также исследования биологических тканей в стоматологии.....	27
1.3.	Современный взгляд на патогенез и лечение хронического рецидивирующего афтозного стоматита (ХРАС)	39
	<i>Выводы по главе</i>	48
2.	ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ОПТИЧЕСКИХ И БИОФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЛИЗИСТОЙ ДЕСНЫ И ДЕНТИНА ЗУБА ЧЕЛОВЕКА <i>EX VIVO</i>	49
2.1.	Материалы и методы исследования.....	49
2.2.	Результаты и обсуждение.....	54
2.2.1.	Определение коэффициентов поглощения и рассеяния десны и дентина зуба человека.....	54
2.2.2.	Некоторые биофизические параметры строения ткани слизистой десны	59
2.2.3.	Некоторые биофизические параметры строения дентина зуба человека.....	65
	<i>Выводы по главе</i>	70
3.	УПРАВЛЕНИЕ ПОГЛОЩАЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ СЛИЗИСТОЙ ДЕСНЫ И ДЕНТИНА ЗУБА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ ЭКЗОГЕННЫХ КРАСИТЕЛЕЙ <i>EX VIVO</i>	72
3.1.	Материалы и методы.....	72
3.2.	Результаты и обсуждение.....	75
3.2.1.	Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к метиленовому синему (<i>ex vivo</i>).....	75

3.2.1.1	<i>Изменение оптических свойств ткани десны</i>	75
3.2.1.2.	<i>Изменение оптических свойств дентина зуба человека</i>	79
3.2.2.	Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к риванолу (<i>ex vivo</i>).....	84
3.2.2.1.	<i>Изменение оптических свойств ткани десны</i>	84
3.2.2.2.	<i>Изменение оптических свойств ткани дентина зуба человека</i>	87
	<i>Выводы по главе</i>	89
4.	УПРАВЛЕНИЕ РАССЕЙВАЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ СЛИЗИСТОЙ ДЕСНЫ И ДЕНТИНА ЗУБА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ ИММЕРСИОННОГО МЕТОДА <i>EX VIVO</i>	92
4.1.	Материалы и методы исследования.....	92
4.2.	Результаты и обсуждение.....	93
4.2.1.	Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к высококонцентрированному глицерину (<i>ex vivo</i>).....	93
4.2.1.1.	<i>Изменение оптических свойств ткани десны</i>	93
	<i>Иммерсия тканей слизистой десны человека в 99.5% глицерине</i>	93
	<i>Иммерсия тканей слизистой десны свиньи в 87.5% глицерине</i>	98
4.2.1.2.	<i>Изменение оптических свойств ткани дентина зуба человека</i>	102
4.2.2.	Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к 40% глюкозе (<i>ex vivo</i>).....	106
4.2.2.1.	<i>Изменение оптических свойств ткани десны</i>	106
4.2.2.2.	<i>Изменение оптических свойств ткани дентина</i>	109
	<i>Выводы по главе</i>	114
5.	ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ИЗМЕНЕНИЯ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БИОТКАНЕЙ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ЛЮГОЛЕМ <i>EX VIVO</i>	118
5.1.	Материалы и методы.....	118
5.2.	Результаты и обсуждение.....	119
5.2.1.	<i>Изменение оптических свойств десны</i>	119
5.2.2.	<i>Изменение оптических свойств дентина</i>	122
	<i>Выводы по главе</i>	124
6.	МЕТОД ФОТОТЕРАПИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ УФ ОБЛУЧЕНИЯ И ЭФФЕКТА ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЕНИЯ (ОП)	

	ГЛИЦЕРИНОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СТОМАТИТА.....	126
6.1.	Материалыи методы.....	126
6.2.	Объем клинических исследований.....	129
6.3.	Ротовая жидкость - определение понятия, функции и информативность в клинической диагностике.....	129
6.4.	Рабочая гипотеза исследования.....	132
6.5.	Результаты и обсуждение.....	133
	Оценка эффективности метода фототерапии ХРАС с применением ОП высококонцентрированным глицерином.....	134
6.5.1.	Стоматологический статус и сопутствующие заболевания больных ХРАС.....	134
6.5.2.	Изменения цитологических показателей ротовой жидкости после фототерапии с использованием ОП высококонцентрированным глицерином.....	139
6.5.3.	Изменения рН показателей ротовой жидкости после фототерапии с использованием ОП глицерином	141
6.5.4.	Оценка эффективности включения разработанного метода в комплексное лечение ХРАС.....	142
	<i>Выводы по главе</i>	143
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	144
	БЛАГОДАРНОСТИ.....	149
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	150
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	151
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	152

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень ее разработанности.

При взаимодействии излучения с биологическими тканями наблюдаются в основном такие эффекты как поглощение, отражение и рассеяние, которые в различной степени вносят существенный вклад при диагностике заболеваний, исследовании здоровых и патологических биотканей, при разработке фототермических и светотерапевтических процедур и т.д. [1]. В XX веке были сформулированы теоретические основы взаимодействия излучения с биотканями человека, где определяющая роль принадлежит поглощенной энергии световых квантов (законы Гротгуса–Дрейпера и Кирхгофа). Биофизические и фотохимические исследования доказали, что ультрафиолетовое (УФ) излучение вызывает ионизацию молекул и разрушение ковалентных связей в биотканях; видимое излучение – вызывает их электронное возбуждение; а инфракрасное излучение способно изменять колебательные процессы в биологических молекулах. Было выявлено, что коротковолновое УФ излучение вызывает летальные мутации микроорганизмов и оказывает бактерицидный эффект; средневолновое УФ излучение индуцирует синтез провитамина D и активирует биогенные амины в облученных тканях; длинноволновое УФ излучение индуцирует транспорт гранул меланина и угнетает патологическую пролиферацию клеток предварительно сенсibilизированной биоткани [2].

Совершенствование оптических систем в последние десятилетия, открытие лазерных и светодиодных источников, широкое использование компьютеров, микропроцессоров и разработка новых технологий получения трехмерных изображений позволили сделать следующий значительный шаг в технологии визуализации тканей на клеточном и субклеточных уровнях [1, 3-5]. Например, оптическая визуализация глубоких слоев тканей используется для идентификации злокачественных новообразований на ранних стадиях, включая оптическую когерентную томографию, флуоресцентную и рамановскую спектроскопию, волоконно-оптические технологии для доставки излучения к патологическим

участкам и обратно портативными системами визуализации, гауссовой оптики, рассеяния света, нелинейной оптики и оптической томографии тканей и клеток др.

При взаимодействии электромагнитного излучения с биологическими тканями наблюдаются в основном такие явления, как поглощение, отражение и рассеяние излучения, которые широко используются в оптической диагностике заболеваний, исследовании различий здоровых и патологических тканей [1, 5].

Вследствие неинвазивности, отсутствия или малости уровня ионизирующих воздействий и потенциальной возможности многопараметрической диагностики оптическое излучение применяется для изучения молекулярных механизмов патологий и поиска молекулярных мишеней для раннего выявления заболеваний и их лечения, что сформировалось в современное новое междисциплинарное направление – тераностику, сочетающую в себе как оптическую диагностику, так и оптическую терапию выявленных патологических областей в рамках единой методики без вреда для соседних здоровых участков ткани [5 - 7]. В качестве агентов маркеров, способных аккумулироваться в патологических очагах, применяются различные фотосенсибилизаторы, красители или наночастицы, способные флуоресцировать и увеличивать поглощение биоткани на определенных длинах волн [1, 8-10].

С другой стороны, для улучшения проникновения излучения вглубь биотканей требуется уменьшение светорассеяния, которое может достигаться методом «оптического просветления» (ОП) (optical clearing) [11-14]. Для иммерсионного просветления биологических тканей применяются как гиперосмотические агенты: глюкоза, сорбитол, глицерин, полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, диметил сульфоксид, так и растворы, имеющие нормальную осмолярность, такие как рентгено-контрастное вещество йогексол, и др.

Чтобы максимально эффективно учитывать изменения, которые оказывают те или иные препараты на биологические ткани, необходима количественная оценка их оптических свойств. Одним из часто применяющихся методов изучения оптических свойств биологических тканей является спектроскопия диффузного отражения с использованием интегрирующих сфер. Данный метод применялся при

исследовании *in vitro* оптических параметров патологически измененной слизистой оболочки гайморовой пазухи человека в спектральном диапазоне 350-2000 нм [15], склеры глаза в спектральном диапазоне 370–2500 нм [16], хрусталики глаза человека с различными стадиями катаракты [17], слизистая оболочка желудка человека в спектральном диапазоне 400–2000 нм [18], ткани толстой кишки человека в спектральном диапазоне 350–2500 [19], слизистые оболочки толстой кишки и предраковые полипы толстой кишки в спектральном диапазоне 400–1000 нм [20], а также довольно большое количество других тканей: кожа, мышцы, череп и др. [5, 21, 22].

Таким образом, определение оптических параметров биологических тканей и направленное обратимое изменение их оптических свойств (управление оптическими свойствами) для достижения максимальной эффективности диагностики или терапии является, безусловно, актуальной задачей биофизики в различных ее медицинских приложениях, включая заболевания полости рта.

Например, одним из сложных и трудно поддающихся лечению заболевания слизистой оболочки полости рта (СОПР) является хронический рецидивирующий афтозный стоматит (ХРАС), который чаще встречается в детском и подростковом возрастах в равной степени у обоих полов [23, 24]. ХРАС – воспалительно-деструктивное поражение СОПР, характеризующееся рецидивирующим высыпанием афт, длительным течением и периодическими обострениями. Гистологическое исследование афт выявляет глубокое фибринозно-некротическое воспаление СОПР [23]. В настоящее время причины возникновения ХРАС окончательно не выяснены. Большинство исследователей сходятся во мнении о ведущей роли иммунной системы в патогенезе, наличия инфекционной природы, провоцирующих факторов, вредных привычек (в том числе диеты с преобладанием углеводов) и др. Часто ХРАС протекает на фоне сопутствующей патологии: заболеваний желудочно-кишечного тракта, ЛОР органов, аллергии и др., в связи с этим перспективным направлением является немедикаментозное лечение (физиотерапии – светолечения). В медицинской практике используется весь диапазон длин волн оптического излучения от короткого УФ до терагерцового.

Электромагнитное излучение УФ диапазона – одно из наиболее биологически активных излучений, способное оказывать иммуностимулирующий и антибактериальный эффекты. Физиотерапевтические методы имеют минимальные побочные эффекты, не перегружают выделительную систему организма (особенно детей и подростков), не раздражают желудочно-кишечный тракт, активизируют местный и общий иммунитет и улучшают адаптационные и резервные свойства всего организма в целом. Накопленные многочисленных исследования и научно доказанные факты устанавливают, что физиотерапевтические мероприятия индуцируют адаптационные реакции саногенеза, направленные на восстановление нарушенной саморегуляции организма. Клинически обнаруженный феномен обратного ремоделирования тканей под действием физических факторов, приводит к восстановлению структурно-функциональных изменений клеточных мембран, восстановлению их рецептивности, активации неоангиогенеза и репаративной регенерации пораженных органов и тканей [25].

Анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что разработка и оптимизация эффективных и доступных методов физиотерапии, в том числе заболеваний полости рта, является важным медико-социальным вопросом, требующим глубоких исследований в различных областях науки, включая биофизику, оптику, биохимию, медицину и др.

Методы оптического просветления вызывают интерес различных научных групп при исследованиях как в лаборатории, так и в клиническом применении в России и за рубежом. Так, например, научной группой под руководством профессора Luís Manuel Couto Oliveira при иммерсии колоректальных тканей в высококонцентрированном глицерине выявлено два динамических оптических окна с пиками эффективности пропускания при 230 нм и 300 нм, что открывает возможность разработки клинических процедур для ранней постановки диагноза и лечения в УФ диапазоне [25]. Механизмы влияния различных просветляющих агентов на биологические ткани активно изучаются научной группой под руководством профессора Dan Zhu [26]. Большой многолетний опыт исследований управления оптическими свойствами различных биологических тканей имеется на

кафедре оптики и биофотоники СГУ. В частности, исследования *in vivo* направленного увеличения поглощающих свойств слизистой оболочки полости рта в видимой области спектра с помощью метиленового синего (МС) в сочетании с применением оптической зубной щетки со светодиодами (663 нм) выявили терапевтическую эффективность при лечении гингивита [27]. Метод оптического просветления исследовался на различных биотканях, включая слизистую оболочку желудка [28], твердую мозговую оболочку человека [29], кожу крысы [30], кожу человека [31] и др. Данные исследования послужили мотивацией к изучению изменений тканей ротовой полости, для разработки метода фототерапии для повышения эффективности лечения ХРАС.

Цель работы: исследование изменений оптических свойств мягких и твердых биологических тканей (на примере десны и дентина зуба человека и животных) при их взаимодействии с красителями и гиперосмотическими просветляющими агентами и разработка на этой основе метода фототерапии (на примере лечения хронического афтозного стоматита).

В связи с этим решались следующие **задачи:**

1. Определение ряда биофизических и оптических параметров слизистой десны и дентина зуба человека и животных в диапазоне 200 - 800 нм, и расчет глубины проникновения излучения в ткань десны и дентина.

2. Определение проницаемости тканей слизистой десны и дентина зуба человека и животных по отношению к антисептическим красителям: МС и риванолу (на основе акридинового красителя); гиперосмотическим просветляющим агентам: глицерину и глюкозе; терапевтическому средству: люголю; соответствующий анализ изменения оптических свойств исследуемых биологических тканей.

3. На основе анализа полученных данных разработка метода фототерапии хронического афтозного стоматита с оптимальным изменением оптических свойств слизистой десны.

4. Определение эффективности разработанного метода фототерапии афтозного стоматита по основным клиническим проявлениям заболевания с учетом

выраженности анальгетического, регенерационного и противовоспалительного (цитологические исследования, рН слюны) эффектов у пациентов.

Научная новизна:

Инверсный метод добавления-удвоения для расчета транспортного коэффициента рассеяния и поглощения на основе измеренных коэффициентов диффузного отражения и полного пропускания впервые применен для исследования десны и дентина зуба человека и также впервые рассчитана глубина проникновения излучения в диапазоне длин волн 350-800 нм для этих биотканей.

Впервые определены параметры проницаемости дентина и десны, по отношению к красителям (метиленовому синий, риванолу на основе акридинового красителя), люголю и оптическим просветляющим агентам (глюкоза и глицерин). Получены значения их бинарных коэффициентов диффузии в этих тканях и определены величины изменений оптических свойств по коэффициенту пропускания (эффективность оптического просветления) исследуемых тканей.

Впервые выявлены особенности взаимодействия слизистой десны с глицерином с образованием трех окон прозрачности в УФ диапазоне спектра с эффективностью оптического просветления до 3500%: положение центра первого окна прозрачности составило (200 ± 3) нм с шириной на уровне половинной интенсивности (38 ± 7) нм; положение центра второго окна составило (283 ± 4) нм с шириной (39 ± 8) нм; и положение третьего окна составило (344 ± 13) нм с шириной (72 ± 5) нм. При взаимодействии слизистой десны с 40% глюкозой выявлено образование одного окна прозрачности, положение центра которого составило (337 ± 6) нм с шириной (46 ± 9) нм и с максимальной эффективностью до 400%.

Разработан новый метод фототерапии хронического афтозного стоматита и доказана его клиническая эффективность.

Практическая значимость:

Исследование оптических свойств биологических тканей ротовой полости и получение количественных оценок оптических параметров является необходимым и актуальным научным направлением для развития оптических методов диагностики и терапии различных заболеваний.

Среди практических применений следует выделить красители - как препараты для тераностики и оптические просветляющие агенты, благодаря которым удастся существенно снизить рассеяние биологических тканей.

Разработан фармако-физиотерапевтический метод, рекомендуемый в комплексном лечении больных хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом, основанный на применении УФ излучения с предварительной местной аппликацией оптического просветляющего агента (глицерина) на слизистую ротовой полости. Новый метод внедрен в практику детской поликлиники №3 филиал ГУЗ "СДИКБ № 5", а также детской поликлиники №5 филиал ГУЗ "СДИКБ № 5".

Рекомендации этического комитета получены ФГБОУ ВО Саратовским Государственным медицинским университетом им. В.И. Разумовского Минздрава России, протокол №8 от 07.04. 2020 г.

Основные теоретические положения, изложенные в диссертации, включены в курсы лекций и практических занятий кафедры оптики и биофотоники ФГБОУВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Основные положения и результаты, выносимые на защиту:

1. Результаты решения обратной задачи методом добавления-удвоения при определении транспортного коэффициента рассеяния и поглощения слизистой оболочки десны и дентина зуба человека, а также глубины проникновения излучения в диапазоне от 350 до 800 нм.

2. Особенности взаимодействия гиперосмотических агентов (глицерина и глюкозы) со слизистой десны, выражающиеся в образовании оптических окон прозрачности в УФ диапазоне спектра: трех - при взаимодействии с глицерином и одного - при взаимодействии с глюкозой.

3. Результаты комплексных экспериментальных исследований кинетических оптических характеристик десны и дентина при взаимодействии с метиленовым синим, риванолом, глицерином, глюкозой, люголем, полученных методом спектроскопии диффузного отражения с использованием модели свободной

диффузии, а также результаты количественной оценки диффузии этих препаратов в исследуемых биологических тканях. Результаты влияния вышеназванных препаратов на изменение оптических свойств десны и дентина.

4. Применение УФ фототерапии с предварительным оптическим просветлением десны при аппликации глицерина в комплексном лечении больных хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом вызывает более быстрое и выраженное формирование анальгетического и регенерационного эффектов по сравнению с УФ фототерапией без применения оптического просветляющего агента.

5. Выраженный противовоспалительный эффект объективно подтверждается результатами цитологического исследования в виде уменьшения количества лейкоцитов и эпителиальных клеток и увеличения значений индекса дифференцировки клеток, нормализации значений pH ротовой жидкости.

Степень достоверности и апробация результатов:

В проведенных исследованиях применялись апробированные методики расчета и измерений, современные лабораторные и клинические методы, позволившие получить статистически значимые результаты. Достоверность подтверждается воспроизводимостью экспериментальных результатов, а также соответствием с результатами, полученными другими авторами. Результаты и выводы согласуются с современными представлениями о механизмах изученных процессов и опубликованными результатами других авторов, полученными с помощью альтернативных методов.

Результаты исследований были представлены на следующих научных конференциях:

- SPIE Photonics West (BIOS), 2018, 2019, 2020, and 2021 (San Francisco, USA);
- Saratov Fall Meeting (SFM), 2017, 2018, 2019 и 2020 (Саратов, Россия);
- International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT), 2019 (Prague, Czech Republic);
- 8th International Conference on Photonics, Optics and Laser Technology, Photoptics, 2020 (Valletta, Malta);

- SPIE Photonics Europe, 2020 (Strasbourg, France);
- International Symposium «Fundamentals of Laser Assisted Micro – and Nanotechnologies», 2019 (Saint-Petersburg, Russia);
- Всероссийская конференция молодых ученых «Наноэлектроника, нанофотоника и нелинейная физика», 2017, 2018, 2019 и 2020 (Саратов, Россия);
- Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы стоматологии», 2020 (Киров, Россия);
- X межвузовская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых, Медицинский университет Реавиз, 2020 (Самара, Россия);
- Научно-практическая конференция «Актуальные вопросы детской стоматологии», 2020 (Киров, Россия).

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, благодарностей, практических рекомендаций, списка сокращений, списка использованных источников (366 наименований). Объем работы составляет 192 страницы текста с 53 рисунками и 8 таблицами.

Методология и методы исследования.

Методологической основой диссертационного исследования явилось последовательное применение методов научного познания. Диссертационная работа выполнялась в лабораторных и клинических условиях: при проведении экспериментов применялись хорошо обоснованные биофизические методы получения информации об оптических и морфологических характеристиках биологических тканей: спектроскопия диффузного отражения с применением интегрирующей сферы для определения коэффициентов диффузного отражения и полного пропускания; сканирующая электронная микроскопия; рентгенофлюоресцентный метод анализа. Обработка и анализ получаемых экспериментальных данных осуществлялись с применением статистических методов, адекватных решаемым задачам.

Личный вклад

Все результаты, представленные в диссертационной работе получены при личном участии соискателя, с ссылкой на соавторство в конкретных случаях. Автор

лично, совместно с научным руководителем д.ф.-м.н. проф. В.В. Тучиным, участвовал в постановке задач, проведении экспериментальных исследований и расчетов, в обработке и обсуждении полученных результатов.

Автор лично набирал исследуемых пациентов и контрольных групп, получал информированные согласия на участие в исследовании; проводил контролируемое рандомизированное исследование, изучение и анализ историй болезни, врачебный стоматологический осмотр и получал материалы для дополнительных лабораторных исследований. Клинические исследования проводились в детской поликлинике №3 филиала ГУЗ «СДИКБ № 5».

При определении проницаемости биотканей использовался метод расчета эффективных коэффициентов диффузии препаратов при использовании модели свободной диффузии, разработанный на кафедре оптики и биофотоники СГУ при участии д.ф.-м.н. проф. В.И. Кочубея и к.ф.-м.н. А.Н. Башкатова. Измерения спектров диффузного отражения, полного пропускания, рН рабочих растворов и ротовой жидкости пациентов проведены в ОНИ НС и БС совместно с инженером отдела химической технологии наноматериалов Г.Н. Наумовой; исследование морфологии поверхности и элементный состав спилов зубов проведены методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) заведующим лабораторией диагностики наноматериалов и структур ОНИ НС и БС СГУ к.ф.-м.н. А.М. Захаревичем; микробиологические и цитологические исследования проводились в специализированных лабораториях; обсуждение полученных результатов проводилось совместно с научным руководителем д.ф.-м.н. проф. В.В. Тучиным на кафедре оптики и биофотоники СГУ. Расчет транспортного коэффициента рассеяния и поглощения с применением инверсного метода добавления-удвоения проведен совместно с аспиранткой кафедры оптики и биофотоники СГУ О.А. Зюрюкиной.

Автор лично проводил статистическую обработку полученных данных, их интерпретацию, систематизацию и анализ. Автором лично изучена современная научная литература по теме исследования; неоднократно представлены результаты исследования на научных конференциях; написаны главы диссертации.

Лично и в соавторстве опубликованы научные работы по основным разделам диссертации.

Основные публикации по теме диссертации:

Основные положения диссертационного исследования отражены в 23 научных публикациях:

6 публикаций в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук и индексируемых в международных реферативных базах данных и системах цитирования Web of Science и/или Scopus:

1. **Селифонов А.А.**, Тучин В.В. Изучение диффузии метиленового синего в дентине зуба человека // Биофизика. – 2018. - Т. 63. - вып. 6. - С.1211-1220.
2. **Селифонов А.А.**, Шаповал О.Г., Микеров А.Н., Тучин В.В. Определение коэффициента диффузии растворов метиленового синего в дентине зуба человека с помощью спектроскопии отражения и их антибактериальная активность при лазерном воздействии // Оптика и спектроскопия. - 2019. - Т. 126. - вып. 6. - С. 832- 843.
3. **Селифонов А.А.**, Тучин В.В. Управление оптическими свойствами тканей десны и дентина зуба человека на лазерных линиях в диапазоне 200–800 нм // Квантовая электроника. - 2020. - Т. 50. - № 1. - С. 47–54.
4. **Селифонов А.А.**, Тучин В.В. Оптические свойства дентина зуба человека при иммерсии *in vitro* в глюкозе и кинетика этого процесса // Оптический журнал. - 2020. – Т. 87 - вып.03. - С.46-55.
5. **Селифонов А.А.**, Тучин В.В. Определение коэффициента диффузии 40%-глюкозы в ткани десны человека оптическим методом // Оптика и спектроскопия. - 2020. – Т. 128. - вып. 6. - С. 760-765.

6. **Selifonov A.A.**, Zyuryukina O.A., Lazareva E.N., Skibina J.S., Zagorovskaya T.M., Syrova O.V., Aleshkina O.Yu., Tuchin V.V. Measurement of Optical Properties of Human Gums and Dentin in the Spectral Range from 200 to 800 nm [Селифонов А.А., Зюрююкина О.А., Лазарева Е.Н., Скибина Ю.С., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Алешкина О.Ю., Тучин В.В. Измерение оптических свойств десны и дентина человека в спектральном диапазоне 350–800 нм] // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Физика. - 2020. - Т. 20. - вып. 4. - С. 258-267.
6 публикаций в изданиях, индексируемых в международных реферативных базах данных и системах цитирования Web of Science и/или Scopus:
7. **Selifonov A.A.**, Tuchin V.V. Determination of the kinetic parameters of glycerol diffusion in the gingival and dentinal tissue of a human tooth using optical method: *in vitro* studies // Optical and Quantum electronics. - 2020. - Vol. 123. - №52.
8. **Selifonov A.A.**, Tuchin V.V. Diffusion of methylene blue in human dentin in the presence of glucose: *in vitro* study // Proc. SPIE: 11065. Saratov fall meeting 2018: optical and nano-technologies for biology and medicine - 2019. - Article number 10651Y.
9. **Selifonov A.A.**, Zagorovskaya T.M., Syrova O.V., Aleshkina O.Yu., Zimnyakov D.A., Tuchin V.V. Optical properties of human gums after photodynamic therapy with methylene blue (*in vitro*) // Proc. SPIE:11223, photonic diagnosis, monitoring, prevention, and treatment of infections and inflammatory diseases - 2020. - Article number 1122315. SJR 0.24.
10. **Selifonov A.A.**, Tuchin V.V. Determination of the diffusion coefficient of rivanol in dentin of a human tooth *in vitro* // Proc. SPIE: 11359, biomedical spectroscopy, microscopy, and imaging - 2020. - Article number 113591S.
11. **Selifonov A.A.**, Tuchin V.V. Tissue Optical Clearing in the Ultraviolet for Clinical Use in Dentistry to Optimize the Treatment of Chronic Recurrent Aphthous Stomatitis // J-BPE. - 2020. - Vol. 6. - №4. - P. 040301-1 -6.

12. Carneiro I., Carvalho S., Henrique R., **Selifonov A.**, Oliveira L., Tuchin V.V. Enhanced Ultraviolet Spectroscopy by Optical Clearing for Biomedical Applications // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. - 2021. - Vol. 27. - № 4. - P. 9153126-9153126-8.

11 публикаций в других изданиях:

13. **Selifonov A.A.**, Aleshkina O.Yu., Zagorovskaya T.M., Syrova O.V., Tuchin V.V. Determination of diffusion coefficients of photosensitizers in human oral mucosa // Asian Journal of Physics. - 2020. - Vol. 29. - № 3 & 4. - P.329-336.
14. **Селифонов А.А.**, Тучин В.В. Разработка персонифицированного подхода при выявлении патологических участков слизистой оболочки полости рта на основе определения проницаемости десны к метиленовому синему // Молекулярная медицина. – 2021. – Т. 19. - №1. - С. 47-53.
15. **Селифонов А.А.**, Алешкина О.Ю., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Тучин В.В. Изменение оптических свойств ткани слизистой десны человека при «просветлении» *in vitro* // Сборник трудов XIV всероссийской конференции молодых ученых: «Наноэлектроника, нанофотоника и нелинейная физика». - Изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2019. - С. 233-234.
16. **Селифонов А.А.** Частота возникновения, тяжесть течения и сопутствующие заболевания хронического рецидивирующего афтозного стоматита // Актуальные вопросы стоматологии: сборник всероссийской научно-практической конференции с международным участием / Под ред. Л.М. Железнова, - Киров: Кировский государственный медицинский университет. - 2020. - С.232-236.
17. **Селифонов А.А.**, Алешкина О.Ю., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Тучин В.В. Спектроскопия диффузного отражения в определении основных эндогенных хромофоров ткани слизистой десны // Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «Наноэлектроника,

- нанофотоника и нелинейная физика». - Изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С. 233-234.
18. **Селифонов А.А.** Анализ стоматологического статуса пациентов детской поликлиники №3 г. Саратова Волжского района // Сборник научных работ X межвузовской научно-практической конференции студентов и молодых ученых, «Актуальные проблемы стоматологии» / под общ. Ред. Н.А. Лысова. – Самара: медицинский университет «Реавиз». - 2020. - С.217-218.
 19. **Селифонов А.А., Тучин В.В.** Влияние концентрации глицерина на эффективность оптического просветления слизистой ротовой полости // сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика», изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С. 235-236.
 20. **Селифонов, А.А.** Определение проницаемости десны к люголю / А.А. Селифонов, В.В. Тучин // Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика», изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С.237-238.
 21. **Селифонов А.А.** Определение микробиологического патогена пациентов с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом. Сборник научных работ X межвузовской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. «Актуальные проблемы стоматологии» / под общ. Ред. Н.А. Лысова. – Самара: медицинский университет «Реавиз». - 2020. - С. 218-220.
 22. **Селифонов А.А.** Изменения некоторых показателей ротовой жидкости при включении в комплексное лечение хронического рецидивирующего афтозного стоматита у детей процедур светолечения. Актуальные вопросы детской стоматологии: сборник всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. Л.М. Железнова. – Киров: Кировский государственный медицинский университет. - 2021. - С.124-127.

23. **Селифонов А.А.**, Алешкина О.Ю., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Тучин В.В. Определение коэффициентов диффузии некоторых фармпрепаратов в ткани десны спектроскопическим методом (*in vitro*) // Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «Наноэлектроника, нанопотоника и нелинейная физика», Изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С.239-240.

1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

1.1. Терапевтическое применение изменения (управления) оптических параметров биотканей.

Одним из актуальных и перспективных направлений современной медицины является оптическая тераностика, объединяющая диагностику и терапию в рамках единой оптической технологии. Фотодинамическая терапия является хорошим примером тераностики, когда один и тот же препарат используется сначала как флуорофор, показывающий через возбуждение флуоресценции пораженные участки ткани при малой интенсивности оптического облучения, и как генератор больших количеств синглетного кислорода при достаточно высоких уровнях плотности мощности излучателя [6, 7]. Персонафицированное лечение пациента с улучшенной эффективностью для патологических очагов и безопасностью для здоровых тканей, которое является частью направления медицины 4П, включает также и подходы тераностики [32]. Значительное усовершенствование оптических систем и агентов-маркеров патологий для получения изображений биологических объектов, позволило получать пространственные характеристики патологических процессов на клеточном и молекулярном уровнях на достаточно ранних этапах формирования [1]. Вследствие неинвазивности, отсутствия ионизирующих воздействий (видимый и ближний инфракрасный диапазоны), потенциальной возможности многопараметрической диагностики, применения в светолечении, фотодинамической терапии и др., оптическое излучение является достаточно привлекательным с точки зрения морфофункциональной диагностики биотканей. В медицинской практике используется весь диапазон длин волн оптического излучения от короткого ультрафиолетового (УФ) до терагерцового [1, 3-5]. В качестве агентов маркеров, способных аккумулироваться в патологических очагах, часто применяются красители, фотосенсибилизаторы, наночастицы, вещества способные флуоресцировать и др., однако поиск наименее токсичных и эффективных веществ-маркеров продолжается в настоящее время. Так, была

исследована 5-аминолевулиновая кислота, как агент для тераностики в стоматологии. Доказана сильная двойная модальность данного агента: посредством фотодинамической инактивации происходит уничтожение кариогенных бактерий (*Streptococcus sanguis*) и повышение интенсивности лазерно-индуцированной флуоресценции (при 620 нм) для выявления кариеса зубов [33]. Исследуются возможности оптического зондирования глюкозы и глюкозооксидазы оптическими методами по спектру поглощения наночастиц золота на основе поверхностного плазмона наночастиц металла в слюне [34]. В качестве нового эффективного антибактериального средства против кариесогенных бактерий исследовали нанокластеры серебра (нанокompозит розового бенгала (AgNCs / RB) в качестве нового фотосенсибилизатора, который при облучении белым светодиодом способен как генерировать синглетный кислород, так и высвободить ионы Ag⁺. Выявлен длительный значительный антибактериальный эффект к *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, длительность действия которого обусловлена высвобождением ионов Ag⁺, и низкая цитотоксичность [35].

Красители давно и успешно применяются в медицине в качестве экзогенных хромофоров для увеличения эффективности взаимодействия света с биологической тканью в качестве контрастных веществ и фотосенсибилизаторов при диагностике и фотодинамической терапии [36]. Так, например, эффективность применения в качестве фотосенсибилизатора МС совместно с красным лазерным излучением была исследована в работах *in vitro* и *in vivo* [27, 37-39].

Изучено применение индоционинового зеленого в качестве контрастного вещества при визуализации онкологических заболеваний, увеличение его антибактериальной активности при изучении воздействия инфракрасного (805 нм) лазерного излучения *in vitro* [40-42]. Выявлено увеличение антибактериальной эффективности отечественного препарата «Фотодитазин», состоящего из группы хлорина Е6 при сочетании лазерного излучения с длиной волны 660 нм на рост штаммов *Staphylococcus aureus in vitro* и *in vivo* в составе комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести [43].

Исследована эффективность применения антибактериальной фотодинамической терапии с гиперацин-глюкамином в качестве фотосенсибилизатора и светодиодного излучения (590 нм) для лечения прогрессирующего экспериментально индуцированного пародонта у крыс [44]. Компьютеризированный микротомографический анализ и гистометрические оценки фуркальной области показали, что в группе получающей фотодинамическую терапию, процент костной ткани был значительно выше по сравнению с другими экспериментальными группами [45]. При лечении периимплантита антимикробная фотодинамическая терапия рассматривается как альтернативный терапевтический метод. МС, в качестве фотосенсибилизатора, показал эффективность при обработке титановых сплавов, загрязненных биопленкой грамотрицательных (*P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans*) и грамположительных (*S. mutans*) бактерий при исследованиях *in vitro*. Авторами было выявлено, что элиминация бактерий более эффективна при увеличении концентрации красителя и времени облучения, также обнаружен сдвиг рН в сторону кислотности в кислых и щелочных средах, однако в нейтральных средах рН практически не изменяется [46].

Предложена новая компактная система для визуализации пространственного распределения интенсивности флуоресценции фотодитазина для антибактериальной фотодинамической терапии в стоматологии. Система включает в себя видимую камеру и фиолетовый лазерный диод. Интраоральные флуоресцентные изображения, полученные с использованием предложенной системы, могут быть использованы для диагностики остаточного количества патогенных микроорганизмов [47].

Выявлена антибактериальная эффективность МС и лазерного излучения 660 нм применительно к штаммам *Staphylococcus aureus in vitro* и *in vivo* в составе комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести [27]. Оценка бактериальной нагрузки после включения в протокол традиционного эндодонтического лечения антимикробной фотодинамической терапии в молочных зубах с использованием 0.005% МС, индуцированного

лазерным излучением в течение 40 с (длина волны: 660 нм, плотность энергии: 4 Дж / см², мощность: 100 мВт) при прямом контакте на входе в корневой канал, оказалось без статистически значимой разницы с традиционным лечением [48]. Клинические исследования включения фотодинамической терапии в схему лечения пациентов с эрозивно-язвенной и осложненными формами красного плоского лишая слизистой оболочки рта показывают патогенетическую обоснованность, повышение эффективности комплексной терапии, увеличение длительности ремиссии и уменьшение количества рецидивов [36, 42].

При использовании различных красителей, агентов-маркеров, флуорофоров и др., достигается увеличение поглощения биологических тканей на определенных длинах волн, что эффективно применяется в антимикробной фотодинамической терапии с использованием высокой реактивности синглетного кислорода, в методе селективного фототермолиза, который обеспечивает тепловое воздействие на определенную область, не затрагивая окружающие ткани [49], при фотоотбеливании зубов и лазеротерапии [50, 51]. Антибактериальная фотодинамическая терапия с использованием красителей - принципиально новый метод воздействия на воспалительный процесс, который не имеет ничего общего с механизмом действия антибиотиков или антисептиков и основанный на применении разрушительного действия энергии фотохимических реакций. Антибактериальная фотодинамическая терапия в настоящее время активно изучается для борьбы с определенными вирусами, бактериями и грибковыми формами инфицирования. Для запуска фотодинамической реакции необходимо использовать фотосенсибилизатор и свет определенной длины волны [52]. В качестве альтернативы антибактериальной терапии авторы использовали антимикробную фотодинамическую терапию с использованием лазерного излучения различных диапазонов: 400-500 нм [53-56]; красного и инфракрасного диапазонов [27, 57].

МС давно известен как недорогой, доступный, практически не токсичный и не проникающий в системный кровоток при местном применении препарат, который обладает антимикробными и фотосенсибилизирующими свойствами. МС

давно и успешно применяется в стоматологии для диагностики участков деминерализации зубов, при определении стоматологических индексов гигиены, для ускорения регенерации слизистой и подавления патогенов в твердых и мягких тканях пародонта [58, 59]. МС - это основной тиазиновый краситель. Активным действующим веществом препарата является хлорид метилтиониния. Механизм действия этого препарата основан на его способности образовывать малорастворимые комплексные соединения с мукополисахаридами и белками бактериальной клетки, что приводит к гибели микроорганизмов и определяет его темновую токсичность.

Из большой группы стоматологических заболеваний одним из наиболее распространенным является кариес, который способствует их потере. Современное понимание причин возникновения кариеса в первую очередь связано с воздействием микроорганизмов на твердые ткани зуба [60]. При недостаточном уходе за полостью рта и отсутствии профилактических мер на поверхности зуба образуется налет, содержащий микроорганизмы. Под зубным налетом рН снижается до критического уровня (4.5-5.0), ферментативные системы микроорганизмов повреждают эмаль, а затем дентин, образуются органические кислоты, которые вступают в непосредственный контакт с минеральными компонентами зуба, разрушая его. Важнейшей задачей в лечении и профилактике стоматологических заболеваний является терапия, направленная на контроль микробного состава полости рта с помощью местных антимикробных средств [61]. Хлоргексидина биглюконат и триклозан - самые популярные противомикробные ингредиенты, которые используются при лечении зубов ведущими производителями средств гигиены полости рта. Однако и у этих препаратов есть недостатки. Например, эффективная антимикробная активность раствора хлоргексидина биглюконата проявляется в высокой терапевтической концентрации (более 0.2%) и имеет выраженный дозозависимый эффект [62]. В то же время доказано, что уже 0.1% раствор хлоргексидина оказывает грубое и нефизиологическое действие на микрофлору ротовой полости и не рекомендуется для использования в педиатрической практике [63, 64].

Зубной налет и бактериальные биопленки, образующие их на поверхности зубов, играют ключевую роль в патогенезе заболеваний пародонта, эндодонтических инфекций, кариеса и многих других состояний, выходящих за пределы полости рта [65]. Среди методов лечения, разработанных для удаления зубного налета, часто используются механические нарушения и антисептические средства, но эффективность этих методов ограничена появлением резистентных патогенов [66]. Было показано, что использование лазерного излучения для удаления зубного налета является эффективным, но вызывает термическое повреждение тканей зуба [67]. Антимикробная фотодинамическая терапия может удалять биопленки полости рта с зубов практически без побочных эффектов [68-72] и показал свою эффективность в клинических исследованиях при лечении бактериальных заболеваний пародонта [73].

Благодаря значительному развитию оптических и в частности лазерных методов, используемых, как для неинвазивной медицинской диагностики, так и для лазерной терапии, актуальной является проблема, связанная с увеличением глубины проникновения излучения в биологические ткани, которая решается с помощью применения иммерсионных просветляющих агентов, в том числе и гиперосмотических, таких как глицерин и глюкоза. Основным источником рассеяния света в биотканях является неоднородность показателя преломления за счет различия его значений для компонентов биотканей, т.е. митохондрий, ядер, других органелл и цитоплазмы клеток; или для внутритканевой жидкости и структурных элементов соединительной (фиброзной) ткани (коллагеновых и эластиновых волокон). При введении в биоткань иммерсионной жидкости, имеющей показатель преломления больший, 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 [74]. Авторами [18] исследовалась кинетика коллимированного пропускания слизистой оболочки желудка под действием водного 40% раствора глюкозы. Было установлено, что

применение данного просветляющего агента увеличивает глубину проникновения света от 5% до 15%, в зависимости от выбранного спектрального диапазона. Изменение кинетики коллимированного пропускания твердой мозговой оболочки человека *in vitro* в диапазоне 400-700 нм 40% раствора глюкозы описано в [29]. Определен коэффициент проницаемости твердой мозговой оболочки для глюкозы, равный $(1.3 \pm 0.13) \cdot 10^{-4}$ см/с, что увеличивает значения коллимированного пропускания и способствует просветлению биоткани. При исследовании оптических свойств слизистой прямой кишки в диапазоне от 200 до 1000 нм, обработанной водно-глицериновыми растворами, авторами [25] 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 слизистой создает два новых оптических окна с пиками эффективности пропускания при 230 нм и 300 нм, что открывает возможность разработки клинических процедур для постановки диагноза или лечения в ультрафиолетовом диапазоне. Для создания корректных методик с оптимальным режимом использования потенциально высокотравматичного лазерного излучения, сеансов фотодинамических процедур и физиотерапевтического светолечения, а также при проведении диагностических процедур, основанных на количественном определении концентрации контрастного агента внутри нормальных и патологически измененных биотканей (томографические, флуоресцентные методы и др.), актуальным является вопрос определения проницаемости биоткани к тому или иному препарату и коэффициента диффузии агента в биологической ткани. Несмотря на значительный научный интерес к тераностике и светолечению, количественные показатели транспорта и взаимодействия препаратов в биологических тканях, необходимые для внедрения в клиническую практику, не всегда приводятся. Поскольку структура биологических тканей сложна, и процессы диффузии различных лекарственных составов и веществ имеют нелинейные решения, определение количественных кинетических характеристик - важная и актуальная биофизическая задача.

1.2. Оптические методы, применяемые для диагностики и лечения заболеваний, а также исследования биологических тканей в стоматологии.

Научно-технический прогресс последних десятилетий поднял медицину на новый, более высокий уровень. Совершенствование оптических систем, открытие лазерных и светодиодных источников, широкое использование компьютеров, микропроцессоров и разработка новых технологий получения трехмерных изображений позволили сделать огромные изменения в технологии получения изображений. Оптические методы визуализации тканей и диагностики заболеваний у людей все чаще используются в различных областях медицины [1, 3, 5]. Обзор новых методов оптической визуализации, гауссовой лучевой оптики, рассеяния света, нелинейной оптики и оптической томографии тканей и клеток представлен в работе [75]. Например, оптическая визуализация глубоких слоев тканей используется для дифференциации злокачественных новообразований на ранних стадиях, включая оптическую когерентную томографию, флуоресцентную и рамановскую спектроскопию, волоконно-оптические технологии для доставки излучения к патологическим участкам и обратно портативным системам визуализации и другие [76]. В рамках методов автофлуоресценции становится возможным неинвазивно количественно определять содержание эндогенных хромофоров тканей *in vivo* (окси- и дезоксигемоглобин, меланин, билирубин и др.) [77].

Автор обзора приводит таблицы оптических свойств (поглощение, рассеяние, анизотропия, пониженное рассеяние, показатель преломления) различных биологических тканей, измеренных в некоторых (или многих) длинах волн [3].

Для полуколичественной оценки проницаемости дентина и фотосенсибилизаторов *in vitro* был использован метод фотоакустической спектроскопии [78]. Анализ спектров, зарегистрированных *in vivo* при возбуждении непрерывного лазера на длине волны 325 нм He-Cd-лазером, позволил различить качественно нормальные, потенциально злокачественные и злокачественные участки слизистой оболочки полости рта. При сборе

оптимального объема данных и составлении соответствующей базы данных его можно использовать в клинической диагностике [79]. Предложен алгоритм обследования для более точной идентификации патологического процесса в СОПР с помощью прямой автофлуоресцентной визуализации ткани и микроскопии биопсийного материала [80, 81]. Используя метод автофлуоресцентной визуализации СОПР (автофлуоресцентная стоматология с использованием светодиодного осветителя AFS-400 с длиной волны излучения 400 ± 10 нм и специальных очков), авторам удалось обнаружить веррукозную лейкоплакию, плоский лишай и плоскоклеточный рак [82]. Использование цветовых пространств, известных как CIELAB, позволило оценить цветовые параметры тканей полости рта в норме и при патологических изменениях [83-87].

Авторы определили соотношение цветовых координат естественных зубов *in vivo* и зубных вкладок после лечения [88, 89]. Прижизненная неинвазивная визуализация с высоким разрешением структуры тканей полости рта с помощью оптической когерентной томографии в различных ее вариантах демонстрирует превосходную способность выявлять и диагностировать предраковые, ранние формы рака, дисплазию и злокачественные новообразования эпителия слизистой оболочки [90-93]. Авторы использовали оптическую когерентную микроскопию для определения коэффициента рассеяния при измерении нормального эпителия полости рта (*ex vivo*) $\mu_s = 27 \pm 11 \text{ см}^{-1}$ при 855 нм [94]. Оптическая толщина слоев десны человека, измеренная с помощью оптической когерентной томографии с зондом для измерений *in vivo* (азиатская волонтерка 30 лет), составила ~ 237 мкм для эпителия (EP) и 830 мкм для собственной пластинки (LP) (прикрепленная десна) [95]. Разработанная методика гибридной рамановской спектроскопии и оптической когерентной томографии способна одновременно получать как морфологическую, так и биохимическую информацию о ткани полости рта *in vivo*, облегчая диагностику и определение характеристик ткани в реальном времени [96].

Оптическая когерентная томография также позволяет диагностировать кариес на стадии белого пятна, увеличение оптического проникновения с помощью оптических антиотражающих агентов, а также улучшить видимость

подповерхностных окклюзионных поражений и дентина-эмалевых соединений в очагах деминерализации, проницаемости биологических ткани [97, 98].

Авторы оценили автоматический мобильный микроскоп как скрининг рака полости рта с использованием упрощенных протоколов для окрашивания слизистой оболочки полости рта и мобильного микроскопа на основе планшета для облегчения локального сбора цифровых изображений и удаленной оценки изображений врачами, которые показали соответствие с существующими методами гистологии и цитологии [99]. Коэффициент пропускания тканей полости рта исследован в публикациях [100-104]. Коэффициент эпителиального рассеяния здоровой СОПР в исследованиях *in vivo* с использованием спектроскопии диффузного отражения был определен как $\mu_s = 42 \text{ см}^{-1}$ при 810 нм и $\mu_s = 39 \text{ см}^{-1}$ при 855 нм. [105]. Авторы определили соответствие оптических свойств нового органотипического заменителя слизистой оболочки полости рта на основе фибрин-агарозных каркасов, который предлагается использовать для замены иссеченных тканей полости рта и нативной слизистой оболочки ротовой полости, используя метод удвоения обратного сложения (IAD), основанный на измерениях интегрирующей сферы [106]. Оптические свойства дёсен свиней были изучены при изготовлении материала для фантома человека для последующего использования в прототипе роботизированной системы для лазерной челюстно-лицевой хирургии [107]. В последние десятилетия значительно возросло применение лазерных технологий во многих областях медицины, в частности стоматологии и косметологии, для обеспечения различных видов воздействия на мягкие и твердые ткани [108]. В последние десятилетия область применения лазеров в медицине и в стоматологии в частности значительно расширилась, повысив эффективность, точность локализации и комфорт стоматологического лечения для пациентов [109]. Лазерное излучение применяется для профилактики и лечения кариеса, препарирования полостей, отбеливания, гиперчувствительности дентина, модуляции роста, а также в диагностических целях. В мягких тканях оно используется для заживления ран, удаления гиперпластической ткани для открытия ретинированного или частично прорезавшегося зуба, фотодинамической

терапии злокачественных новообразований и фотостимуляции герпетических поражений и др. Первый лазер, разработанный специально для стоматологии и получивший официальное разрешение, был представлен в США 3 мая 1990 года Майерсом. Использование лазерной терапии во внутриротовой хирургии десен и слизистых оболочек обеспечивает рану без швов, боли и кровотечения и удобство проведения процедуры для стоматолога и пациента. Лазеры в стоматологии можно классифицировать по различным факторам, включая активную среду лазера, такую как газ, жидкость, твердое тело и полупроводник, которая определяет тип испускаемого лазерного луча. Также их можно классифицировать по используемой лазерной среде как газовый лазер и твердотельный лазер. Кроме того, они могут быть классифицированы в зависимости от применимости лазеров для твердых и мягких тканей или в зависимости от длины волны и риска, связанного с применением лазера [110-112]. В физиотерапии применяют излучение порядка 1–6 мВт/см. Одним из первых газовых лазеров был гелий-неоновый лазер, в котором использовались зеленая и инфракрасная длины волн. Лазеры, основанные на диоксиде углерода, NdYAG и Er: YAG (иттрий-алюминий-гранат с примесью эрбия) относятся к так называемым «жестким» лазерам, которые используются как для твердых, так и для мягких тканей, но они имеют ограничения, поскольку они дороги и вызывают термическое повреждение пульпы зуба. Лазер на диоксиде углерода считается одним из самых мощных лазеров и является гидрофильным, обеспечивая быстрое удаление мягких тканей и гемостаз с малой глубиной проникновения. Помимо хорошего гемостаза, Nd: YAG-лазер хорошо поглощается пигментированной тканью, что делает его очень эффективным при хирургическом разрезании и коагуляции мягких тканей. Более того, было зарегистрировано, что его можно использовать для борьбы с заболеваниями пародонта. У эрбиевого лазера две длины волны: Er, Cr: YSGG (иттрий-скандий-галлиевый гранат) и Er: YAG-лазер. Высокое сродство к гидроксиапатиту и высочайшее водопоглощение делают его лучшим выбором для лечения твердых тканей, а также абляции мягких тканей с высоким процентным содержанием воды [110, 113, 114]. Лазеры, основанные на диодном устройстве, компактны и имеют низкую стоимость. Их

обычно называют низкоинтенсивной лазерной терапией или «мягкими» и холодными лазерами - это недавно разработанный нехирургический метод, который находит применение в медицине, стоматологии и физиотерапии. Взаимодействие этого типа лазерного света с живыми тканями заключается в биостимуляции без чрезмерного повышения температуры, который снижает частоту отеков и воспалений. Низкоинтенсивное лазерное излучение вызывает ускоренное заживление ран и облегчение боли, подавляя ноцицептивные сигналы. Лазерное излучение накапливает субтепловую энергию в тканях, которая действует на субклеточный компонент, стимулирует различные клеточные лимфоциты и тучные клетки, которые оказывают противовоспалительное действие, вызывая изменения капиллярного гидростатического давления, что приводит к абсорбции отека и устранению промежуточных метаболитов, также может увеличить выработку коллагена, митотическую активность эпителиальных клеток и фибробластов [115]. Лазеры используются в пародонтологии для обработки патологических карманов, гингивотомии, гингивэктомии, а также для дезэпитализации тканей и подготовки перед снятием зубных отложений. В эндодонтии лазерное излучение применяется для стерилизации корневых каналов. [116, 117]. Терапевтический лазерный свет поглощается фоторецепторами биологической ткани, стимулирует биологические процессы и воздействует в основном на клетки в реакции окисления и восстановления. Наиболее важным является повышение уровня аденозинтрифосфата, который в основном вырабатывается в конце цикла Кребса, когда цитохром фотонакцепторного фермента подавляется оксидом азота. Лазерный свет инициирует связывание между оксидом азота и цитохром-с оксидазой, что позволит ему возобновить действие и производство фермента аденозинтрифосфата. Принцип состоит в том, чтобы подавать прямую биостимулирующую энергию в клетки тела, а клеточные фоторецепторы также будут поглощать низкоуровневый лазерный свет, который будет производить АТФ [118]. Терапевтический диодный лазер мощностью менее 500 мВт FDA относит к устройствам с низким уровнем риска, однако низкоинтенсивное лазерное излучение имеет абсолютные противопоказания для

пациентов с нарушениями свертывания крови, поскольку оказывает прямое влияние на кровоток, и в случаях злокачественных новообразований – т.к. стимулирует рост клеток [115, 119]. В хирургических диодных лазерах с длиной волны 800-830 нм используется активная среда, состоящая из алюминия, галлия и арсената; эта среда также используется в диодном лазере 980 нм, а также в диодном лазере 1064 нм. Nd-YAG лазеры включают YAG, который представляет собой кристаллы иттрия, скандия, галлия и граната, легированные эрбием и хромом; однако Er: YAG на длине волны 2940 нм использует эрбий в качестве легирующего агента, а длина волны 10 600 нм использует диоксид углерода [120]. В последнее время дефекты поверхности зуба в шейном отделе часто восстанавливаются с помощью композитных пломбировочных материалов, который должен соответствовать потребностям пациентов в отношении эстетики и устойчивости материала. Использование лазера Er: YAG при мощности 3.4 Вт, энергии 170 мДж, частоте 20 Гц, длительности импульса 300 мкс, диаметре наконечника 0.8 мм, при воздушно-жидкостном охлаждении 3 мл/с и времени облучения: 6 с, позволяет полностью удалить композитный материал из полости зуба (под цементно-эмалевым переходом, исследования *in vitro*) [121]. Удаление ортодонтических скоб с помощью обычных плоскогубцев может привести к трещинам эмали. Чтобы избежать повреждения поверхности эмали и эффективно удалить металлические или керамические брекеты, для отслаивания используются различные типы лазеров, такие как Nd: YAG, CO₂, TM: YAP, диодный лазер или Er: YAG. Исследование по удалению скоб с помощью лазера Er: YAG вызывает незначительное повышение температуры пульпы и снижает риск повреждения эмали по сравнению с обычным удалением брекетов [122-124]. Смесь некоторых благородных газов, таких как аргон, криптон и ксенон, с химически активными газами создает особый тип газового разряда, который называется эксимерным лазером, которые обеспечивают множество длин волн видимого и УФ излучения [125]. В настоящее время существует множество длин волн лазеров, которые используются в стоматологии, в частности в хирургии полости рта, включая CO₂, аргон, Nd YAG, KTP, которые применяются в различных областях стоматологии,

включая диагностику и удаление кариеса, светоотверждение композита, контроль кровотечения при поражении сосудов. Кроме того, они используются в хирургии височно-нижнечелюстного сустава, активации растворов для отбеливания зубов и процедурах мягких тканей, например, гингивэктомии, гингивопластике, удалении опухолей, удалении биопсий и восстановлении имплантатов на втором этапе [115, 126].

В последнее время наблюдается всплеск рандомизированных контролируемых исследований, в которых основное внимание уделяется влиянию НИЛИ на различные факторы, такие как заживление ран, рубцы, проблемы с височно-нижнечелюстным суставом, мукозит полости рта и зубная боль [127-129]. Низкоинтенсивное лазерное излучение было введено специально для лечения типа красного плоского эрозивного лишая с минимальными побочными эффектами. Существует два типа эффектов, которые производит низкоуровневый лазер: первичный и вторичный. В первую очередь, это вызывает расширение сосудов, лимфодренаж, клеточную активность и метаболизм, усиление кровотока, активацию фибробластов и нейтрофилов и стимуляцию болевого порога. Вторичным эффектом является агрегация простагландина, иммуноглобулина и лимфоцитов, а также бета-эндорфина в тканевом энцефалине. Следовательно, это уменьшит инфекцию и воспаление, боль, болезненность и иммунный ответ [130].

Эффективно применение лазеров в хирургической медицине. Операционные раны, выполненные с помощью излучения диодных лазеров (808 - 980 нм) и твердотельного Nd:YAG лазера (1064 нм) отличаются от традиционных методик отсутствием кровотечения, сохранением микроциркуляторного русла вокруг операционного поля, стерильностью, сохранением жизнеспособности краев раны и, как следствие, значительно более коротким периодом реабилитации, меньшими болевыми ощущениями [131]. В стоматологии, лазерное излучение может использоваться как катализатор для активации перекисных соединений при проведении процедур отбеливания зубов. Лазерное излучение вызывает в тканях явление гомогенного фототермолиза в виде ярко выраженного фототермического эффекта, при котором эндогенными хромофорами являются различные формы

гемоглобина, вода, а также белковые структуры и тканевый детрит [132]. Взаимодействие интенсивного импульсного излучения лазера с твердыми тканями зуба приводит к разрушению кристаллической решетки гидроксиапатита за счет поглощения и резкого возрастания кинетической энергии –ОН групп гидроксиапатита, а также испарения гидратной оболочки кристалла, происходящего в микросекундный промежуток времени, так называемый «микровзрыв» [131, 132]. Данный механизм действия определяет значительные преимущества лазерной технологии препарирования твердых тканей зубов перед традиционным препарированием с помощью контактных буров. В результате множественных микровзрывов препарированная поверхность состоит из множества кратеров, что приводит к значительному увеличению площади соприкосновения тканей зуба с пломбировочным материалом. В результате 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 [133-135]. Широко применяется лазерная терапия и для лечения мягких тканей периодонта [136, 137].

Для нехирургической периодонтальной терапии с проявлением антибактериальных эффектов рекомендуется применять АИГ: Ег-лазер (2940 нм) с энергией импульсов 140-160 мДж и частотой повторения 10 Гц [138]. Клинические исследования 25 случайно отобранных пациентов, показали, что комбинированный курс АИГ: Ег (2940 нм) и АИГ: Nd (355 нм) лазерной терапии, может быть полезен при лечении воспалительных заболеваний пародонта, особенно в труднодоступных местах, таких как глубокие десневые карманы [139]. При проведении систематических обзоров в области использования лазеров в широком спектре клинических случаев, связанных с лечением заболеваний пародонта и периимплантатов, членами экспертной группы Американской Академии Пародонтологии было установлено, что разнообразие лазеров, применяемых в клинической практике, а также, значительное разнообразие используемых

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 определенных длинах волн [140].

Оптические методы имеют большие перспективы применения в медицине и в стоматологии, в частности, т.к. являются неинвазивными прижизненными методами и обладают высокой точностью визуализации, отсутствием побочных эффектов при терапевтическом применении. При кариозном поражении зубов, а также при наличии начального острого кариеса в стадии белого пятна, наблюдается значительное увеличение интенсивности свечения (флуоресценция). Значительный интерес представляют исследования интактных зубов, а также дентина во время, и после препарирования [141-144].

Лазерная флуоресцентная диагностика, как новый неинвазивный метод, появившийся в стоматологии в последнее десятилетие использует аналогичные биофизические явления, когда здоровые эмаль и дентин флуоресцируют слабо, а области зубов, пораженные кариесом - намного сильнее из-за продуктов метаболизма (в основном молочные кислоты), вызывающих кариес бактерий, надежно фиксируются. Интенсивность флуоресценции прямо указывает на наличие и степень активности кариеса. Клиническую оценку состояния твердых тканей зуба при кариесе и деминерализации *in vivo* проводят, например, с помощью лазерных аппаратов «KaVo KEY Laser 3», «KaVo DIAGNOdent», что позволяет определить зуб с наибольшей кислотной атакой с эффективностью до 82% [145].

Для оценки состояния мягких тканей пародонта разработан новый метод - оптическая оксиметрия тканей с помощью лазерных источников излучения, что позволяет изучать *in vivo* механизмы регуляции оксигенации периферической крови. Оценка параметра SO_2 («насыщение» - отношение количества оксигемоглобина к общему количеству гемоглобина в крови) в анализаторе основана на различии оптических свойств оксигенированного (HbO_2) и

дезоксигенированные (Hb) фракции гемоглобина, содержащиеся в исследуемом объеме крови биологической ткани, при зондировании в зеленом и красном диапазонах длин волн. Многофункциональный лазерный диагностический комплекс ЛАКК-02 позволяет проводить исследования *in vivo*. Проводится оптическое определение концентрации эндогенных хромофоров в клеточных структурах пародонта, а также оценка микроциркуляции в определенном объеме ткани, а лазерная спекл-визуализация позволяет получить карты распределения микроциркуляции [146, 147].

Исследование проницаемости тканей зуба человека по отношению к различным химическим агентам и фармпрепаратам представляет также интерес в связи с широким кругом проблем, связанных с лечением зубов и уходом за ними. Диффузия в дентине широко применяемых в клинической практике агентов для отбеливания изучалась в связи с обнаружением цитотоксичности этих агентов [148]. Проникновение агентов при определении силы адгезии различных материалов, применяемых для создания и покрытия костных имплантатов, а также при изменении адгезии различных видов бактерий на поверхности зуба и в корневых каналах, что является одной из причин возникновения кариеса, изучалось в работах [149, 150]. Методом флуоресцентной микроскопии была проанализирована проницаемость бактерий, в частности *Streptococcus mutans*, *Fusobacterium nucleatum* и *Porphyromonas gingivalis*, в дентине *in vitro* [151, 152]. Изучались оптические свойства дентина при устранении окраски после эндодонтического лечения корневого канала зуба МС [153].

Светодиоды представляют собой монохроматические, некогерентные светоизлучающие устройства с более широким диапазоном длин волн (λ 360-950 нм), чем лазеры [154]. Как при лазерном, так и при светодиодном облучении, в зависимости от длины волны, фотоны поглощаются цитохром-С-оксидазой или другими фоторецепторами (гемоглобином, белками фибрилл, водой), что может привести к усилению клеточного метаболизма за счет стимуляции выработки аденозинтрифосфата (АТФ). В то же время наблюдается увеличение ионного градиента (ион кальция, натрий / калий и АТФ аза) и повышенное количество

оксида азота. Дополнительный АТФ используется для усиления и нормализации многих вторичных процессов при нормализации функции клеток, что приводит к заживлению тканей при воспалительных процессах [155-160]. Воспалительная реакция в периодонтальной связке обусловлена, в том числе высвобождением химических медиаторов, включая гистамин, простагландины, серотонин и брадикинин, которые связаны с гипералгезией [161]. В последние годы использование фототерапии привлекает все большее внимание стоматологов, поскольку она способствует заживлению воспалительных процессов, уменьшает боль, стимулирует восстановление костей, обеззараживает и имеет минимальные побочные эффекты [162-167]. Фототерапия может изменять нервную проводимость, влияя на синтез, высвобождение и метаболизм различных нейрхимических веществ, включая эндорфины и энкефалин [168]. Клинические исследования выявили анальгезирующий эффект светотерапии. Высказано предположение, что влияние света на облегчение боли может быть связано с его ингибирующим действием на деполяризацию нервов (особенно С-волокон) при реактивации ферментов, нацеленных на факторы, вызывающие боль, на выработку АТФ и снижение уровня простагландинов [169-170]. И лазерная, и светодиодная фототерапия оказывают схожие эффекты на ткани, как при заживлении, так и при восстановлении, а также при контроле воспаления и пролиферации клеток. В настоящее время светодиодная фототерапия применяется как альтернатива лазерному свету в качестве обезболивающей процедуры в стоматологии из-за сходства реакции и меньшей стоимости. Проведено изучение эффекта фототерапии ИК-светодиодом ($\lambda=846\pm 20$ нм) на боль во время процесса отделения зубов вовремя ортодонтического лечения [171]. Использование светодиодного излучения было эффективным в значительном снижении уровня боли после установки эластичных разделителей зубов по сравнению с контрольной группой [172, 173]. В исследованиях было показано, что светодиодная фототерапия улучшает восстановление тканей пародонта и уменьшает воспаление, а также способствует уменьшению болевых ощущений [174-176].

Эрозивный плоский лишай в основном лечится с помощью низкоуровневого лазера с длиной волны 630 нм, который уменьшает боль и болезненность без побочных эффектов [177]. Терапия красного плоского лишая с помощью диодного лазера показала, что она может уменьшить повторяющиеся признаки и симптомы красного плоского лишая полости рта. Фототерапия также показала очень хорошие результаты в качестве альтернативного лечения. Лазеры Er-YAG были эффективны в снижении лимфоплазмочитарного инфильтрата. Отчеты о клинических случаях показали, что СО-лазеры дают очень хорошие результаты при лечении гистопатологически диагностированных случаях красного плоского лишая [178, 179]. СО₂-лазеры очень полезны при лечении лейкоплакии полости рта с минимальным отеком и болью. Фотодинамическая терапия с 5-аминолевулиновой кислотой и импульсным лазером на красителе используется для поддержания регресса лейкоплакии. Хотя это менее инвазивно и болезненно, и демонстрирует лучшую эстетику, диспластическая лейкоплакия полости рта рецидивировала после операции на полости рта в случаях курения непосредственно после операции. Таким образом, изменение оральных привычек имеет большое влияние на исход лазерной хирургии [180].

Мукозит полости рта, который считается наиболее болезненным поражением полости рта, требует применения наркотических анальгетиков и может снизить качество жизни. Факторами, влияющими на рост мукозита полости рта, являются режим химиотерапии, тип злокачественного новообразования, возраст пациентов, количество нейтрофилов и меры по уходу за полостью рта. Онкологическая терапия имеет множество побочных эффектов, таких как язвы, алопеция, тромбоцитопения, нейтропения и мукозит ротоглотки. Состояние ухудшается, если сопровождается плохой гигиеной полости рта, ранее существовавшими внутриротовыми поражениями, недостаточным иммунным статусом и высоким уровнем провоспалительных цитокинов. Наиболее задействованными тканями являются некератинизированные ткани, боковые границы языка и дно полости рта, а также многие терапевтические и профилактические меры, такие как анальгетики, криотерапия, антибиотики, факторы роста противовоспалительных агентов и

биологические защитные средства СОПР. Применение светолечения с использованием лазерного излучения показало значительное уменьшение боли, связанной с мукозитом полости рта, а также более быстрое заживление поражений СОПР [181, 182].

Иссечение гранул Фордайса с использованием комбинации низкоинтенсивного и высокоинтенсивного лазеров дало улучшенные эстетические результаты и более быстрое заживление с уменьшением послеоперационной боли и воспаления [183-187].

Однако, несмотря на значительное количество работ, посвященных определению оптических свойств биологических тканей, оптические свойства десен и дентина человеческого зуба еще не полностью описаны в литературе, несмотря на их фундаментальное значение для улучшения оптических методов, таких как антимикробная фотодинамическая терапия, фотолечение, физиотерапия при воздействии света, клинические процедуры с использованием лазерного излучения различных длин волн, а также методы оптической диагностики, находящиеся в стадии разработки в стоматологии.

1.3. Современный взгляд на патогенез и лечение хронического рецидивирующего афтозного стоматита (ХРАС).

Воспалительные заболевания пародонта в настоящее время относятся к числу наиболее распространенных и сложных заболеваний как взрослого, так и детского населения в нашей стране и за рубежом, и представляют серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему [16, 18, 188-192]. Согласно данным ВОЗ по обследованию 55 стран на 2017 г взрослое и детское население подвержено заболеваемости пародонта (кандидоз, лейкоплакия, стоматиты, красный плоский лишай) в разной степени до 90%, и распространенность этих заболеваний не имеет тенденции к снижению [193-196].

Заболевания СОПР, сопровождающиеся афтозными высыпаниями и эрозивно-язвенными поражениями (плоский лишай, афтозный стоматит), это распространенные стоматологические патологии, которые выявляются от 8 до 60

% населения [197-204]. В последние годы выявляется тенденция к росту и развитию осложнений при данных заболеваниях. В структуре заболеваний СОПР плоский лишай составляет от 2 до 17 % [205-207], а изолированное поражение только слизистой оболочки рта встречается в 70-75 % [208-210].

Несмотря на значительное число публикаций отечественных и зарубежных исследователей, посвященных заболеваниям СОПР, меры клинической и коммунальной профилактики болезней СОПР в настоящее время не разработано [211-216]. Неблагоприятная экологическая обстановка; вирусные инфекции; большая аллергизация населения; частое употребление антибактериальных средств и следственно, снижение иммунитета и образование антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов; несмотря на доступность к визуализации, отсутствие клинических общедоступных методов диагностики ранних патологий способствуют развитию частоты заболеваний СОПР [217-222]. В связи с этим увеличивается количество заболеваний стоматологического профиля, вызываемых не только патогенной, но и «нормальной» или условно-патогенной микрофлорой с видоизмененными морфологическими свойствами, и учащаются заболевания СОПР у лиц детского и подросткового возрастов [189, 190, 194, 210, 223-225].

ХРАС - воспалительное заболевание СОПР, характеризующееся рецидивирующим высыпанием афт, длительным течением и периодическими обострениями. ХРАС диагностируется в любом возрасте, но чаще в детском и молодом, в равной степени у представителей обоих полов. У больных наблюдается образование одной или множественных афт и возникают жалобы на болевые ощущения, что значительно снижает качество жизни. Гистологическое исследование афты выявляет глубокое фибринозно-некротическое воспаление СОПР. Процесс начинается с изменений в соединительнотканном слое. Расширение сосудов приводит к периваскулярной инфильтрации и отеку шиповатого слоя эпителия, затем к спонгиозу и образованию микрополостей. В результате возникает некроз эпителия и эрозивное СОПР. Дефект эпителия заполняется фибрином и прочно спаивается с подлежащими тканями [15]. Основные причины возникновения ХРАС в настоящее время окончательно не

выяснены, что делает актуальным исследование, клиническое наблюдение больных ХРАС и выявление провоцирующих факторов. Снижение иммунологической реактивности, наличие хронических очагов инфекции (кариес, тонзиллит, ангина, гайморит, фарингит, заболевания желудочно-кишечного тракта и др.), инфекционная бактериальная природа, а также влияние ряда неблагоприятных факторов (наследственные факторы, невротический статус, хронический стресс, частая смена часовых поясов, профессиональные вредности, вредные привычки (в том числе с преобладанием в рационе углеводов, плохая стоматологическая гигиена и др.). У больных ХРАС выявлены нарушения неспецифической защиты - снижение количества и функциональной активности Т-лимфоцитов. Нарушена В-система иммунитета, что проявляется увеличением количества В-лимфоцитов, повышением уровня сывороточного IgG, циркулирующих иммунных комплексов, снижением содержания IgM [223, 226-228]. В результате возникает избыточный иммунный ответ на бактериальные антигены, приводящий к развитию аутоиммунной реакции, направленной против клеток эпителия собственной СОПР, что приводит к некрозу эпителия [15, 226, 229].

Существенное влияние на патогенез хронических воспалительных процессов и формирование местного иммунитета СОПР оказывает микробиоценоз [230-233]. Многие исследователи считают первостепенными иммунный и аллергический генез ХРАС [234-240]. Клинически доказано, что в патогенезе ХРАС участвует желудочно-кишечная патология и заболевания печени [239, 241]. Среди заболеваний СОПР одно из ведущих мест занимает вирус простого герпеса [242]. Также, выявленной сопутствующей патологией хронических заболеваний СОПР является сдвиги в динамическом балансе равновесии микрофлоры и как следствие, ослабление функциональной активности местных защитных факторов [210, 243]. На врача стоматолога, осуществляющего первичный прием пациентов ложится большая ответственность по диагностике и выявлению пациентов, входящих в группу риска, поскольку на СОПР могут появляться первые признаки других заболеваний, которые еще не имеют клинического проявления [244].

Определяют две клинические формы ХРАС: легкую и тяжелую (рецидивирующие глубокие рубцующиеся афты). ХРАС может быть одним из симптомов генерализованного афтоза, при котором афтозные высыпания появляются в анально-генитальной области и кишечнике (большой афтоз Турена), признаком болезни Бехчета. ХРАС (легкая форма) характеризуется появлением одиночных афт на СОПР, перед возникновением которых часто возникает чувство жжения и парестезия СОПР. Возникновение афт начинается с появлением овального пятна (диаметр до 1 см), немного возвышающегося на окружающих тканях слизистой. Через несколько часов формируется эрозия, покрытая фибринозным серовато-белым налетом, окруженным гиперемизированным ободком. Часто афта сопровождается регионарным лимфаденитом. Спецификой заболевания является рецидивирующий характер течения. При легкой форме частота обострений варьирует от 1-2 до 5-6 раз в год. Высыпания чаще локализуются на слизистой оболочке щек, боковых поверхностях языка, губ, переходных складках. Под влиянием провоцирующих факторов таких как переутомление, стресс, перенесенные вирусные инфекции, травмы СОПР, обострение хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта и др, развиваются рецидивирующие глубокие рубцующиеся афты.

Особенностью при тяжелой форме ХРАС является трансформация афты в глубокую кратерообразную язву, которая крайне медленно эпителизируется (до 1.5–2 мес). После ее заживления остаются глубокие рубцы, приводящие к деформации СОПР [23, 208].

Классификация хронического рецидивирующего афтозного стоматита по МКБ-С: Класс XI: Болезни органов пищеварения. K12.0: Рецидивирующие афты полости рта: афтозный стоматит (большой) (малый); афты Беднара; рецидивирующий слизисто-некротический периаденит; рецидивирующая афтозная язва; герпетиформный стоматит.

Общие подходы к диагностике хронического рецидивирующего афтозного стоматита:

Диагностика ХРАС проводится путем сбора анамнеза, клинического осмотра, применения дополнительных методов обследования и направлена на определение состояния тканей СОПР, показаний к лечению, а также на выявление в анамнезе факторов, способствующих ухудшению состояния и препятствующих немедленному началу лечения. Такими факторами могут быть:

1– непереносимость лекарственных препаратов и материалов, используемых на данном этапе лечения; 2– неадекватное психоэмоциональное состояние пациента перед лечением; 3– угрожающее жизни острое состояние/заболевание или обострение хронического заболевания (в том числе инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения и т. п.), развившиеся менее чем за 6 мес до обращения за стоматологической помощью; 4– отказ от лечения.

Проводят аллергологические и иммунологические исследования, для получения большей информации о природе заболевания, выявлении аллергенов (отмечаются положительные кожные пробы, изменения Т- и В-системы иммунитета). Согласно клиническим рекомендациям (протоколу лечения) при ХРАС принцип лечения больных предусматривает решение нескольких задач: 1- устранение очагов хронической инфекции в полости рта; 2- предупреждение травмирования СОПР, вызванного дефектами зубного ряда, острыми краями разрушенных зубов и зубными протезами, зубными отложениями, курением; 3- эпителизацию афт; 4- повышение общей резистентности организма; 5- соблюдение режима труда и отдыха; 6- профилактические осмотры населения с целью санации и проведение индивидуальной санитарнопросветительной работы; 7- при подозрении на наличие соматической патологии ЛОР-органов, ЖКТ и др. – консультация и лечение у специалистов соответствующего профиля [23, 24].

Проведение механической и фармакологической деконтаминации тканей периодонта не всегда вызывает стойкую ремиссию и полное выздоровление, поскольку обнаруживается антибиотикорезистентность периодонтопатогенных штаммов микроорганизмов благодаря их высокому приспособительному потенциалу; невозможность элиминации некоторых микроорганизмов, локализованных в мягких тканях при механическом и антисептическом

воздействии; недостаточная концентрация антибактериальных препаратов в десневой жидкости и микробной бляшке и др. [18].

При лечении ХРАС используют препараты для иммунокоррекции такие как Т-активин, Даларгин, Галавит, Имудон, Гепон, Мипро-ВИТА и полиоксидоний [245-250]. Клинические исследования лечения имудоном показали более быструю эпителизацию афт, чем у пациентов не принимающих данный иммуномоделирующий препарат [251]. Сочетанное применение метилурацила с имудоном показали большую эффективность профилактики рецидивирования ХРАС [252].

В качестве десенсибилизирующих средств применяют тиосульфат натрия, гистаглобин и препараты кальция [253, 254]. Некоторые авторы полагают, что блокировка нервных импульсов в симпатическом отделе вегетативной нервной системы предохраняет ткани слизистой оболочки полости рта от повреждающего действия высоких концентраций норадреналина при приеме анаприлина в комплексном лечении ХРАС [255].

Для стимулирования фагоцитоза, влияния на репаративные процессы в организме и антимикробной терапии изучается применение гистоглобулина, продигозана, лизоцима [250, 254]. Распространенным препаратом в стоматологии является гель Метрогил Дента, в качестве активных антисептических компонентов у которого содержится смесь метронидазола и хлоргексидина [256]. Исследовалось включение в систему лечения ХРАС и динамика клинического проявления антисептического ополаскивателя Тантум Верде [257, 258]. Традиционно применяется люголь глицериновый и водный растворы [259]. В качестве антисептических ополаскиваний использовались 0.02% раствор фурациллина и 0.02% раствор этакридиналактата [250, 254].

Для удаления некротического налета с поверхности эрозивно-язвенных поражений эффективно применение протеолитических ферментов: трипсин, химотрипсин, стоматозим и имозимаза [260].

Мнение исследователей, которые наблюдали за клиническим проявлением левамизола (декариса) противоречивы, т.к. выявлено что его действие обусловлено

как исходным состоянием иммунной системы пациента, так и доз назначения препарата [261-263]. Малые дозы препарата оказывает иммуностимулирующее действие на организм, а в больших дозах действует как иммунодепрессант [264]. Важно выявлять на начальных стадиях наличие у больных сопутствующих заболеваний желудочно-кишечного тракта и печени, инфекционной аллергии, дефицита витаминов, нарушений деятельности центральной и вегетативной нервной системы и др. Важное место в лечении ХРАС также отводится систематической профилактической гигиене, санации полости рта, устранение травмирующих факторов и очагов хронической инфекции, применение кератопластических средств, местной терапии и соблюдению диеты с уменьшением глютенов [265-269].

При тяжелых формах ХРАС в систему лечения были включены кортикостероиды (преднизолон, дексаметазон). Данная группа препаратов может оказывать противовоспалительное и десенсибилизирующее действие, однако возможны сильные побочные эффекты, что ограничивает их применение [270-272]. Положительные клинические эффекты показала дентальная адгезивная паста – Солкосерил [18].

Для лечения ХРАС предлагается достаточно большое число лекарственных препаратов в форме мазей, настоек, ополаскивателей и др. на основе лекарственных растений. Учитывая хорошую переносимость и относительно малое число побочных эффектов эти препараты рекомендуются для включения в терапию больных и детского возраста [232, 273, 274].

Предлагается применение плазмафереза и аутосеротерапии, в комплексном лечении ХРАС, что способствует улучшению общего состояния пациентов, сокращению сроков эпителизации афт, достижению длительных ремиссий, положительной динамике показателей гомеостаза [275, 276]. В результате дифференцировки нативных макрофагов M0 образуются фенотипы активированных макрофагов M1 и M2. Классическая активация выделяет дифференцировку макрофагов в сторону фенотипа M1, которые выделяют цитокины, оксид азота, свободные кислородные радикалы и другие медиаторы

воспалительной реакции, которые нейтрализуют пародонтопатогены и инициируют каскад иммунных реакций.

Активация нативных макрофагов в фенотип M2 инициируется интерлейкинами IL-4, IL-10, IL-13 и иммунными комплексами. Активность макрофагов M2 в биотканях характерна как для Th1-, так и для Th2-зависимого иммунного ответов. В противоположность фенотипу M1, макрофаги M2 фенотипа уменьшают воспалительную реакцию и постепенно способствуют восстановлению и регенерации биотканей. Возможность клинического репрограммирования макрофагов в тканях пародонта в сторону фенотипа M2 путем введения в состав тканевой жидкости определенных сигнальных компонентов повышает местный иммунный ответ и снимает воспаление [277].

Воспалительный процесс СОПР при ХРАС сопровождается нарушением микроциркуляции, застойные явления в веноулярных сосудах, а также снижение интенсивности кровотока в нутриновом звене капиллярного русла [278-280].

Важное место в комплексном лечении ХРАС отводится физиотерапии и светолечению, как отдельными процедурами, так и в сочетанном варианте с различными фармако-средствами [281, 282].

В последнее время лазеры все больше входят в медицину и в стоматологию в частности. Многие виды низкоинтенсивного лазерного излучения, включая УФ диапазон (волны длиной менее 350 нм), гелиевые неоновые (632 нм) и диодные (красные инфракрасные волны с длинами волн от 600 до 1100 нм), широко исследуются для лечения стоматологических заболеваний с минимальными побочными эффектами [283-286]. Клинически доказано, что низкоинтенсивное лазерное излучение производит два типа эффектов: первичный и вторичный. В первую очередь, действие низкоинтенсивного лазерного излучения вызывает расширение сосудов, лимфодренаж, клеточную активность и метаболизм, усиление кровотока, активацию фибробластов и нейтрофилов и стимуляцию болевого порога. Вторичным эффектом является агрегация простагландина, иммуноглобулина и лимфоцитов, а также бета-эндорфина в тканевом энцефалине. Следовательно, это уменьшает инфекцию и воспаление, болезненность и улучшает

иммунный ответ [283]. Предлагается использование гипербарической оксигинации для лечения ХРАС, что дает выраженный противовоспалительный, противоотечный и иммунокорректирующий эффекты, сокращение сроков эпителизации [287].

Исследуется включение в лечение заболеваний пародонта лазерного и магнитного излучений, физиопроцедуры аппаратом «Оптодан» [288, 289].

Положительные клинические эффекты выявлены при использовании фармако - физиотерапевтических методов лечения. Эффективность лечения ХРАС была повышена при фотофорезе с оксолиновой, метилурациловой, гепариновой, гидрокортизоновой, тетрациклиновой мазями, коллегелем [282, 290, 291]. Положительное влияние на динамику течения и рецидивирования ХРАС играет введение в систему лечения поляризованного излучения (от 400 нм до 2000 нм) [292-293]. Существует запатентованная методика применения синего света в терапевтической стоматологии [294].

Профилактика ХРАС в первую очередь заключается в устранении хронических очагов инфекции в организме, ротовой полости и лечение сопутствующих заболеваний; соблюдение сбалансированного питания богатого витаминами и минералами, без переизбытка углеводов; соблюдение рационального режима труда и отдыха; для детей и подростков, чья зубочелюстная система находится в стадии формирования особенно важно регулярно посещать профилактические осмотры стоматолога; своевременная диагностика ХРАС; выбор оптимальных методов общей и местной терапии должен быть персонализированным с учетом индивидуальных особенностей пациентов без полипрагмазии. Прогноз при лечении ХРАС благоприятный. Для достижения стойких результатов в лечении ХРАС необходимо проводить комплекс профилактических мер, особенно у детей и подростков, входящих в группу риска.

Выводы главы:

Представленный обзор литературы свидетельствует об актуальности задач, связанных с управлением оптическими параметрами твердых и мягких тканей

полости рта для развития методов тераностики, фотодинамической и фототермической терапии, а также различных диагностических подходов, для более раннего выявления патологических участков в более глубоких слоях биологических тканей. Многочисленные исследования направлены на разработку и совершенствование оптических методов, которые широко внедряются в клиническую практику, в том числе и в стоматологию, за последние десятилетия. Одним из сложных и трудно поддающихся лечению стоматологических заболеваний является хронический рецидивирующий афтозный стоматит (ХРАС). Существующие комплексные методы лечения способствуют снижению тяжести заболевания, выражающемуся в удлинении сроков ремиссии, сокращении сроков эпителизации патологических элементов, уменьшении их количества и размеров. Поскольку в настоящее время нет единого метода и способа лечения ХРАС, приводящего к полному излечению, разработка методик поддерживающей и комплексной терапии остается актуальной задачей и требует дальнейших исследований.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ОПТИЧЕСКИХ И БИОФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЛИЗИСТОЙ ДЕСНЫ И ДЕНТИНА ЗУБА ЧЕЛОВЕКА *EX VIVO*

2.1. Материалы и методы исследования.

Материалом для исследования *ex vivo* были очищенные спилы зубов (дентин), полученные из удаленных человеческих зубов (моляров) по ортодонтическим показаниям, а также срезы слизистой оболочки свободной десны человека, полученные при хирургических стоматологических вмешательствах, с получением письменного согласия пациентов на работу с их биоматериалом. Перед резкой зубы хранили в физиологическом растворе в темном месте при температуре 4-6 °С, а слизистую оболочку десны хранили в замороженном состоянии. Затем мокрые зубы разрезали алмазным диском на участки толщиной около 1 мм вдоль оси роста, протравливая 35% фосфорной кислотой в течение 15 с, после чего кислоту удаляли с помощью струи воды. Затем с помощью щетки и 95% этанола поверхность очищали от пыли, продуктов распиливания и других внешних загрязнений; для этого распил (образец) помещали в ультразвуковую ванну Techsonic UD100 SH-45 L на 10 минут и протирали безворсовой тканью, смоченной спиртом. Образцы высушивали на воздухе в течение 24 часов. Толщина спилов измерялась микрометром. Для этого образец помещался между двумя предметными стеклами (толщина которых затем вычиталась), и значение толщины измерялось в нескольких точках. В среднем толщина образцов срезов дентина составляла 0.65 ± 0.09 мм. Точность каждого измерения составляет ± 10 мкм. Морфология поверхности срезов зубной ткани исследовалась на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) Tescan Mira II LMU (Чехия) в режиме детектирования вторичных электронов (при ускоряющем напряжении 30 kV). Для этого образцы фиксировались на специальной углеродной подложке (углеродный скотч), и на их поверхность напылялось золото. По полученным СЭМ-фотографиям оценивали степень очистки образцов от продуктов распиливания.

Толщину образцов измеряли с помощью микрометра, помещенного между двумя предметными стеклами, точность измерения составляла ± 10 мкм. Измерения проводились в пяти точках, а затем значения усреднялись. Толщина среза человеческого зуба в среднем (0.52 ± 0.07) мм, а среза слизистой оболочки десны (0.59 ± 0.08) мм. В целом, результаты были получены для 10 образцов дентина и 10 образцов десны, полученных от разных людей. Площадь срезов образца дентина составляла в среднем 150-210 мм², а срезы десны - 150-220 мм². Элементный состав образцов зуба человека определяли на сканирующем электронном микроскопе (в %) и на рентгенофлуориметре Innov X-5000 (Olympus, США) с кремниевым дрейф-детектором (в единицах ppm). Модельную деминерализацию спилов (образцов) зуба человека проводили в 40% HCl (ч. д. а.) в течение 20 мин. Для отмывания диффундирующего препарата спилы (образцы) помещали в емкость со 100 мл дистиллированной воды на 24-30 часов. Степень очистки образцов проверяли по спектру диффузного отражения (СДО), который совпадал с первоначально измеренным для этого образца.

Также, материалом для исследования *ex vivo* служили образцы прикрепленной десны свиньи, срезанной с передней части верхней и нижней челюстей непосредственно перед проведением эксперимента. Толщину которых определяли аналогично, описанным выше способом.

Материалом для исследования послужили, также, биоптаты свободной слизистой десны человека, полученные из клиники после операционного хирургического вмешательства с получением письменного согласия пациентов на работу с их биоматериалом. Полученные биоптаты хранились в замороженном состоянии до проведения эксперимента, перед проведением эксперимента размораживались. Толщина образцов биоткани измерялась микрометром, ткань слизистой десны помещали между двух предметных стекол (толщину которых затем вычитали), измерения проводились в нескольких точках образца и усреднялись.

Одним из часто используемых методов расчета коэффициентов рассеяния и поглощения биотканей является инверсный метод «добавления - удвоения» (IAD).

Он был разработан Prahл S.A. [295]. Это один из наиболее часто используемых алгоритмов решения обратной оптической задачи для восстановления приведенных (транспортных) коэффициентов рассеяния и поглощения, который является довольно быстрым и точным. Метод IAD широко используется для обработки данных спектрофотометрии, полученных с помощью интегрирующих сфер для различных биологических тканей. Например: исследования *in vitro* патологически измененной слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи человека в спектральном диапазоне 350-2000 нм [7], склеры глаза в области спектральный диапазон 370–2500 нм [8], хрусталик человеческого глаза с различными стадиями катаракты [9], ткани брюшины в спектральном диапазоне 350–2500 нм [296], слизистая оболочка желудка человека в спектральном диапазоне 400–2000 нм [10], ткани толстой кишки человека в спектральном диапазоне 350–2500 [11], слизистая оболочка толстой кишки человека и предраковые полипы толстой кишки в спектральном диапазоне 400–1000 нм [12], а также довольно большое количество других тканей: кожа, мышцы, череп и др. [13, 15-20, 296, 297].

Для измерения коэффициентов полного пропускания и диффузного отражения образцов тканей в спектральном диапазоне 200-800 нм использовали двухлучевой спектрофотометр Shimadzu UV-2550 (Япония) с интегрирующей сферой. Источником излучения служила галогенная лампа с фильтрацией излучения в исследуемом спектральном диапазоне. Предельное разрешение спектрометра составляло 0.1 нм. Спектры были нормализованы перед измерениями с использованием эталонного отражателя BaSO_4 , который обладает лучшими свойствами в УФ [298]. Все измерения проводились при комнатной температуре ($\sim 25^\circ \text{C}$) и нормальном атмосферном давлении. Каждый образец исследуемой ткани фиксировали в специальной рамке с окном 0.5×0.5 см и фиксировали в кварцевой кювете так, чтобы образец ткани прижимался к стенке кюветы и подвергался оптическому измерению. Чтобы измерить спектры полного пропускания (СПП), кварцевая кювета с образцом ткани была установлена непосредственно перед интегрирующей сферой, собирая все излучение, прошедшее через образец ткани. При измерении СДО кювету с образцом помещали за интегрирующей сферой,

которая собирала все излучение, рассеянное образцом (рис.1). Диаметр светового пучка, падающего на образец, составлял 3 мм. Перед измерениями кварцевую кювету с фиксированным образцом заполняли физиологическим раствором, чтобы увлажнить образец и приблизить результаты измерений к *ex vivo*.

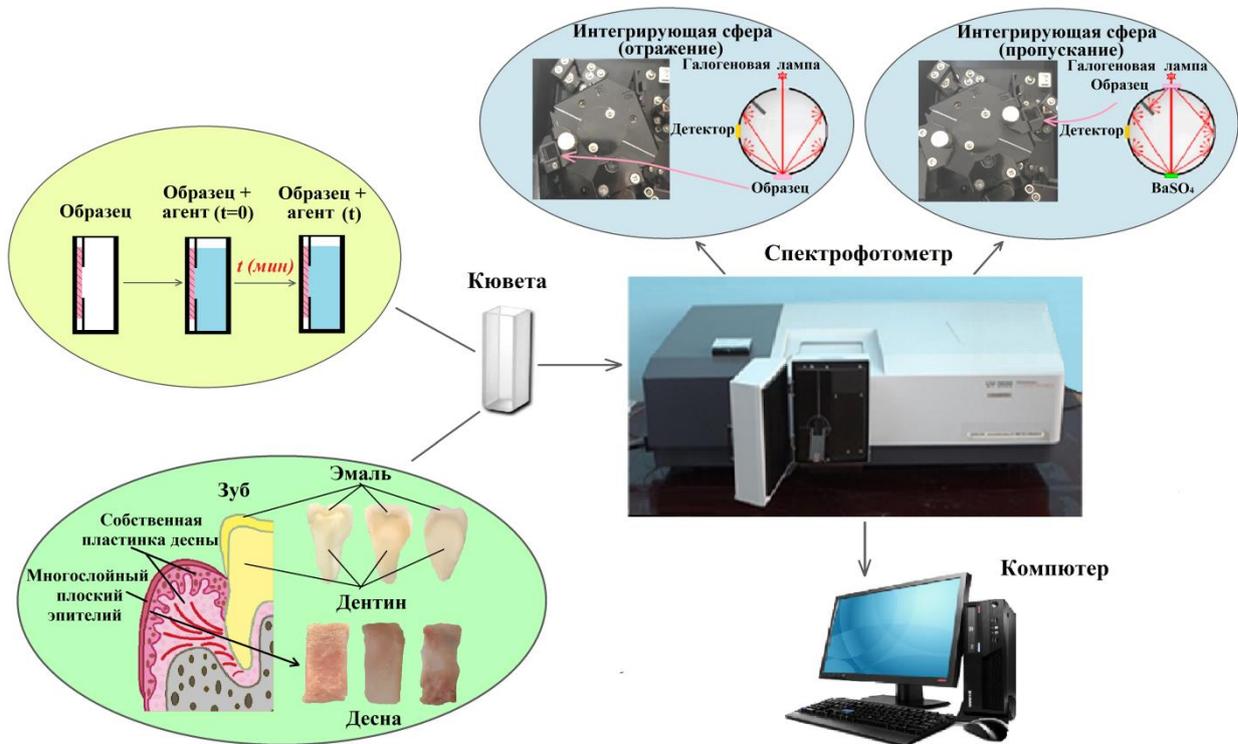


Рис 1. Схема установки измерения спектров диффузного отражения и полного пропускания образцов.

Метод IAD позволяет определить коэффициент поглощения μ_a и коэффициент транспортного рассеяния μ'_s ткани, используя экспериментальные данные коэффициентов диффузного отражения и полного пропускания:

$$\mu'_s = \mu_s \cdot (1-g) \quad (1)$$

здесь μ_s - коэффициент рассеяния, а g - коэффициент анизотропии рассеяния. Во время расчетов коэффициент анизотропии фиксирован. Для биологических тканей (десен и дентина человеческого зуба), изученных в данной работе, g было принято равным 0.9 [3]. Однако, это значение коэффициента анизотропии (g) характерно только для видимого и ближнего инфракрасного спектральных диапазонов [3], и в УФ-диапазоне оно сильно отличается, поэтому мы взяли ограничение при расчете оптических свойств исследуемых тканей в диапазоне от 350 до 800 нм. Показатель

преломления дентина человеческого зуба был принят равным 1.49 [299]. Показатель преломления слизистой оболочки полости рта человека был принят равным 1.45 [300]. Основное ограничение метода IAD связано с возможной потерей рассеянного излучения через боковые стороны образца ткани, что возможно в случае, когда размеры образца относительно малы по сравнению с размерами пучка, падающего на образец ткани, или когда ткань характеризуется относительно низкими коэффициентами поглощения и рассеяния. Боковые потери зондирующего излучения приводят к завышению определяемого коэффициента поглощения [5, 295]. Для правильного применения метода IAD необходимо, чтобы расстояние от края зондирующего пучка, падающего на образец ткани, до ближайшей границы образца было больше, чем средняя длина свободного пробега фотонов, которая определяется как $1 / (\mu_a + \mu'_s)$ [3]. Расчет оптических параметров проводился отдельно для каждой спектральной точки. Используемый алгоритм включает в себя следующие этапы:

1) Установка начальных значений и использование следующих выражений [295]:

$$\frac{\mu'_s}{\mu_a + \mu'_s} = \begin{cases} 1 - \left(\frac{1-4R_d-T_t}{1-T_t} \right)^2, & \text{if } \frac{R_d}{1-T_t} < 0.1 \\ 1 - \frac{4}{9} \left(\frac{1-R_d-T_t}{1-T_t} \right)^2, & \text{if } \frac{R_d}{1-T_t} \geq 0.1 \end{cases} \quad (2)$$

$$(\mu_a + \mu'_s) \times l = \begin{cases} -\frac{\ln T_t \ln(0.05)}{\ln R_d}, & \text{if } R_d < 0.1 \\ 2^{1+5(R_d+T_t)}, & \text{if } R_d \geq 0.1. \end{cases} \quad (3)$$

Здесь R_d и T_t - измеренные коэффициенты диффузного отражения и общего пропускания, l - толщина образца ткани.

2) Расчет коэффициентов диффузного отражения и полного пропускания на основе начальных значений μ_a и μ_s и метода «сложения-удвоения» [1, 5].

3) Сравнение рассчитанных значений R_d и T_t с экспериментально измеренными.

4) В качестве критерия для завершения итерационной процедуры было использовано следующее условие [295]:

$$\frac{|R_d^{exp} - R_d^{calc}|}{R_d^{exp}} + \frac{|T_t^{exp} - T_t^{calc}|}{T_t^{exp}} < 0.001, \quad (4)$$

где R_d^{exp} , R_d^{calc} , R_t^{exp} , R_t^{calc} - экспериментальные (exp) и расчетные (calc) значения коэффициентов диффузного отражения и общего пропускания, соответственно.

2.2. Результаты и обсуждение.

2.2.1. Определение коэффициентов поглощения и рассеяния десны и дентина зуба человека.

С оптической точки зрения ткань десны и дентина зуба человека можно отнести к оптически мутным средам, в которых наряду с поглощением наблюдается сильное рассеяние света. При распространении оптического излучения в ткани хромофоры - вещества эндогенного или экзогенного происхождения, способны поглощать энергию излучения (фотоны). Основными хромофорами биотканей являются вода, белки и липиды, поглощение которых играет важную роль в определении оптических свойств ткани и, особенно, в определении глубины проникновения излучения в ткань. Для мягких тканей вода и липиды являются наиболее важными эндогенными хромофорами, однако в изученном оптическом диапазоне их поглощение незначительно, пропускание воды в измеренном диапазоне 350-800 нм незначительно и начинает влиять в диапазоне 1200-2500 нм [5]. Таким образом, слизистую оболочку десны и дентин человеческого зуба можно отнести к волокнистым тканям, оптические свойства которых определяются в основном коллагеновыми и аргирофильными волокнами и гемоглобином в ткани десны. На рисунке 2,а показаны СДО слизистой оболочки десны (кривая 1) и дентина зуба человека (кривая 2).

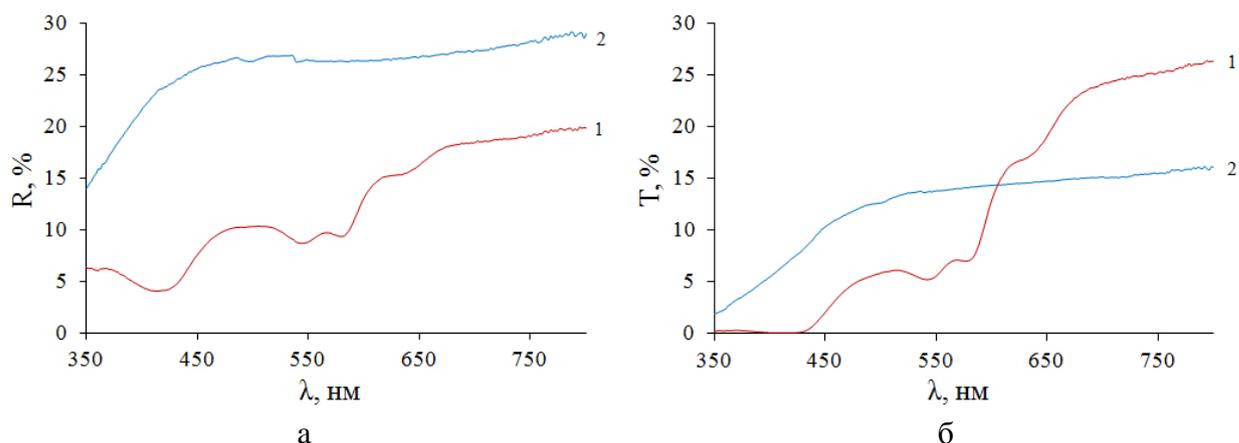


Рис. 2. СДО (а) и полного пропускания (б) слизистой десны человека (кривая 1) и дентина зуба человека (кривая 2).

В области от 350 до 650 нм форма СДО достаточно хорошо коррелирует с формой спектра пропускания десны, т.к. в этом диапазоне длин волн форма спектров определяется сильными полосами поглощения оксигемоглобина и влиянием рассеяния света на основных рассеивателях слизистой десны - коллагеновых и эластиновых волокнах. На СДО и спектрах пропускания хорошо видны провалы, соответствующие полосам поглощения оксигемоглобина на длинах волн 415, 542 и 576 нм. Наличие сильных полос поглощения уменьшает как число прошедших, так и обратно рассеянных фотонов в пределах полос поглощения. Начиная с 650 нм и далее до 800 нм, влияние полос поглощения гемоглобина уже не существенно, спектры полного пропускания и обратного отражения формируются в основном за счет рассеяния, поскольку вклад полос поглощения всех хромофоров мягких тканей в этой области минимален, что соответствует их «окну прозрачности» и свет в этой области проходит в ткани на большую глубину [5]. Для дентина такого различия не наблюдается и формы СДО и полного пропускания взаимно дополняют друг друга во всем исследуемом диапазоне (350 – 800 нм), поскольку в этом диапазоне нет характерных эндогенных хромофоров (аминокислотные остатки белков имеют характерные полосы поглощения в области 200 - 350 нм) и спектры определяются в основном рассеянием на матрице гидроксиапатита и коллагена дентина (рис. 2 а, б) [301].

На рисунках 3, а,б показаны спектры коэффициентов поглощения и транспортного рассеяния, рассчитанные с использованием метода IAD на основе измеренных значений диффузного отражения и общего коэффициента пропускания. Принимая во внимание размеры зондирующего пучка, падающего на поверхность образца ткани, минимальный размер образца должен составлять не менее 9.5 мм, что выполняется для самых маленьких из исследованных образцов с площадью около 120 мм² и имеющих размеры 12 × 10 мм.

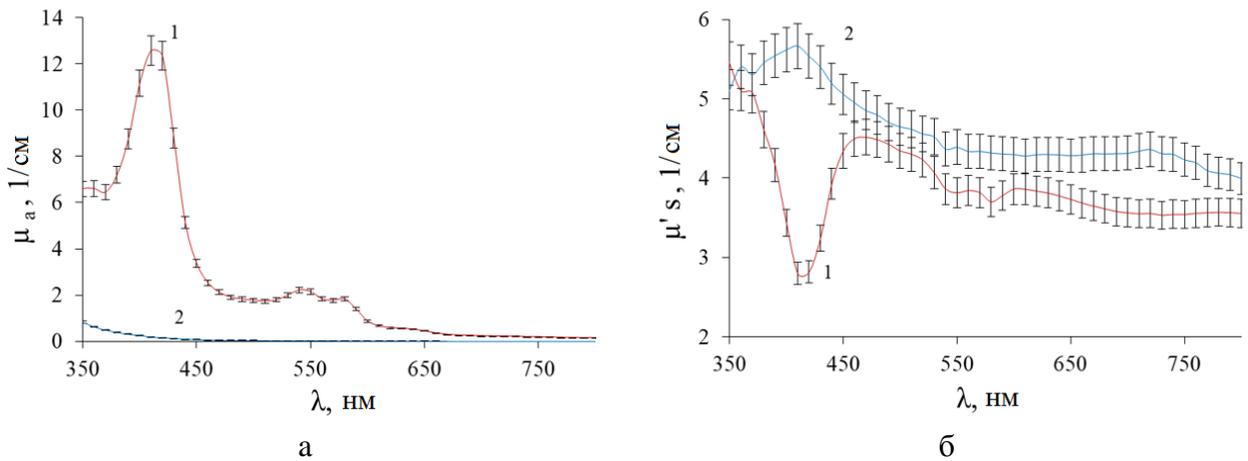


Рис.3. Коэффициент поглощения (а) и коэффициент транспортного рассеяния (б) ткани десны человека (кривая 1) и дентина (кривая 2), рассчитанные методом IAD с использованием экспериментальных данных.

На рис. 3, а приведены спектральные зависимости коэффициента поглощения слизистой оболочки десны (кривая 1) и дентина зуба человека (кривая 2) в спектральном диапазоне от 350 до 800 нм. Полосы поглощения оксигемоглобина крови (415, 542 и 576 нм) отчетливо видны в спектре 1. На рис. 3, б приведены спектральные зависимости транспортного коэффициента рассеяния слизистой оболочки десны (кривая 1) и дентина зуба человека (кривая 2) в спектральном диапазоне от 350 до 800 нм. Эти зависимости были получены путем усреднения спектров коэффициента поглощения и транспортного рассеяния 10 образцов слизистой оболочки и 10 образцов срезов дентина человеческого зуба. Среднеквадратичное отклонение (SD) рассчитывали по формуле:

$$SD = \sqrt{\sum_{i=1}^n (\bar{l} - l_i)^2 / n(n-1)}, \quad (5)$$

где n – число исследованных образцов, l_i – значение толщины i -го образца биоткани и \bar{l} – среднее значение толщины.

Хорошо видно, что коэффициент транспортного рассеяния довольно плавно уменьшается к большим длинам волн, что соответствует общему характеру спектрального поведения рассеивающих свойств биотканей [1]. Однако в области сильных полос поглощения (т.е. 415, 542 и 576 нм) форма спектра рассеяния искажена, т.е. она отклоняется от монотонной зависимости, что может быть проявлением недостатка алгоритма IAD, который учитывает перекрестные помехи между поглощением и рассеянием, когда поглощение сильное. Коэффициент эпителиального рассеяния здоровой слизистой оболочки полости рта в исследованиях *in vivo* с использованием спектроскопии диффузного отражения был определен как $\mu_s=42 \text{ см}^{-1}$ при 810 нм и $\mu_s=39 \text{ см}^{-1}$ при 855 нм [302]. Авторы использовали оптическую когерентную микроскопию для определения коэффициента рассеяния при измерении нормального эпителия полости рта (*ex vivo*) $\mu_s=27\pm 11 \text{ см}^{-1}$ при 855 нм [33]. Значение коэффициента рассеяния для ткани слизистой оболочки десны 36 см^{-1} при 800 нм было получено с использованием уравнения (1), что коррелирует с результатами авторов [95, 302].

Однако также возможно некоторое влияние физических причин, связанных с дифракцией света на частицах с высоким поглощением. Наши оценки с использованием калькулятора Ми для ансамбля сферических частиц [303] показали, что падение приведенного коэффициента рассеяния при 415 нм может составлять 12-20% по сравнению с отсутствием поглощения.

Глубина проникновения света является одной из важнейших характеристик для правильного определения дозы облучения при светолечении, фотохимической и фотодинамической терапии различных заболеваний [1]. Глубина проникновения в ткань (δ) оценивалась по формуле, полученной в диффузионном приближении [1, 15] (рис. 4).

$$\delta = 1/\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)} \quad (6)$$

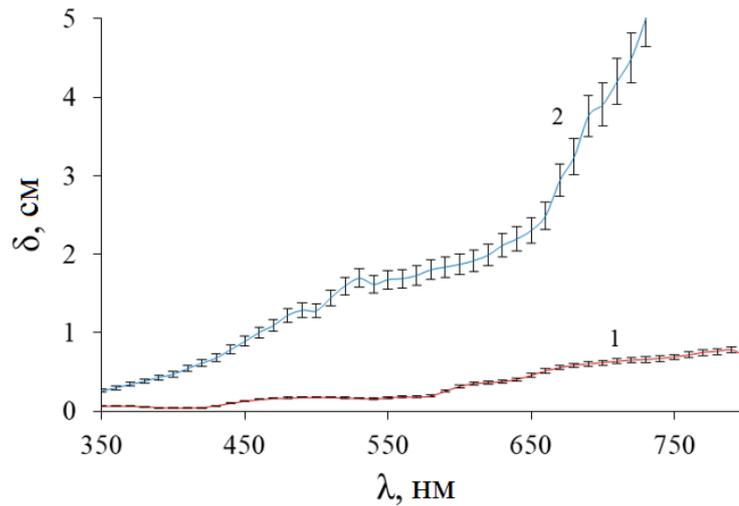


Рис. 4. Зависимость глубины проникновения излучения в слизистую оболочку десны человека (1) и дентина зуба человека (2), рассчитанную с использованием экспериментальных данных

Результаты найденных оптических коэффициентов приведены в таблице 1.

Таблица 1. Рассчитанные коэффициенты поглощения, транспортного рассеяния и глубина проникновения излучения в ткани слизистой десны и дентина зуба человека.

λ, nm	350	400	450	500	550	600	650	700	750	800
десна										
μ_a, cm^{-1}	6.6 ± 0.5	11.2 ± 0.2	3.4 ± 0.3	1.8 ± 0.4	2.1 ± 0.4	0.9 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
μ'_s, cm^{-1}	5.4 ± 0.8	3.4 ± 0.5	4.3 ± 0.4	4.3 ± 0.4	3.8 ± 0.3	3.9 ± 0.5	3.7 ± 0.4	3.6 ± 0.3	3.5 ± 0.4	3.6 ± 0.3
μ_s, cm^{-1}	54 ± 8	34 ± 5	43 ± 4	43 ± 4	38 ± 3	39 ± 5	37 ± 4	36 ± 3	35 ± 4	36 ± 3
δ, cm	0.10 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.46 ± 0.02	0.62 ± 0.03	0.69 ± 0.03	0.69 ± 0.03
дентин										
μ_a, cm^{-1}	0.8 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.08 ± 0.1	0.04 ± 0.1	0.03 ± 0.1	0.02 ± 0.1	0.02 ± 0.1	0.01 ± 0.1	0 ± 0.1	0 ± 0.1
μ'_s, cm^{-1}	5.1 ± 0.9	5.6 ± 0.9	5.1 ± 0.7	4.7 ± 0.5	4.4 ± 0.5	4.3 ± 0.6	4.3 ± 0.5	4.3 ± 0.5	4.2 ± 0.4	4.1 ± 0.4
μ_s, cm^{-1}	51 ± 9	56 ± 9	51 ± 7	47 ± 5	44 ± 5	43 ± 6	43 ± 5	43 ± 5	42 ± 4	41 ± 4
δ, cm	0.26 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.89 ± 0.02	1.28 ± 0.02	1.68 ± 0.04	1.87 ± 0.05	1.87 ± 0.06	3.9 ± 0.1	5.5 ± 0.3	5.5 ± 0.3

Глубина проникновения излучения в слизистую оболочку десны человека (1) и дентина (2) рассчитывалась с использованием значений коэффициентов

поглощения, представленных на рис. 3,а и коэффициента транспортного рассеяния, показанного на рис. 3,б. Из рис. 3 хорошо видно, что в зависимости от длины волны зондирующего излучения глубина его проникновения в исследуемые ткани существенно варьируется. При 400 нм глубина проникновения излучения составляет 1 мм – в ткань слизистой десны и 5 мм – в дентин зуба человека. Максимальный эффект наблюдается в спектральном диапазоне от 600 до 800 нм, где излучение проникает на глубину 3-7 мм в человеческую десну и 19-55 мм в дентин.

Полученные на основании измеренных СДО и полного пропускания коэффициенты поглощения и рассеяния тканей слизистой десны и дентина зуба человека, а также глубина проникновения излучения в диапазоне от 350 до 800 нм с использованием метода IAD [304] согласуются с данными других исследователей [7-13, 15-20, 296, 297]. Определена глубина проникновения излучения лазерного излучения при 780 нм в ткань здоровых моляров. При освещении цемента корня зуба контактным зондом излучение проникало до 4.28 ± 0.14 мм в зубах с высокой плотностью излучения и 13.27 ± 0.27 мм с низкой плотностью излучения [305]. Глубина проникновения излучения в цементе корня зуба была определена как 1.87 ± 0.06 см при 650 нм и 5.5 ± 0.3 см при 800 нм. Разница в светопропускании может быть объяснена значительными различиями в структурной организации различных частей зуба. Зубной цемент является сильно минерализованной тканью и хуже передает излучение, а зубной дентин является пористой светопроводящей тканью, в которой дентинные каналы выступают в качестве световодов [103].

2.2.2. Некоторые биофизические параметры строения ткани слизистой десны.

Десна человека состоит из слизистой оболочки, которая покрывает верхнюю и нижнюю челюсть вокруг зубов. Защитная функция слизистой десны определяется наличием в ее составе таких веществ как: гиалуроновая кислота, макро- и микрофаги, плазма. Благодаря своей коллагеновой структуре, образующейся из фибробластов, ткани обладают достаточно высокой плотностью.

Основными функциями пародонтальной ткани является: надежная фиксация зубов, защита зубодесневой связки от попадания болезнетворных микроорганизмов и бактерий, питание зубов витаминами и минералами, всасывание веществ, попадающих в ротовую полость. Анатомическое строение челюсти и ее цифровые показатели индивидуальны и зависят от возрастных и половых особенностей человека. Строение десны подразделяется на: маргинальную часть (десневой край); альвеолярную десну (прикрепленную); папиллярную часть (десневой сосочек). В строении пародонтальной ткани отсутствует подслизистый слой, поэтому она плотно прилегает к костной ткани пучками коллагеновых волокон. Эпителиальная оболочка альвеолярной зоны образует роговые вещества (фибриллярные белки, кератогиалин, жирные кислоты) и имеет все признаки процесса ороговения. Кератинизированная десна из-за возможности быстрой регенерации устойчива к механическим, термическим и химическим воздействиям. В норме ширина свободной части десны варьируется от 0.8 до 2.5 мм. Папиллярная оболочка состоит из десневых межзубных сосочков. Пародонтальные сосочки состоят из эпителиальных клеток, поэтому способности к ороговению у этой части десны не имеется. В строении межзубных сосочков имеются кровеносные сосуды, питающие дентальные корни всеми необходимыми веществами. Маргинальная десна («Marginal gingiva») - это основная составляющая свободного пародонта. Слизистый край окружает шейку зуба и прилегает к нему не очень плотно. Между краем десны и зубом находится десневая борозда. В норме глубина междесневой щели составляет 2–3 мм. Если глубина бороздки больше предполагаемой нормы, то следует говорить о пародонтальном кармане, образующимся в процессе пародонтального воспаления. Однако, у разных поверхностей зуба десневая борозда неодинакова: глубже апроксимальные борозды, с язычной и щечной сторон они мельче. Глубину десневой борозды можно определить с помощью пародонтального зонда. Десневая борозда выстлана *сулькулярным эпителием* (или эпителием десневой борозды). Он тонкий, неороговевающий и является своеобразной полупроницаемой мембраной для *десневой жидкости*, с одной стороны, и для микробных токсинов, с другой.

Десневой желобок является анатомической границей, отделяющей свободный пародонт от прикрепленной десны. Альвеолярная (или прикрепленная) десна («Alveolar gingiva») представляет собой слизистый участок пародонтальной ткани, покрывающий альвеолярный отросток обеих челюстей. Во взрослом и здоровом организме ширина альвеолярной челюсти не превышает 9 мм. Прикрепленная здоровая десна имеет глянцевый розовый цвет и неровную поверхность [227]. Эта часть пародонта самая плотная, упругая и прочно связана с надкостницей коллагеновыми волокнами. Шире в области резцов (до 4.5 мм на верхней челюсти), чем у жевательных зубов. Сверху прикрепленная десна граничит с маргинальной, снизу – со слизистой альвеолярной кости. Наличие беловатого налета и изъязвлений на пародонте говорит о серьезных стоматологических болезнях [199, 214, 306].

Гистологически, десна состоит из плоского ороговевающего эпителия и пластинок слизистой оболочки. Гистологическое строение эпителиальной оболочки включает несколько слоев: зернистый; шиповидный; базальный; эпителиальные сосочки; сосочковый слой и сетчатый глубокий слой (соединительнотканная основа). В строении слоя имеются несколько рядов клеток полигональной формы. Клетки соединяются между собой гемидесмосомами. На клеточной поверхности имеются небольшие «шипы», направленные навстречу друг к другу. В промежуточном слое находится меланин, отвечающий за цвет эпителиальной ткани. Зернистый слой считается самым тонким слоем в строении пародонта. Образован несколькими слоями клеток с темными ядрами уплощенной формы. В зернистом слое образуется белок кератогиалин, отвечающий за ороговение слизистой ткани. Большое количество зернистых клеток находится в строении альвеолярной ткани пародонта. Строение рогового слоя отличается от других составляющих слизистой оболочки наличием безъядерных клеток с кератином. При механическом повреждении, воспалении и ухудшении кровоснабжения ороговевающей процесс усиливается [199, 229].

С оптической точки зрения ткань слизистой десны можно отнести к фиброзным тканям, которые в основном состоят из многократно переплетённых

друг с другом коллагеновых волокон, вокруг которых находится внутритканевая жидкость, содержащая протеогликаны, гликопротеины, белки, полисахаридные комплексы и т.д. Ткань слизистой десны имеет эндогенные хромофоры, которые на СДО и спектрах полного пропускания проявляются характерными провалами (рис.5,а).

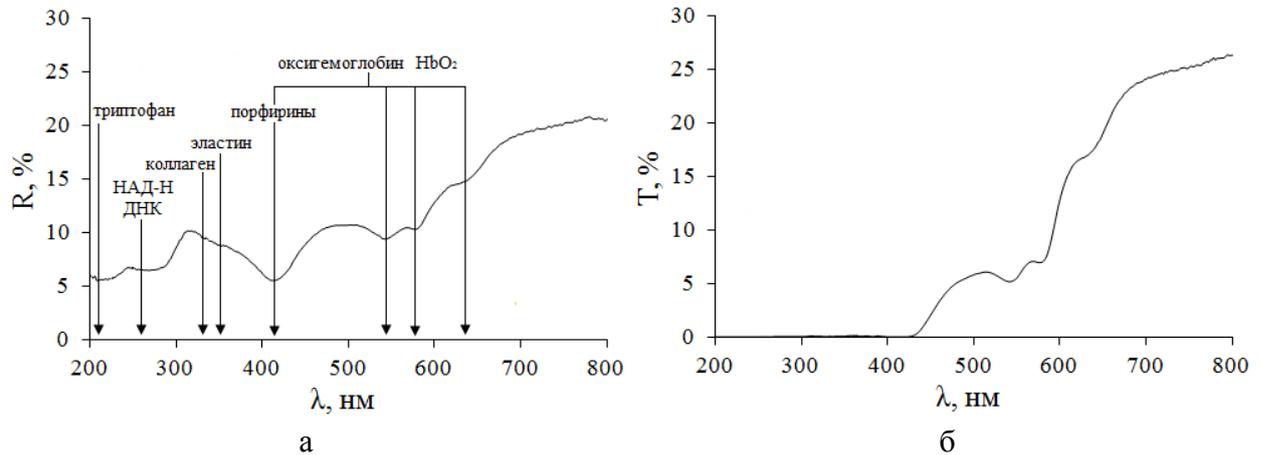


Рис.5. Спектры ткани слизистой десны человека: а – диффузного отражения; б – полного пропускания.

В УФ области основными эндогенными хромофорами являются аминокислотные остатки белков, коллаген и эластин, а в видимой области основным хромофором является оксигемоглобин, имеющий характерные провалы при 415, 542 и 576 нм. В области от 350 до 650 нм форма СДО достаточно хорошо коррелирует с формой спектра пропускания десны (рис.5,б), так как в этом диапазоне длин волн форма спектров определяется сильными полосами поглощения оксигемоглобина и влиянием светорассеяния на основные рассеиватели слизистой оболочки десен - волокна коллагена и эластина. СДО и СПП ясно показывают провалы, соответствующие полосам поглощения оксигемоглобина на длинах волн 415, 542 и 576 нм. Наличие сильных полос поглощения уменьшает количество как прошедших, так и обратно рассеянных фотонов в полосах поглощения. Начиная с 650 нм и далее до 800 нм влияние полос поглощения гемоглобина перестает быть значительным, спектры полного пропускания и обратного отражения формируются в основном за счет рассеяния,

так как вклад полос поглощения всех хромофоров мягких тканей в этой области минимально, что соответствует их окну прозрачности.

Слизистая оболочка десны состоит из двух слоев: эпителия (EP) и собственной пластинки (LP) (рис. 6). В десне нет подслизистого слоя. LP, на которой находится EP, состоит из соединительной ткани, представленной волокнистыми структурами - коллагеновыми и ретикулярными волокнами и клеточными элементами [227, 235].

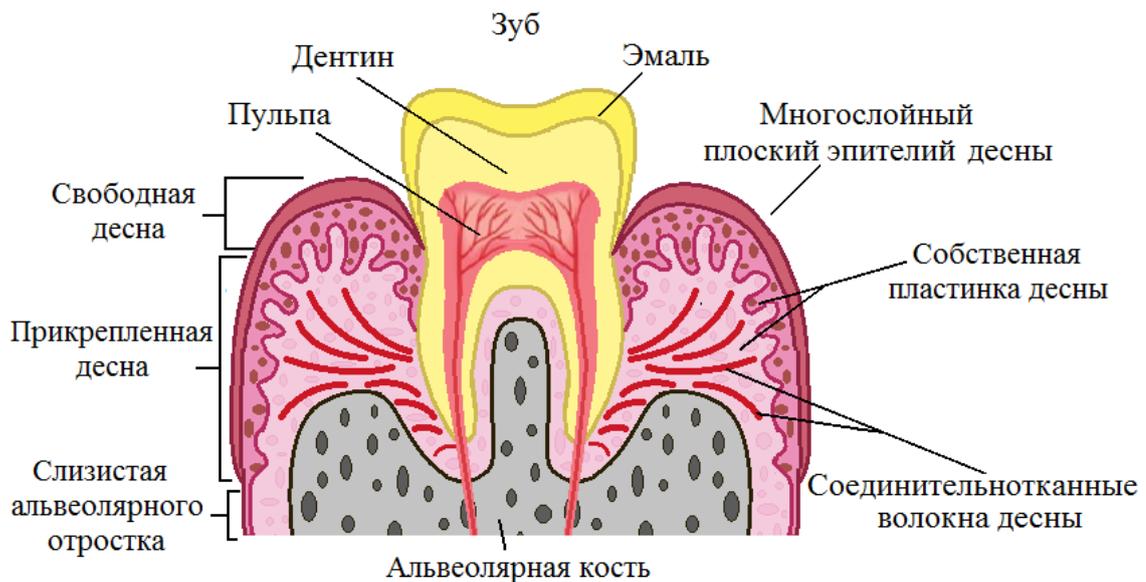


Рис 6. Структурное строение слизистой оболочки десны

Независимые исследования оптической толщины слоев здоровой десны человека, измеренные с помощью оптической когерентной томографии с зондом для измерений *in vivo* (азиатская волонтерка 30 лет), составила ~ 237 мкм для EP и 830 мкм для LP (прикрепленная десна) [95]. Геометрические толщины слоев ткани могут быть оценены с использованием среднего показателя преломления $n \approx 1.4$ при 1310 нм [3] как 169 мкм для EP и 593 мкм для LP, всего 762 мкм. В этом исследовании средняя толщина 10 образцов слизистой оболочки десны равнялась 590 ± 80 мкм, таким образом, образцы включали эпителиальный слой и основную часть слоя LP. Собственный слой слизистой оболочки полости рта представляет собой соединительную ткань, которая состоит из волокнистых структур, клеточных элементов и межклеточного вещества. Коллагеновые и аргирофильные

волокна собственного слоя слизистой оболочки представляют собой волокнистые структуры, и особенно их много в твердом небе и деснах. В слизистой оболочке полости рта больше аргирофильных волокон и меньше коллагеновых волокон, чем в коже.

Эффективный коэффициент диффузии тканевой жидкости под действием 99.5% -глицерина в здоровой десневой ткани человека был определен как $(1.78 \pm 0.22) \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ [307], что согласуется с литературными данными для других мягких тканей [5] и в основном связано с диффузией молекул воды через две полупроницаемые биологические мембраны с толщиной $l_1=169 \text{ мкм}$ (EP) и $l_2=593 \text{ мкм}$ (LP) и коэффициенты диффузии D_1 и D_2 соответственно. Коэффициент общей диффузии можно рассчитать как:

$$D = (l_1 + l_2)^2 / [(l_1)^2 / D_1 + (l_2)^2 / D_2] \quad (7)$$

Для оценки D_1 может быть подходящим коэффициент диффузии воды в липидной мембране $D_1 = D_{\text{lipid}} \approx 3.0 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2 / \text{с}$ [308]. Для оценки D_2 для менее плотного и более проницаемого слоя LP может использоваться концепция подвижности затрудненной молекулы в тканях относительно диффузионной воды в воде D_w , которая количественно определяется таким параметром, как извилистость ткани S [309]:

$$S = l_d / L = \sqrt{D_w / D_2} \quad (8)$$

это отношение длины пути молекулярного потока между двумя точками l_d к прямому расстоянию между этими точками L . Здесь D_2 - эффективный коэффициент диффузии, учитывающий удлинение пути диффузии молекул воды. Извилистость тканей находится в диапазоне от 1.2 для мозга; до 3-3.5 для дермы кожи [310], для десневого слоя LP $S \approx 3.9$ должно быть приемлемо, поэтому для $D_w=3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ [98] по формуле (8) $D_2 = 0.2 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 / \text{с}$. Наконец, из уравнения (7) суммарный коэффициент диффузии рассчитывается как $D \approx 2.1 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$, что хорошо соответствует экспериментальному значению $D = (1.78 \pm 0.22) \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ [308].

2.2.3. Некоторые биофизические параметры строения дентина зуба человека.

Зуб человека состоит из корня, шейки и коронки, покрытой эмалью - самой твердой тканью зуба (рис 7,а). Дентин составляет основную массу зуба, имеет светло-желтую окраску, обладает некоторой эластичностью; он прочнее кости и цемента, но в 4–5 раз мягче эмали. Он состоит из межклеточного вещества, пронизанного дентинными канальцами (тубулами), обуславливающими его трофику (рис 7,б). Они имеют внутренний диаметр от 0.5 до 4 мкм в зависимости от области зуба. Среднее количество дентинных канальцев на единицу объема (плотность) в средней части дентина корня зуба значительно ниже, чем в средней части дентина коронки зуба. Плотность канальцев в дентине, расположенного ближе к внешней части зуба, также значительно отличается от плотности, расположенной вблизи окклюзионной трещины. Замечено, что при низкой плотности дентинных канальцев они имеют более разветвленную структуру. Размер ветвей дентинных канальцев различается в зависимости от расположения: ветви дентинных канальцев, расположенных по периферии, имеют диаметр 0.5-1 мкм; мелкие ветви диаметром от 300 до 700 нм расположены под углом в 45° и обильны в таких областях, как корень, где плотность канальцев относительно низкая; самые мелкие разветвления диаметром 25–200 нм, они вытянуты под прямым углом от канальцев во всех частях дентина (табл.2). [98, 102].

Таблица 2. Плотность дентинных канальцев, исследуемых образцов спилов зубов человека.

Параметр	№ образца спила							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Толщина среза, мм	0.92	0.97	0.93	0.57	0.62	0.58	0.76	0.82
Средний диаметр дентинных канальцев, мкм	2.94± 0.81	2.32± 1.07	3.08± 0.94	1.98± 0.34	1.50± 0.41	3.08± 0.94	3.86± 1.02	2.56± 0.73
Плотность числа дентинных канальцев, 1 / мм ²	20661	9120	21125	10023	6790	27000	35076	19962

Эмаль образована из призм, которые расположены под различными углами к поверхности. После эмали расположен дентин (в коронковой и корневой части зуба). Эмаль и дентин это минерализованная соединительная ткань, содержащая

примерно 70% минеральных веществ, 20% органических веществ и 10% воды. Особенностью дентина является наличие канальцев (дентинных трубочек диаметром от 2 до 5 мкм), пронизывающих всю толщу дентина и содержащих цитоплазматические отростки одонтобластов – клеток, расположенных на периферии пульпы. Количество и диаметр просвета дентинных трубочек различно в разных частях зубного органа. Количество их уменьшается на единицу объёма дентина в направлении от рога пульпы к апексу (верхушке) корня и от полости зуба к дентиноэмалевому или дентино–цементному соединению (рис.7, б.), которые пронизывают всю толщину дентина [312, 313].

Независимо от того, как свет попадает на внешнюю поверхность зуба, освещение пульпы всегда эффективно благодаря извилистой форме световодов. Эффект волновода значительно более выражен в дентине, чем в эмали [103].

По происхождению дентин делится на первичный, формирующийся до прорезывания зуба, вторичный, откладывающийся в течение жизни после прорезывания зуба, и третичный, который формируется в ответ на раздражение пульпы. Зоной роста дентина является предентин – неминерализованный слой дентина, непосредственно примыкающий к пульпе. Между дентином и предентином имеется чёткая граница.

Дентин подразделяют на интертубулярный, расположенный между канальцами, и перитубулярный, образующий стенки канальцев. В зрелых зубах на поперечных срезах дентинных трубочек перитубулярный дентин прослеживается от предентина до дентиноэмалевого соединения и занимает у предентин–дентинной границы до 60% площади, а у дентиноэмалевого соединения – около 2.5% [104]. В перитубулярном дентине почти не выявляются коллагеновые волокна и содержание органических веществ, в то время как они найдены в интертубулярном дентине. Основную массу органической основы перитубулярного дентина составляют гликозаминогликаны, концентрация которых превышает таковую в интертубулярном дентине. Имеются также протеогликаны и гликопротеины. Интертубулярный дентин состоит в основном из

коллагенового матрикса (представлен коллагеном I типа), неколлагеновых белков, липидов, цитратов и кристаллов гидроксиапатита [314].

У дентиноэмалевого соединения так называемый плащевой интертубулярный дентин содержит коллагеновые волокна (волокна Корфа), ориентированные перпендикулярно дентиноэмалевому соединению (рис.7,а). При этом толщина плащевого дентина варьирует от нуля до нескольких десятков микрометров. Околопульпарный интертубулярный дентин является продолжением плащевого дентина. Его коллагеновые волокна (волокна Эбнера) тоньше и ориентированы перпендикулярно дентинным трубочкам [315]. В интертубулярном дентине кристаллы апатитов расположены не только между и на поверхности коллагеновых волокон, но и внутри волокон. Кристаллы апатитов интертубулярного дентина похожи на кристаллы перитубулярного дентина, но выглядят более уплощёнными за счёт бóльшей ширины, которая составляет около 36 нм. При средней толщине около 10 нм ширина превышает толщину в 3.6 раза (у перитубулярного дентина – в 2.6 раза). Длина кристаллов апатитов интертубулярного дентина составляет около 70 нм [316, 317].

Цемент - это ткань зуба, покрывающая дентин корня. В области эмалевошейечной линии или эмалевоцементной границы его толщина наименьшая (десятки микрометров), а в области апекса толщина может достигать до 1.5 мм. Цемент в основном участвует в формировании опорно -удерживающего аппарата зуба [317, 318].

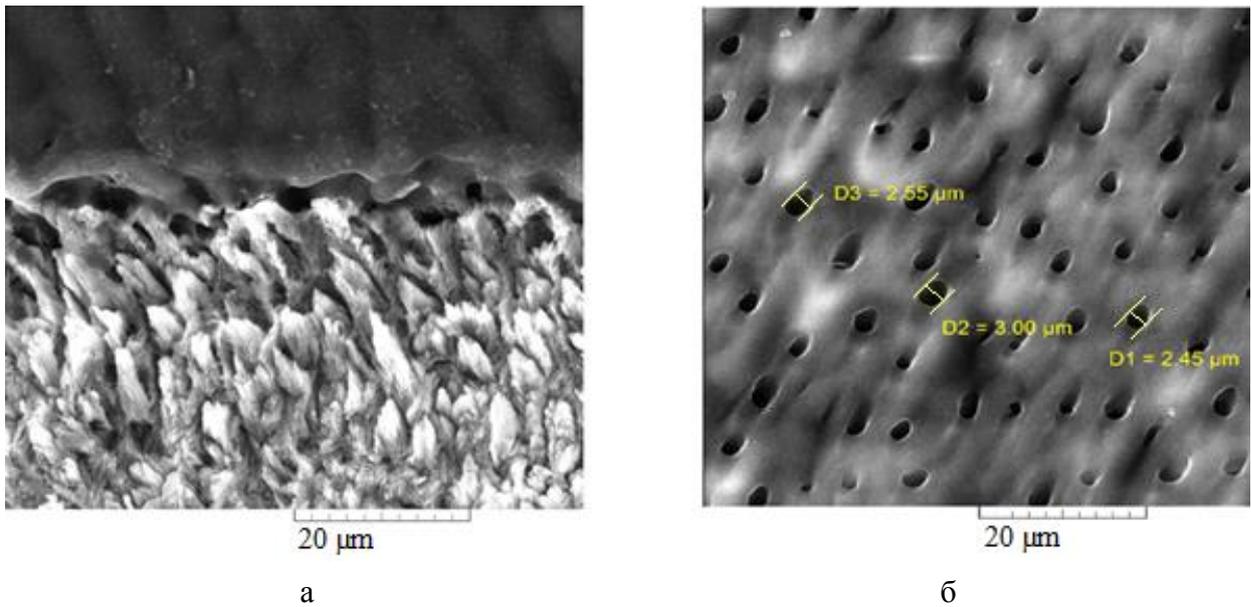


Рис.7. Электронная микрофотография (СЭМ) продольного разреза дентина человеческого зуба (увеличение в 5000 раз) а – дентино-эмалевое соединение; б – дентин (дентинные канальца).

Основными минеральными компонентами зуба являются гидроксиапатиты, которые присутствуют в зубной ткани в нанокристаллическом состоянии и содержат в структуре большое количество сторонних элементов примесей (Na, Mg, K, Fe, Zn, Cu, Ba, F, Cl, C, S). Концентрация примесей не превышает 3–5%, но определяет биологические, механические, а в случае эмали и оптические свойства биогенного гидроксиапатита. Вследствие образования примесными элементами в гидроксиапатите ионных комплексов и групп происходит искажение кристаллической решетки, и, как следствие, изменяются физико-химические свойства гидроксиапатита [319]. Элементный состав зубов существенно влияет на проницаемость и диффузию веществ в зубной ткани. Установлено, что при проведении деминерализации проницаемость основной массы дентина увеличивается, содержание кальция и фосфора уменьшается, а морфология дентинного слоя изменяется [320].

Элементный состав исследуемых образцов зубов человека и деминерализованной 40% HCl в течение 20 минут, представлен в таблице 3.

Таблица 3. - Элементный состав образцов зубов человека без деминерализации и после модельной деминерализации.

	Образцы без деминерализации												
	Element	S	Cl	K	Sc	Fe	Ni	Cu	Zn	As	Rb	Sr	W
X-ray Флуориметри ческий анализ		3170±	332±	401±	6067	583	64±5		432	13±	817	491±	71±
	ppm	925	125	96	±250 0	±14 8	8	20±8	±13 6	10	±25 0	210	25
СЭМ анализ	Element	C		N		O		P			Ca		
	%	51±12		10±5		24±7		5±2			10±2		
X-ray Флуориметри ческий анализ	Деминерализованные образцы												
	Element	S	Cl	K	Sc	Fe	Ni	Cu	Zn	As	Rb	Sr	W
		2950±	570±	485±	5103	426	71±2	35±	230	10±	598±	412±	85±
	pm	1500	98	126	±250 0	±58	0	19	±85	6	147	256	31
СЭМ анализ	Element	C		N		O		P			Ca		
	%	50±9		11±4		35±9		2±1			2±1		

С оптической точки зрения ткань дентина можно отнести к оптически мутным средам у которого форма СДО и полного пропускания коррелируют во всем исследованном диапазоне (200-800 нм). Оптические свойства зуба в основном определяются в дентине. Отражение света на периодических структурах зубной ткани дает информацию о ее строении. СДО и полного пропускания в исследуемом диапазоне от 200 до 800 нм представлены на рис.8.

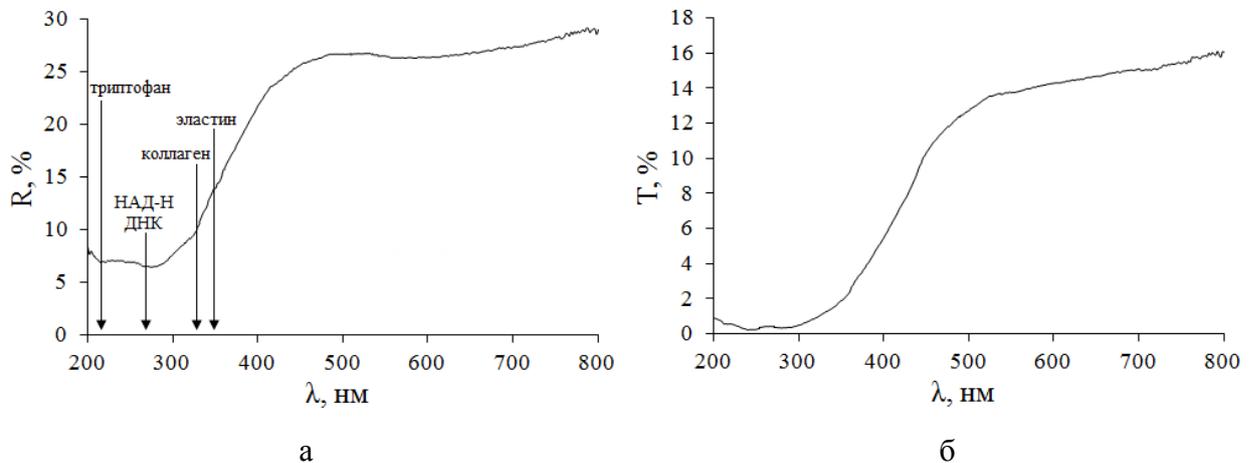


Рис.8. Спектры ткани дентина зуба человека: а – диффузного отражения; б – полного пропускания.

СДО и СПП дентина зуба человека имеют характерный вид, что соотносится с результатами других авторов [321, 322]. В УФ диапазоне формы спектров определяются характерными эндогенными хромофорами. Поглотителями в дентине являются белково-подобные молекулы, аминокислотные остатки, ДНК, НАДН-Н, а также частично коллаген и эластин, вызывая спады СДО на характерных длинах волн. Начиная с 400 нм спектры определяются в основном рассеянием на матрице гидроксиапатита.

Выводы по главе

В данной главе работы определены некоторые биофизические и оптические параметры оптически мутных сред: твердых (дентина зуба человека) и мягких (слизистой десны человека и животных) биотканей ротовой полости. Рассмотрена их структура, строение и состав. Опираясь на литературные данные и собственные исследования определены такие параметры, как размеры эпителия (EP), который составил 169 мкм и собственной пластинки (LP) слизистой десны, который составил 593 мкм, общая толщина слизистой десны составила 762 мкм. Извилистость десневого слоя определена как $S \approx 3.9$. Представлены собственные исследования по элементному составу дентина зуба человека, его пористой структуры, количеству и диаметру дентинных канальцев, определенные методом сканирующей электронной микроскопии. Число дентинных канальцев в исследуемых спилах достигает от 6790 до 35076 шт со средним диаметром от 1.98 ± 0.34 до 3.86 ± 1.02 мкм.

Методом спектроскопии диффузного отражения с применением интегрирующей сферы получены оптические характеристики исследуемых биотканей и идентифицированы их основные эндогенные хромофоры в диапазоне длин волн от 200 до 800 нм. Используя полученные экспериментально данные коэффициентов диффузного отражения и полного пропускания, найдены основные

оптические параметры биотканей: приведенные (транспортные) коэффициенты рассеяния и поглощения дентина и слизистой десны, используя инверсный метод «добавления - удвоения» (IAD). Рассчитана глубина проникновения излучения в исследуемые биоткани в диапазоне от 350 до 800 нм. Определено, что в УФ области глубина проникновения излучения в дентин составляет до 0.47 см, в десну до 0.1 см; а в части «первого окна прозрачности», от 600 до 800 нм, излучение проникает в дентин до 5.5 см, а в десну до 0.69 см.

3. УПРАВЛЕНИЕ ПОГЛОЩАЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ СЛИЗИСТОЙ ДЕСНЫ И ДЕНТИНА ЗУБА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ ЭКЗОГЕННЫХ КРАСИТЕЛЕЙ *EX VIVO*

3.1. Материалы и методы.

В качестве проникающего агента использовали растворы: МС в концентрации 0.05%, полученный разбавлением фармацевтического препарата 1% МС (Россия). Измерение pH растворов проводили с помощью pH-метра (EL2-Kit производства фирмы «Mettles-Toledo», Швейцария). МС давно известен как недорогой, доступный, практически не токсичный и не проникающий в системный кровоток при местном применении препарат, который обладает антимикробными и фотосенсибилизирующими свойствами. МС давно и успешно применяется в стоматологии для диагностики участков деминерализации зубов, при определении стоматологических индексов гигиены, лечения стоматита, кариеса, язвенного гингивита, герпеса в полости рта, а также для ускорения регенерации слизистой и подавления патогенов в твердых и мягких тканях пародонта [322, 323]. Благодаря своей доступности, малой токсичности, антибактериальной активности МС традиционно применяется в стоматологии при определении стоматологических индексов гигиены, лечения стоматита, язвенного гингивита, герпеса в полости рта, а также для диагностики участков деминерализации зубов. Химическая формула МС имеет вид $C_{16}H_{18}ClN_3S$, а молярная масса составляет 319.85 г/М. Активным действующим веществом препарата является хлорид метилтиониния. Механизм действия этого препарата основан на его способности образовывать малорастворимые комплексные соединения с мукополисахаридами и белками бактериальной клетки, что приводит к гибели микроорганизмов и определяет его темновую токсичность.

Цетилпиридиния хлорид - катионное поверхностно-активное вещество общей формулы $[C_{16}H_{33}NC_5H_5]^+Cl^-$, критическая концентрация мицеллообразования которого составляет 0.045%. Является универсальным антисептическим средством, эффективен в отношении грамположительных и

граммотрицательных бактерий, а также некоторых вирусов и грибов. Благодаря значительной увлажняющей способности и незначительному поверхностному натяжению цетилпиридиния хлорид хорошо проникает в глубокие слои слизистой оболочки, где оказывает бактерицидное действие. Цетилпиридиния хлорид широко применяется в составе антисептических жидкостей для полоскания рта, зубных паст, пастилок и леденцов при заболеваниях в ларингооторинологии. Определяли эффективный коэффициент диффузии водного раствора МС, а также МС в растворе цетилпиридиния хлорида (0.001%) и МС в растворе 40% глюкозы.

Еще одним агентом для исследования был выбран фармацевтический препарат «Риванол» на основе акридинового красителя. Он входит в европейскую фармакопею, является восстановителем и регенератором клеток, относится к группе антисептических средств, в больших концентрациях коагулирует белки, а в низких - проявляет определенную селективность, ингибируя некоторые ферменты микроорганизмов, наиболее эффективен в отношении грамположительных бактерий, таких как стрептококки и стафилококки. Риванол используется как для лечения, так и профилактики как обеззараживающее средство, применяется в хирургии, урологии, дерматологии, гинекологии, стоматологии, ЛОР-практике, офтальмологии и др. В качестве проникающего агента использовался 0.01% раствор риванола (Россия) (действующее вещество - этакридина лактат, вспомогательное вещество – метиловый эфир пара-гидроксibenзойной кислоты), полученный разбавлением 1% лекарственного препарата дистиллированной водой. Этакридина лактат (Aethacridini lactas, лактат 2-этокси-6,9-диаминоакридина $C_{15}H_{15}N_3O \cdot C_3H_6O_3$ или $C_{18}H_{21}N_3O_4$), малотоксичное соединение, обладающее фотосенсибилизирующими свойствами с молекулярной массой 343.4 г/моль.

Регистрацию СДО и СПП проводили по методике, описанной во второй главе. Определение коэффициента диффузии фармпрепаратов в биоткани основано на измерении кинетики СДО до полного прекращения изменений, используя модель свободной диффузии. Регистрацию спектров поглощения водных растворов исследуемых агентов проводили на том же спектрофотометре

без интегрирующей сферы в режиме поглощения, раствором сравнения служил растворитель - дистиллированная вода.

Процесс транспорта вещества в образце биологической ткани можно описать в рамках модели свободной диффузии [324]. Геометрически образец биологической ткани можно представить в виде плоскопараллельной пластины конечной толщины. Необходимо также учитывать некоторые ограничения, присущие модели свободной диффузии

1- имеет место только концентрационная диффузия,

2 - коэффициент диффузии постоянен во всех точках внутри исследуемого образца ткани,

3 – объем агента значительно превышает объем биологического образца,

4 - до начала эксперимента предполагается отсутствие агента во всех внутренних точках образца. Используя второй закон Фика и проводя преобразования, основанные на использовании модифицированного закона Бугера–Ламберта–Бера, подробно описанные в работе [325].

Все эксперименты проводились при комнатной температуре ($\sim 25^\circ\text{C}$) и нормальном атмосферном давлении. Используя второй закон Фика и модифицированный закон Бугера–Ламберта–Бера, получаем выражение для разности между эффективной оптической плотностью в текущий момент времени $A(t, \lambda)$ и в начальный момент времени $A(t = 0, \lambda)$

$$\Delta A(t, \lambda) = A(t, \lambda) - A(t = 0, \lambda) = \Delta \mu_{\text{eff}}(t, \lambda) L \sim C_0 \{1 - \exp(-\pi^2 D / 4 t^2)\} L, \quad (9)$$

$$I = I_0 \exp[-\mu_{\text{eff}} L], \quad \mu_{\text{eff}}(t, \lambda) = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)} \rightarrow \Delta \mu_{\text{eff}}(t, \lambda),$$

где эффективная оптическая плотность определяется

$$A = -\log R_d; \quad (10)$$

t – время в секундах, в течение которого происходит процесс диффузии МС, λ – длина волны в нм, $\Delta \mu_{\text{eff}}(t, \lambda)$ – разность между эффективным коэффициентом ослабления света в биоткани в текущий момент времени и в начальный момент времени, $1/\text{см}$; $\mu'_s = \mu_s(1-g)$, $1/\text{см}$, g – фактор анизотропии рассеяния (изменяется в пределах от 0 до 1); L – эффективная глубина зондирования, определяемая

геометрией оптического детектора (в настоящей работе параметрами интегрирующей сферы), см; D – коэффициент диффузии молекул агента, см²/с, C_0 – начальная концентрация агента, %.

Зарегистрированные в процессе эксперимента СДО ($R(\lambda)$, %) преобразовывались с использованием стандартного алгоритма Кубелки–Мунка в спектры ослабления в единицах оптической плотности ($A(\lambda)$) (программное обеспечение спектрофотометра *Shimadzu UV-2550*). Анализ кинетики для разности эффективной оптической плотности (ΔA) с использованием уравнения (4.1.) и учетом коэффициентов для аппроксимации экспериментальных данных, позволяет рассчитать коэффициент диффузии исследуемого агента (D).

Коэффициент проницаемости определяли по формуле [3]:

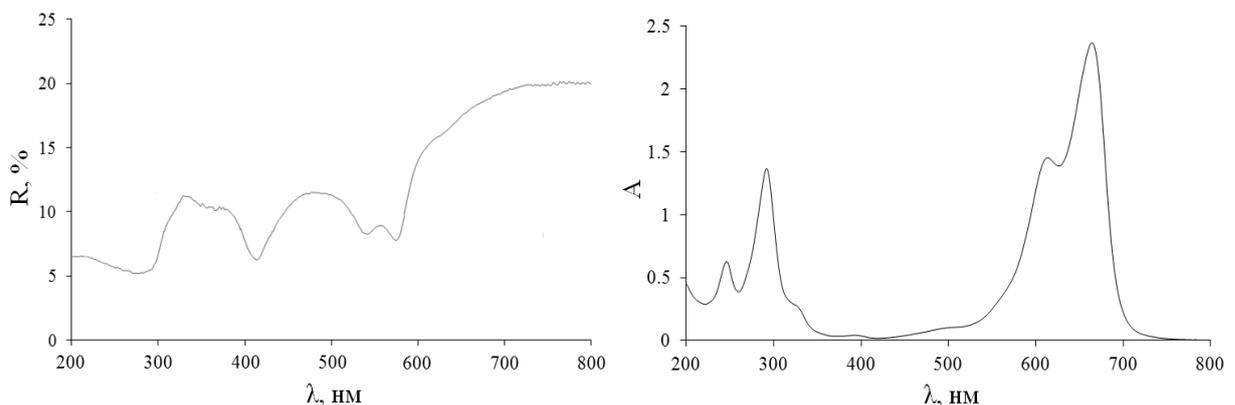
$$P=D/l \quad (11)$$

3.2. Результаты и обсуждение.

3.2.1. Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к метиленовому синему (*ex vivo*).

3.2.1.1. Изменение оптических свойств ткани десны.

Спектр поглощения водного раствора МС представлен на рисунке 9,б. Основной пик поглощения красителя имеет два максимума: первый при 668 нм соответствует мономерной форме красителя, второй, значительно менее выраженный, на длине волны 612 нм соответствующий димерной форме. В УФ области спектра МС имеет два значительно меньших пика поглощения с максимумами на длинах волн 246 и 295 нм.



а б

Рис. 9. а - спектр диффузного отражения десны свиньи; б – спектр поглощения раствора метиленового синего.

Проникая в образец биоткани, 0.05 % раствор МС изменяет форму спектров СДО образцов слизистой десны, что проявляется в виде характерных спадов на линиях спектров, соответствующих полосам поглощения МС (рис. 10, а) как мономерной, так и димерной форм красителя. В области длин волн 200-800 нм происходит равномерное увеличение эффективной оптической плотности (снижение СДО), что говорит об увеличении коэффициента поглощения при прокрашивании образца слизистой десны в растворе МС, однако в области длин волн 200-300 нм и 400 нм увеличение эффективной оптической плотности происходит немного меньше. Из представленных рисунков хорошо видно, что максимальные изменения в СДО локализованы в спектральной области 612-668 нм, соответствующей основным полосам поглощения водного раствора МС, где отчетливо видно изменение формы спектра образца и равномерное уменьшение СДО из-за диффузии красителя в ткань десны. В течение примерно 40 - 50 мин диффузии красителя, СДО меняется достаточно быстро (рис. 10, б), а затем происходит насыщение временной зависимости, что говорит о насыщении среза десны красителем по всему объему и изменения оптической плотности не наблюдаются. При этом, положение пиков поглощения МС в биоткани не смещается и остается вблизи 668 нм - мономерная форма красителя и менее выраженный, на длине волны 612 нм - димерная форма. На рис. 10, б показаны типичные кинетические кривые для изменения ΔA образца десны человека, при его окраске МС, на длинах волн в интервале от 200-800 нм.

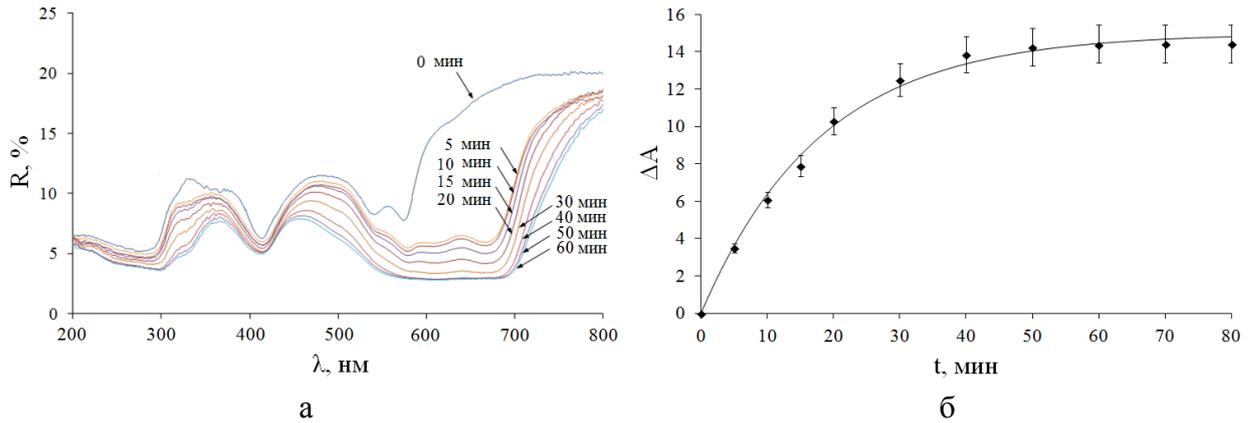


Рис. 10. Результаты оптического изучения десны человека в процессе диффузии 0.05 % раствора МС а) СДО; б) кинетика разностной эффективной оптической плотности, где символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая - аппроксимация.

Коэффициент диффузии (D) МС в ткани слизистой десны, рассчитывался, по уравнению (9), учитывая коэффициенты, полученные после аппроксимации экспериментальных данных методом наименьших квадратов. Вычисления для каждого образца выполнялись для десяти длин волн в спектральной области 200-800 нм, а полученные значения усреднялись.

В среднем ($n = 5$) коэффициент диффузии для водного раствора 0.05% МС составил $D = (1.26 \pm 0.34) \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ для (свободной) десны человека при толщине образцов $l = 0.52 \pm 0.08 \text{ мм}$ [326] и $D = (4.56 \pm 0.72) \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ ($n=4$) для альвеолярной десны свиньи при толщине образцов $l = 0.46 \pm 0.09 \text{ мм}$ [327].

Используя формулу (11), был определен коэффициент проницаемости ткани десны свиньи к водному раствору МС, который составил $P = (99.13 \pm 8.36) \cdot 10^{-7} \text{ см}/\text{с}$, при средней толщине образцов $l = 0.46 \pm 0.09 \text{ мм}$ [328] и проницаемость десны человека $P = (24.23 \pm 4.08) \cdot 10^{-7} \text{ см}/\text{с}$ при $l = 0.52 \pm 0.08 \text{ мм}$.

Полученные значения коэффициентов диффузии находятся в диапазоне 10^{-5} - $10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$, что характерно для водных растворов красителей в биотканях [324]. Так, значение коэффициента диффузии согласуется с данными, представленными в работе [38], где коэффициент диффузии МС в патологически измененной слизистой оболочке верхнечелюстной пазухи человека составил $(4.02 \pm 1.8) \cdot 10^{-7}$

см²/с. Авторами [329] был найден коэффициент диффузии индоцианинового зеленого в коже человека, который составил $(7.7 \pm 2.51) \cdot 10^{-7}$ см²/с. Учитывая структурную особенность, как более плотной среды, и отсутствие подслизистого слоя в ткани десны, полученные данные, показывающие более медленную диффузию по сравнению с кожей человека, вполне закономерны.

Внешне слизистая до окрашивания имеет розоватый естественный цвет (рис. 11,а), а после окрашивания МС - темно-синий цвет (рис. 11,б).

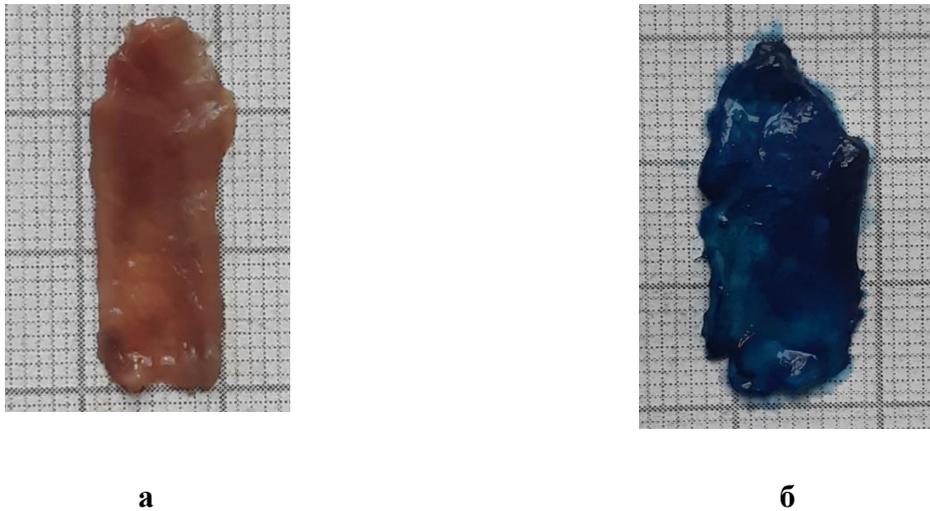


Рис. 11. Фотографии опытных образцов срезов слизистой оболочки десны: а) до окрашивания МС; б) после окрашивания.

СПП десен до окрашивания (рис. 12, спектр 1) аналогичны СДО и имеют характерные провалы при 542 и 576 нм, типичные для пиков оксигемоглобина.

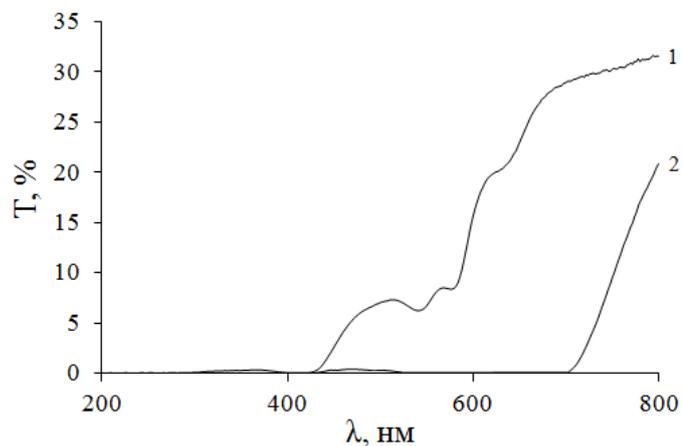


Рис. 12. Спектры полного пропускания десны (толщина образцов десны человека 0.52 ± 0.08 мм до (1) и после (2) диффузии 0.05 % МС в течение 80 минут в интервале длин волн 200–800 нм.

Коэффициент полного пропускания прокрашенной МС десны снижен практически до нуля вплоть до 700 нм, а от 700 до 800 нм значительно меньше, чем у исходного образца, в связи с увеличением поглощающих свойств биоткани.

3.2.1.2. Изменение оптических свойств дентина зуба человека.

Раствор МС в воде ($\text{pH}=7.37\pm 0.02$) и в 0.05% водном растворе ЦПХ ($\text{pH}=7.03\pm 0.03$) имеет несколько пиков поглощения в области спектра 200-800 нм. Основной пик поглощения красителя имеет два максимума: первый при 668 нм, что соответствует мономерной форме красителя, и второй, значительно менее выраженный, на длине волны 612 нм, соответствующий димерной форме (рис. 13, в). В УФ области спектра МС имеет два значительно меньших пика поглощения с максимумами на длинах волн 246 и 295 нм (в водном растворе МС) (рис. 3, в). МС в 0.05% водном растворе ЦПХ имеет дополнительные ярко выраженные пики поглощения при 215 и 250 нм, характерные для раствора цетилпиридинияхлорида (рис.13, г).

Проникая в дентин зуба, МС изменяет форму спектров отражения образцов, что проявляется в виде провалов при длинах волн, характерных для полос поглощения МС на СДО дентина (рис.13, а). Из представленного рисунка хорошо видно, что все изменения в спектрах отражения локализованы в спектральной области 580–700 нм, соответствующей полосам поглощения димерной и мономерной форм водного раствора МС. В течение первого часа изменения в СДО значительны и хорошо заметны (рис. 13,а). Затем изменения в спектрах становятся минимальными, что говорит о насыщении среза дентина красителем по всему объему. При этом положение пика поглощения мономеров МС не смещается и остается вблизи 668 нм. Для образца среза дентина, СДО которого представлен на рис. 13, а, полное насыщение красителем (прокрашивание) произошло через 145

мин нахождения в водном растворе МС. При нахождении того же образца среза дентина в МС, растворенном в 0.001% растворе цетилпиридинияхлорида (рис. 13, г), насыщение произошло только к моменту времени 200 мин, и в меньшей степени, чем при прокрашивании раствором МС в 40% глюкозе (насыщение произошло к 120 минутам) (рис. 13, ж). Поскольку общая площадь дентиновых канальцев велика можно предположить, что они вносят существенный вклад в процесс прокрашивания дентина и диффузии красителя внутрь образцов.

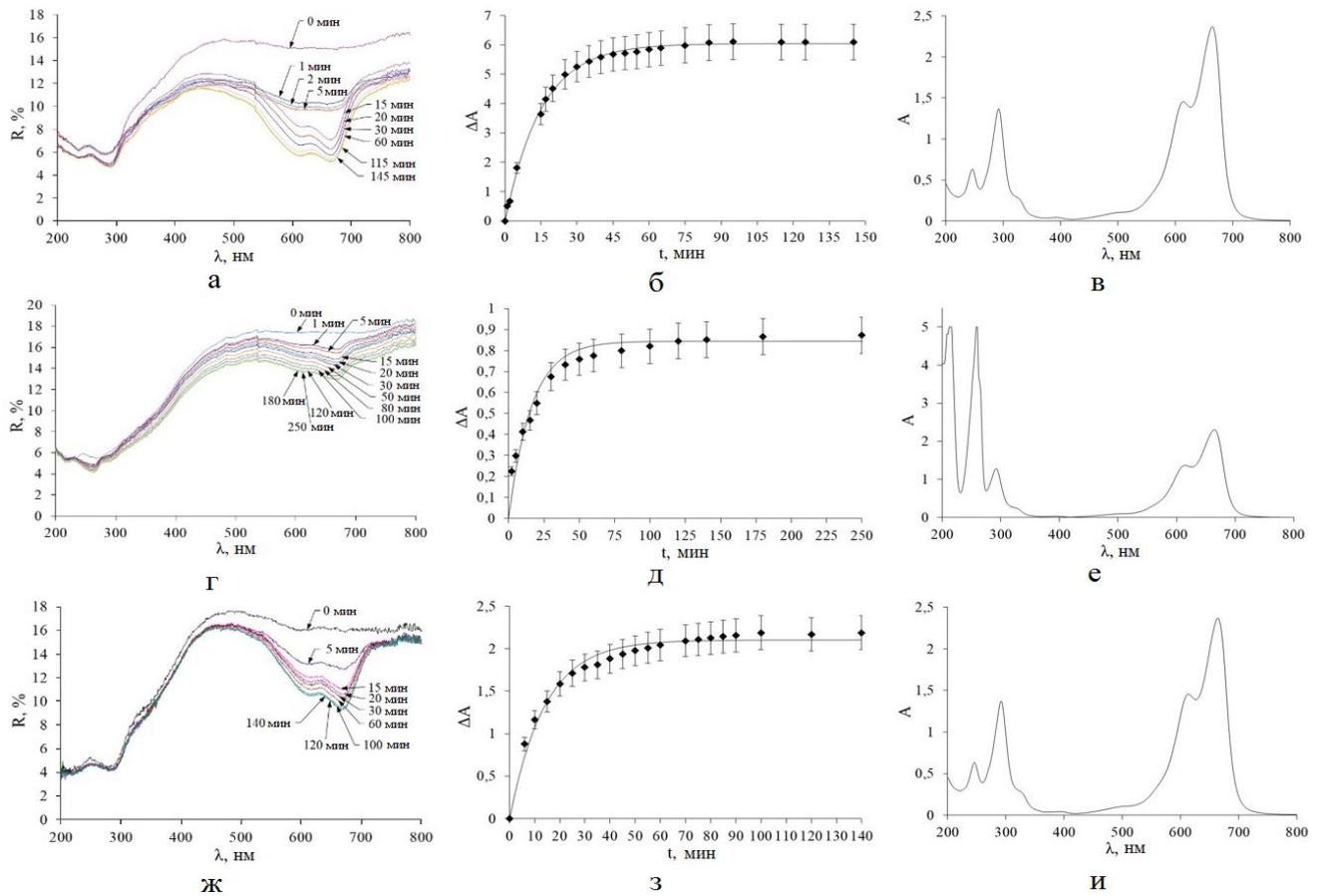


Рис.13. СДО дентина зуба человека при диффузии растворов: а – водный раствор МС; г – МС в цетилпиридинияхлориде; ж - МС в 40% глюкозе. Кинетика эффективной оптической плотности по экспериментальным данным: б - водный раствор МС; д – МС в цетилпиридинияхлориде; з - МС в 40% глюкозе. Символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая - аппроксимация экспериментальных данных в рамках модели свободной диффузии. Спектры поглощения исходных растворов: в – водный раствор МС; е – МС в цетилпиридинияхлориде; и - МС в 40% глюкозе.

МС относится к классу основных растворителей. В водном растворе существует равновесие между двумя формами красителя: положительно заряженная и восстановленная (незаряженная) форма МС. Глюкоза - это моносахарид из группа альдогексоз. В природе встречается естественная форма - D-глюкоза. В водном растворе устанавливается динамическое равновесие между несколькими таутомерами, четыре из которых в кислородсодержащих пятичленных циклах содержат 4–5 гидрофильных группы -ОН и СН₂ОН (ОН); открытый альдегид и его гидратированные формы (для ряда других таутомеров количество гидрофильных гидроксильных групп увеличивается). Наиболее стабильным является таутомер бета-D-глюкопиранозы. Обилие гидрофильных групп, склонных к образованию водородных связей приводит к сильной гидратации любых таутомерных форм глюкозы, существующих в водном растворе.

На рис. 13, б,д,з показаны типичные кинетические кривые для изменения ΔA образца зуба, при его окраске МС, на длине волны 668 нм. Хорошо видно, что изменения оптической плотности образца зуба наблюдаются в течение примерно 90 мин с момента его взаимодействия с раствором МС, после чего диффузия красителя в образец прекращается и изменения оптической плотности не наблюдаются. Коэффициент диффузии МС определяли из анализа участка экспериментальной кривой, соответствующего изменению оптической плотности, с учетом толщины образца, методом наименьших квадратов. Вычисления для каждого образца выполнялись для десяти длин волн в спектральной области 600–700 нм, а полученные значения усреднялись. Среднее значение коэффициента диффузии водного раствора МС в дентине составило $D^*=(5.29\pm 1.33)\times 10^{-6}$ см²/с [330]. (* Пересчитанный ($\cdot \pi/4$) (более уточненный) коэффициент диффузии). Коэффициент диффузии мицеллярного раствора МС в цетилпиридинии хлориде в дентин зуба человека составил $D^*=(1.50\pm 1.33)\cdot 10^{-6}$ см²/с [331]. Коэффициент диффузии МС в 40% глюкозе составил $D^*=(3.1\pm 0.85)\cdot 10^{-6}$ см²/с. [332]. Проницаемость дентина к растворам МС составила:

$P=(10.58\pm 1.05)\cdot 10^{-5}$ см/с для водного раствора; $P=(3.00\pm 0.56)\cdot 10^{-5}$ см/с для МС в цетилпиридинии хлориде; $P=(6.20\pm 0.73)\cdot 10^{-5}$ см/с для МС в 40% глюкозе (при $l=0.5\pm 0.1$ мм).

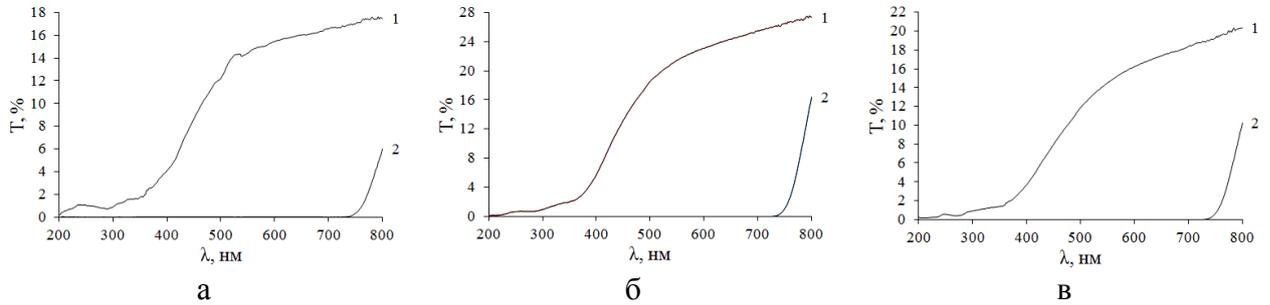


Рис. 14. Спектры полного пропускания дентина зуба человека (при $l=0.5\pm 0.1$ мм, $n = 5$) до (1) и после (2) диффузии 0.05 % МС: а - в воде; б – в мицеллярном растворе цетилпиридинияхлорида; в – в 40% глюкозе.



а



б



в



г



д



е

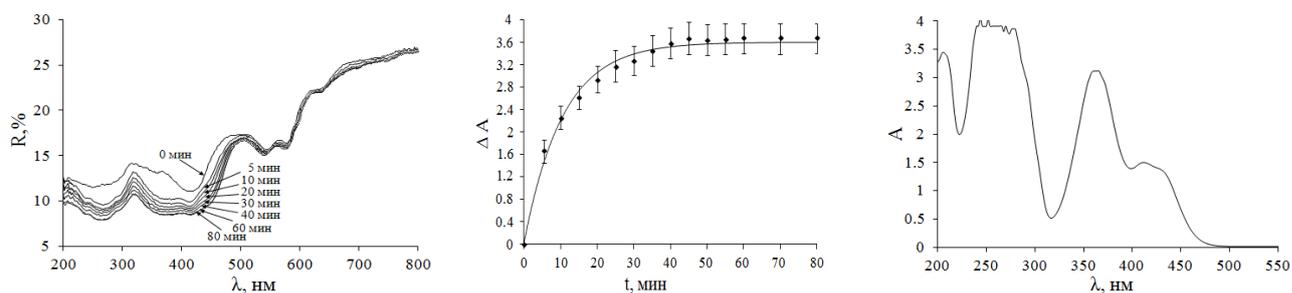
Рис. 15. Фото образцов дентина зуба человека: исходные – а, б, в; после полного прокрашивания 0.05 % МС: г - в воде; д – в мицеллярном растворе цетилпиридинияхлорида; е – в 40% глюкозе.

Наиболее интенсивную окраску имеет образец дентина после завершения процесса диффузии водного раствора МС (рис.15,г), чуть меньше окрасился образец, находившийся в мицеллярном расстворе цетилпиридинияхлорида (рис.15,д) и менее всего в 40% глюкозе (рис.15, е). Анализируя СПП дентина после прекращения диффузии МС в различных расстворителях, видно, что спектры изменяют форму и излучение практически не проходит вглубь прокрашенной биоткани вплоть до 750 нм, что соответствует пикам поглощения МС.

3.2.2. Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к риванолу (*ex vivo*).

3.2.2.1. Изменение оптических свойств ткани десны.

Еще одним препаратом для исследования выбран риванол на основе акридинового красителя, обладающий антисептическими, фотосенсибилизирующими свойствами, раствор которого имеет линии поглощения в УФ и видимой области (363 нм) (рис. 16,в), а также флуоресценцию в зеленой области спектра и может служить потенциальным маркером в тераностике ($pH=5.45\pm 0.02$). Из рис.16,в видно, что спектр риванола имеет интенсивный пик в УФ диапазоне 200 - 300 нм, а также пик поглощения при 363 нм, и при 410 нм. Растворителем является вода, которая слабо поглощает в исследуемом диапазоне длин волн 200-800 нм (коэффициент поглощения менее 10^{-2} см^{-1}) и не вносит существенных изменений в спектр поглощения риванола [335].



десны свиньи для риванола составил $P=(42.91\pm 3.42)\cdot 10^{-7}$ см/с (при $l=0.55\pm 0.12$ мм).

Водные растворы красителей в биотканях имеют коэффициенты диффузии в диапазоне 10^{-6} - 10^{-7} см²/с [324], что соответствует полученному значению для 0.01% риванола в ткань альвеолярной десны свиньи [327, 333].

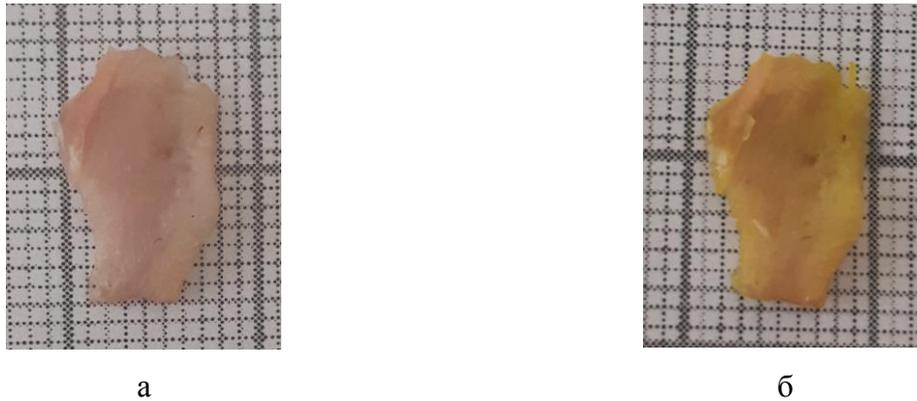


Рис.17. Фото образца слизистой десны до – а и после – б прокрашивания риванолом (в течение 80 мин).

СПП образцов слизистой десны человека, измеренные в начальный момент эксперимента (кривая 1) и после полного прокрашивания образца (кривая 2) представлены на рис.18.

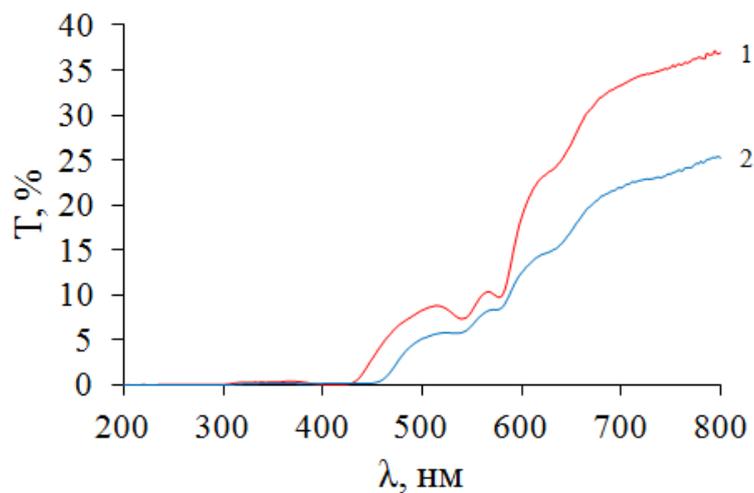


Рис. 18. СПП в интервале длин волн 200–800 нм: до (1) и после (2) диффузии 0.01% риванола (80 мин) в ткань прикрепленной десны свиньи.

Анализируя СПП, можно сделать вывод, что при полном окрашивании образцов слизистой десны риванолом ткань десны практически не пропускает излучение вплоть до 450 нм, а от 450 до 800 нм пропускает излучение меньше, чем в исходном состоянии, что необходимо учитывать при светолечении.

3.3.2.2. Изменение оптических свойств ткани дентина зуба человека.

СДО образца дентина человеческого зуба представлены на рис. 19, а. Они имеют ярко выраженные спады, характерные для полос поглощения белков соединительной ткани в виде коллагеновых и ретикулярных волокон в области 200-320 нм.

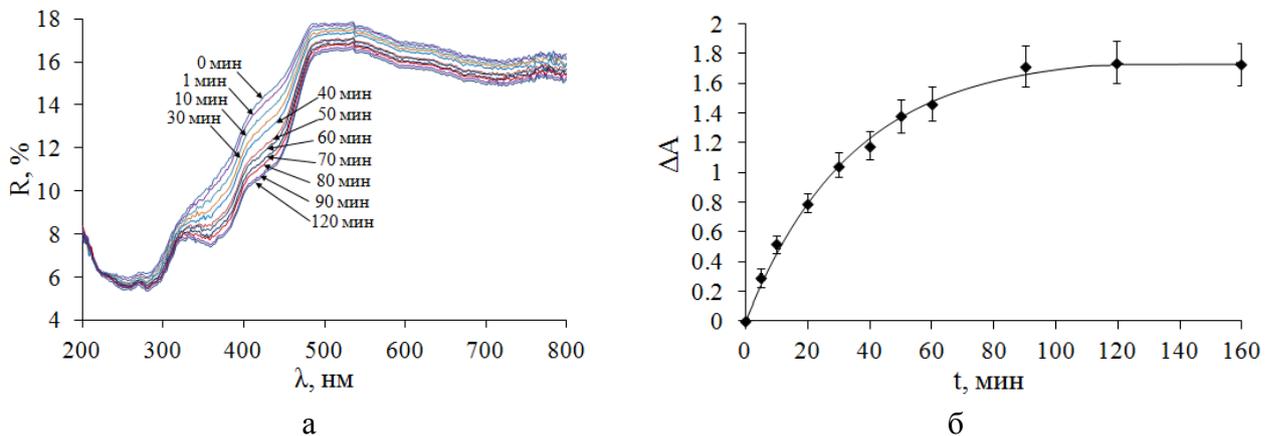


Рис. 19. а) СДО дентина человеческого зуба при диффузии в растворе риванола; б) кинетика дифференциальной эффективной оптической плотности дентина человеческого зуба при диффузии раствора риванола. Символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая – аппроксимация экспериментальных данных в рамках модели свободной диффузии.

В процессе диффузии молекул этакридинлактата (активного компонента риванола) в дентин коэффициент диффузного отражения дентина снижается во всей спектральной области от 200 до 800 нм. Однако с течением времени в процессе диффузии форма СДО изменяется. В области, характерной для пиков поглощения риванола при 363 и 405 нм, наблюдается увеличение характерных провалов в СДО, что указывает на окрашивание образца дентина. Когда препарат полностью

проникает в образец дентина, форма спектров и коэффициент диффузного отражения перестают изменяться. Для образца дентина СДО, который представлен на рис. 19,а полное окрашивание произошло через 90 мин после начала диффузии. На рис. 19, б показана типичная кривая изменения ΔA образца дентина зуба при диффузии риванола в диапазоне длин волн от 200 до 800 нм. Хорошо видно, что изменения оптической плотности образца зуба при контакте с водным 0.01% раствором риванола наблюдаются в течение 90 мин от начала взаимодействия с агентом, по истечении этого времени зависимость выходит на насыщение. Коэффициент диффузии риванола определяли из анализа участка экспериментальной кривой, соответствующего наибольшему изменению оптической плотности с начала эксперимента до 90 мин. Фотографии тестовых образцов дентиновых дисков человеческого зуба представлены на рисунке 20. Коэффициент диффузии был рассчитан для каждой из десяти длин волн, обнаруженных в спектрах от 200 до 800 нм. Полученные значения усредняли с вычислением среднего значения и стандартного отклонения. Эффективный коэффициент диффузии 0.01% раствора риванола в дентине зуба человека $D=(2.27\pm 0.32)\times 10^{-6}$ см²/с, а коэффициент проницаемости составил $P=(37.21\pm 3.45)\cdot 10^{-6}$ см/с (при $l=0.61\pm 0.09$ мм) [334].

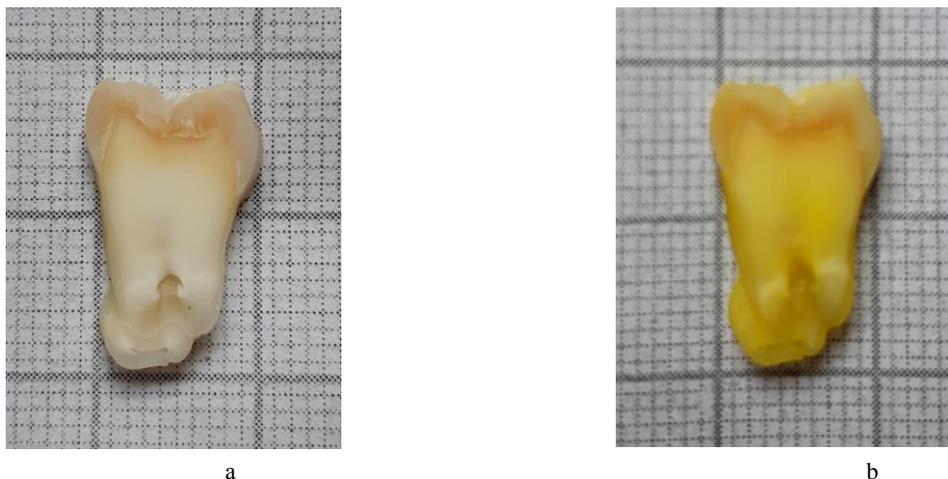


Рис.20. Фото образца дентина зуба человека до – а и после – б прокрашивания риванолом (в течение 160 мин).

После прекращения процесса диффузии риванола в дентин зуба человека образцы приобретают ярко желтый цвет, характерный для этакридина, входящего в состав риванола.

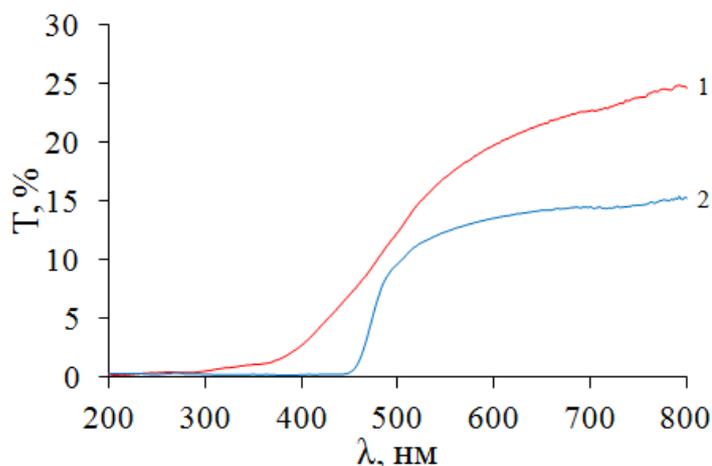


Рис. 21. СПП в интервале длин волн 200–800 нм: до (1) и после (2) диффузии 0.01% риванола в ткань дентина зуба человека (160 мин).

После полного прокрашивания образцов дентина риванолом поглощающие свойства дентина значительно увеличиваются и излучение значительно меньше проникает в биоткань, чем в исходном состоянии, что проявляется снижением коэффициента пропускания (кривая 2 на рис.21).

Выводы по главе

В данной главе представлены исследования взаимодействия красителей: МС и риванола (на основе акридинового красителя) с десной человека (и животных) и дентина зуба человека методом спектроскопии диффузного отражения. При диффузии красителей в исследуемых образцах выявлено, что характерные пики поглощения препаратов не смещаются и остаются на характерных для них длинах волн. Определено, что полное прокрашивание водным раствором МС образцов десны происходит за 60-90 минут, а дентина - за 145-160 минут. При нахождении образцов срезов дентина в МС, растворенном в 0.001% растворе цетилпиридинияхлорида, прокрашивание происходит к 200 мин, и в меньшей

степени, чем при прокрашивании раствором МС в 40% глюкозе (насыщение произошло к 120 минутам). Поскольку общая площадь дентиновых канальцев велика можно предположить, что они вносят существенный вклад в процесс диффузии красителей внутрь образцов дентина. МС относится к классу основных растворителей. В водном растворе под действием полярных молекул воды существует равновесие между двумя формами красителя: положительно заряженной (более гидрофильной) и незаряженной формой МС (более гидрофобной). Это равновесие нарушается в мицеллярных водных растворах поверхностно активного вещества. Характер смещения этого равновесия определяется зарядом мицеллы. При концентрациях равных или больше критической концентрации мицеллообразования поверхностно-активные вещества образуют мицеллы - динамические заряженные (у ионных) образования. Цетилпиридинияхлорид является катионным поверхностно-активным веществом. Благодаря сильному электростатическому притяжению значительное число противоионов (до 80% и более) связаны с поверхностью мицеллы и составляют с ней единое целое [335]. Положительно заряженной форме МС в результате электростатического отталкивания одноименных зарядов, практически невозможно проникнуть к ядру мицеллы цетилпиридинияхлорида, в то время как гидрофобная компонента МС может легко достичь ядра мицеллы, поскольку она не заряжена. Происходит процесс солюбилизации гидрофобной формы МС в ядре мицеллы, приводящая к перестройке мицеллярного раствора и укрупнению мицелл. Увеличивается, также среднее количество молекул в мицелле, происходит агрегация. Этим объясняется меньшее проникновение МС в растворе цетилпиридиния хлорида по сравнению с водным раствором красителя. МС способен взаимодействовать с самим собой в водном растворителе с образованием комплексных ассоциатов, которые плотным слоем покрывают поверхность образца, застилают входы в дентиновые канальца и удерживаются на поверхности дентина за счет водородных связей. Цетилпиридинияхлорид в концентрации, превышающей мицеллообразование, также покрывает плотным слоем поверхность

дентина, образуя мицеллярную пленку и закрывающую входы в дентинные каналы и диффузия происходит медленнее, чем в водном растворе.

В случае растворения МС в растворе высокой концентрации глюкозы (40%) структура жидкой воды изменяется в сторону появления новых межмолекулярных водородных связей с введенной глюкозой, что влияет на скорость миграции молекул через такую среду. В системе глюкоза - МС происходит окислительно-восстановительный процесс (динамическое равновесие в которой поддерживаются, поскольку система имеет доступ к воздуху), возникают водородные связи и возникает электростатическое взаимодействие между противоположно заряженными группами глюкозы и МС. Поскольку гидратация глюкозы в ее растворе высокой концентрации (40%) оказывает тормозящее действие на поступательное движение свободных молекул жидкой воды из-за возникающих водородных связей, в которых может участвовать МС, скорость диффузии последнего затруднена. Выявлено, что такое изменение в природе среды, в которой происходит диффузия МС с введением глюкозы, оказывает менее сильное влияние, чем в мицеллярном растворе цетилпиридинияхлорида.

Полное прокрашивание образцов десны риванолом происходит за 80-90 мин., а дентина зуба человека - за 120-140 мин.

На основе измерений кинетики изменения оптических свойств биотканей при действии растворов красителей были определены коэффициенты проницаемости десны и дентина к препаратам и их бинарные коэффициенты диффузии, представленные в таблице 4.

Таблица 4. - Эффективные значения коэффициентов диффузии исследуемых красителей в десну и дентин зуба человека и животных.

Образец	99.5% глицерин	87.5% глицерин	40% глюкоза
биоткани (<i>ex vivo</i>)	$D, \text{ см}^2/\text{с} / P, \text{ см}/\text{с}$	$D, \text{ см}^2/\text{с} / P, \text{ см}/\text{с}$	$D, \text{ см}^2/\text{с} / P, \text{ см}/\text{с}$

Десна человека	$(1.78 \pm 0.22) \cdot 10^{-6}$ / $(30.17 \pm 6.14) \cdot 10^{-6}$	-	$(4.6 \pm 0.8) \cdot 10^{-6}$ / $(95.8 \pm 7.2) \cdot 10^{-6}$
Десна свиньи	-	$(3.2 \pm 0.7) \cdot 10^{-6}$ / $(25.6 \pm 5.5) \cdot 10^{-6}$	-
Дентин зуба человека	$(5.86 \pm 0.40) \cdot 10^{-7}$ / $(72,35 \pm 6,78) \cdot 10^{-7}$	-	$(3.2 \pm 0.8) \cdot 10^{-6}$ / $(53.3 \pm 4.5) \cdot 10^{-6}$

Анализируя спектры полного пропускания, можно сделать вывод, что при полном окрашивании исследуемых биотканей 0.05% раствором МС, исследуемая биологическая ткань практически не пропускает излучение до 700 нм, что связано с увеличением поглощающих свойств биотканей в области пиков МС 612 и 668 нм, соответствующих мономерной и димерной формам красителя. При полном окрашивании образцов слизистой десны и дентина риванолом выявлено увеличение поглощающих свойств исследуемых биотканей вплоть до 450 нм (пики поглощения риванола находятся в УФ области: в диапазоне 200 - 300 нм, а также при 363 нм и 410 нм).

После полного окрашивания исследуемых биотканей выявлено, что излучение проникает в подповерхностные слои начиная с 700 до 800 нм (в случае диффузии МС) и с 450 до 800 нм (в случае диффузии риванола), и значительно меньше, чем в исходном состоянии, что необходимо учитывать при светолечении.

4. УПРАВЛЕНИЕ РАССЕИВАЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ СЛИЗИСТОЙ ДЕСНЫ И ДЕНТИНА ЗУБА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ ИММЕРСИОННОГО МЕТОДА *EX VIVO*

4.1. Материалы и методы исследования

Для измерения коэффициентов пропускания и диффузного отражения образцов биологических тканей в спектральном диапазоне 200-800 нм использовался двухлучевой спектрофотометр Shimadzu UV-2550 (Япония) с интегрирующей сферой. Методика проведения измерений и подготовка биоматериалов описана в главе 2. Коэффициент диффузии и проницаемость тканей слизистой десны и дентина зуба человека рассчитывались по формулам (9, 11), представленным в третьей главе.

В качестве иммерсионных агентов использовались высококонцентрированный глицерин (99.5% (Россия) марки ч.д.а., и фармпрепарат глицерин (Россия) с плотностью раствора, указанной изготовителем равной 1.20 – 1.23, что соответствует массовой доле глицерина в растворе 85 – 90 % соответственно (считаем 87.5% раствор) [337]. Глицерин ($C_3H_5(OH)_3$) - это бесцветная, вязкая жидкость, с молекулярной массой $M=92.1$ г/моль. Глицерин является представителем трехатомных спиртов, гигроскопичен, не ядовит и не имеет запаха. Глицерин широко распространен в живой природе. Он играет важную роль в процессах обмена веществ в организмах животных, является компонентом многих пищевых продуктов, кремов, косметических средств и применяется как просветляющий агент [3].

В качестве второго иммерсионного агента использовали фармпрепарат, раствор для внутривенного введения - 40% глюкоза (ООО «Гротекс», Россия).

Важным параметром для количественной оценки достигаемого просветления ткани является эффективность просветления, которая определяется как [5]:

$$Q(T) = \frac{T(t) - T(t=0)}{T(t=0)} \times 100\% \quad , \quad (12)$$

где $T(t=0)$ – коэффициент пропускания в начальный момент времени, $T(t)$ – коэффициент пропускания в момент времени t .

4.2. Результаты и обсуждение.

4.2.1. Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к высококонцентрированному глицерину (*ex vivo*).

4.2.1.1. Изменение оптических свойств ткани десны.

Иммерсия тканей слизистой десны человека в 99.5% глицерине.

СДО образцов десны человека представлены на рис.21,а. Они имеют ярко выраженные спады, характерные для полос поглощения белков соединительной ткани в виде коллагеновых и ретикулярных волокон, а также оксигемоглобина (415, 542 и 576 нм). Поглощение воды в измеряемом диапазоне 200-800 нм пренебрежимо мало [336]. Видно, что при взаимодействии глицерина с образцами происходит постепенное снижение коэффициента отражения. При насыщении образца гиперосмотическим агентом происходит сглаживание характерных спадов на СДО, хотя форма спектров не изменяется. После иммерсии образцов тканей десны в 99.5% растворе глицерина полосы поглощения эндогенных хромофоров десны (оксигемоглобина) на СДО становятся менее выраженными, что связано с более низкой вероятностью эффективного поглощения фотонов при их прохождении через просветленный (менее рассеивающий) образец биоткани. Значения коэффициентов диффузного отражения снижаются, по отношению к исходному образцу, что говорит об уменьшении рассеяния света в образцах.

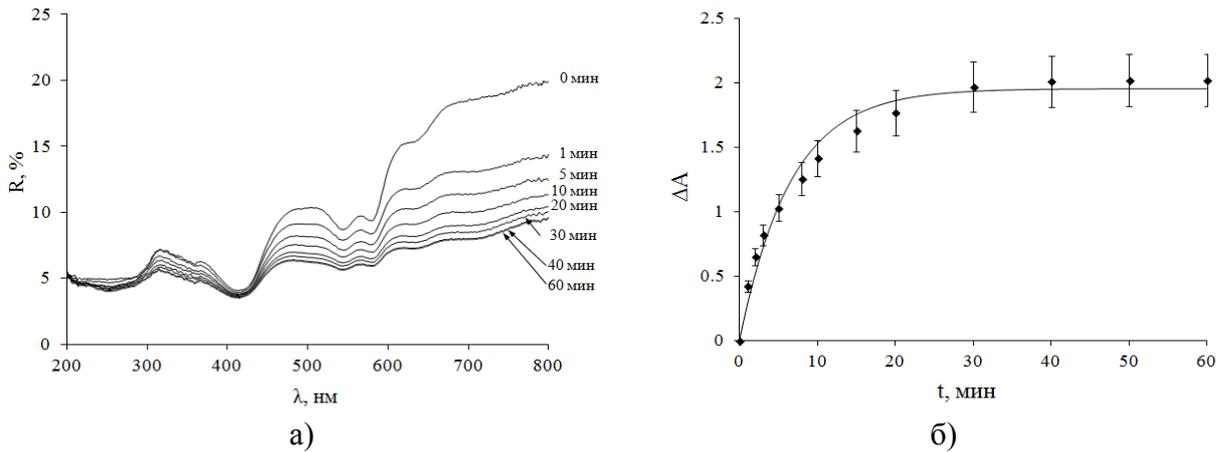


Рис. 22. а) - СДО десны человека в процессе иммерсии в 99.5 % растворе глицерина, б) кинетика разностной эффективной оптической плотности исследуемых образцов десны в процессе диффузии 99.5% глицерина. Символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая представляет аппроксимацию экспериментальных данных в рамках предложенной модели свободной диффузии.

Кинетические зависимости коэффициента диффузного отражения исследуемых образцов биологических тканей, измеренные для разных длин волн, представлены на рис. 23. Видно, что при взаимодействии глицерина с образцами десны происходит постепенное снижение коэффициента диффузного отражения, как в диапазоне от 200 до 415 нм, так и от 500 до 800 нм.

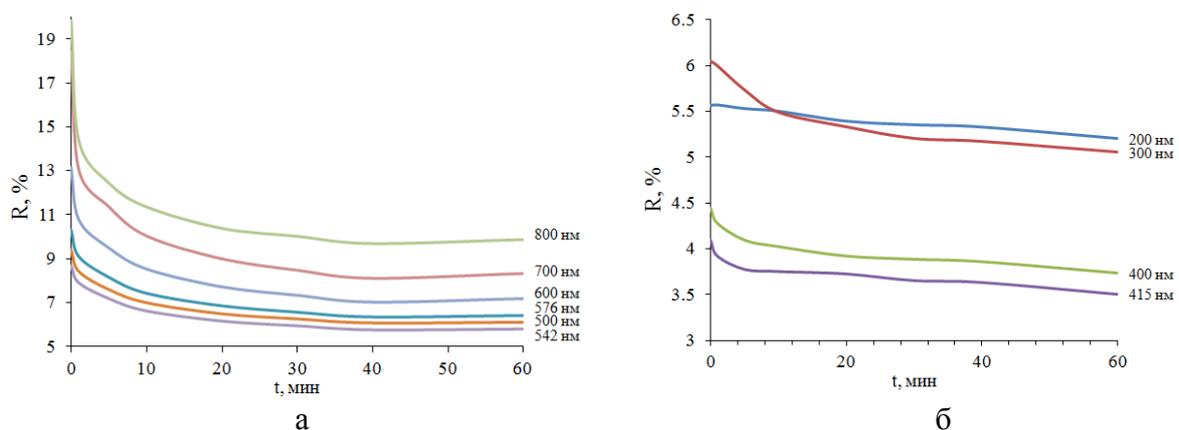


Рис.23. Кинетические зависимости для коэффициента отражения $R(t)$ образцов слизистой десны (а, б) для разных длин волн при воздействии 99.5 % глицерина.

Коэффициент диффузии глицерина в исследуемые образцы определяли из анализа участка экспериментальной кривой, соответствующего изменению оптической плотности, методом наименьших квадратов. Вычисления для каждого образца выполнялись для десяти длин волн в интервале 300-800 нм (рис. 22,б).

В среднем коэффициент диффузии, 99.5% глицерина в ткани десны человека составил $(1.78 \pm 0.22) \cdot 10^{-6}$ см²/с ($n=5$; $l= 0.59 \pm 0.06$ мм) [337-339], что соотносится с литературными данными для других биологических тканей [324]. Коэффициент диффузии глицерина в воде равен $7.2 \cdot 10^{-6}$ см²/с [340].

Проницаемость ткани слизистой десны к 99.5% глицерину составила $P=(30.17 \pm 6.14) \cdot 10^{-6}$ см/с.

Влияние глицерина, как растворителя фотодинамического красителя индоцианинового зеленого было изучено авторами [341] с помощью аналогичного метода (спектроскопии обратного рассеяния), которые определили коэффициент диффузии водного раствора красителя в дерме, равным $(7.7 \pm 2.5) \cdot 10^{-7}$ см²/с, а также в 50% растворе глицерина, равным $(1.0 \pm 0.3) \cdot 10^{-8}$ см²/с. Такие малые скорости диффузии агента с очевидностью можно связать с сильной аффинностью красителя к окружающим белкам. Коэффициенты диффузии полиэтиленгликоля (ПЭГ-300 и ПЭГ-400), определенные по *ex vivo* экспериментальным данным для коллимированного пропускания образцов кожи белых лабораторных крыс в диапазоне длин волн 500–900 нм, оказались равными $(1.83 \pm 2.22) \cdot 10^{-6}$ см²/с и $(1.70 \pm 1.47) \cdot 10^{-6}$ см²/с, соответственно [342]. Все эти данные хорошо соответствуют полученным данным для диффузии глицерина в ткани слизистой десны, исходя из структурной организации ткани слизистой и учитывая размеры молекул.

СПП образца десны представлены на рис.24, а, б и хорошо коррелируют с СДО. Также, в УФ диапазоне СПП десны имеют ярко выраженные провалы, характерные для полос поглощения белков и оксигемоглобина крови (при 415, 542 и 576 нм) [343]. После иммерсии образцов ткани десны в 99.5% глицерине полосы поглощения эндогенных хромофоров десны (оксигемоглобина) на СПП становятся менее выраженными, что связано с более низкой вероятностью эффективного

поглощения фотонов при их прохождении через просветленный (менее рассеивающий) образец биоткани.

Значения коэффициентов полного пропускания возрастают во всем диапазоне длин волн (рис.24) 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 от 200 до 800 нм [340], то увеличение пропускания не сопровождается изменениями формы спектров.

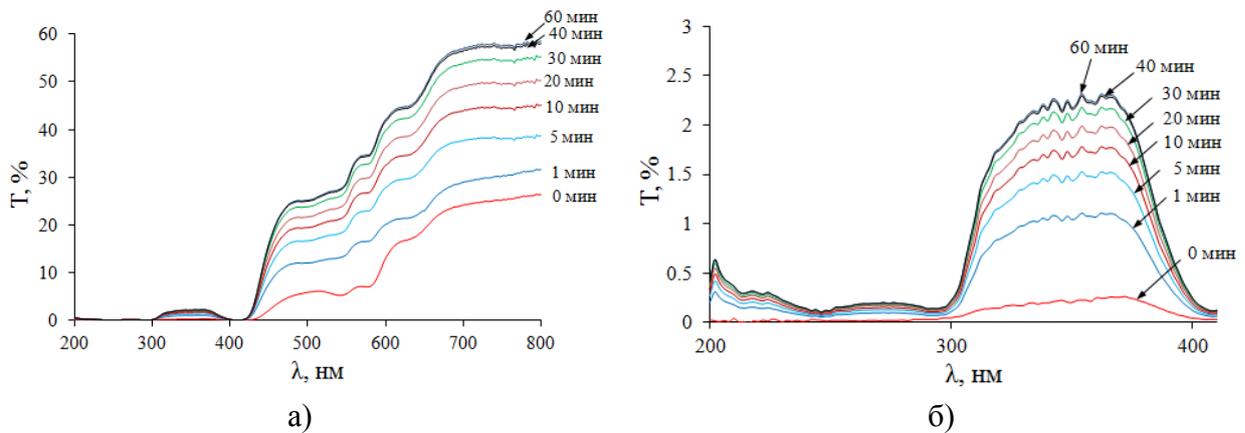


Рис. 24. СПП образца десны человека в диапазоне: а) – 200-800 нм; б)- 200-400 нм.

Кинетические зависимости для коэффициента полного пропускания исследуемых тканей слизистой десны, измеренные для ряда длин волн, представлены на рис. 25.

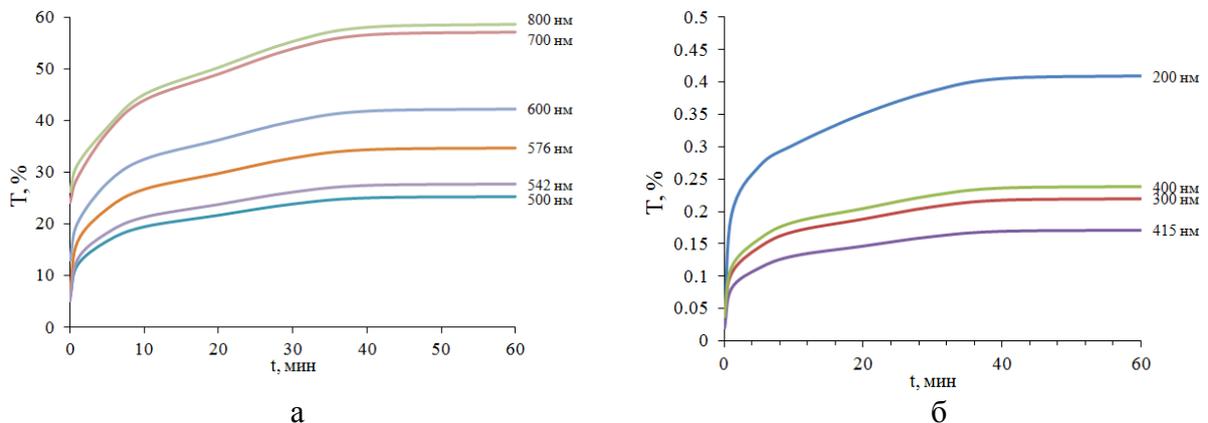


Рис. 25. Кинетические зависимости для коэффициента полного пропускания $T(t)$ образцов слизистой десны (а, б) для разных длин волн при воздействии 99.5 % глицерина.

Видно, что при взаимодействии глицерина с образцами происходит постепенное увеличение коэффициента пропускания в диапазоне от 200 до 800 нм.

Результаты расчета эффективности просветления ткани слизистой десны (формула 12) при определенных длинах волн представлены на рис. 26.

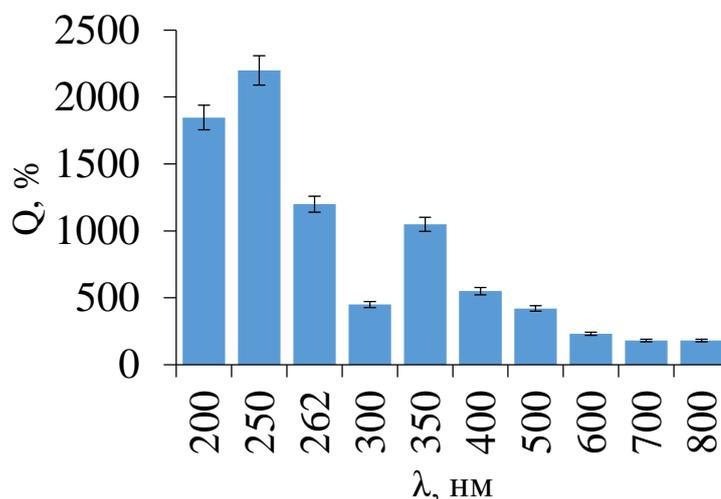


Рис. 26. Гистограмма эффективности оптического просветления ткани слизистой десны после иммерсии в 99.5 % глицерине.

Из результатов расчета по экспериментальным данным значений для эффективности просветления видно, что наибольшая эффективность достигается в области 200 – 250 нм, для ткани слизистой десны человека за 60 мин действия 99.5% глицерина и достигает значений до 2500 %. Хотя абсолютное значение пропускания на этих длинах волн невелико из-за сильного поглощения и составляет всего 0.4%, прирост числа прошедших фотонов оказывается значительным для успешной регистрации УФ сигналов с больших глубин ткани. В видимой и ближней инфракрасной области, в пределах так называемого «первого терапевтического окна прозрачности», 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% [344].

Используя результаты других авторов, полученные для других биологических тканей, можно указать на перспективы повышения эффективности просветления. В ряде работ эффективность оптического просветления биологических тканей определяется при регистрации спектров коллимированного пропускания (*ex vivo*) или диффузного отражения (*in vivo*) [25, 26]. Аналогичные зависимости были получены авторами [345], при исследовании оптических свойств кожи лабораторной мыши после оптического просветления с применением 84.4% 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.

Эти результаты подтверждают возможность формирования «динамических» окон прозрачности тканей с очень высокой эффективностью в УФ области спектра, которые образуются при иммерсионном просветлении [5, 11, 339].

Иммерсия тканей слизистой десны свиньи в 87.5% глицерине.

С оптической точки зрения ткань слизистой десны можно отнести к фиброзным тканям, которые являются оптически мутными. Результаты исследования изменения СДО слизистой десны свиньи *ex vivo* после иммерсии образцов в фармпрепарате 87.5% глицерина представлены на рисунке 27, а, б. При иммерсии слизистой десны в 87.5% глицерине наблюдается сглаживание спадов на СДО, характерных для эндогенных хромофоров десны - оксигемоглобина крови (пики поглощения при 415, 542 и 576 нм), что связано с более низкой вероятностью эффективного поглощения фотонов при их прохождении через просветленный (менее рассеивающий) образец биоткани.

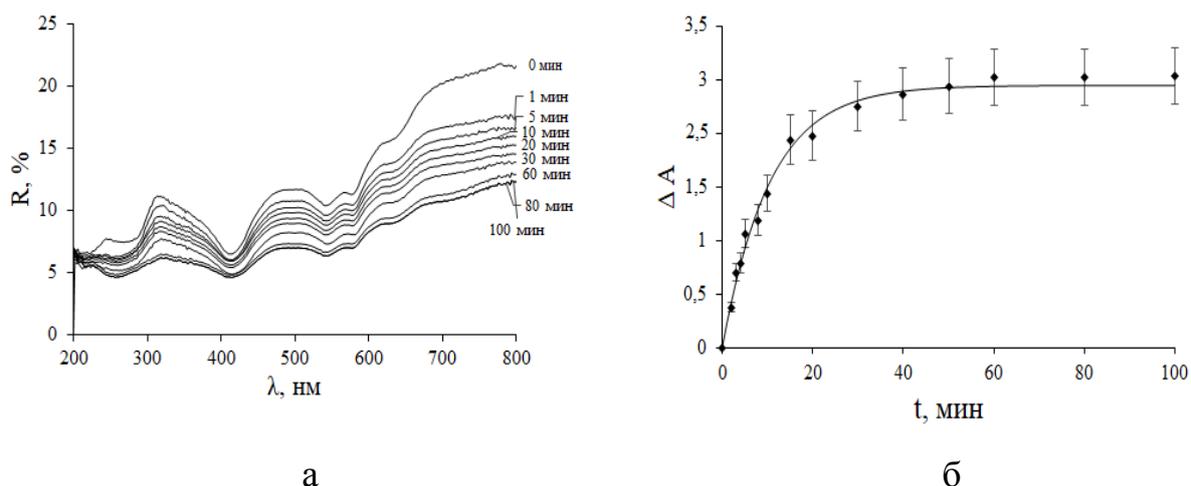


Рис. 27. а) - СДО при диффузии: 87.5 % глицерина в образец десны свиньи: б) - кинетика разностной эффективной оптической плотности при иммерсии: в 87.5% глицерине образцов десны свиньи, символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая – аппроксимация.

Эффективные коэффициенты диффузии (D) высококонцентрированного глицерина в тканях слизистой десны свиньи рассчитывался, по уравнению (9), учитывая коэффициенты, полученные после аппроксимации экспериментальных данных методом наименьших квадратов, описанные в третьей главе. Вычисления для каждого образца выполнялись для четырех длин волн (500, 600, 700, 800 нм) и затем усреднялись.

В среднем коэффициент диффузии 87.5% глицерина в ткань десны свиньи *ex vivo* составил $(3.2 \pm 0.7) \cdot 10^{-6}$ см²/с при ($n=5$; $l=0.39 \pm 0.11$ мм) [347]. Коэффициент проницаемости десны свиньи составил: $P=(82.05 \pm 7.52) \cdot 10^{-6}$ см/с. Фото исследуемых образцов представлены на рисунке 28.



а

б

Рис. 28. Фото исследуемых образцов ткани слизистой десны свиньи после иммерсии в 87.5% глицерине.

После иммерсии образцов ткани десны 87.5% глицерине значения коэффициентов полного пропускания возрастают (рис.29) по отношению к исходным образцам, что говорит об уменьшении рассеяния света образцами в результате их «оптического просветления».

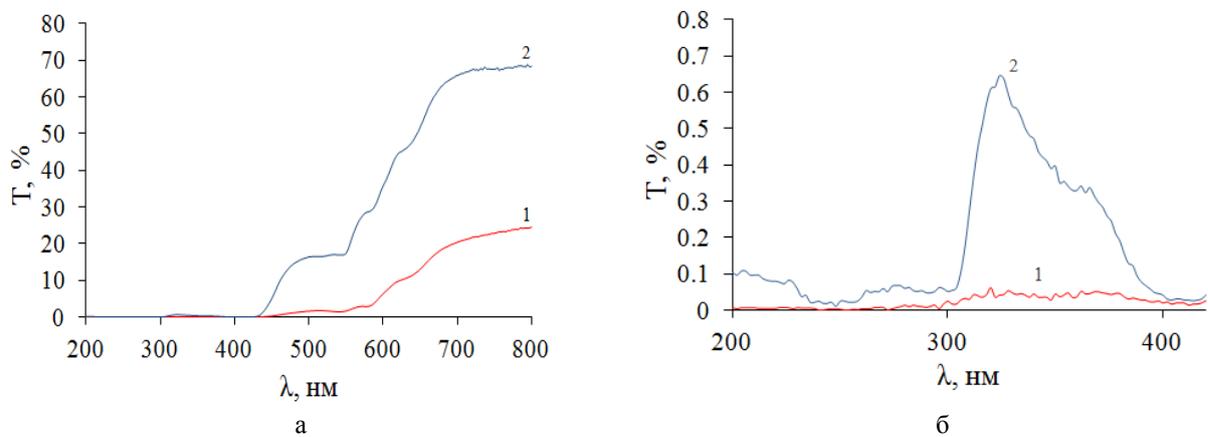


Рис. 29. СПП до (1) и после (2) диффузии 87.5 % глицерина в образец десны свиньи, в интервале длин волн: а) 200–800 нм; б) 200-400 нм за 100 мин.

Основным источником рассеяния света в биотканях является неоднородность показателя преломления за счет различия его значений для компонентов биотканей внутритканевой жидкости и структурных элементов соединительной (фиброзной) ткани (коллагеновых и эластиновых волокон). При введении в биоткань иммерсионной жидкости, имеющей показатель преломления больший, 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 [2]. Глицерин способствует обезвоживанию биоткани, что также снижает рассеяние. Результаты расчета эффективности просветления ткани десны свиньи,

произведенных по формуле (12) при определенных длинах волн представлены на рис. 30.

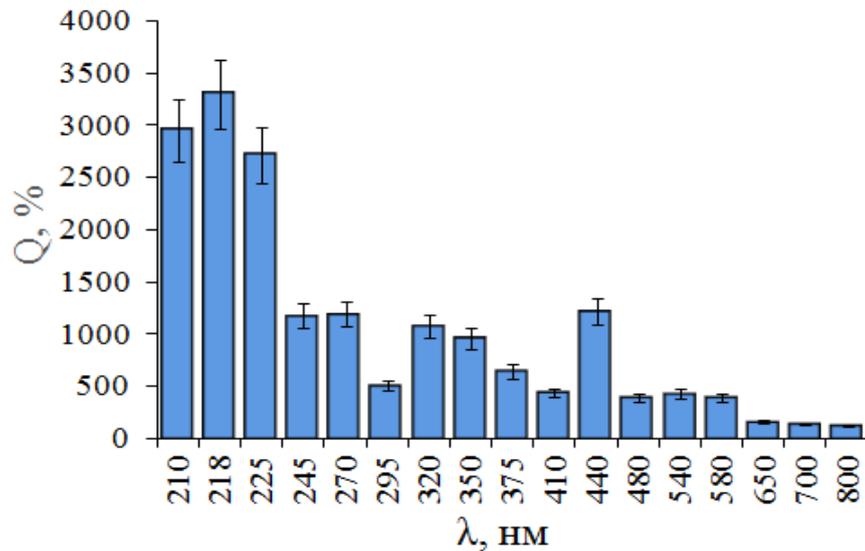


Рис.30. Гистограмма эффективности оптического просветления исследуемых образцов тканей слизистой десны свиньи после полной иммерсии в 87.5% глицерине.

Рассчитанная эффективность оптического просветления после полной иммерсии десны свиньи в высококонцентрированном глицерине в УФ области достигает 3500%, хотя абсолютные значения пропускания десны в УФ области не большие из-за сильного поглощения (до 0.4%).

В ближней ИК области, в пределах так называемого «первого терапевтического окна прозрачности» [3], эффективность просветления существенно ниже и составляет до 463% при 600 нм; до 225% при 700 нм; и до 180% при 800 нм, однако из-за отсутствия сильных полос поглощения эндогенных хромофоров в этой области спектра абсолютные значения пропускания достаточно большие и составляют до 70 %.

Аналогичные результаты были получены авторами [25], которые использовали высококонцентрированный глицерин для оптического просветления колоректальных тканей с выявлением двух динамических окон прозрачности в УФ-диапазоне от 200 до 260 нм и от 260 до 418 нм. Подбирая кинетику эффективности

при 200 нм, авторам удалось различить нормальную и патологическую ткань слизистой оболочки, что дает перспективы разработки неинвазивных оптических методов для диагностики патологических онкологических изменений с использованием УФ излучения.

4.2.1.2. Изменение оптических свойств ткани дентина зуба человека.

СДО исследуемых образцов дентина зуба человека при иммерсии в 99.5% растворе глицерина в различные моменты времени представлены на рис.31, а, б. При насыщении образца гиперосмотическим агентом значения коэффициентов диффузного отражения снижаются, по отношению к исходному образцу, что говорит об уменьшении рассеяния света в образцах.

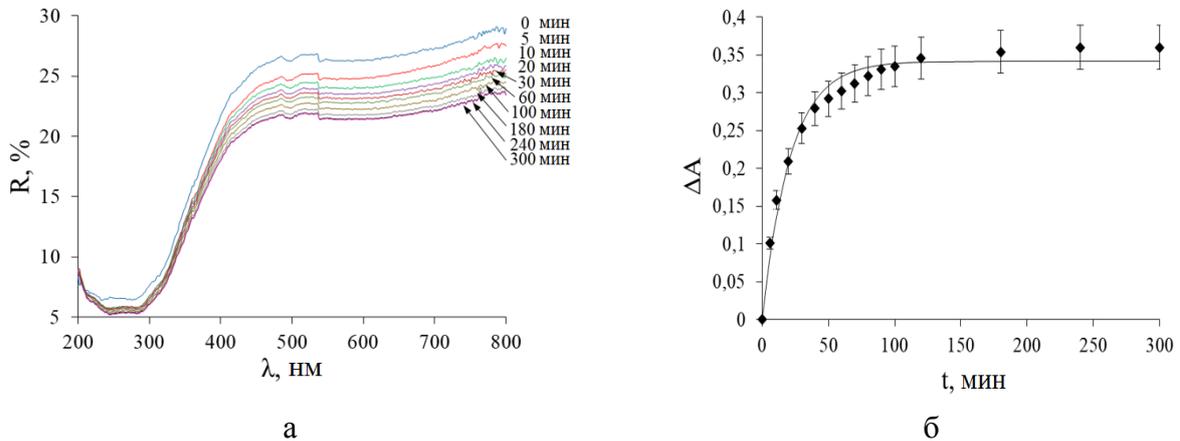


Рис.31. а - СДО исследуемых образцов дентина зуба человека в процессе иммерсии в 99.5 % растворе глицерина; б - кинетика разностной эффективной оптической плотности в процессе диффузии 99.5% глицерина для дентина зуба человека. Символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая представляет аппроксимацию экспериментальных данных в рамках предложенной модели свободной диффузии.

Наибольшие изменения СДО наблюдаются в диапазоне длин волн от 500 до 800 нм. Кинетические зависимости коэффициента диффузного отражения исследуемых образцов дентина зуба человека для разных длин волн, представлены на рис. 32 а, б. Видно, что при взаимодействии глицерина с образцами происходит

постепенное снижение коэффициента диффузного отражения, как в диапазоне от 200 до 415 нм, так и от 500 до 800 нм.

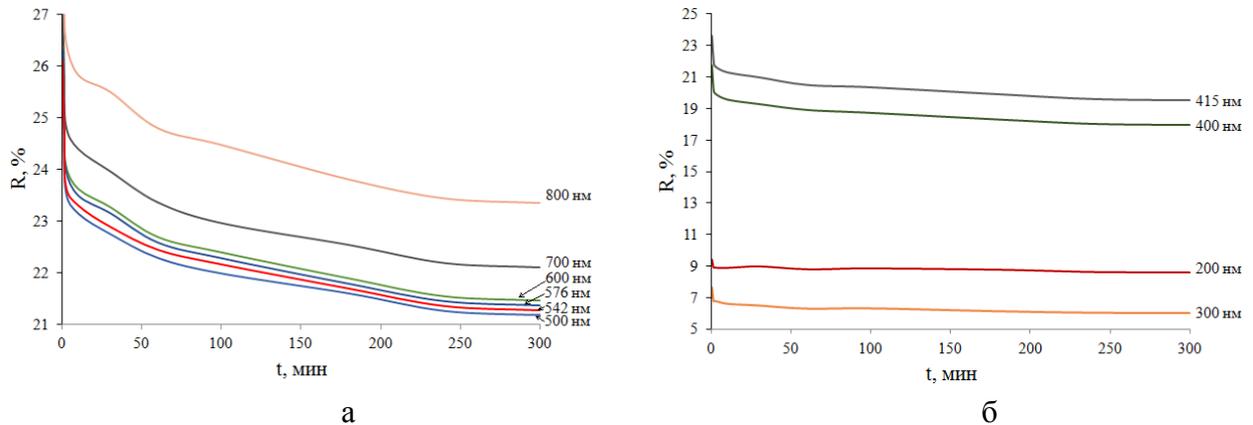


Рис.32. Кинетические зависимости для коэффициента отражения $R(t)$ образцов дентина для разных длин волн при воздействии 99.5 % глицерина.

Коэффициент диффузии глицерина в исследуемые образцы дентина определяли из анализа участка экспериментальной кривой, соответствующего изменению оптической плотности, методом наименьших квадратов. Вычисления для каждого образца выполнялись для десяти длин волн в интервале 200-800 нм (рис. 31,б).

В среднем значение коэффициента диффузии 99.5 % глицерина в дентине зуба человека составил $(5.86 \pm 0.40) \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ ($n=5$; $l=0.81 \pm 0.06 \text{ мм}$) [338], что соотносится с литературными данными, полученными для других биологических тканей [324]. В работе [344], для воды коэффициент диффузии в дентине в среднем составил $2.7 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$, а в случае диффузии 44% водного раствора глицерина, $1.2 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. Все эти данные показывают, что в зависимости от условий эксперимента и структуры самих исследуемых образцов коэффициент диффузии молекул воды и глицерина в дентине может существенно различаться, но лежит в пределах $(0.27 - 6.7) \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$.

Коэффициент проницаемости дентина зуба человека составил $P = (72.35 \pm 6.78) \cdot 10^{-7} \text{ см}/\text{с}$.

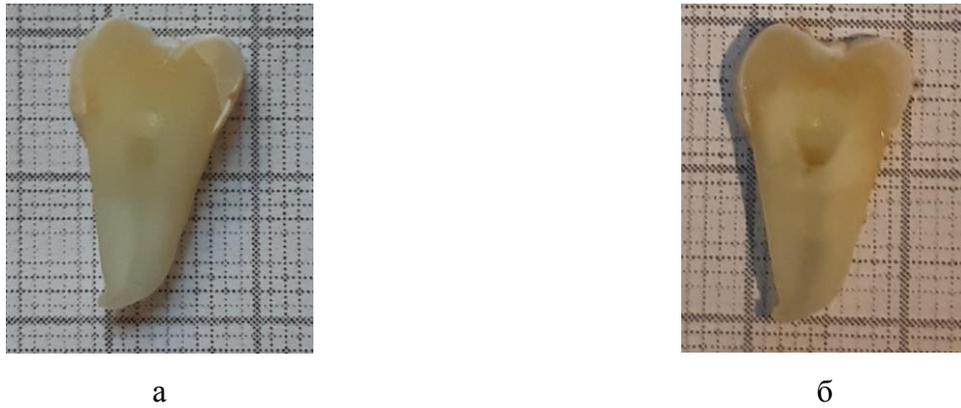


Рис.33. Фото исследуемых образцов ткани дентина зуба человека после иммерсии в 87.5% глицерине.

СПП образца дентина зуба человека представлены на рис.34,а,б. Значения коэффициентов полного пропускания возрастают во всем диапазоне длин волн по отношению к исходному состоянию образцов дентина (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 от 200 до 800 нм и влияние воды пренебрежимо мало, то увеличение пропускания не сопровождается изменениями формы спектров [349].

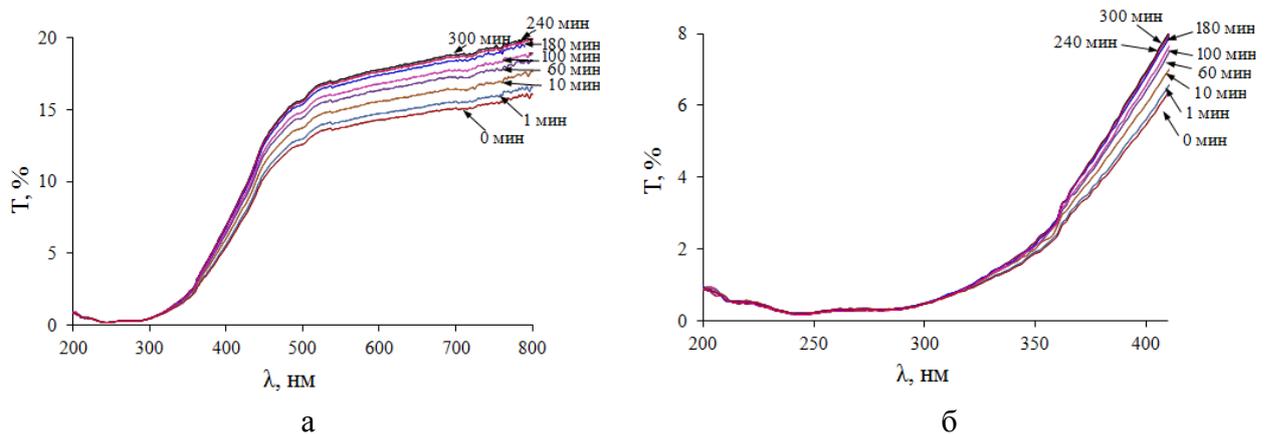


Рис. 34. СПП образца дентина зуба человека при взаимодействии с 99.5% глицерином: а) – 200-800 нм; б)- 200-400 нм.

Кинетические зависимости для коэффициента полного пропускания исследуемых образцов дентина зуба человека, измеренные для ряда длин волн, представлены на рис. 35.

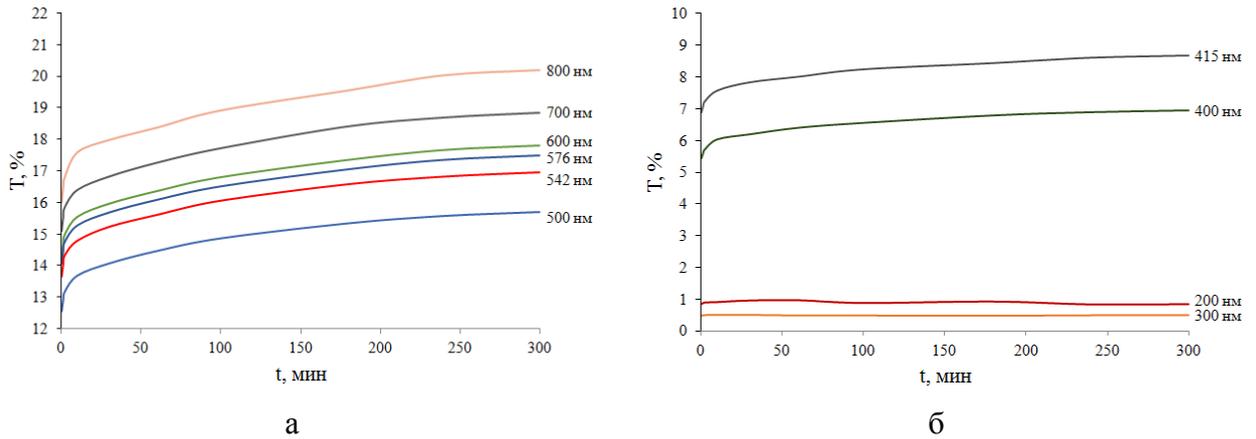


Рис. 35. Кинетические зависимости для коэффициента полного пропускания $T(t)$ образцов дентина зуба человека (а, б) для разных длин волн при воздействии 99.5 % глицерина.

Видно, что при взаимодействии глицерина с образцами происходит постепенное увеличение коэффициента пропускания в диапазоне от 200 до 800 нм.

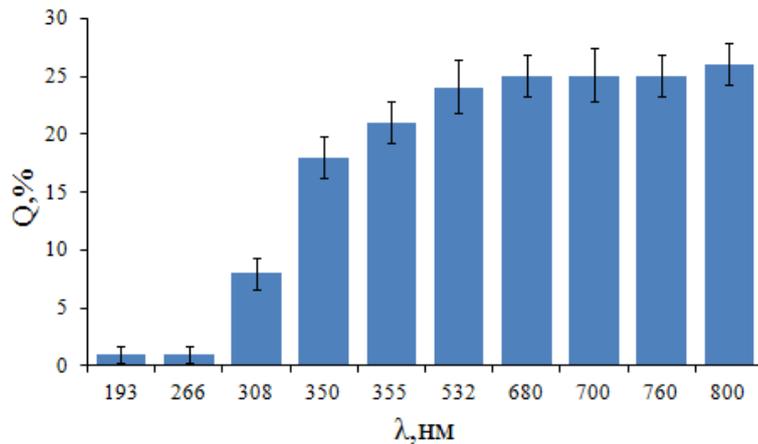


Рис. 36. Гистограмма эффективности оптического просветления дентина после иммерсии в 99.5 % глицерине.

Эффективность просветления дентина в УФ области за 300 мин иммерсии образца в 99.5% глицерине изменяется от 1 до 25 % (Рис.36), а абсолютные значения пропускания изменяются от 0.5% до 27 % (рис. 34, б) по мере роста длины волны. В видимой и ближней ИК области, эффективность просветления дентина в среднем составляет 25% (Рис.36).

4.2.2. Изменение оптических свойств биотканей и определение их проницаемости по отношению к 40% глюкозе (*ex vivo*).

4.2.2.1. Изменение оптических свойств ткани десны.

Глюкоза является эффективным средством для оптического просветления биотканей, при взаимодействии которого происходит диффузия в образец десны иммерсионной жидкости и осмотический отток воды из биоткани, вследствие чего происходит согласование показателей преломления рассеивателей и внутритканевой жидкости, что приводит к уменьшению коэффициента рассеяния биоткани. Являясь гигроскопическим агентом, глюкоза, способна вытягивать внутритканевую и межклеточную воду из биоткани за счет осмоса, увеличивая показатель преломления биоткани [350].

СДО образца десны человека представлены на рис. 37, а.

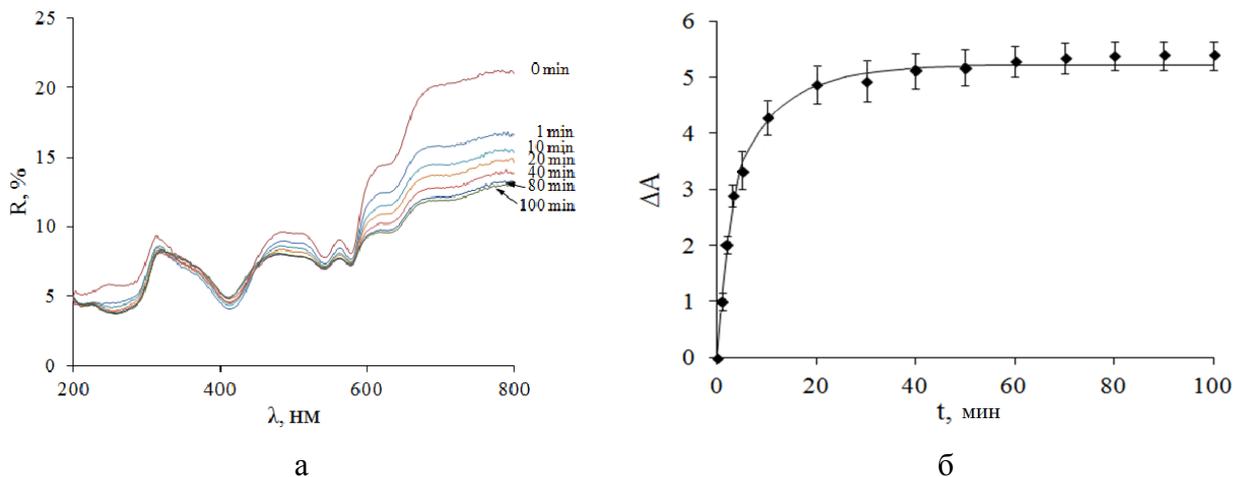


Рис. 37. а) СДО ткани десны человека в процессе иммерсии в 40 % растворе глюкозы; б) кинетика разностной эффективной оптической плотности ткани десны человека в процессе диффузии 40% -раствора глюкозы. Символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая представляет аппроксимацию экспериментальных данных в рамках предложенной модели свободной диффузии.

После иммерсии образцов ткани десны в 40 %-растворе глюкозы полосы поглощения эндогенных хромофоров десны в виде характерных спадов оксигемоглобина при 415, 542 и 576 нм становятся менее выраженными. При этом

форма спектров практически не меняется. Значения коэффициентов диффузного отражения снижаются (рис.37,а) по отношению к исходному образцу, что говорит об уменьшении рассеяния образца слизистой десны.

На рис. 37,б показана типичная усредненная кинетическая кривая для изменения оптической плотности ΔA образца десны человека, при его иммерсии в 40%-глюкозе, в интервале длин волн от 200-800 нм. Хорошо видно, что значительные изменения оптической плотности образца десны, наблюдаются в течение примерно 30 мин с момента начала его взаимодействия с просветляющим агентом, после чего зависимость насыщается и перестает зависеть от времени, что говорит о завершении процесса диффузии молекул глюкозы в ткань. Коэффициент диффузии 40% глюкозы определяли методом наименьших квадратов из анализа участка экспериментальной кривой, соответствующего значительному изменению оптической плотности по формуле (9). Вычисления для каждого образца выполнялись для десяти длин волн в спектральной области 200-800 нм, а полученные значения усреднялись. Определен коэффициент диффузии 40% глюкозы в сильно рассеивающей среде, а именно в слизистой десны человека, который составил в среднем $(4.1 \pm 0.8) \cdot 10^{-6}$ см²/с [351]. Коэффициент проницаемости десны человека к 40% глюкозе составил $P = (85.4 \pm 7.2) \cdot 10^{-6}$ см/с (при $n=5$; $l=0.48 \pm 0.09$ мм). Полученные значения коэффициента диффузии соответствуют значениям найденным другими исследователями. Так, авторы [30], определили значение коэффициента диффузии 40% раствора глюкозы в коже мышей *ex vivo* и *in vivo*, который составил $(1.11 \pm 0.78) \cdot 10^{-6}$ см²/с и $(1.54 \pm 0.28) \cdot 10^{-6}$ см²/с, соответственно. В работе [350] коэффициент диффузии 40% раствора глюкозы в коже человека *in vivo* был оценен как $(2.56 \pm 0.13) \cdot 10^{-6}$ см²/с. В водном перенасыщенном растворе коэффициент диффузии глюкозы составляет $3 \cdot 10^{-6}$ см²/с [352], а при малой концентрации глюкозы в воде $5.2 \cdot 10^{-6}$ см²/с [353]. При исследовании диффузии в мягких фиброзных тканях, авторы [29] получили значение коэффициента диффузии 40% раствора глюкозы в твердой мозговой оболочке человека, равным $(6.08 \pm 0.03) \cdot 10^{-6}$ см²/с. Коэффициент диффузии глюкозы в мышечной ткани *in vitro* при исследовании водного 40% раствора

глюкозы получен равным $(0.84) \cdot 10^{-6}$ см²/с [354]. Полученные результаты хорошо соотносятся с литературными данными, полученными другими авторами для диффузии 40% глюкозы в других биологических тканях, учитывая структурную организацию слизистой десны.



Рис. 38. Фото исследуемого образца ткани десны до (а) и после (б) иммерсии 40% глюкозы в течение 100 минут.

Коэффициент полного пропускания образца десны человека после полной иммерсии в 40% глюкозе представлен на рисунке 39.

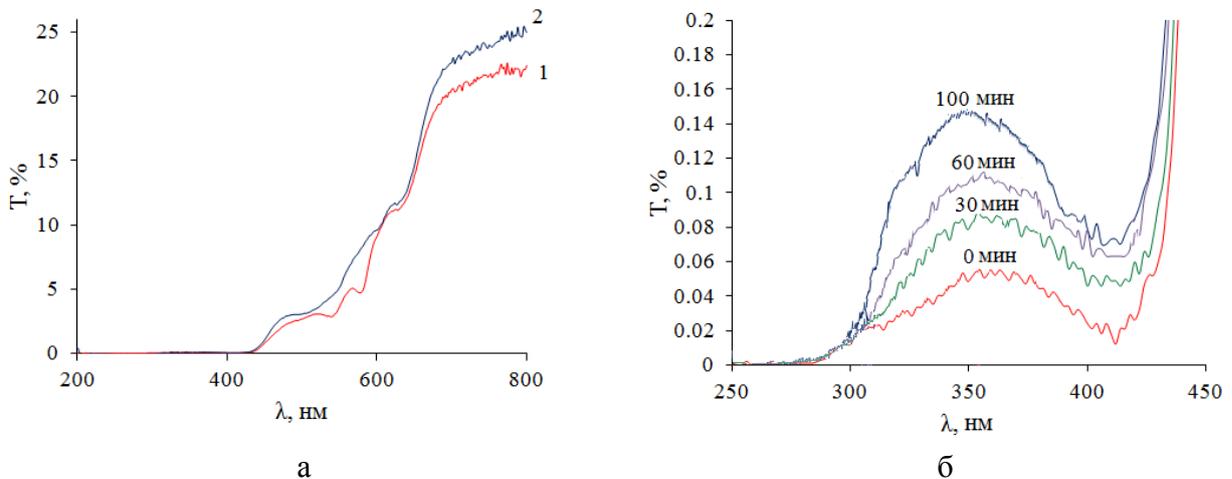


Рис. 39. СПП образца ткани слизистой десны до (кривая - 1) и после иммерсии в течение 100 мин. в 40% глюкозе (кривая - 2) в диапазоне спектра: а) – 200-800 нм; б) - 200-400 нм.

После полной иммерсии образцов ткани десны в 40% глюкозе СПП идет выше исходного, что говорит об уменьшении рассеяния образцом и увеличении его прозрачности. Излучение в диапазоне длин волн от 650 до 800 нм проникает в образец десны человека после полной иммерсии в 40% глюкозе на большую

глубину, т.к. это так, называемое, первое «терапевтическое/диагностическое окно прозрачности», поскольку ни эндогенные хромофоры (макромолекулы), ни вода не поглощают сильно в этом диапазоне [1, 5, 11].

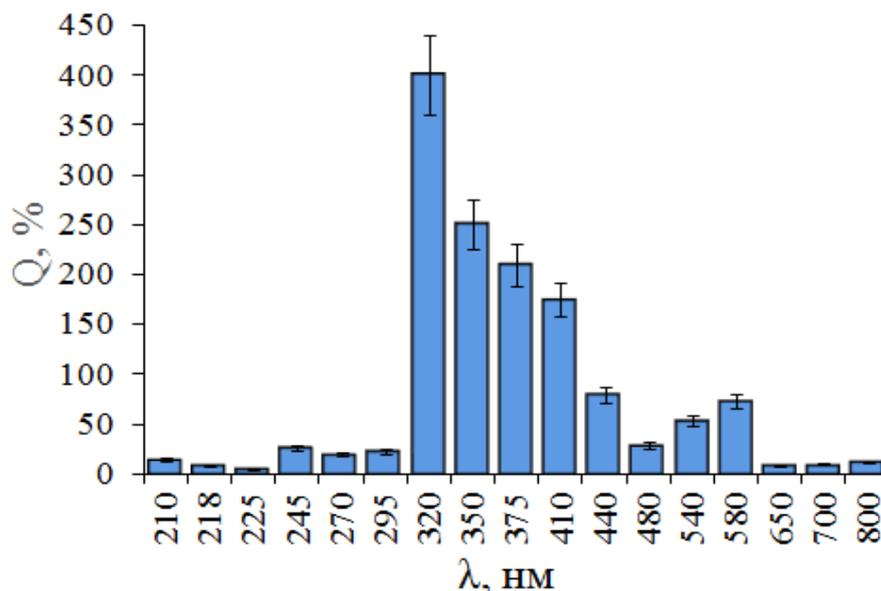


Рис. 40. Гистограмма эффективности оптического просветления десны человека после полной иммерсии в 40 % глюкозе.

При определении эффективности оптического просветления выявлено одно окно прозрачности от 300 до 400 нм с максимальной эффективностью до 400%. От 200 до 300 нм ЭОП не более 40%. В видимой и ближней инфракрасной области, эффективность просветления десны в среднем составляет 35% (Рис.40), хотя абсолютные значения коэффициента пропускания достаточно большие и достигают 25% при 800 нм.

4.2.2.2. Изменение оптических свойств ткани дентина.

Рассеивающие свойства дентина зуба человека определяются его структурой и отношением показателей преломления рассеивающих свет неоднородностей и их окружения. Основными рассеивающими элементами дентина являются коллагеновые волокна, между которыми находится аморфное склеивающее вещество. При исследовании взаимодействия водного 40% раствора глюкозы с

образцами дентина зуба человека происходит диффузия иммерсионной жидкости в образец дентина и осмотический отток воды из биоткани, вследствие чего происходит согласование показателей преломления рассеивателей и внутритканевой жидкости, что приводит к уменьшению коэффициента рассеяния дентина. Исследование кинетики данного процесса позволяет оценить коэффициент диффузии как меру средней скорости обменного потока гипертонической жидкости в дентине, т.е. эффективный коэффициент диффузии [350].

СДО образца дентина зуба человека представлены на рис.41, а. Они имеют ярко выраженные спады, характерные для полос поглощения белков соединительной ткани в виде коллагеновых и ретикулярных волокон, в области 200-320 нм.

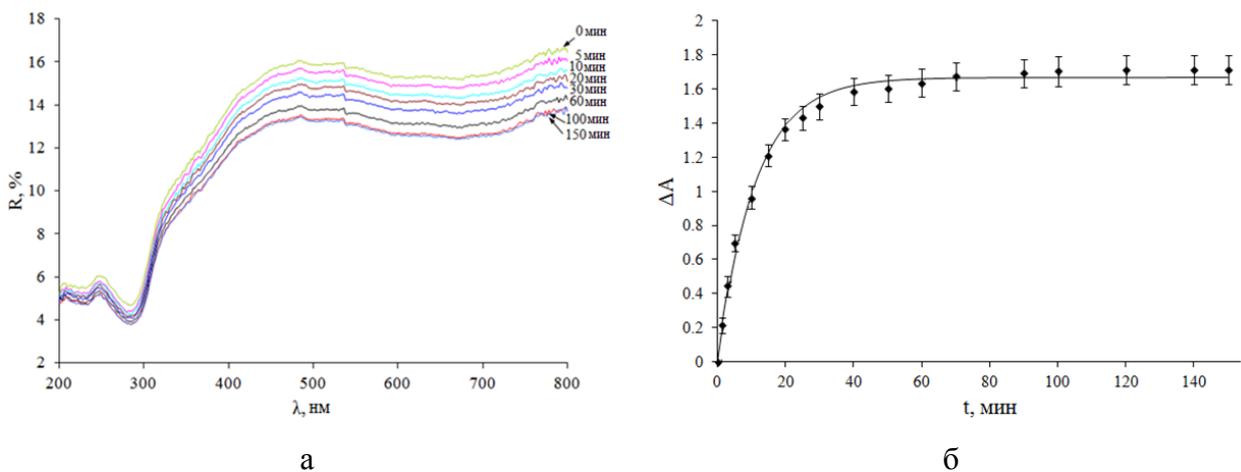


Рис.41. а) СДО дентина зуба человека в процессе иммерсии в 40% растворе глюкозы; б) кинетика разностной эффективной оптической плотности дентина зуба человека в процессе диффузии 40% раствора глюкозы. Символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая представляет аппроксимацию экспериментальных данных в рамках предложенной модели свободной диффузии.

Для образца среза дентина, СДО которого представлены на (рис. 41, а), насыщение произошло через 90 мин нахождения в водном растворе 40% глюкозы.

Проникая в дентин зуба, раствор глюкозы не изменяет форму спектров отражения образцов, однако, в процессе диффузии происходит уменьшение рассеяния образцов биоткани, что проявляется в значительном снижении СДО дентина в области 350-800 нм.

На рис. 37, б показана типичная усредненная кинетическая кривая для изменения ΔA образца дентина зуба, при его иммерсии в 40% глюкозе, в интервале длин волн от 200 до 800 нм. Хорошо видно, что изменения оптической плотности образца зуба, находящегося в контакте с водным 40%-раствором глюкозы, наблюдаются в течение примерно 90 мин с начала взаимодействия с просветляющим агентом, после этого времени происходит насыщение этой зависимости. Коэффициент диффузии 40% глюкозы определяли из анализа участка экспериментальной кривой, соответствующего изменению оптической плотности, методом наименьших квадратов. Вычисления для каждого образца выполнялись для десяти длин волн в спектральной области 200-800 нм, а полученные значения усреднялись. Коэффициент диффузии 40% глюкозы в образце дентина зуба человека составил $D=(3.2\pm 0.8)\times 10^{-6}$ см²/с, а коэффициент проницаемости $P=(53.3\pm 4.5)\times 10^{-6}$ см/с ($n=4$, $l=0.60\pm 0.09$ мм) [355]. Полученные значения коэффициента диффузии соотносятся со значениями коэффициентов диффузии, представленными другими авторами [350].

Ранее нами был определен коэффициент диффузии водного раствора 0.05% раствора МС в спил дентина зуба человека, который составил $D^*=(5.29\pm 1.33)\times 10^{-6}$ см²/с [330] и того же красителя в 40% растворе глюкозы, что составило $D^*=(3.1\pm 0.85)\cdot 10^{-6}$ см²/с [356]. *Пересчитанный ($\cdot \pi/4$) (более уточненный) коэффициент диффузии.

Было обнаружено, что 40% раствор глюкозы замедляет процесс диффузии красителя в дентине зуба человека. По сути, краситель визуализирует процесс диффузии воды в первом случае и диффузии глюкозы - во-втором. Поэтому полученные в работе [356] значения коэффициентов диффузии можно с большой долей вероятности отнести к значениям диффузии для глюкозы, что в свою очередь, хорошо совпадает с результатом, полученным в настоящей работе для

40% -глюкозы. В работе [348], для воды коэффициент диффузии в дентине в среднем составил 2.7×10^{-7} см²/с, а в случае диффузии 44%-водного раствора глицерина, 1.2×10^{-6} см²/с.

СПП образца дентина при иммерсии в 40 % растворе глюкозы представлены на рис.42, а,б.

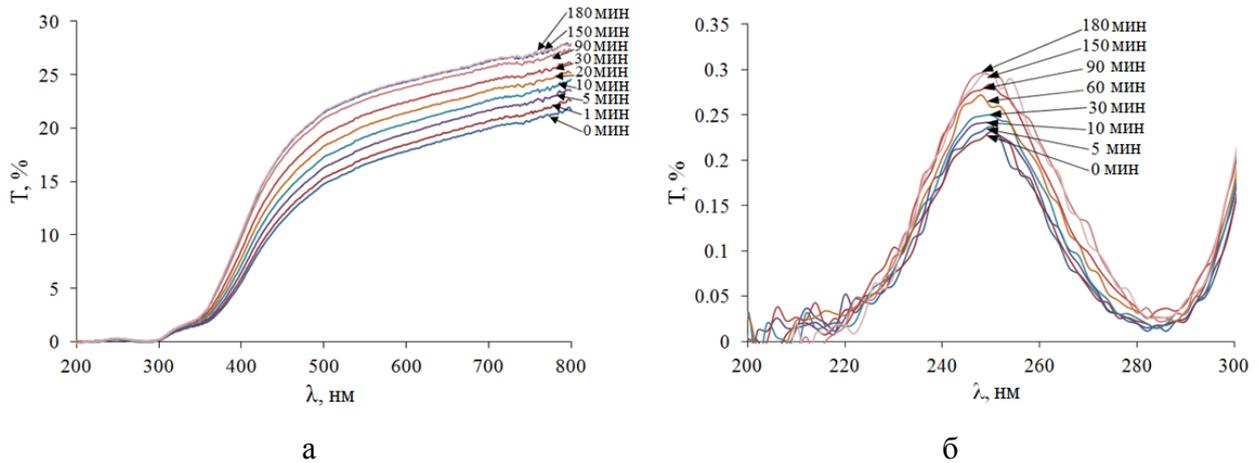


Рис. 42. Спектры полного пропускания дентина (толщина спилов дентина зуба человека 0.79 ± 0.08 мм (при $n=10$) в процессе иммерсии в 40 % растворе глюкозы в интервале длин волн: а) 200-800 нм, б) 200-300 нм.

СПП дентина зуба человека идентичны СДО дентина и имеют спад, характерный для полос поглощения коллагеновых, белковых и аминокислотных остатков соединительной ткани. При иммерсии в 40% глюкозе форма спектров полного пропускания ткани дентина практически не меняется. Значения коэффициентов полного пропускания возрастают во всем диапазоне длин волн по отношению к исходному состоянию образцов (до иммерсии в глюкозе) дентина зуба человека, что говорит об уменьшении рассеяния света образцами в результате их иммерсии в глюкозе.

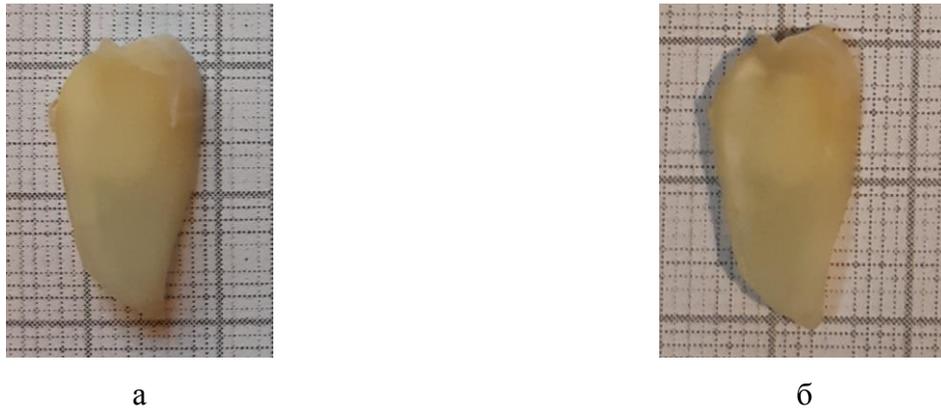


Рис.43. Фото исследуемых образцов ткани дентина зуба человека после иммерсии в 40% глюкозе: а) – до эксперимента; б) – после полной иммерсии в 40% глюкозе.

При насыщении образца дентина зуба человека 40% глюкозой происходит уменьшение коэффициента диффузного отражения и увеличение коэффициента полного пропускания дентина из-за уменьшения рассеяния, что способствует увеличению глубины проникновения оптического излучения в биоткань с различной эффективностью в зависимости от длины волны. ЭОП образцов дентина после полной иммерсии в 40% глюкозе посчитана по формуле (12) представлена на рис.44.

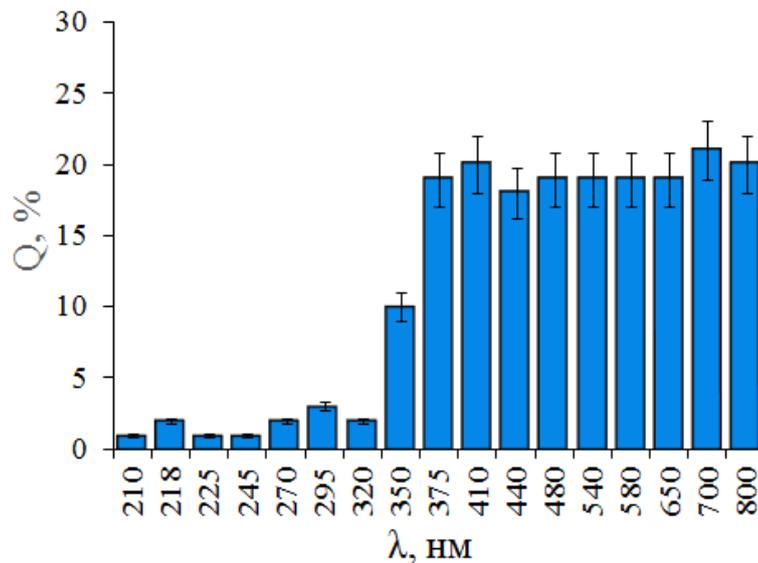


Рис.44. Гистограмма эффективности оптического просветления исследуемых образцов дентина после полной иммерсии в 40% глюкозе.

Обнаружено, что наибольшая эффективность просветления ткани дентина зуба человека наблюдается начиная с 375 до 800 нм и достигает 21%, абсолютные значения пропускания изменяются 0.5 до 25 % по мере роста длины волны.

В работе [357] исследовано оптическое просветление кости черепа крысы *ex vivo* и *in vivo* при использовании многокомпонентных оптических просветляющих агентов в спектральном диапазоне 600–900 нм. В течение 4 часов получено относительное увеличение коэффициента коллимированного пропускания под действием иммерсионных растворов и эффективность оптического просветления костной ткани составила соответственно 4.5 ± 0.4 и $13.2 \pm 3.4\%$, что способствовало значительному улучшению визуализации крупной церебральной вены неинвазивным способом. Результаты исследований позволяют считать 40%-раствор глюкозы достаточно эффективным просветляющим агентом, разрешенным к клиническому применению и обладающим высокой биосовместимостью для экспериментов *in vivo*, при аппликационном способе нанесения.

Выводы по главе

В данной главе представлены результаты исследования взаимодействия высококонцентрированного глицерина и 40% глюкозы с образцами десны и дентина. Данные биокани являются оптически мутными средами, поскольку у них велико рассеяние. Основным источником рассеяния света в биотканях является неоднородность показателя преломления за счет различия его значений для компонентов биотканей, т.е. митохондрий, ядер, других органелл и цитоплазмы клеток; или для внутритканевой жидкости и структурных элементов соединительной (фиброзной) ткани (коллагеновых и эластиновых волокон). При введении в биоткань иммерсионной жидкости, имеющей показатель преломления больший, чем у внутритканевой жидкости, происходит частичное ее замещение иммерсионным агентом, что вызывает выравнивание показателей преломления рассеивателей (например, коллагеновых волокон) ткани и окружающей их среды, и, как следствие, значительное снижение светорассеяния. Глицерин и глюкоза являются 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 [5].

Используя спектроскопию диффузного отражения выявлено, что после иммерсии образцов исследуемых тканей в высококонцентрированных растворах глицерина и 40% глюкозы значения коэффициентов диффузного отражения снижаются, по отношению к исходным образцам, а значения коэффициентов полного пропускания увеличиваются, что говорит об уменьшении рассеяния света в образцах. Полосы поглощения эндогенных хромофоров десны (оксигемоглобина) становятся менее выраженными, что связано с более низкой вероятностью эффективного поглощения фотонов при их прохождении через просветленный (менее рассеивающий) образец биоткани.

На основе измерений кинетики изменения оптических свойств биотканей при действии растворов глицерина и глюкозы были определены коэффициенты проницаемости десны и дентина к просветляющим препаратам и их бинарные коэффициенты диффузии, представленные в таблице 5.

Таблица 5. - Эффективные значения коэффициентов диффузии исследуемых просветляющих агентов в десну и дентин зуба человека и животных и их коэффициенты проницаемости.

Образец биоткани (<i>ex vivo</i>)	99.5% глицерин	87.5% глицерин	40% глюкоза
	$D, \text{ см}^2/\text{с} / P, \text{ см}/\text{с}$	$D, \text{ см}^2/\text{с} / P, \text{ см}/\text{с}$	$D, \text{ см}^2/\text{с} / P, \text{ см}/\text{с}$
Десна человека	$(1.78 \pm 0.22) \cdot 10^{-6}$ $/(30.17 \pm 6.14) \cdot 10^{-6}$	-	$(4.6 \pm 0.8) \cdot 10^{-6} /$ $(95.8 \pm 7.2) \cdot 10^{-6}$
Десна свиньи	-	$(3.2 \pm 0.7) \cdot 10^{-6} /$ $(25.6 \pm 5.5) \cdot 10^{-6}$	-

Дентин зуба человека	$(5.86 \pm 0.40) \cdot 10^{-7}$ $/(72.35 \pm 6.78) \cdot 10^{-7}$	-	$(3.2 \pm 0.8) \times 10^{-6}$ $/(53.3 \pm 4.5) \cdot 10^{-6}$
-------------------------	--	---	---

Из результатов расчета по экспериментальным данным значений для эффективности просветления высококонцентрированным глицерином определено, что для тканей десны наибольшие значения достигают до 3500% в области 200-250 нм за 60-90 мин. Хотя абсолютное значение пропускания на этих длинах волн невелико из-за сильного поглощения и составляет всего 0.4%, прирост числа прошедших фотонов оказывается значительным для успешной регистрации УФ сигналов с больших глубин ткани. Выявлены особенности взаимодействия слизистой десны с высококонцентрированным глицерином с образованием трех окон прозрачности в УФ диапазоне спектра: положение центра первого окна прозрачности составило (200 ± 3) нм с шириной на уровне половинной интенсивности (38 ± 7) нм; положение центра второго окна составило (283 ± 4) нм с шириной (39 ± 8) нм; и положение третьего окна составило (344 ± 13) нм с шириной (72 ± 5) нм. В видимой и ближней ИК области, в пределах так называемого «первого терапевтического окна прозрачности» [1], эффективность просветления 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%. При определении эффективности оптического просветления 40% глюкозой выявлено одно окно прозрачности, положение центра которого составило (337 ± 6) нм с шириной (46 ± 9) нм с максимальной эффективностью до 400%. От 200 до 300 нм эффективность оптического просветления не более 40%. В видимой и ближней ИК области, эффективность просветления десны в среднем составляет 35%, хотя абсолютные значения коэффициента пропускания достаточно большие и достигают 25% при 800 нм.

Эффективность просветления глицерином дентина в УФ области за 200-300 мин иммерсии образцов изменяется от 1 до 20 %, а абсолютные значения

пропускания изменяются от 0.5% до 8 % по мере роста длины волны. В видимой и ближней ИК области, эффективность просветления дентина в среднем составляет 25%. Обнаружено, что наибольшая эффективность просветления 40% глюкозой ткани дентина зуба человека наблюдается начиная с 375 нм и достигает 23%, в этой области спектра абсолютные значения пропускания также наибольшие и достигают 19%, а в части «первого терапевтического окна прозрачности» абсолютные значения пропускания достигают 23%.

5. ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ИЗМЕНЕНИЯ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БИОТКАНЕЙ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ЛЮГОЛЕМ *EX VIVO*

5.1. Материалы и методы.

Для измерения коэффициентов пропускания и диффузного отражения образцов биологических тканей в спектральном диапазоне 200-800 нм использовался двухлучевой спектрофотометр Shimadzu UV-2550 (Япония) с интегрирующей сферой. Методика проведения измерений и подготовка биоматериалов описана в главе 2. Коэффициент диффузии и проницаемость тканей слизистой десны и дентина зуба человека рассчитывались по формулам (9, 11), представленным в третьей главе. Эффективность просветления, рассчитывалась по формуле (12), описанной в 4 главе. В качестве препарата, воздействующего на исследуемые биоматериалы (альвеолярную десну свиньи и дентин зуба человека) был выбран широко применяемый в стоматологии препарат «Люголь» на глицериновой основе (1 часть йода, 2 части йодида калия, 94 части глицерина и 3 части воды), впервые сделанный в 1829 году, французским врачом Люголем (1786–1851) [258].

Благодаря наличию в составе молекулярного йода люголь входит в группу антисептических средств, разрешенных к применению как у взрослых, так и детей при лечении фарингитов, тонзиллитов, гингивитов, стоматитов и болезней пародонта. Оказывает бактерицидное действие в отношении грамотрицательной и грамположительной флоры, а также действует на патогенные грибы (в т.ч. дрожжи). Входящий в состав калия йодид улучшает растворение йода в воде, а глицерол оказывает смягчающее действие на слизистые. Люголь часто применяется в стоматологии для лечения стоматитов, определения индексов гигиены на наличие зубного налета и зубного камня (индекс Грина-Вермилиона (1964) – универсальный индекс гигиены УИГ, раствор Шиллера-Писарева и др.), а также участков дисплазии СОПР [230, 253, 259]. Люголь применяется в диагностических процедурах *in vivo* для обнаружения оральных поражений или оральных карцином, поскольку йод избирательно удерживается тканями,

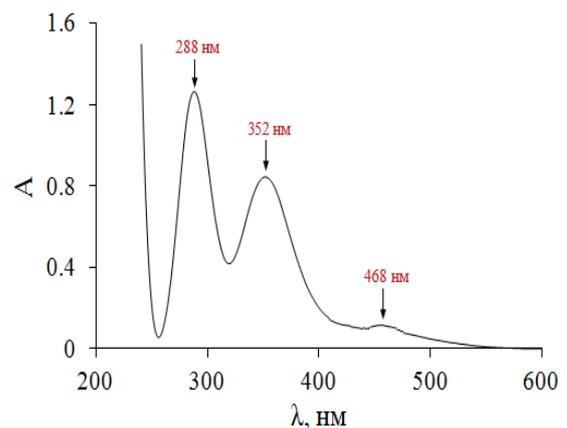
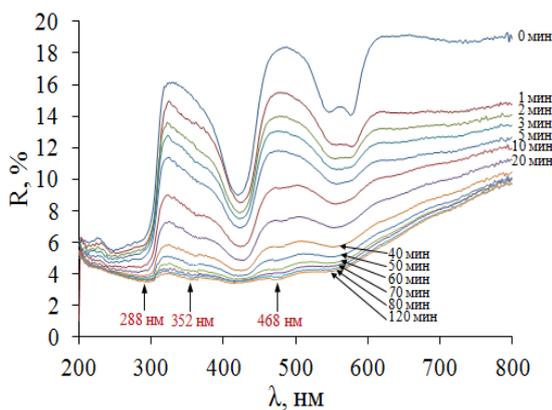
превращающимися в патологические вследствие дисплазии, гиперплазии, опухолеобразования и других активных поверхностных изменений. При нанесении люголя на СОПР йод проникает через увеличенные и более доступные интерстициальные пространства дисплазированной ткани, которая удерживает краситель дольше, чем нормальные зоны, имеющие более плотные межклеточные пространства и соединения [224, 258].

5.2. Результаты и обсуждение.

5.2.1. Изменение оптических свойств десны.

СДО слизистой десны представлены на рис.45,а, а спектр поглощения люголя на рис.45,б. Раствор люголя имеет характерные для йода пики поглощения при 288 нм, 352 нм и 468 нм.

Проникая в образцы, коэффициент диффузного отражения ткани слизистой десны снижается и форма спектров изменяется. Ткань слизистой десны в исходном состоянии имеет выраженные спады на СДО, характерные для оксигемоглобина (при 415, 542 и 576 нм), после прекращения диффузии раствора люголя, эти спады значительно сглаживаются и на СДО десны наблюдаются слабо выраженные спады характерные для пиков поглощения йода (при 288 нм, 352 нм и 468 нм), характеризующие проникновение йода в ткань десны. Следовательно при данных длинах волн определяли бинарный коэффициент диффузии йода (в составе люголя) по аппроксимации экспериментальных данных, представленных на рис.45, в, методом наименьших квадратов по уравнению (9), и затем усредняли.



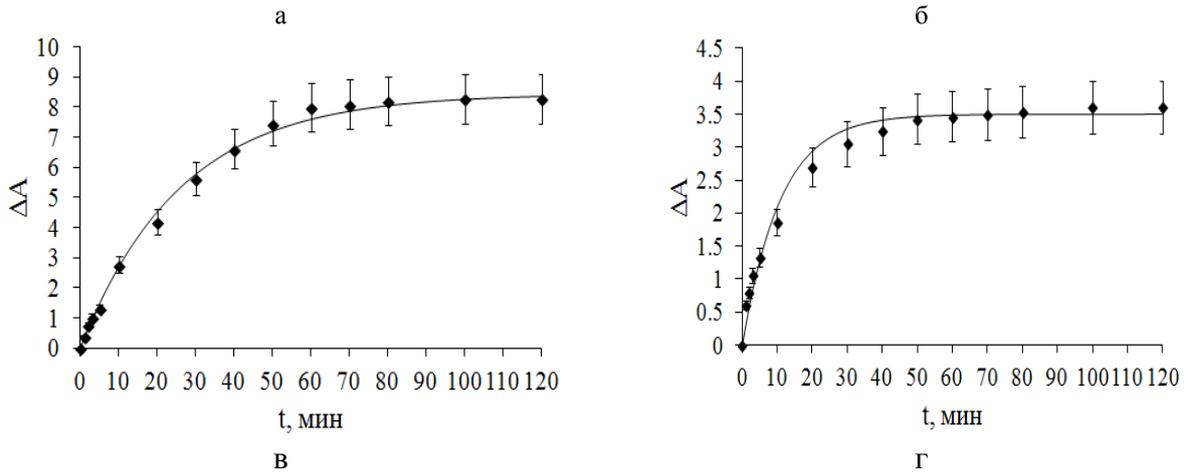


Рис. 45. СДО образца слизистой десны свиньи при диффузии люголя - а); спектр поглощения люголя - б); кинетика разностной эффективной оптической плотности при диффузии люголя в образцы слизистой десны свиньи: в) - для йода в составе люголя, г) для глицерина в составе люголя. Символы соответствуют экспериментальным данным, сплошная кривая - аппроксимация.

Аппроксимация эффективной оптической плотности при определении йода в составе люголя представлена на рис.45,в. Интенсивное изменение эффективной оптической плотности происходит вплоть до 60 минут, а затем зависимость меняется незначительно вплоть до полного прекращения. Бинарный коэффициент диффузии глицерина (в составе люголя) в ткани десны определялся при 500 нм, 600 нм и 800 нм и затем усредняли. Аппроксимация эффективной оптической плотности при определении глицерина в составе люголя представлена на рис.45, г.

Бинарные коэффициенты диффузии составили: йода (в составе люголя) в слизистую десны свиньи $D=(8.86\pm 0.75)\cdot 10^{-7}$ см²/с ($n=5$; $l=0.38\pm 0.09$ мм); глицерина (в составе люголя) в слизистую десны свиньи $D=(6.44\pm 0.62)\cdot 10^{-7}$ см²/с ($n=5$; $l=0.38\pm 0.09$ мм).

Используя формулу (12), был определен коэффициент проницаемости ткани десны свиньи к йоду (в составе люголя) $P=(23.32\pm 4.97)\cdot 10^{-6}$ см/с и глицерина (в составе люголя) $P=(16.95\pm 4.32)\cdot 10^{-6}$ см/с [358].



Рис. 46. Фото образца десны до (а) и после (б) диффузии люголя.

СПП десны до и после диффузии люголя представлены на рис.47. СПП десны имеет типичный вид до начала эксперимента (рис.47 а, кривая 1). После завершения процесса диффузии люголя спектр идет ниже исходного вплоть до 600 нм, что говорит о прокрашивании образца йодом в составе люголя, увеличении поглощения и практически полного уменьшения пропускания излучения от 200 до 600 нм. Начиная с 650 нм коэффициент пропускания десны возрастает по сравнению с исходными значениями, что говорит о наличие эффекта оптического просветления глицерином в составе люголя (рис.47 а, кривая 2).

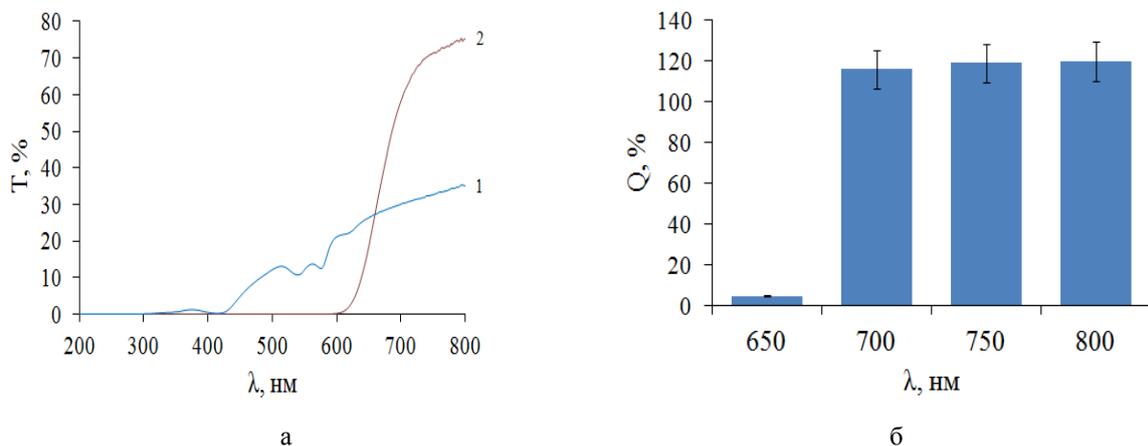


Рис.47. СПП в интервале длин волн 200–800 нм: до (1) и после (2) диффузии люголя в образец слизистой десны свиньи - а). Гистограмма эффективности оптического просветления образцов десны после прекращения диффузии люголя – б).

ЭОП ткани десны, рассчитанная по формуле (12), после завершения процесса диффузии люголя представлена на рисунке 47, б, и достигает до 120% при 700-800

нм, при наибольших абсолютных значениях коэффициента пропускания, так называемое «терапевтическое окно прозрачности» [1, 5].

5.2.2. Изменение оптических свойств дентина.

СДО дентина при диффузии люголя представлены на рисунке 48,а. Исходный спектр имеет характерный для дентина вид. В процессе диффузии препарата форма спектра изменяется, значительное изменение наблюдается в интервале от 300 нм до 600 нм, в этой области спектра находятся характерные пики поглощения йода в составе люголя. Глицерин не имеет характерных пиков в области от 200 до 800 нм. Спектры, снятые после завершения процесса диффузии имеют ровный контур без провалов, характерных для йода. Бинарный коэффициент диффузии люголя в дентин зуба человека определяли при 300, 400, 500, 600 и 700 нм и затем усредняли, по аппроксимации экспериментальных данных, проведенной по методу наименьших квадратов, представленной на рисунке 48, б. Бинарный коэффициент диффузии люголя в дентин зуба человека составил $D = (2.53 \pm 0.31) \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$.

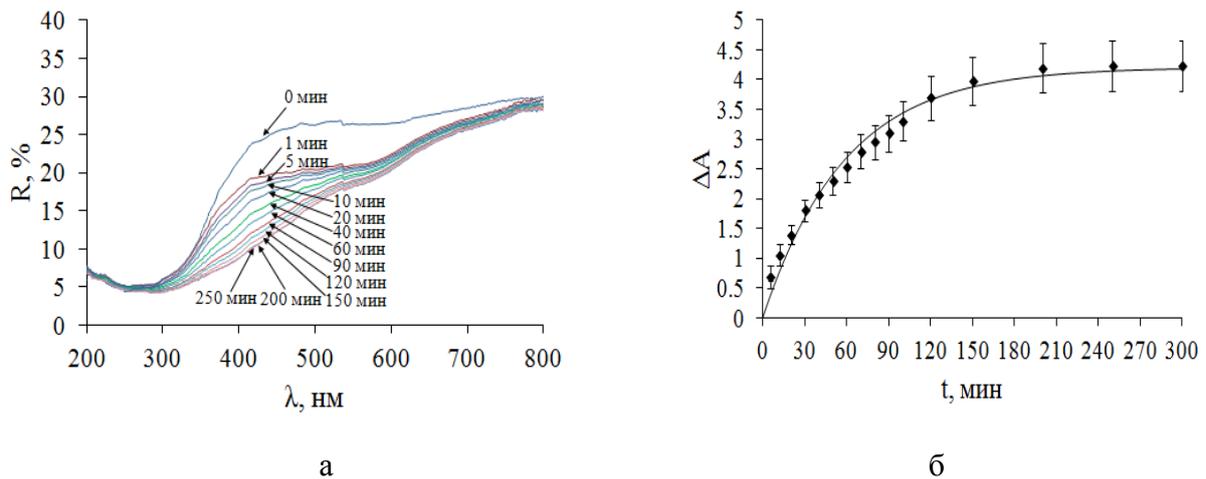


Рис.48. СДО образца дентина зуба человека, при диффузии люголя – а); кинетика разностной эффективной оптической плотности при диффузии люголя в образцы дентина зуба человека - б).

Наибольшие изменения значений эффективной оптической плотности наблюдаются в течение 150 минут диффузии, а затем становятся незначительными и при 210 минутах прекращаются. Используя формулу (11), определен коэффициент проницаемости ткани дентина к люголю, который составил $P=(49.61\pm 9.36)\cdot 10^{-7}$ см/с ($n=5$; $l=0.51\pm 0.07$ мм). Фото образца до (а) и после (б) процесса диффузии люголя представлены на рисунке 49. После эксперимента образец приобретает характерный для йода коричневый цвет и практически полностью прокрашивается.

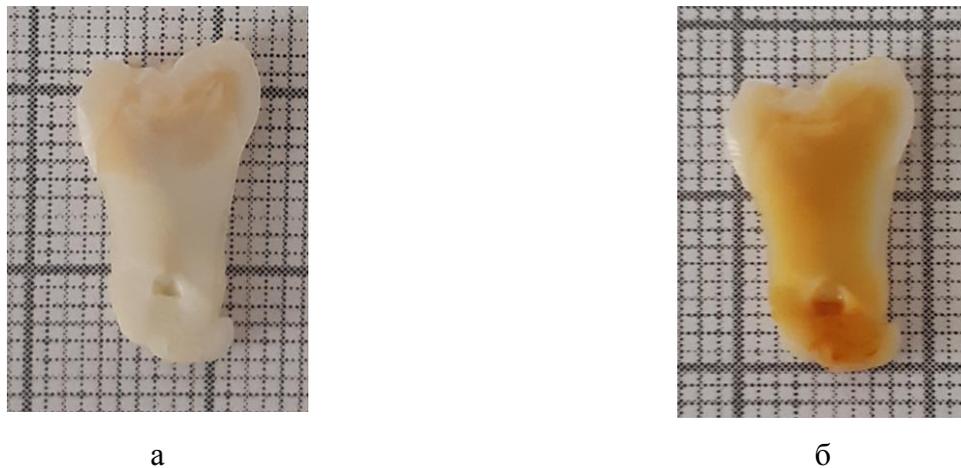


Рис.49. Фото образца дентина зуба человека до (а) и после (б) прекращения диффузии люголя.

СПП дентина зуба человека до (кривая 1) и после (кривая 2) диффузии люголя представлены на рис. 50. Спектр пропускания дентина зуба человека имеет типичный вид до начала эксперимента и коррелирует во всем исследуемом диапазоне от 200 до 800 нм со СДО.

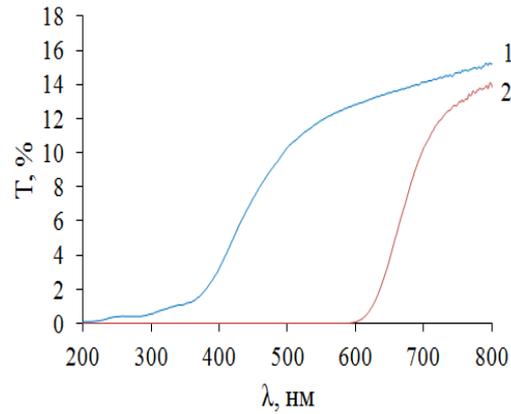


Рис.50. СПП дентина зуба человека до (кривая 1) и после (кривая 2) диффузии люголя.

СПП дентина после завершения процессов диффузии люголя (кривая 2) на рис.50 идет ниже исходного спектра (кривая 1), что говорит о том, что увеличения пропускания не происходит и эффекта оптического просветления дентина зуба человека не достигается. В диапазоне от 200 до 600 нм коэффициент пропускания прокрашенного люголем дентина практически нулевой, что говорит об увеличении поглощения за счет йода в составе люголя и уменьшении пропускания излучения. В диапазоне от 650 до 800 нм коэффициент пропускания возрастает (кривая 2), однако не достигает значений исходного (кривая 1).

Выводы по главе.

В данной главе представлены результаты исследований взаимодействия препарата люголь (1 часть йода, 2 части йодида калия, 94 части глицерина и 3 части воды) с тканями десны и дентина. Терапевтический препарат люголь представляет собой смесь красителя - йода и просветляющего агента - высококонцентрированного глицерина.

Проникая в образцы, коэффициент диффузного отражения исследуемых тканей снижается, и форма спектров изменяется. После прекращения диффузии раствора люголя за 120-150 мин на СДО десны замечено сглаживание спадов, характерных для оксигемоглобина (при 415, 542 и 576 нм), и наблюдаются слабо выраженные спады характерные для пиков поглощения йода (при 288 нм, 352 нм и

468 нм), характеризующие проникновение йода в ткань десны. На СДО дентина после прекращения процесса диффузии люголя за 250-300 мин характерных для йода пиков не наблюдается. Также найдено существенное уменьшение проникновения излучения в десне и дентине в области от 200 до 600 нм (из-за сильного увеличения поглощения йодом в составе люголя). Начиная с 650 нм коэффициент пропускания десны возрастает по сравнению с исходными значениями, что говорит о наличии эффекта оптического просветления глицерином в составе люголя и достигает 120% при 700-800 нм, при наибольших абсолютных значениях коэффициента пропускания, в области «терапевтического окна прозрачности». Таким образом, проникая в образец десны, люголь вызывает эффект оптического просветления в диапазоне длин волн 500-800 нм, благодаря наличию в его составе высококонцентрированного глицерина, в дентине такого эффекта не наблюдается, однако коэффициент пропускания в этом диапазоне снижается.

Проведя измерения кинетики диффузии люголя в исследуемые биоткани определены количественные значения их проницаемости и эффективные бинарные коэффициенты диффузии. Коэффициент проницаемости ткани десны свиньи к йоду (в составе люголя) $P=(23.32\pm 4.97)\cdot 10^{-6}$ см/с и к глицерину (в составе люголя) $P=(16.95\pm 4.32)\cdot 10^{-6}$ см/с, а также дентина к люголю $P=(49.61\pm 9.36)\cdot 10^{-6}$ см/с. Бинарные коэффициенты диффузии составили: йода (в составе люголя) в слизистой десны свиньи $D=(8.86\pm 0.75)\cdot 10^{-7}$ см²/с; глицерина (в составе люголя) в слизистой десны свиньи $D=(6.44\pm 0.62)\cdot 10^{-7}$ см²/с; люголя в дентине зуба человека $D=(2.53\pm 0.31)\cdot 10^{-7}$ см²/с.

6. МЕТОД ФОТОТЕРАПИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ УФ ОБЛУЧЕНИЯ И ЭФФЕКТА ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЕНИЯ ВЫСОКОКОНЦЕНТРИРОВАННЫМ ГЛИЦЕРИНОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО АФТОЗНОГО СТОМАТИТА

6.1. Материалы и методы.

В исследовании проанализированы результаты лечения 120 больных ХРАС, реализованные в детской поликлинике №3 г. Саратова.

Клинические исследования проведены в стоматологическом кабинете поликлиники №3 (филиал детской инфекционной больницы №5 г. Саратова); лабораторные микробиологические и цитологические исследования - в специализированных лабораториях; измерение pH ротовой жидкости (собранные в день исследования в стерильные пробирки эппендорфа) проводили с помощью pH-метра (EL2-Kit производства фирмы «Mettles- Toledo», Швейцария) в лаборатории ОНИ НС и БС СГУ; обсуждение полученных результатов проводили на кафедре оптики и биофотоники СГУ. Критерии включения пациентов в исследования. В исследования включались добровольцы в возрасте от 6-17 лет обоего пола, с установленным диагнозом ХРАС, согласно классификации МКБ-10 МК12.0 и дали письменное информированное согласие на участия в исследовании.

Критерии не включения пациентов в исследование. Отказ пациента на участия в исследовании. Общие противопоказания к УФО терапии: злокачественные новообразования в любой период течения заболевания, в т.ч. после радикальных операций; системные заболевания соединительной ткани; активная форма туберкулеза легких; гипертиреоз; лихорадочные состояния; склонность к кровотечению; недостаточность кровообращения II и III степеней; артериальная гипертензия III степени; выраженный атеросклероз; инфаркт миокарда (первые 2-3 недели); острое нарушение мозгового кровообращения; заболевания почек и печени с недостаточностью их функции; язвенная болезнь в период обострения; хронический гепатит, панкреатит при явлениях активности процесса; кахексия; повышенная чувствительность к УФ-лучам, фотодерматозы,

заболевания крови. Нахождение на диспансерном учете у невролога, психиатра, аллерголога-иммунолога. Острые и хронические инфекционные и вирусные заболевания, в том числе ВИЧ-инфекция, гепатит всех видов, сифилис, эпилепсия. Заболевания щитовидной железы. Непереносимость компонентов используемых препаратов.

Добровольцы, включенные в исследование соответствовали всем критериям включения и не имели критериев исключения. В соответствии с задачами исследования все наблюдаемые больные были разделены на 3 сопоставимые по основным клинико-функциональным характеристикам группы. В каждой группе были отобраны по 40 пациентов добровольцев с установленным диагнозом ХРАС по 20 мальчиков и 20 девочек в каждой группе: I группа (основная); II группа (сравнения); III группа (контрольная).

Стандартное лечение включало: при стоматологическом осмотре обнаружение и ликвидация раздражителя: острых сколов, зубного камня, тщательной санации полости рта при необходимости; при резкой болезненности афт аппликации обезболивающими средствами на основе лидокаина 1% (новокаина 1%), нанесенных на стерильный бинт; удаление некротических тканей при их наличии с помощью протеолитического фермента трипсина; антисептическая обработка люголем с глицерином; эпителизирующая терапия в виде аппликаций масло шиповника, нанесенных на стерильный бинт.

I группа (основная) получала в дополнение к стандартному лечению предложенный метод светолечения с применением ОП высококонцентрированным глицеприном. Один раз в день в течение 6-12 дней производилась физиопроцедура: предварительно делалась аппликация глицерином (фармпрепарат без разведения) в течение 10 минут с помощью стерильного бинта на СОПР, покрывая эрозивно-язвенные поражения, затем рот прополаскивался теплой кипяченой водой. Затем производилось облучение всей СОПР через специальный тубус в течение 12 минут по всей ротовой полости серийно выпускаемым аппаратом ОУФВ-02 (Россия) (УФ и видимая область спектра), спектр излучения которого представлен на рисунке 51.

II группа (сравнения) получала в дополнение к стандартному лечению физиопроцедуру: один раз в день в течении 6-12 дней произведено облучение СОПР через специальный тубус в течении 12 минут по всей ротовой полости серийно выпускаемым аппаратом ОУФВ-02 (Россия).

III группа (контрольная) получала стандартное лечение люголем, для этого: 4-6 раз в день производилось нанесение люголя на пораженные участки СОПР после еды (с предварительным прополаскиванием) до исчезновения афт.

Для исследования уровня качества жизни пациентов с ХРАС применялся специальный стоматологический валидированный опросник ОНП-49-RU «Профиль влияния стоматологического здоровья» [360].

Для измерения pH собранной ротовой жидкости использовали pH-метр EL2-Kit производства фирмы «Mettles-Toledo» (Швейцария).

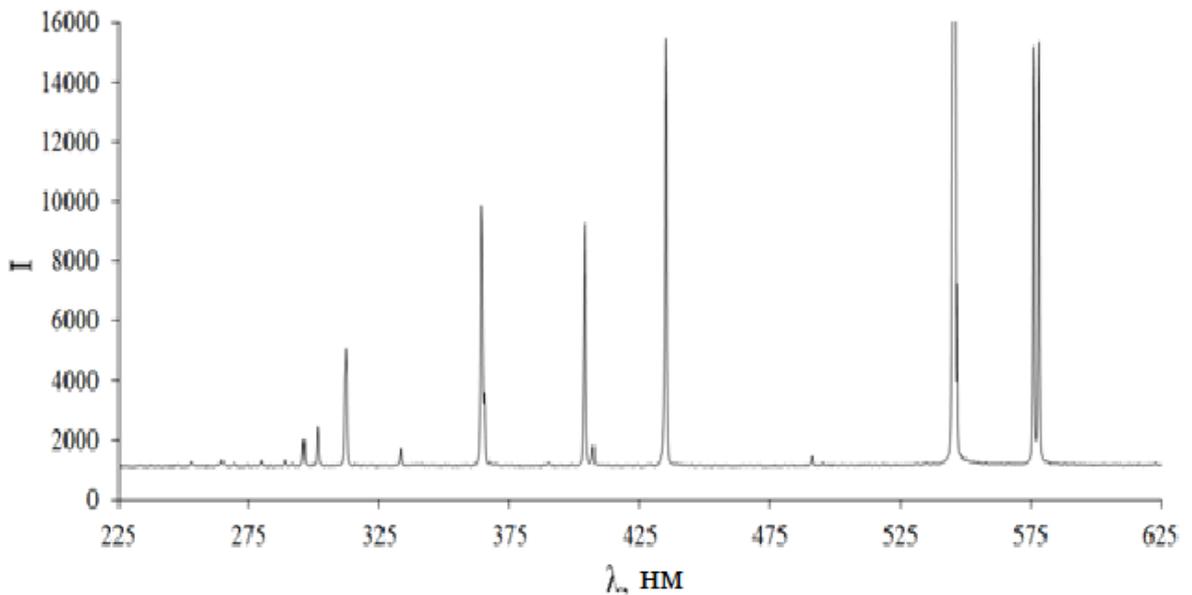


Рисунок 51. Спектр излучения аппарата ОУФВ-02 (Россия), измеренный на спектрофотометре Ocean Optics HR 4000 CG-UV-NIR (США).

Поскольку ХРАС имеет рецидивирующее течение и как правило повторяется у детей и подростков в течение года наблюдения, именно этот интервал времени мы выбрали для оценки эффективности предложенной методики после начала лечения.

Распределение признаков являлись нормальными и использовались параметрические методы t – критерий Стьюдента, дисперсионный анализ. Коэффициенты корреляции и различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Statistica 8.0 для Windows с применением стандартных методик вариационной статистики. Для графического отображения результатов применяли программу «Microsoft Excel XP». Среднеквадратичное отклонение (SD) рассчитывали по формуле 5, представленной во второй главе.

6.2. Объем клинических исследований.

Клинический стоматологический осмотр; исследование качества жизни пациентов с применением опросника Oral Health Impact Profile (OHIP-49-RU), оценивающий степень важности стоматологического здоровья по 49 вопросам; измерение общей площади афт; анализ изменения периферической картины крови; цитологическое и микробиологическое исследование мазка слизистой рта; определение рН ротовой жидкости до и после лечения.

6.3. Ротовая жидкость - определение понятия, функции и информативность в клинической диагностике.

Пищеварительный процесс в организме человека начинается в ротовой полости, биоткани и жидкости которой играют важную роль в пищеварении, в процессах регуляции, в осуществлении защиты целостного организма за счет образования и секреции иммуноглобулинов и др. Слюна смачивает слизистую рта, обеспечивая работу вкусового анализатора и смачивает пережеванную пищу. Согласно современным представлениям, у человека образуется собственно слюна (или проточная слюна) и ротовая жидкость (или смешанная слюна). Собственно слюна – жидкая биологическая среда, секретируемая в полость рта большими слюнными железами (околоушными, подчелюстными, подъязычными) и множеством малых слюнных желез, разбросанных по слизистой оболочке полости рта (губные, щечные, язычные, десневые, небные). Большую часть слюны ($\approx 70\%$)

образуют поднижнечелюстные слюнные железы; $\approx 25\%$ – околоушные; $\approx 4\%$ – подъязычные и около 1% – малые слюнные железы. Количество слюны, выделяющееся за сутки, зависит от особенностей пищи, возраста и пола. Однако в среднем у взрослого человека слюны секретирруется 750–2000 мл/сутки [354].

Ротовая жидкость, или смешанная слюна – это суммарный секрет больших и малых слюнных желез, слущенный эпителий, детрит полости рта, десневая жидкость, зубной ликвор, микрофлора и продукты ее жизнедеятельности, лейкоциты и продукты их распада, остатки пищи, зубной пасты, ополаскивающих жидкостей, бронхиальные и назальные секреты и др. Смешанная слюна, или ротовая жидкость, человека представляет собой вязкую, опалесцирующую, слегка мутную (благодаря присутствию клеточных элементов) жидкость с плотностью 1.001– 1.017 г/л и обладающую высокой вязкостью (1.10–1.33 пуаза). Вязкость связана с наличием гликопротеинов. Ротовая жидкость в среднем содержит 99 % воды и около 1.0 % сухого остатка [361].

Ротовая жидкость (смешанная слюна) имеет следующие функции:

1. Пищеварительная. Ротовая жидкость смачивает пищу, обволакивает пищевые частицы муцином, облегчает проглатывание, вызывает растворение компонентов пищи, которые подвергаются гидролитическому действию ферментов и происходит расщепление полисахаридов.
2. Защитная. Ротовая жидкость увлажняет и очищает ткани ротовой полости, смешанная слюна поддерживает видовой состав микрофлоры полости рта, формирует защитный барьер из муцина (образует пленку слизи на слизистой оболочке полости рта и коронковой части зубов, что снижает механические и химические воздействия на них содержимого ротовой полости), антител и ферментов желез (лизоцима, лактоферрина и др.), лейкоцитов, формирует пелликулу зубов, предотвращает осаждение фосфата кальция из перенасыщенного раствора, обладает гемостатическими и прокоагуляционными свойствами.

3. Буферная. Ротовая жидкость – это буферная система ротовой полости, способная в норме обеспечивать постоянство рН и снижать агрессивное воздействие кислой пищи и напитков.
4. Минерализующая. Ротовая жидкость является источником минеральных веществ и микроэлементов для эмали зубов, поддерживает оптимальный химический состав эмали и препятствует вымыванию минеральных веществ из нее.
5. Регуляторная. Ротовая жидкость регулирует образование пищеварительных соков в желудочно-кишечном тракте; выделение гормонов и гормоноподобных веществ, регулирующих процессы синтеза белков хрящевой ткани, дентина, минерализации эмали зуба и поддержание гомеостаза полости рта (содержит паротин, выделяемый околоушными железами; эритропоэтин; фактор роста нервов; фактор роста эпителия; инсулиноподобное вещество, содержание которого во много раз превышает таковое в сыворотке крови, что свидетельствует о его синтезе слюнными железами; белок апоэритеин, синтезирующийся в подчелюстной и околоушной железах и тождественный внутреннему фактору Кастла и др.).
6. Коммуникативная. Ротовая жидкость сохраняет влажность в полости рта (за счет муцина и гликопротеинов), что необходимо для формирования речи.
7. Выделительная. Со слюной выделяются низкомолекулярные азотсодержащие соединения (мочевина), различные катионы и анионы, метаболиты гормонов, лекарственных веществ (антибиотики), а также некоторые вирусы (вирус бешенства, ВИЧ и др.).

В настоящее время в фундаментальной и клинической диагностике развивается много новых методов и совершенствуется лабораторная техника, а также формируется приоритетная тенденция к неинвазивным методам диагностики и обоснованию информативности использования альтернативных крови биологических жидкостей.

Состав ротовой жидкости в полной мере отражает процессы, протекающие в организме, а доступность ее получения и неинвазивность делают

саливадиагностику перспективным лабораторным методом. Кислотность слюны – один из важнейших диагностических показателей, который может выявить как стоматологические проблемы, так и нарушения в системах всего организма. Значение рН слюны в норме близко к нейтральному и составляет 6.8–7.4, и зависит от гигиенического состояния полости рта, характера пищи и скорости секреции. Снижение скорости секреции снижает рН, что приводит к быстрому развитию кариеса [360].

Еще одним известным и хорошо изученным методом исследования является цитологический метод, который позволяет с помощью микроскопа выявлять различные патологии в морфологии развитии клеток при совсем небольшом количестве биоматериала. Его эффективно применяют в стоматологии при исследовании ротовой жидкости, мокроты, десневой жидкости, отпечатка удаленных тканей и др. Цитологический метод, является менее инвазивным по сравнению с биопсией и мазок-отпечаток или соскоб - можно сделать в течение нескольких минут, не используя специальную аппаратуру, что делает этот метод широко применяемым.

6.4. Рабочая гипотеза исследования.

Основываясь на имеющейся информации об использовании метода ОП при иммерсии различных тканей (например, слизистой колоректальных тканей, кожи, печени и др.) были проведены исследования *ex vivo* по иммерсии тканей слизистой свободной десны человека (полученные после хирургических вмешательств с получением письменного согласия пациентов на работу с их биоматериалом) и прикрепленной десны свиньи *ex vivo* гиперосмотическими агентами: высококонцентрированными растворами глицерина и 40% глюкозой. Проведенные исследования выявили, что при иммерсии ткани слизистой десны высококонцентрированным глицерином появляются три дополнительных оптических окна в УФ области: положение центра первого окна прозрачности составило (200 ± 3) нм с шириной на уровне половинной интенсивности (38 ± 7) нм; положение центра второго окна составило (283 ± 4) нм с шириной (39 ± 8) нм; и

положение третьего окна составило (344 ± 13) нм с шириной (72 ± 5) нм, увеличивая глубину проникновения УФ излучения в десну, а «гистологическое исследование афт выявляет глубокое фибринозно-некротическое воспаление СОПР» [23]. Мы предположили, что эффект ОП может использоваться и в стоматологии для фототерапии ХРАС, поскольку известно, что УФ излучение имеет сильную биологическую и антибактериальную активность и способствует активизации иммунных механизмов, а для ХРАС характерно понижение иммунологической реактивности и неспецифической защиты, аутоиммунные сдвиги, наличие микробиологических патогенов в СОПР. Такой метод мы назвали фототерапия ХРАС с применением ОП высококонцентрированным глицерином. Необходимо оценить его влияние на эпителизацию афт, уменьшение воспаления при ХРАС, частоту рецидивов и обострений с помощью клинических исследований.

6.5. Результаты и обсуждение.

Оценка эффективности метода фототерапии ХРАС с применением ОП высококонцентрированным глицерином.

Выявлено, что ХРАС диагностирован примерно одинаково у мальчиков и девочек, в возрасте от 6 - 18 лет, что соответствует данным других авторов [231, 265, 272, 237]. «Гистологическое исследование афты выявляет глубокое фибринозно-некротическое воспаление СОПР. Процесс начинается с изменений в соединительнотканном слое. Расширение сосудов приводит к периваскулярной инфильтрации и отеку шиповатого слоя эпителия, затем к спонгиозу и образованию микрополостей. В результате возникает некроз эпителия и эрозирование СОПР. Дефект эпителия заполняется фибрином и прочно спаивается с подлежащими тканями» [23].

Адреса проживания пациентов, прикрепленных к поликлинике находятся в Волжском районе г. Саратова, который считается экологически благоприятным по техногенной нагрузке. Бассейн реки Волга, зеленые насаждения и небольшое число производственных предприятий делают техногенную нагрузку данного района не

превышающей нормативы, основные загрязнения приходятся на выбросы автотранспорта [361].

6.5.1. Стоматологический статус и сопутствующие заболевания больных ХРАС.

Всем больным на общеклиническом стоматологическом обследовании определены основные клинические симптомы, стоматологический статус, некоторые этиопатогенетические факторы и сопутствующие заболевания, представленные в табл.6.

Таблица 6. Некоторые этиопатогенетические факторы и сопутствующие заболевания у больных ХРАС, входящих в I, II, III группы исследования.

Критерий	Обобщенный показатель больных ХРАС (по трем группам)
Эпителизация афт	в среднем через 5-7 дней
Увеличение регионарных лимфоузлов	41±5 %
Выявлена аллергия	45±4 %
Хронические ЛОР заболевания	44±6 %
Психоневрологический статус	37±5 %
Гастрит	34±3 %
Колит	16±4 %
Частота рецидивов за полгода	1 до 4 раз
Перенесенные ОРВИ	59±6 %
Обострение хронических заболеваний	28±5%
Перенесенные желудочно-кишечные отравления и токсические повреждения	6±2%

Таким образом, при определении некоторых этиопатогенетических факторов сопутствующих ХРАС, выявлено, что 44±6 % больных имели хронические ЛОР заболевания; 37±5% больных имели психоневрологический статус; 50±7 % больных имели желудочно-кишечные патологии: 34±6% - гастрит, 16±3% - колит; 59±6 % больных в течение месяца перенесли ОРВИ; 28±5% имели обострение хронических заболеваний; 6±2% имели перенесенные желудочно-кишечные

отравления и токсические повреждения; у 45 ± 4 % больных выявлена аллергия [362].

Определение уровня гигиены полости рта, оценивался по индексу ОНI-S у 35% детей и подростков был оценен как хороший (0.48 ± 0.09), у 30% больных как удовлетворительный (1.36 ± 0.08) и у 35% - как неудовлетворительный (2.32 ± 0.07). В результате проведенного анализа результатов стоматологического обследования больных ХРАС выявлена высокая интенсивность и распространенность кариеса зубов. Уровень интенсивности кариеса твердых зубов (КПУ) у 58% соответствует средней интенсивности (12.1 ± 0.3), а у 42 % высокой интенсивности (15.7 ± 0.8) кариеса. Чаще всего кариозные поражения локализовались на аппроксимальных поверхностях первых маляров (в 35%). При подсчете значений компонентов «П» и «К» достоверно различались друг от друга, что оценивалось по t критерию Стьюдента ($p < 0.05$). При исследовании РМА, легкая степень воспаления пародонта определена у 32% больных, средняя степень у 54%, а тяжелая степень воспаления обнаружена у 14%. Состав микрофлоры определяли общепринятым методом, путем культивирования посевов на элективных и дифференциально-диагностических питательных средах [363]. На основании проведенного анализа результатов микробиологических посевов по изучению качественного состава микроорганизмов с поверхности патологических элементов СОПР установлено, что на поверхности афт и язв при ХРАС определяется крайне разнообразные бактерии, включающие представителей почти всех видов микроорганизмов, это микрофильные стрептококки и облигатные анаэробы и факультативные анаэробы. Больше половины группы анаэробов (61%) представлены кокковой флорой, значительная часть которой (45%) составляют строгие анаэробы (пептострептококки, пегтококки). Кроме того, в состав этой группы входят и другие строгие анаэробы: бактероиды – 22%, лептотрихии – 9%, актиномицеты – 12% и кластридии - 4%. Группа факультативных анаэробов также содержит значительное количество кокков – 45% (стрептококки и стафилококки). По результатам выявлено наличие в составе микрофлоры бациллы, *Bordetella*, *Rothia*, *Candidaalbicans*, *Penicil-lumtumigatus*. Наиболее чаще встречались *Staphylococcus*

aureus, *Klebsiella*, *Staph. epidermidis*, которые обнаружены у 43% исследованных. У 31% выявлено наличие таких возбудителей как *Candida albicans*, *Strep. salivaries*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, у 26% больных с поверхности элементов поражения выявлены *Bacteroides*, *Peptococcus*, *Strep. sanguis*, *Strep. Mutans* и др [364].

В исходном состоянии у обследованных больных определялись различные субъективные и объективные клинические проявления ХРАС. Доминирующей жалобой была боль в области пораженных участков слизистой оболочки, которая усиливалась при приеме пищи, разговоре и снижала качество жизни. Достаточно часто больных беспокоили чувство жжения во рту (84.5%), усиленная саливация (76.3%), что вынуждало пациентов нарушать режим питания, чем вызывали обострение сопутствующих хронических заболеваний.

При оценке влияния стоматологического здоровья на качество жизни выявлено достоверное снижение качества жизни у пациентов детского и подросткового возрастов с ХРАС. Анализ пошкаловых показателей ОНIP-49-RU показал, что у пациентов основной группы ведущее место занимала шкала «Физический дискомфорт и боль» - 25.1 ± 9.7 баллов ($H=10.43$; $p=0.0099$). У пациентов группы сравнения шкала «Ограничение функции» набрала наибольшее количество баллов, что в 3.2 раза выше, чем в основной группе (45.4 ± 6.3 балла, $H=11.43$; $p=0.0099$). У больных, включенных в контрольную группу показатели шкалы «Физический дискомфорт и боль» оказались в 1.5 раз выше показателей основной группы. Итого в I группе – Σ ОНIP-49-RU = 97.4 ± 5.8 ($H=12.21^*$; $p=0.0015$), во II группе – Σ ОНIP-49-RU = 103.1 ± 7.1 ($H=12.21^*$; $p=0.0015$), в III группе – Σ ОНIP-49-RU = 103.1 ± 7.1 ($H=12.21^*$; $p=0.0015$).

Субъективные жалобы пациентов были подтверждены объективными данными, полученными при стоматологическом обследовании. Выявлены эрозивно-язвенные поражения слизистой оболочки в виде афт, которые представляли собой язвы с ровными краями круглой или овальной формы с белесым фибринозным налетом, на фоне гиперемии в области поражения слизистой общая площадь которых составляла от 0.5 – 1.7 см² (рис.13,а,г,ж). В некоторых случаях наблюдались рубцы – 53% у пациентов с частыми

обострениями. Отечность СОПР наблюдалась у 63% больных. Общая реакция организма, проявляющаяся увеличением и болезненностью региональных лимфотических узлов и повышением температуры тела до субфебрильных значений ($37.3 \pm 0.4 \text{C}^\circ$) наблюдалась у $41 \pm 5\%$ больных.

Применение разработанной методики фототерапии с использованием эффекта ОП высококонцентрированным глицерином вызывало быстрый (уже через 4-6 процедур) регресс клинической симптоматики в 76% (рис.52 б,д,з,в,е,и).

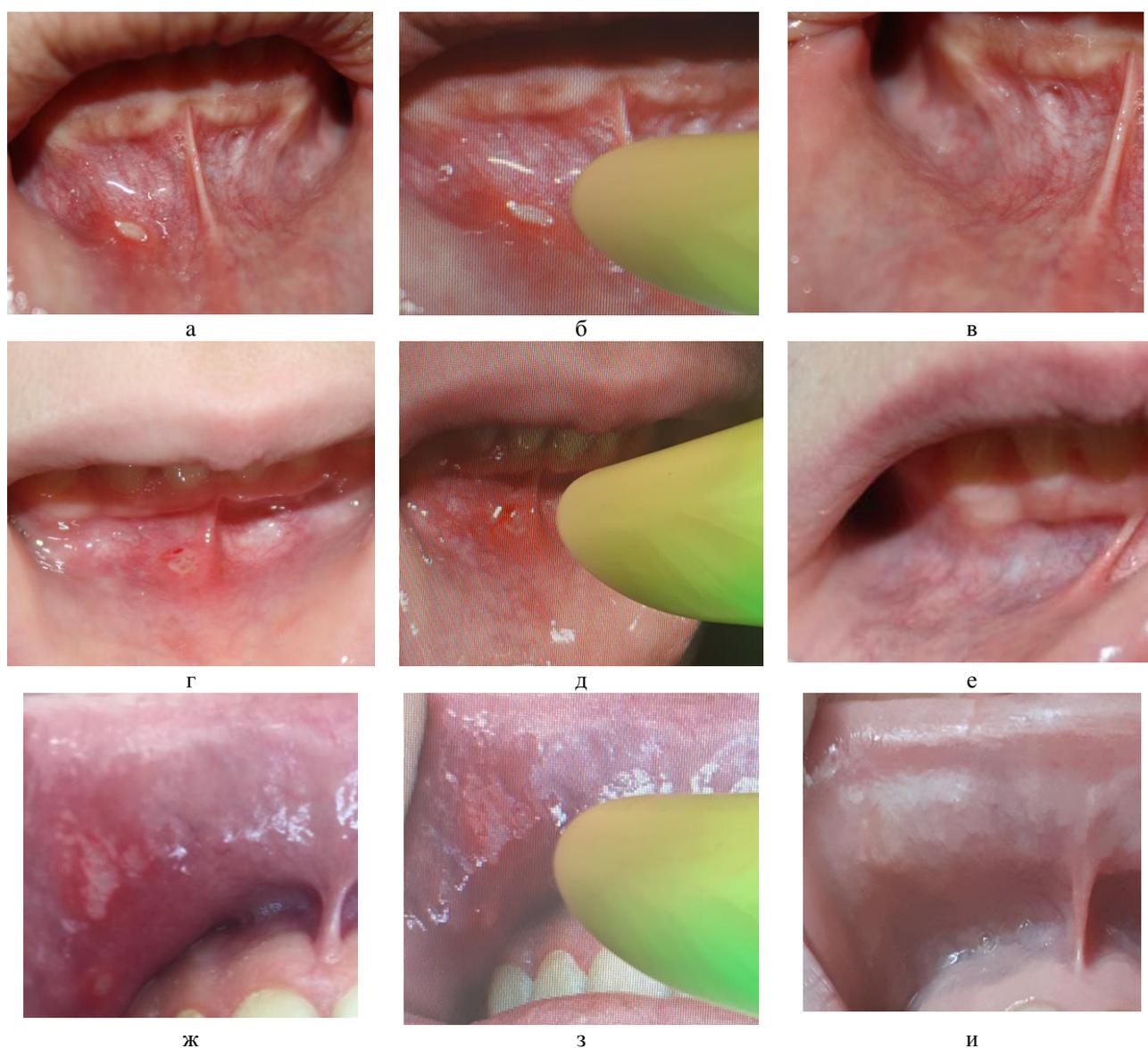


Рис.52. Фото части пораженной СОПР больных ХРАС основной I группы а, г, ж) – до лечения; б, д, з) - нанесение аппликации с высококонцентрированным

глицерином и фототерапии по предложенному методу; в, е, и) – после проведения 4-6 процедур.

Расширялся пищевой рацион у этих больных, уменьшались субъективные клинические признаки локального воспаления: исчезновение болевого синдрома (85%), уменьшение жжения слизистой рта у 93% больных и повышенной саливации в 67% случаев. Купирование основных признаков локального воспаления СОПР объективно выявлялись при стоматологическом осмотре.

При включении фототерапии в комплексное лечение больных (II группа сравнения) выявлялась подобная динамика, однако выраженная в меньшей степени: отмечается уменьшение болевого синдрома в 56% случаев, уменьшение жжения в 49% случаев и уменьшение саливации в 44% случаев.

При стоматологическом осмотре наблюдаемых больных объективно подтверждено улучшение субъективного состояния, выявлено купирование основных признаков локального воспаления СОПР. У 57% больных I основной группы наблюдалось выраженное заживление афт слизистой оболочки: исчезновение гиперемии и отека слизистой рта с полной эпителизацией, а также выявлено значительное снижение воспалительного процесса: частичная эпителизация афт и практически полное устранение отека слизистой рта у других 43% больных основной группы (рис.52, в,е,и).

В группах сравнения и контроля динамика купирования воспалительного процесса в СОПР и заживления эрозивно-деструктивных изменений слизистой объективно выявлялась в меньшей степени. Так, полная эпителизация отмечалась у 33% и 26% соответственно, у остальных больных выявлялись различные степени заживления афт.

После применения полного курса светолечения с применением эффекта ОП высококонцентрированным глицерином купирование основных клинических проявлений воспаления: полное отсутствие жжения и повышенной саливации, наблюдалось отчетливо у 93.6% больных. В группе сравнения и контроля аналогичная динамика наблюдалась в 81.1% и 64.5% соответственно [365].

При стоматологическом осмотре объективно подтвержден полный регресс клинической симптоматики у подавляющего большинства больных основной группы, что достоверно более значимо, чем в группе сравнения и, особенно, контроля. Улучшение субъективного состояния наблюдаемых больных связано также с купированием основных признаков локального воспаления слизистой оболочки, объективно выявляемых при стоматологическом осмотре и оценке периферической картины крови. Для объективной оценки воспалительного процесса в ротовой полости провели цитологическое исследование ротовой жидкости у больных, включенных в исследование.

6.5.2. Изменения цитологических показателей ротовой жидкости после фототерапии с использованием ОП высококонцентрированным глицерином.

Проведено цитологическое исследование ротовой жидкости больных ХРАС с подсчетом количества лейкоцитов и эпителиальных клеток, которые являются важнейшими маркерами воспаления. Проведено также, цитологическое исследование отпечатков с эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки в виде афт для определения степени созревания эпителиальных клеток, по результатам которого вычислялся индекс дифференцировки клеток. Результаты исследований представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Результаты изменения цитологических показателей состава ротовой жидкости после применения лечения у трех групп больных ХРАС, включенных в исследование.

Показатель	Дети и подростки со здоровой СОПР (n=40)	Дети и подростки трех групп, до начала лечения (n=120)	После лечения		
			Основная группа (n=40)	Группа сравнения (n=40)	Группа контроля (n=40)
Количество эпителиальных	1.84±0.07	7.26±0.09	1.9±0.04	4.48±0.3	5.9±0.04

клеток (в поле зрения)			P2***	P1**, P2**, P3**	P1***, P3***
Количество лейкоцитов (в поле зрения)	1.1±0.1	4.7±0.2	1.1±0.01 P2***	2.9±0.02 P1**, P2**, P3**	4.1±0.03 P1***, P3***
Индекс дифференцировки клеток (условные единицы)	582.8±26.8	319.4±17.5 P1***	556.7±31.5 P2***	478.6±27.6 P1**, P2**, P3**	379.8±22.5 P1***, P3***

Примечание: P1 – сравнение с нормой, P2 – сравнение с показателями до лечения, P3 – сравнение с показателями в основной группе; * - $p<0.05$; ** - $p<0.01$; *** - $p<0.001$.

При проведении цитологического исследования ротовой жидкости выявлена выраженная активность воспалительного процесса в полости рта у больных ХРАС, включенных в исследование.

Обнаружено высокодостоверное повышение количества эпителиальных клеток (в 3.9 раза), количества лейкоцитов (в 4.3 раза), а также снижение индекса дифференцировки клеток в 1.8 раз. Под влиянием фототерапии с применением метода ОП высококонцентрированным глицерином выявлено купирование активности воспалительного процесса в СОПР основной группы. Отмечается восстановление показателей количества эпителиальных клеток, лейкоцитов и повышение до нормальных значений индекса дифференцировки клеток, за счет увеличения доли зрелых эпителиальных клеток. Полученные результаты достоверно более значимы, чем в группе сравнения и контроля и свидетельствуют о купировании активности воспалительного процесса.

Проведенные цитологические исследования через 6 месяцев после лечения, показали, что лишь после светолечения с применением метода ОП высококонцентрированным глицерином цитологические показатели сохраняются на уровне здоровых лиц. В группе сравнения отмечалась достоверная направленность всех определяемых показателей к исходному уровню, однако, не достигнув исходных значений до лечения. В группе контроля все показатели приблизились к исходным значениям до начала лечения [366].

6.5.3. Изменения рН показателей ротовой жидкости после фототерапии с использованием ОП высококонцентрированным глицерином.

Саливадиагностика - один из перспективных неинвазивных методов оценки патологических сдвигов в ротовой полости. В частности, определение уровня рН ротовой жидкости может свидетельствовать о наличии воспалительного патологического процесса в ротовой полости. У всех больных в исходном состоянии был зафиксирован сдвиг рН ротовой жидкости в кислую сторону до 5.4 ± 0.3 , что соответствует данным, полученным другими исследователями при определении кислотно-щелочного уровня в ротовой полости при ХРАС [290]. Результаты проведения динамических измерений рН ротовой жидкости в различные сроки наблюдения представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Изменение показателей рН ротовой жидкости у больных ХРАС в трех группах различного лечения.

Показатель	Дети и подростки со здоровой СОПР (n=40)	Дети и подростки трех групп, до начала лечения (n=120)	После лечения		
			Основная группа (n=40)	Группа сравнения (n=40)	Группа контроля (n=40)
рН	7.3 ± 0.3	5.7 ± 0.2 P1**	7.1 ± 0.2 P2*	6.8 ± 0.2 P1*, P2*, P3*	6.1 ± 0.2 P1*, P3*

Примечание: P1 – сравнение с показателями до лечения; P3 – сравнение с показателями в основной группе; * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$.

Сравнительный анализ показал, что сочетанное применение УФ облучения с методом ОП высококонцентрированным глицерином СОПР у больных ХРАС вызывало полное восстановление кислотно-щелочного равновесия ротовой жидкости, которое сохранялось в течение 8 месяцев. В группе сравнения и контроля отмечалось достоверное повышение показателя рН слюны до 6.7 ± 0.2 и 5.8 ± 0.3 соответственно, однако через 6 месяцев (без повторения лечебных процедур) наблюдалась тенденция к смещению рН ротовой жидкости в кислую

сторону. У больных контрольной группы после курса лечения отмечалась лишь тенденция к повышению уровня рН слюны [366].

6.5.4. Оценка эффективности включения разработанного метода в комплексное лечение ХРАС.

В диссертационном исследовании предпринята попытка оценить эффективность клиническими и клинико-лабораторными методами нового, адаптированного в клинике, метода светолечения ХРАС с ОП высококонцентрированным глицерином. Для этого проведен сравнительный анализ непосредственных и отдаленных результатов влияния на изучаемые показатели разработанного метода в составе комплексной терапии лечения ХРАС.

Ни у одного пациента основной группы не наблюдалось ни одного случая обострения заболевания, в то время как у 18.2% больных, входящих во II группу исследования, после добавления к комплексному лечению ХРАС только светолечения, через 5-6 месяцев появились единичные афты без элементов воспаления, которые быстро (в течение 3-5 дней) были купированы, а у остальных ремиссия сохранялась до 7-8 месяцев. При стандартном стоматологическом лечении в 23.4% случаев отмечалось обострение заболевания через 3-4.5 месяца, у остальных больных ремиссия сохранялась в течение 6 месяцев и менее.

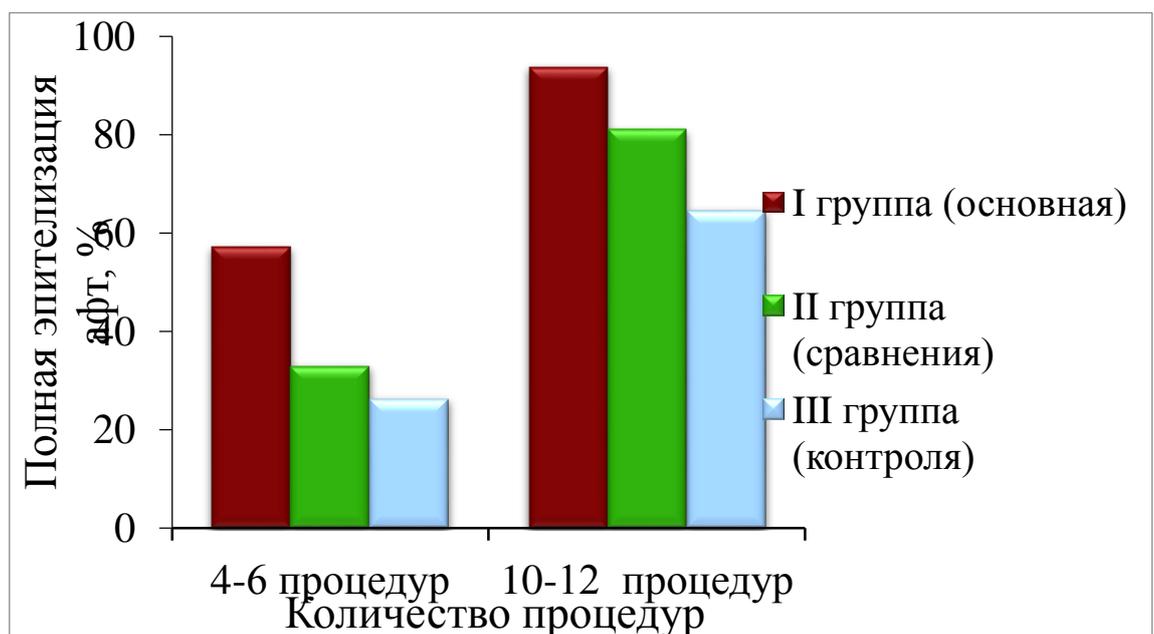


Рис.53. Эффективность разработанного метода светолечения ХРАС.

Высокая терапевтическая эффективность метода фототерапии с ОП СОПР при лечении ХРАС была подтверждена результатами отдаленных наблюдений в течение 1 года после окончания лечения. Ни у одного пациента основной группы не наблюдалось ни одного случая обострения заболевания, в то время как у 18.2% больных после применения только УФ облучения через 5-6 месяцев появились единичные афты без элементов воспаления, которые быстро (в течение 3-5 дней) были купированы, а у остальных ремиссия сохранялась до 7-8 месяцев. При стандартном стоматологическом лечении в 23.4% случаев отмечалось обострение заболевания через 3-4.5 месяца, у остальных больных ремиссия сохранялась в течение 6 месяцев и менее.

Выводы по главе

Таким образом, разработанный метод фототерапии с УФ облучением и ОП высококонцентрированным глицерином СОПР является патогенетически обоснованным и высокоэффективным методом лечения ХРАС, что позволяет рекомендовать его для широкого применения в стоматологической практике. Выявлена выраженная терапевтическая эффективность применения разработанного метода (93.7%) перед УФ облучением (81.2%), а также перед стандартным стоматологическим лечением (65.9%). Фототерапия сопровождалась нормализацией значений рН ротовой жидкости и восстановлением количества эпителиальных клеток и лейкоцитов до уровня здоровых лиц на фоне повышения до нормальных значений индекса дифференцировки клеток за счет увеличения доли зрелых эпителиальных клеток, что свидетельствует о выраженном купировании активности воспалительного процесса.

Применение метода рекомендовано для профилактики ХРАС у пациентов групп риска, а также в составе комплексного стоматологического лечения с целью повышения его эффективности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили решить поставленные задачи и получить следующие основные результаты:

1. Путем решения обратной оптической задачи с применением метода добавления-удвоения впервые рассчитаны такие оптические параметры, как транспортные коэффициенты поглощения и рассеяния десны и дентина зуба человека и животных в диапазоне длин волн от 200 до 800 нм. Определено, что в УФ области глубина проникновения излучения в дентин составляет до 0.47 см, в десну до 0.1 см; а в части «первого окна прозрачности», от 600 до 800 нм, излучение проникает в дентин до 5.5 см, а в десну до 0.69 см.
2. Метод спектроскопии диффузного отражения применен для изучения транспорта водных растворов красителей (метиленового синего и риванола на основе акридинового красителя) в биотканях (десны и дентина зуба человека и животных) *ex vivo*. Определено, что проникая внутрь исследуемых биотканей, пики поглощения красителей не смещаются и остаются на характерных им длинах волн. Экспериментально определено время полного прокрашивания десны и дентина. Выявлено, что при полном окрашивании красителями исследуемых биотканей, их поглощающие свойства значительно увеличиваются, коэффициент пропускания практически равен нулю вплоть до 700 нм (в случае метиленового синего) и до 450 нм (в случае риванола), что вызвано влиянием проникшего красителя и определяется его характерными пиками поглощения. Увеличение поглощения исследуемых биотканей проявляется существенным снижением их коэффициентов диффузного отражения и полного пропускания.
3. Впервые показана возможность оптического просветления ткани слизистой десны при использовании в качестве оптических иммерсионных агентов глицерина и глюкозы. Экспериментально выявлены особенности взаимодействия слизистой десны (*ex vivo*) с высококонцентрированным глицерином с образованием трех окон прозрачности в УФ диапазоне спектра с эффективностью оптического просветления до 3500%. Положение центра первого окна прозрачности составило (200 ± 3) нм с шириной на уровне половинной интенсивности (38 ± 7) нм; положение

центра второго окна составило (283 ± 4) нм с шириной (39 ± 8) нм; и положение третьего окна составило (344 ± 13) нм с шириной (72 ± 5) нм. Несмотря на то, что абсолютные значения пропускания в УФ области не велики (до 3%), создание трех новых окон прозрачности оказывается достаточным для регистрации фотонов с более глубоких слоев слизистой десны. В ближней ИК области, в пределах так называемого «первого терапевтического окна прозрачности», эффективность просветления существенно ниже и составляет до 463% при 600 нм; до 225% при 700 нм; и до 180% при 800 нм, однако из-за отсутствия сильных полос поглощения эндогенных хромофоров в этой области спектра абсолютные значения пропускания достаточно большие и составляют до 70 %.

При определении эффективности оптического просветления 40% глюкозой выявлено образование одного окна прозрачности, положение центра которого составило (337 ± 6) нм с шириной (46 ± 9) нм и с максимальной эффективностью до 400%. От 200 до 300 нм эффективность оптического просветления не более 40%. В диапазоне «первого терапевтического окна прозрачности» от 600 до 800 нм эффективность просветления десны в среднем составляет 35%, хотя абсолютные значения коэффициента пропускания достаточно большие и достигают 25% при 800 нм. Снижение рассеивающих характеристик исследуемых биотканей происходит за счет согласования показателей преломления коллагеновых и эластиновых волокон и внутритканевой жидкости при замещении ее на молекулы иммерсионных агентов и сопровождается дегидратацией, вызванной гиперосмотическими свойствами используемых препаратов. Экспериментально определено время полной иммерсии слизистой десны высококонцентрированным глицерином и глюкозой. Возможность снижения рассеивающих свойств десны экспериментально доказана существенным увеличением коэффициентов полного пропускания образцов иммерсированной биоткани.

4. Экспериментально исследовано взаимодействие высококонцентрированного глицерина и глюкозы с дентином зуба человека, которое приводит к оптическому просветлению, что проявляется в значительном увеличении коэффициентов полного пропускания иммерсированной биоткани. Экспериментально определено

время полной иммерсии образцов дентина в глицерине и глюкозе. Показано, что эффективность просветления твердых тканей ротовой полости (дентина зуба человека) в УФ области составляет от 1 до 22% (при иммерсии в 99.5% глицерине и 40% глюкозе), в видимой и ближней ИК области в среднем составляет 25% (при иммерсии в глицерине) и 21% (при иммерсии в 40% глюкозе).

5. Экспериментально исследован транспорт терапевтического препарата люголь (1 часть йода, 2 части йодида калия, 94 части глицерина и 3 части воды) в образцах слизистой десны и дентина зуба человека и животных. Люголь представляет собой смесь красителя (йода) и просветляющего агента (глицерина). Экспериментально определено время полного прокрашивания исследуемых биотканей люголем. После полного проникновения в биоткани люголя, он вызывает в слизистой десны как увеличение поглощающих свойств до 600 нм (что подтверждается снижением коэффициента полного пропускания), так и снижением рассеивающих свойств, вызывая оптическое просветление с 650 до 800 нм до 120% (что подтверждается увеличением коэффициента полного пропускания). В ткани дентина зуба человека после прекращения процесса диффузии люголя выявлено значительное увеличение поглощающих свойств до 600 нм без эффекта оптического просветления (коэффициент полного пропускания практически нулевой вплоть до 600 нм, а от 600 до 800 его значение снижено по отношению к исходным образцам).

6. Впервые получены значения проницаемости мягких (слизистая десны) и твердых (дентин зуба человека) тканей ротовой полости к исследуемым препаратам (метиленовому синему, риванолу, глицерину, глюкозе, люголю). Используя экспериментальные данные спектроскопии диффузного отражения и пользуясь моделью свободной диффузии рассчитаны значения эффективных коэффициентов диффузии вышеназванных препаратов в исследуемых биотканях, которые позволяют оценить скорость этой диффузии. Выявлена специфика взаимодействия ткани слизистой десны с люголем: удастся количественно оценить проницаемость десны отдельно к йоду в составе люголя и глицерина в составе люголя.

7. Разработан метод фототерапии хронического рецидивирующего афтозного стоматита, включающий предварительные аппликации глицерином на слизистую оболочку полости рта и облучение ультрафиолетовым светом.

8. Показана эффективность включения разработанного метода фототерапии в комплексное лечение стоматита по результатам проведения клинических исследований и наблюдения за 120 больными (непосредственно после лечения и отдаленно, в течение года). Экспериментально доказано, что включение разработанного метода фототерапии в комплексное лечение стоматита, приводит к более быстрому заживлению афт, купированию болевого синдрома, улучшению качества жизни пациентов. Также, сопровождается нормализацией значений рН ротовой жидкости и восстановлением количества эпителиальных клеток и лейкоцитов до уровня здоровых лиц на фоне повышения до нормальных значений индекса дифференцировки клеток за счет увеличения доли зрелых эпителиальных клеток, что свидетельствует о выраженном купировании активности воспалительного процесса. Применение метода рекомендовано для профилактики ХРАС у пациентов групп риска, а также в составе комплексного стоматологического лечения с целью повышения его эффективности. Разработаны практические рекомендации, показания и противопоказания метода фототерапии.

Полученные результаты имеют большое как теоретическое, так и практическое значение. Своевременная диагностика и персонализированный подход к лечению заболеваний конкретного пациента - одна из важнейших современных задач в медицине и в стоматологии, в частности. Количественное определение проницаемости биологических мембран по отношению к различным препаратам, вследствие сложного многокомпонентного строения биотканей и нелинейного характера процессов диффузии является актуальной задачей медицинской биофизики. Применение фармацевтических средств, с помощью которых удастся одновременно проводить диагностику и терапию различных заболеваний лежит в основе нового метода, известного как тераностика. Перспективным направлением дальнейших исследований в данной области является расширение спектра изучаемых агентов - маркеров (красителей;

фотосенсибилизаторов; препаратов, имеющих флуоресценцию; наночастиц и др.), а также расширение методов их идентификации в биотканях.

Оптическое просветление, по средствам которого удается существенно снизить светорассеяние биотканей, незаменимо при разработке методов диагностики и визуализации более глубоких клеточных структур биотканей. Перспективным направлением дальнейших исследований в данной области является исследование *in vivo*, а также разработка методов диагностики патологий на возможно более ранних сроках.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю профессору Валерию Викторовичу Тучину за постановку цели и задач исследования, обсуждение результатов, расчётов, постоянное внимание к работе и поддержку.

Автор глубоко признателен главному врачу СДИКБ № 5 к.м.н. Вере Федоровне Харитоновой за содействие в работе.

Автор выражает благодарность профессору Вячеславу Ивановичу Кочубею (СГУ им. Н.Г. Чернышевского) за консультации по специфике расчетов эффективного коэффициента диффузии.

Автор глубоко благодарен инженеру Галине Николаевне Наумовой (СГУ им. Н.Г. Чернышевского) за обучение работе с измерительным оборудованием, всестороннюю помощь в проведении экспериментов и расчётов.

Автор признателен профессору Дмитрию Александровичу Зимнякову (СГТУ им. Ю.А. Гагарина) за частичное проведение измерений и консультации.

Автор благодарен Ольге Анатольевне Зюрюкиной (СГУ им. Н.Г. Чернышевского) за помощь в освоении компьютерной программы инверсного метода «добавления - удвоения» (IAD), разработанной Prah S.A.

Работа не могла быть выполнена без образцов спилов дентина зуба человека, в связи с чем автор глубоко признателен к.ф.-м. н. Юлии Сергеевне Скибиной (СГУ им. Н.Г. Чернышевского) за их изготовление.

Автор признателен к. ф.-м. н. Андрею Михайловичу Захаревичу (СГУ им. Н.Г. Чернышевского) за консультации и проведение исследования морфологии и элементного состава образцов дентина зуба человека методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Автор глубоко признателен профессору, д.м.н. Ольге Юрьевне Алешкиной (СГМУ им. В.И. Разумовского) за консультации и помощь в подготовке образцов слизистой десны.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанный фармако-физиотерапевтический метод светолечения с применением ОП высококонцентрированным глицерином целесообразно назначать больным ХРАС в стадии обострения, наличии язвенно-деструктивных поражений СОПР (афт) при выраженных явлениях воспаления и наличии болевого синдрома, для более глубокого терапевтического действия УФ и видимого излучения.
2. Фототерапию слизистой полости рта (УФ и видимый диапазон спектра, излучение аппарата ОУФВ-02 (Россия) рекомендуется назначать больным ХРАС в начальной или затухающей стадии.
3. Для профилактики обострения ХРАС и повторных рецидивов рекомендованы повторные курсы фототерапии с применением ОП высококонцентрированным глицерином каждые 3-4 месяца.
4. Противопоказаниями для применения светолечения с применением ОП высококонцентрированным глицерином служат общие противопоказания для фототерапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ОП – оптическое просветление;

СОПР – слизистая оболочка полости рта;

ХРАС – хронический рецидивирующий афтозный стоматит;

УФ – ультрафиолет;

МС - метиленовый синий;

СЭМ – сканирующий электронный микроскоп;

СДО – спектры диффузного отражения;

IAD –инверсный метод расчета (добавления-удвоения);

СПП – спектры полного пропускания;

ЕР – эпителий слизистой десны;

LP – собственная пластина слизистой десны;

ЭОП – эффективность оптического просветления.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Tuchin V.V. (ed.). Handbook of Optical Biomedical Diagnostics, Second Edition, Volume 1: Light-Tissue Interaction. - SPIE Press, Bellingham, WA, 2016. - 864 p.
2. Пономаренко Г.Н. Физическая и реабилитационная медицина: фундаментальные основы и клиническая практика // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. - 2016. - Т. 15. - № 6. - С. 284-289.
3. Musa S.M. Computational Optical Biomedical Spectroscopy and Imaging. - CRC Press, 2018. - 476 p.
4. Zhao Z., Chen C., Wei S., Xiong H., Hu F., Miao Y., Jin T., Min W. Ultra-bright Raman dots for multiplexed optical imaging // Nat Commun. - 2021. - Vol. 12. - № 1. - P. 1305.
5. Tuchin V.V. Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics. 3rd edition. Bellingham. - WA: SPIE Press, 2015. - 866 p.
6. Tuchin V.V., Popp J., Zakharov V. Multimodal Optical Diagnostics of Cancer. - Springer, 2020. - 597 p.
7. Alfano R., Shi L. Neurophotonics and Biomedical Spectroscopy. - Elsevier Science, 2018. - 610 p.
8. Li X., Lovell J.F., Yoon J., Chen X. Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer // Nat Rev Clin Oncol. - 2020. - Vol. 17. - № 11. - P. 657-674.
9. Zhong Q., Li A., Jin R., Zhang D. High-definition imaging using line-illumination modulation microscopy // Nat Methods. - 2021. - Vol. 18. - P. 309-315.
10. Genin V.D., Genina E.A., Bucharskaya A., Chekhonatskaya M.L., Terentyuk G.S., Tuchina D., Khlebtsov N., Tuchin V.V., Bashkatov A.N. Study of Tumour and Surrounding Tissue Heating with Near-Infrared Radiation after the Injection of Gold Nanoparticles into the Tissue // J-BPE. 2018. - Vol. 4. - № 1. - P.010505.
11. Oliveira L. M. C., Tuchin V.V. The Optical Clearing Method – A New Tool for Clinical Practice and biomedical Engineering. - Cham, Switzerland: Springer, 2019. - 820 p.

12. Ueda H.R., Ertürk A., Chung K., Gradinaru V., Chédotal A., Tomancak P., Keller P. Tissue clearing and its applications in neuroscience // *Nat Rev Neurosci.* - 2020. - Vol. 21. - № 2. - P. 61-79.
13. Richardson D.S., Lichtman J.W. Clarifying tissue clearing // *Cell.* - 2015. - Vol.162. - P. 246–257.
14. Hong S.M., Noë M., Hruban C.A., Thompson E.D., Wood L.D., Hruban R.H. A "Clearer" View of Pancreatic Pathology: A Review of Tissue Clearing and Advanced Microscopy Techniques // *Adv Anat Pathol.* - 2019. - Vol. 26. - № 1. - P. 31-39.
15. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Кочубей В.И., Тучин В.В., Чикина Е.Э., Князев А.Б., Мареев О.В. Оптические свойства слизистой оболочки в спектральном диапазоне 350-2000 нм // *Оптика и спектроскопия.* - 2004. - Т. 97. - № 6. - С. 1043-1048.
16. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Кочубей В.И., Тучин В.В. Оптические свойства склеры глаза человека в спектральном диапазоне 370-2500 нм // *Оптика и спектроскопия.* - 2010. - Т. 109. - № 2. - С. 197-204.
17. Беликов А.В., Загорулько А.М., Смирнов С.Н., Сергеев А.Н., Михайлова А.А., Шимко А.А. Оптические свойства *in vitro* катарактальных хрусталиков глаза человека в видимом и ближнем ИК диапазонах // *Оптика и спектроскопия.* - 2019. - Т. 126. - № 5. - С. 656-662.
18. Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I., Gavrilova A.A., Kapralov S.V., Grishaev V.A., Tuchin V.V. Optical properties of human stomach mucosa in the spectral range from 400 to 2000 nm: prognosis for gastroenterology // *Medical Laser Application.* - 2007. - Vol. 22. - № 2. - P. 95-104.
19. Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I., Kolesnikova E.A., Tuchin V.V., Rubtsov V.S. Optical properties of human colon tissues in the 350–2500 spectral range // *Quantum Electronics.* - 2014. - Vol. 44. - № 8. - P. 779-784.
20. Carvalho S., Henrique R., Gueiral E., Nogueira N., Oliveira L., Tuchin V.V. Comparative study of the optical properties of colon mucosa and colon precancerous

- polyps between 400 and 1000 nm // *Proceedings of SPIE*. - 2017. - № 10063. - P. 100631L-1-100631L-16.
21. Jacques S.L. Optical properties of biological tissues: a review // *Phys. Med. Biol.* - 2013. - Vol. 58. - № 11. - P. 37-61.
 22. Cheong W.F., Prah S.A., Welch A.J. A review of the optical properties of biological tissues // *IEEE J. Quantum Electron.* - 1990. - Vol. 26. - P. 2166-2185.
 23. Волков Е.А., Бутова В.Г., Позднякова Т.И., Дзугаева И.И. Клинические рекомендации (протокол лечения) хронический рецидивирующий афтозный стоматит // *Российский стоматологический журнал*. - 2014. - Т.18. - № 5. - С. 35-49.
 24. Боровский Е.В., Машкиллейсон А.Л. Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ: Руководство - М.: Медицина, 1984. - 137с.
 25. Carneiro I., Carvalho S., Henrique R., Oliveira L., Tuchin V.V. Kinetics of optical properties of colorectal muscle during optical clearing // *IEEE J. Sel. Top. Quant. Electron.* - 2019. - Vol. 25. - № 1. - 7200608.
 26. Yu. T., Zhu J., Li D., Zhu D. Physical and chemical mechanisms of tissue optical clearing // *ISCIENCE*. - 2021. - Vol. 24. - № 3. - 102178.
 27. Genina E.A., Titorenko V.A., Tuchin V.V., Simonenko G.V., Bashkatov, A.N., SHub G.M., Lepilin A.V., Yaroslavsky I.V., Altshuler G.B. Phototherapy of gingivitis: pilot clinical study // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. - 2011. - Vol. 4. - № 4. - P.437-446.
 28. Genin V.D., Genina E.A., Kapralov S.V., Grishaev V., Tuchin V.V., Lazareva E., Bashkatov A.N. Optical clearing of the gastric mucosa using 40%-glucose solution // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. - 2019. - Vol. 5. - №3. - P. 030302.
 29. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Тучин В.В. Определение коэффициента диффузии глюкозы в твердой мозговой оболочке человека // *Известия Саратовского университета, Новая серия, Серия Физика*. - 2018. - Т. 18. - № 1. - С. 32-45.

30. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchina D.K., Timoshina P.A., Tuchin V.V. Kinetics of rat skin optical clearing at topical application of 40% glucose: ex vivo and in vivo studies // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. - 2019. - Vol. 25. - P. 7200508.
31. Genin V.D., Tuchina D.K., Sadeq A.J., Genina E.A., Tuchin V.V., Bashkatov A.N., Rylander Ch.G., Stumpp O.F., Milner T. E., Kemp N., Mendenhall J.M., Diller K.R., Welch A.J. *Ex vivo* investigation of glycerol diffusion in skin tissue // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. - 2016. - Vol. 2. - №1. - P. 010303.
32. Пальцев М.А., Белушкина Н.Н., Чабан Е.А. 4П-медицина как новая модель здравоохранения в Российской Федерации // *Оргздрав: новости, мнения, обучение*. - 2015. - Вып.2.- № 2. - С. 48-54.
33. Lashkari S.M., Kariminezhad H., Amani H., Mataji P. Introduction of 5-aminolevulinic acid as a theranostics agent in dentistry // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. - 2019. - Vol. 25. - P.336-343.
34. Koushki E., Mohammadabadi F.M., Baedi J., Ghasedi A. The effects of glucose and glucose oxidase on the UV-vis spectrum of gold nanoparticles: A study on optical biosensor for saliva glucose monitoring // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. - 2020. - Vol. 30. - P.10171.
35. Shitomi K., Miyaji H., Miyata S., Sugaya T., Ushijima N., Akasaka T., Kawasaki H. Photodynamic inactivation of oral bacteria with silver nanoclusters/rose bengal nanocomposite // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. - 2020. - Vol. 30. - P. 101647.
36. Гажва С.И., Котунова Н.А., Куликов А.С. Применение фотодинамической терапии в алгоритме лечения эрозивно-язвенной формы красного плоского лишая слизистой оболочки рта // *Современные проблемы науки и образования*. - 2018. - Вып. 4. - С.13-15.
37. Зборовская А.В. Антибактериальное и противогрибковое действие метиленового синего, активированного низкоинтенсивным лазерным излучением с длиной волны 630–670 нм, на культуры *Staphylococcus aureus*,

- Candida albicans, Escherichia coli* // Запорожский медицинский журнал. - 2012. - № 4. - С. 18-20.
38. Чикина Е.Э. Фотодинамическая терапия острых и хронических верхнечелюстных синуситов. Дис. ... канд. мед. наук: 03.00.02. - Саратов, 2005. - 127 с.
39. Тучина Е.С., Тучин В.В., Ярославский И.В., Альтшулер Г.Б. Фотодинамическое воздействие красного (625 нм) и излучений на бактерии вида *Propionibacterium acnes*, обработанные фотосенсибилизаторами // Известия Саратовского университета. Серия: Физика. - 2008. - Вып. 12. - № 1. - С. 21-26.
40. Tuchina E.S., Tuchin V.V., Khlebtsov N.G., Khlebtsov B.N. Phototoxic effect of conjugates of plasmon-resonance nanoparticles with indocyanine green dye on *Staphylococcus aureus* induced by IR laser radiation // Quantum Electronics. - 2011. - Vol. 41. - № 4. - P. 354-359.
41. Engel E., Schraml R., Maisch T., Kobuch K., Konig B., Szeimies R.M., Hillenkamp J., Baumler W. Vasold R. Light Induced Decomposition of Indocyanine Green. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. - 2008. - Vol. 49. - № 5. P.1777-1783.
42. Орехова Л.Ю., Пушкарев О.А., Лукавенко А.А. Фотодинамическая терапия в клинике терапевтической стоматологии // Инновационная стоматология. - 2010. - Вып. 1. - С. 24-29.
43. Егорова А.В., Бриль Г.Е., Бугаева И.О., Тучина Е.С., Нечаева О.В. Фотодинамическое воздействие лазерного излучения красной области спектра на рост штаммов *Staphylococcus aureus* с использованием фотодитазина. Известия Саратовского университета. Серия: Химия. Биология. Экология. - 2017. - Т. 17. - Вып. 4. - С. 428-431.
44. Macedo P.D., Corbi S.T., Oliveira G.J.P., Rodrigues J., Perussi J. R., Rib A.O., Marcantonio R.A.Ch. Hypericin-glucamine antimicrobial photodynamic therapy in the progression of experimentally induced periodontal disease in rats. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. - 2019. - Vol. 25. - P. 43-49.

45. Wang W., Huang D., Ren J., Li R., Feng Zh., Guan Ch., Bao B., Cai B., Ling J., Zhou Ch. Research Paper Optogenetic control of mesenchymal cell fate towards precise bone regeneration. *Theranostics*. - 2019. - Vol. 9. - № 26. -P. 8196-8205.
46. Huang T-Ch., Chen Ch-J., Ding Sh-J., Chen Ch-Ch. Antimicrobial efficacy of methylene blue-mediated photodynamic therapy on titanium alloy surfaces in vitro. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. - 2019. - Vol. 25. - P. 7-16.
47. Panevin V.Yu., Firsov D.A., Sofronov A.N., Ter-Martirosyan A.L. A digital system of fluorescence visualization for antibacterial photodynamic therapy in dentistry // *St. Petersburg Polytechnical University Journal: Physics and Mathematics*. - 2015. - Vol. 230. - № 4 - P.77-83.
48. Okamoto C.B., Bussadori S.K., Prates R.A., Costa A.C., Horliana A.C.R.T, Fernandes K.P.S., Motta L.J. Photodynamic therapy for endodontic treatment of primary teeth: A randomized controlled clinical trial // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. - 2020. - Vol. 30. - P. 101732.
49. Беликов А.В., Пушкарева А.Е., Скрипник А.В. Теоретические и экспериментальные основы лазерной абляции биоматериалов. - СПб: СПбГУ ИТМО, 2011. - 230 с.
50. Giannelli M., Formigli L., Lorenzini L., Bani D. Combined photoablative and photodynamic diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized split-mouth clinical trial // *J. Clin. Periodontol.* - 2012. - Vol. 39. - № 10. - P. 962–970.
51. Macedo P.D., Corbi S.T., Oliveira G.J.P., Rodrigues J., Perussi J.R., Rib A.O., Marcantonio R.A.Ch. Hypericin-glucamine antimicrobial photodynamic therapy in the progression of experimentally induced periodontal disease in rats. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. - 2019. - Vol. 25. - P.43-49.
52. Krasnovsky A.A., Grigoriev A.I., Vladimirov Yu.A. Basics and application of photodynamic and laser therapy, *Fundamental sciences – to the medicine: Biophysical medical technologies*. - MAKS Press, Moscow, 2015. - 218 p.

53. Bjurshammar N., Malmqvist S., Johannsen G., Bostrom E., Fyrestam J., Ostman C., Johannsen A. Effects of Adjunctive Daily Blue Light Toothbrushing on Dental Plaque and Gingival Inflammation - A Randomized Controlled Study // *Open Journal of Stomatology*. - 2018. - Vol. 8. - P.287-303.
54. Li X-H., Lee J-H. Antibiofilm agents: A new perspective for antimicrobial strategy // *J. Microbiol.* - 2017. - Vol. 55. - № 10. - P.753-766.
55. Zhang Y., Zhu Y., Chen J., Wang Y., Sherwood M.E. Antimicrobial Blue Light Inactivation of *Candida albicans*: *In Vitro* and *in Vivo* Studies // *Virulence*. - 2016. - Vol. 7. - P.536-545.
56. Ramakrishnan P., Maclean, M., MacGregor, S.J., Anderson, J.G., Grant, M.H. Cytotoxic Responses to 405 nm Light Exposure in Mammalian and Bacterial Cells: Involvement of Reactive Oxygen Species // *Toxicology in Vitro*. - 2016. - Vol. 33. - P.54-62.
57. George S., Kishen A. Photophysical, photochemical, and photobiological characterization of methylene blue formulations for light-activated root canal disinfection // *J. Biomed. Opt.* - 2007. - Vol. 12. - № 3. - P. 034029-034033.
58. Altshuler G., Tuchin V.V. U.S. Patent № 7354448. - 2008.
59. Aghahosseini F., Arbabi-Kalati F., Fashtami L.A., Djavid G.E., Fateh M., Beitollahi J.M. Methylene blue-mediated photodynamic therapy: a possible alternative treatment for oral lichen planus // *Lasers Surg. Med.* - 2006. - Vol. 38. - P. 33-42.
60. Aas J.A., Griffen A.L., Dardis, S.R., Lee, A.M., Olsen, I., Dewhirst, F.E. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults // *J Clin Microbiol.* - 2008. - Vol. 46. - № 6. - P.1407-1417.
61. Jing Ch., Xuedong Zh., Cheng L., Peng X. Recent achievements in the microbiological etiology of dental caries // *West China journal of stomatology*. - 2018. - Vol. 36. - № 1. - P.104-108.
62. Varoni E., Lodi G., Tarce M., Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: State of the art // *Minerva stomatologica*. - 2012. - Vol. 61. - № 9. - P.399-419.

63. Pemberton M., Gibson J. Chlorhexidine and hypersensitivity reactions in dentistry // *Br Dent J.* - 2012. - Vol. 213. - P.547-550.
64. Goon A.T., White I.R., Rycroft R.J., McFadden J.P. Allergic contact dermatitis from chlorhexidine // *Dermatitis.* - 2004. - Vol. 15. - P.45-47.
65. Howlin R. P., Fabbri S., Offin D. G., Symonds N., Kiang K. S., Knee R. J. Removal of dental biofilms with an ultrasonically activated water stream // *J. Dent. Res.* 2015. - Vol. 94. - P.1303-1309.
66. Konopka K., Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry // *J. Dent. Res.* - 2007. - Vol. 86. - P.694-707.
67. Nunes M. R., Mello I., Franco G. C., de Medeiros J. M., Dos Santos S. S., Habitante S. M. Effectiveness of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis*, with and without the use of an intracanal optical fiber: an in vitro study // *Photomed. Laser Surg.* - 2011. - Vol. 29. - P.803-808.
68. Zand V., Milani A. S., Amini M., Barhaghi M. H., Lotfi M., Rikhtegaran S., Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy and sodium hypochlorite on monoculture biofilms of *Enterococcus faecalis* at different stages of development // *Photomed. Laser Surg.* - 2014. - Vol. 32. - P. 245-251.
69. Muhammad O. H., Chevalier M., Rocca J. P., Brulat-Bouchard N., Medioni E. Photodynamic therapy versus ultrasonic irrigation: interaction with endodontic microbial biofilm, an ex vivo study // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* - 2014. - Vol. 11. - P.171-181.
70. Garcez A.S., Núñez S.C., Azambuja N.Jr., Fregnani E.R., Rodriguez H.M., Hamblin M.R. Effects of photodynamic therapy on Gram-positive and Gram-negative bacterial biofilms by bioluminescence imaging and scanning electron microscopic analysis // *Photomed. Laser Surg.* - 2013. - Vol. 31. - P. 519-525.
71. Yildirim C., Karaarslan E.S., Ozsevik S., Zer Y., Sari T., Usumez A. Antimicrobial efficiency of photodynamic therapy with different irradiation durations // *Eur. J. Dent.* - 2013. - Vol. 7. - P.469-473.

72. Yuan L., Lyu P., Huang Y., Du N., Qi W., Hamblin M.R., Wang Y. Potassium iodide enhances the photobactericidal effect of methylene blue on *Enterococcus faecalis* as planktonic cells and as biofilm infection in teeth // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. - 2020. - Vol. 203. - P. 111730-111739.
73. Prasanth C. S., Karunakaran S. C., Paul A. K., Kussovski V., Mantareva V., Ramaiah D., Selvaraj L., Angelov I., Avramov L., Nandakumar K., Subhash N. Antimicrobial photodynamic efficiency of novel cationic porphyrins towards periodontal Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria // *Photochem. Photobiol.* 2014. - Vol. 90. - P.628-640.
74. Jing D., Yi Y., Luo W., Zhang S., Yuan Q., Wang J., Lachika E., Zhao Z., Zhao H. Tissue clearing and its application to bone and dental tissues // *J. Dent. Res.* - 2019. - Vol. 98. - № 6. - P.621-631.
75. Shi L., Alfano R. R. *Deep Imaging in Tissue and Biomedical Materials: Using Linear and Nonlinear Optical Methods*. - Taylor & Francis Group, Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., Singapore, 2017. - 350 p.
76. Bolton F.J., Bernat A.S., Bar-Am K., Levitz D. Jacques S. Portable, low-cost multispectral imaging system: design, development, validation, and utilization // *J. Biomed. Opt.* - 2018. - Vol. 23. - № 12. - P. 121612-121622.
77. Valdes P., Jacobs V., Wilson B., Leblond F., Roberts D., Paulsen K. System and methods for wide-field quantitative fluorescence imaging during neurosurgery // *Opt. Lett.* - 2013. - Vol. 38. - № 15. - P. 2786-2788.
78. Nogueira C., Graciano A.X., Nagata J.Y., Fujimaki M., Terada R.S.S., Bento A.C., Astrath N.G.C., Baesso M.L. Photosensitizer and light diffusion through dentin in photodynamic therapy // *Journal of Biomedical Optics*. - 2013. - Vol.18. - № 5. - P. 055004.
79. Patil A., Unnikrishnan V.K., Ongole R., Pai K.M., Kartha V.B., Chidangil S. Non-invasive in vivo screening of oral malignancy using laser-induced fluorescence based system // *Sovremennyye tehnologii v medicine*. - 2018. - Vol. 10. - № 1. - P.15-26.

80. Гажва С.И., Горячева Т.П., Григорьев А.Г., Григорьева А.Ю. Прямая визуализация аутофлюоресценции тканей как метод ранней диагностики патологических состояний слизистой оболочки рта // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 6. - С. 1237.
81. Shkarednaya T.P. Goryacheva A.A. Chunikhin E.A. Bazikyan S.I. Gazhva. Optimizing the Early Diagnosis of Oral Mucosal Pathologies // СТМ. - 2017. - Vol. 9. - №. 3. - С. 119-124.
82. Bulgakova N. N., Volkov E. A., Pozdnyakova T. I. Autofluorescent somatoscope as a method of oncology diseases of the oral mucosa // Rossiyskiy stomatologicheskiy zhurnal. - 2015. - Vol.19. - №1. - P.27-30.
83. Perez M.M., Ghinea R., Herrera L.J., Carrillo F., Ionescu A.M., Paravina R.D. Color difference thresholds for computer-simulated human Gingiva // J Esthet Restor Dent. - 2018. - Vol. 30. - P. E24-30.
84. Sailer I. Threshold values for the perception of color changes in human teeth // Int J Periodontics Restorative Dent. - 2016. - Vol. 36. - P.777-783.
85. Sarmast N.D., Angelov N., Ghinea R., Powers J.M., Paravina R.D. Color compatibility of gingival shade guides and gingiva-colored dental materials with healthy human gingiva // Int J Periodontics Restorative Dent. - 2018. - Vol. 38. - P.397-403.
86. Ho D. K., Ghinea R., Herrera L.J., Angelov N., Paravina R.D. Color Range and Color Distribution of Healthy Human Gingiva: a Prospective Clinical Study // Scientific Reports. - 2015. - Vol. 5. - P.18498.
87. Polo C.G., Montero J., Casado A.M.M. Proposal for a gingival shade guide based on in vivo spectrophotometric measurements // J Adv Prosthodont. – 2019. - Vol. 11. - P. 239-246.
88. Ghinea R, Herrera L.J., Perez M.M., Ionescu A.M., Paravina R.D. Gingival shade guides: Colorimetric and spectral modeling // J Esthet Restor Dent. – 2018. - Vol. 30. - P. E31-38.

89. Gomez-Polo C., Gomez-Polo M., Martinez Vazquez de Parga J.A., Celemin-Vinuela A. Clinical study of the 3D-master color system among the Spanish population // J Prosthodont. - 2018. - Vol.27. - P.708-715.
90. Gomez-Polo C., Montero J., Gomez-Polo M., de Parga J.A., Celemin-Vinuela A. Natural Tooth color estimation based on age and gender // J Prosthodont. - 2017. - Vol. 26. - P.107-14.
91. Baumann B. Polarization sensitive optical coherence tomography: a review of technology and applications // Appl Sci. - 2017. - Vol. 7. - P. 474-485.
92. Jerjes W., McKenzie G., Jay A., Hopper C. Optical coherence tomography in the assessment of oral squamous cell carcinoma resection margins // J. Photodiagn. Photodyn. Ther. - 2016. - Vol. 13. - P. 211-217.
93. Le N. M., Song Sh., Zhou H., Xu J., Li Y., Sung Ch., Sadr A., Chung K.-H., Subhash H. M., Kilpatrick L., Wang R. K. A noninvasive imaging and measurement using optical coherence tomography angiography for the assessment of gingiva: An in vivo study // J. Biophotonics. - 2018. - Vol. 11. P. e201800242.
94. Clark A.L., Gillenwater A., Alizadeh-Naderi R., El-naggar A. k., Kortum R. Detection and diagnosis of oral neoplasia with an optical coherence microscope // Journal of biomedical Optics. - 2004. - Vol. 9. - № 6. - P.1271 -1280.
95. Li K., Yang Z., Liang W., Shang J., Liang Y., Wan S. Low-cost, ultracompact handheld optical coherence tomography probe for *in vivo* oral maxillofacial tissue imaging // J. Biomed. Opt. - 2020. - Vol. 25. - № 4. - P. 046003.
96. Wang J., Zheng W., Lin K., Huang Zh. Development of a hybrid Raman spectroscopy and optical coherence tomography technique for real-time *in vivo* tissue measurements // Opt. Lett. - 2016. - Vol. 41. -№ 13. - P.3045-3048.
97. Park K. J., Schneider H., Haak R. Assessment of defects at tooth/self-adhering flowable composite interface using swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) // Dent. Mater. - 2015. - Vol. 31. - № 5. - P.534-541.

98. Shimada Y., Matin K., Ikeda M., Sadr A., Sumi Y., Tagami J. Monitoring of cariogenic demineralization at the enamel-composite interface using swept-source optical coherence tomography // *J. Dental.* – 2016. - Vol. 32. - № 9. - P.1103–1112.
99. Skandarajah A., Sunny S.P., Gurpur P., Reber C.D., D'Ambrosio M.V., Raghavan N., James B.L., Ramanjinappa R.D., Suresh A., Kandasarma U., Birur P., Kumar V.V., Galmeanu H.C., Itu A.M., Modiga-Arsu M., Rausch S., Sramek M., Kollegal M., Paladini G., Kuriakose M., Ladic L., Koch F., Fletcher D. Mobile microscopy as a screening tool for oral cancer in India: A pilot study // *PLoS One.* - 2017. - Vol. 27. - № 12. - P.e0188440.
100. Jiang F., Luo L., Alauddin S.S., Glande J., Chen J. Light transmittance of the periodontium // *Lasers in Dental Science.* - 2017. - Vol. 1. - P.107-115.
101. Grisimov V.N. Assessment of the enamel mineralization dynamics by the manifestation of Fraunhofer diffraction // *Journal «The Dental Institute».* - 2019. - Vol. 85. - № 4. - P.111-113.
102. Villarroel M., Fahl N., De Sousa A.M., De Oliveira O.B. Jr. Direct esthetic restorations based on translucency and opacity of composite resins // *J. Esthet. Restor. Dent.* - 2011. - Vol. 23. - № 2. - P. 73-87.
103. Беликов А.В., Грисимов В.Н., Скрипник А.В., Шатилова К.В. Лазеры в стоматологии (Часть 1). - СПб: Университет ИТМО, 2015. - 108 с.
104. Tuchin V.V., Altshuler G.B. Dental and oral tissue optics, Chapter 9 in *Fundamentals and Applications of Biophotonics in Dentistry, Series on Biomaterials and Bioengineering, Vol. 4.* - Anil Kishen and Anand Asundi (eds.). - Imperial College Press, UK, 2007. - 245-300 p.
105. Ko F., Tien G., Chuang M., Huang T., Hung M., Sung K. In-vivo diffuse reflectance spectroscopy (DRS) of oral mucosa of normal volunteers // *Biomedical Optics. OSA Technical Digest (online).* - 2016. - paper JTu3A.45.
106. Ionescu A.M., Cardona J.C., Garzón I., Oliveira A.C., Ghinea R., Alaminos M., Pérez M.M. Integrating-sphere measurements for determining optical properties of tissue-engineered oral mucosa // *J. Eur. Opt. Soc.* - 2015. - Vol.10. - P. 15012.

107. Gekelman D., White J.M. Optical properties and color of porcine gingival // Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering. - 2002. - P. 4610.
108. Приезжев А.В., Тучин В.В., Луговцов А.Е., Кириллин М.Ю. Лазерная биофотоника // Квантовая электроника. - 2019. - Т. 49. - № 1. - С. 1-2.
109. Verma S., Maheshwari S., Singh R., Chaudhari P. Laser in dentistry: An innovative tool in modern dental practice // Natl J Maxillofac Surg. - 2012. - Vol. 3. - № 2. - P.124-132.
110. Eslami H., Eslami K. Laser application on oral surgery // Eur J Pharm Med Res. - 2016. - Vol. 3. - № 11. - P.194-198.
111. Verma S., Maheshwari S., Singh R., Chaudhari P. Laser in dentistry: An innovative tool in modern dental practice // Natl J Maxillofac Surg. - 2012. - Vol. 3. - № 2. - P.124-132.
112. Luke A.M., Mathew S., Altawash M.M., Madan B.M. Lasers: a review with their applications in oral medicine // J Lasers Med Sci. - 2019. - Vol.10. - № 4. - P.324-329.
113. Asnaashari M., Zadsirjan S. Application of Laser in Oral Surgery // J Laser Med Sci. - 2014. - Vol. 5. - № 3. - P.97-107.
114. Verma S., Maheshwari S., Singh R., Chaudhari P. Laser in dentistry: An innovative tool in modern dental practice // Natl J Maxillofac Surg. - 2012. - Vol. 3. - № 2. - P.124-132.
115. Convissar R.A. Principles and Practice of Laser Dentistry-E-Book. - Elsevier Health Sciences, 2015. - 548 p.
116. Рисованный С.И., Рисованная О.Н., Масычев В.И. Лазерная стоматология: научное издание: в 2 кн. - Краснодар: Кубань-Книга, 2005. - 276 с.
117. Москвин С.В., Буйлин В.А. Лазерная терапия аппаратами серии «Матрикс»: Избранные методики. - Тверь: Триада, 2006. - 210 с.
118. Sun G., Tuner J. Low level laser therapy in dentistry // Dent Clin North Am. - 2004. - Vol. 48. - № 4. - P.1061-1076.

119. Ушаков А.А. Практическая физиотерапия: учебное пособие. - Москва: МИА, 2009. - 608 с.
120. Myers T.D. Laser in dentistry // J Am Dent Assoc. – 1991. - Vol. 122. - № 1. - P.46-50.
121. Zakrzewski W., Dobrzynski M., Kuropka P., Matys J., Malecka M., Kiryk J., Rybak Z., Dominiak M., Grzech-Lesniak K., Wiglusz K., Wiglusz R.J. Removal of Composite Restoration from the Root Surface in the Cervical Region Using Er:YAG Laser and Drill—In Vitro Study // Materials (Basel). - 2020. - Vol. 13. - № 13. - P. 3027.
122. Yassaei S., Soleimanian A., Nik Z.E. Effects of Diode Laser Debonding of Ceramic Brackets on Enamel Surface and Pulpal Temperature // J Contemp Dent Pract. – 2015. - Vol. 16. - № 4. - P.270-274.
123. Grzech-Leśniak K., Matys J., Żmuda-Stawowiak D., Mroczka K., Dominiak M., Junior A.B., Gruber R., Romanos G.E., Sculean A. Er:YAG Laser for Metal and Ceramic Bracket Debonding: An In Vitro Study on Intrapulpal Temperature, SEM, and EDS Analysis // Photomed Laser Surg. - 2018. - Vol. 36. - № 11. - P. 595-600.
124. Dostalova T., Jelinkova H., Remes M., Šulc J., Němec M. The Use of the Er: YAG Laser for Bracket Debonding and Its Effect on Enamel Damage // Photomed Laser Surg. - 2016. - Vol. 34. - № 9. - P.394-399.
125. Walsh L.J. The current status of laser applications in dentistry // Aust Dent J. - 2003. - Vol. 48. - № 3. - P.146–55.
126. Боголюбов В.М. Физиотерапия и курортология. Кн. II. - Москва, БИНОМ. - 2020. - 312 с.
127. López-Ramírez M., Vilchez-Pérez M.A., Gargallo-Albiol J., Arnabat-Domínguez J., Gay-Escoda C. Efficacy of low-level laser therapy in the management of pain, facial swelling, and postoperative trismus after third molar extraction to lower. A preliminary study // Lasers Med Sci. - 2012. - Vol. 27. - P. 559-566.

128. Aras M.H., Güngörmüş M. Placebo-controlled randomized clinical trial of the effect two different low-level laser therapies (LLLT) - intraoral and extraoral - on trismus and facial swelling Following surgical extraction of the lower third molar // *Lasers Med Sci.* – 2010. - Vol. 25. - P.641-645.
129. Negreiros R.M., Biazevic M.G., Jorge W.A., Michel-Crosato E. Relationship between oral health-related quality of life and the position of the lower third molar: postoperative follow-up // *J Oral Maxillofac Surg.* – 2012. - Vol. 70. - P. 779-786.
130. Oliveira S.S., Melo D.A., Mesquita F.R.A., Maia A.P., Bussadori S.K., Santos F.K.P. Effect of low level laser therapy on the post-surgical inflammatory process after third molar removal // *Trials.* - 2013. - Vol. 14. - № 1. - P.373-385.
131. Altshuler G.B., Belikov A.V., Skrypnik A.V., Feldchtein F., Pushkareva A.E., Shatilova K.V., Cernavin I., Tuchin V.V. Peroxide dental bleaching via laser microchannels and tooth color measurements // *J. Biomed. Opt.* - 2016. - Vol. 21. - № 12. - P. 125001.
132. Фриго Л., Аоки А., Алмейда-Лопес Л. Лазеры в стоматологии. - ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 350 с.
133. Wang Y., Li W.W., Shi L., Zhang F.Q., Zheng S. Comparison of clinical parameters, microbiological effects and calprotectin counts in gingival crevicular fluid between Er: YAG laser and conventional periodontal therapies: a split-mouth, single-blinded, randomized controlled trial // *Medicine (Baltimore).* - 2017. - Vol. 96. - № 51. - P. E 9367.
134. Paryab M, Sharifi S, Afshar H, Kiomarsi N, Kharazifard M javad. Cavity Preparation by Laser in Primary Teeth: Effect of 2 Levels of Energy Output on the Shear Bond Strength of Composite Restoration to Dentin // *J laser Med Sci.* - 2019. - Vol. 10. - № 3. - P. 235-240.
135. Alikhasi M., Monzavi A., Ebrahimi H., Pirmoradian-najafabadi M., Shamshiri A., Ghazanfari Hashemi R.S. Debonding Time and Dental Pulp Temperature With the Er, Cr: YSGG Laser for Debonding Feldspathic and Lithium Disilicate Veneers // *Journal of Lasers in Medical Sciences.* - 2019. - Vol. 10. - № 3. - P. 211-214.

136. Caccianiga G., Lo Giudice A., Paiusco A., Portelli M., Militi A., Baldoni M., Nucera R. Maxillary orthodontic expansion assisted by unilateral alveolar corticotomy and low-level laser therapy: a novel approach for correction of a posterior unilateral cross-bite in adults // *J Lasers Med Sci.* - 2019. - Vol. 10. - № 3. - P.225-229.
137. Caprioglio C., Olivi G., Genovese M.D., Vital M.C. Paediatric laser dentistry. Part 3: Dental trauma // *Eur. J. Paediatr. Dent.* - 2017. - Vol. 18. - № 3. - P. 247-250.
138. Seraj B., Ghadimi S., Hakimiha N., Kharazifard M. J., Hosseini Z. Assessment of photobiomodulation therapy by an 810-nm diode laser on the reversal of soft tissue local anesthesia in pediatric dentistry: a preliminary randomized clinical trial // *Lasers Med Sci.* - 2020. - Vol. 35. - № 2. - P. 465-471.
139. Sumra N., Kulshrestha R., Umale V., Chandurkar K. Lasers in non-surgical periodontal treatment - a review // *J Cosmet Laser Ther.* - 2019. - Vol. 21. - № 5. - P.255-261.
140. Sağlam M., Köseoğlu S., Taşdemir I., Erbak Yılmaz H., Savran L., Sütçü R. Combined application of Er: YAG and Nd:YAG lasers in treatment of chronic periodontitis. A split-mouth, single-blind, randomized controlled trial // *J Periodontal Res.* - 2017. - Vol. 52. - № 5. - P.853-862.
141. Abrams T., Abrams S., Sivagurunathan K., Moravan V., Hellen W., Elman G., Amaechi B., Mandelis A. Detection of Caries Around Resin-Modified Glass Ionomer and Compomer Restorations Using Four Different Modalities In Vitro // *Dent J (Basel).* - 2018. - Vol. 6. - № 3. - P.47-54.
142. Raggio D.P., Tedesco T.K., Calvo A.F., Braga M.M. Do glass ionomer cements prevent caries lesions in margins of restorations in primary teeth? A systematic review and meta-analysis // *J. Am. Dent. Assoc.* - 2016. - Vol. 147. - P.177-185.
143. Diniz M.B., Eckert G.J., González-Cabezas C., Cordeiro R.d.C.L., Ferreira-Zandona A.G. Caries Detection around Restorations Using ICDAS and Optical Devices // *J. Esthet. Restor. Dent.* - 2016. - Vol. 28. - P. 110–121.
144. Spaveras A., Karkazi F., Antoniadou M. Caries detection with laser fluorescence devices. Limitations of their use // *Stoma Educ. J.* - 2017. - Vol. 4. - P.46-53.

145. Carvalho J. Ch., Dige I., Machiulskiene V., Qvist V., Bakhshandeh A., Fatturi-Parolo C., Maltz M. Occlusal Caries: Biological Approach for Its Diagnosis and Management // *Caries Res.* – 2016. - Vol. 50. - P. 527-542.
146. Ariji Y., Sakuma S., Kimura Y. Colour Doppler sonographic analysis of blood-flow velocity in the human facial artery and changes in masseter muscle thickness during low-level static contraction // *Arch. Oral. Biol.* - 2001. - Vol. 46. - № 11. - P. 1059-1064.
147. Koshoji N.H., Bussadori S.K., Bortoletto C.C. Laser speckle imaging: A novel method for detecting dental erosion // *J. PLOS ONE.* - 2015. - Vol. 13. - P. 1–9.
148. Hanks C.T., Fat J.C., Wataha J.C., Corcoran J.F. Cytotoxicity and Dentin Permeability of Carbamide Peroxide and Hydrogen Peroxide Vital Bleaching Materials, *in vitro* // *J. Dent.Res.* - 1993. - Vol. 72. - № 5. - P. 931.
149. Zhang X., Neoh K. G., Lin C. C., Kishen A. Remineralization of partially demineralized dentine substrate based on a biomimetic strategy // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* - 2012. - Vol. 23. - № 3. - P.733-742.
150. George S., Hamblin M., Kishen A. Uptake pathways of anionic and cationic photosensitizers into bacteria // *PPS.* - 2009. - Vol. 8 6. - P.788-795.
151. Sum C.P., Mohanty S., Gupta P.K., Kishen A. Influence of endodontic chemical treatment on *Enterococcus faecalis* adherence to collagen studied with laser scanning confocal microscopy and optical tweezers: a preliminary study // *J. Biomed.Opt.* - 2008. - Vol. 13. - № 4. - 044017.
152. Kishen A., Sum C.P., Mathew S., Lim C.T. // *J. Endodontics.* - 2008. - Vol. 34. № 7. - P. 850-854.
153. Carvalho E.S., Mello I., Albergaria S.J., Habitante S.M., Lage-Marquez J.S., Raldi D.P. Effect of chemical substances in removing methylene blue after photodynamic therapy in root canal treatment // *Photomedicine and Laser Surgery.* - 2011. - Vol. 29. - № 8. - P.559-563.

154. Stein S., Korbmacher-Steiner H., Popovic N., Braun A. Pain reduced by low-level laser therapy during use of orthodontic separators in early mixed dentition // *J Orofac Orthop.* - 2015. - Vol. 76. - P.431-439.
155. Bjordal J.M., Bensadoun R.J., Tuner J., Frigo L., Gjerde K., Lopes-Martins R.A.B. A systematic review with meta-analysis of the effect of low-level laser therapy (LLLT) in cancer therapy-induced oral mucositis // *Support Care Cancer.* - 2011. - Vol. 19. - P.1069-1077.
156. Higashi D.T., Andrello A.C., Tondelli P.M., Filho D.O.T., Ramos S.P. Three consecutive days of application of LED therapy is necessary to inhibit experimentally induced root resorption in rats: a microtomographic study // *Lasers Med Sci.* - 2017. - Vol. 32. - № 1. - P.181-187.
157. Lim H.M., Lew K.K., Tay D.K. A clinical investigation of the low-level laser therapy in reducing orthodontic post adjustment pain // *Am J Orthod Dentofac Orthop.* - 1995. - Vol. 108. - P.614-622.
158. Ren C., McGrath C., Yang Y. The effectiveness of low-level diode laser therapy on orthodontic pain management: a systematic review and meta-analysis // *Lasers Med Sci.* - 2015. - Vol. 30. - P.881-1893.
159. Youssef M., Ashkar S., Hamade E., Gutknecht N., Lampert F., Mir M. The effect of low-level laser therapy during orthodontic movement: a preliminary study // *Lasers Med Sci.* - 2008. - Vol. 23. - P.27-33.
160. Turhani D., Scheriau M., Kapral D., Benesch T., Jonke E., Bantleon H.P. Pain relief by single low-level laser irradiation in orthodontic patients undergoing fixed appliance therapy // *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* - 2006. - Vol. 130. - № 3. - P.371-377.
161. Krishnan V. Orthodontic pain: from causes to management- a review // *Eur J Orthod.* - 2007. - Vol. 29. - P.170-179.
162. Borzabadi-Farahani A., Cronshaw M. Lasers in orthodontics. In: Coluzzi D, Parker S (eds) *Lasers in dentistry - current concepts. Textbooks in Contemporary Dentistry.* - Cham, Springer, 2017. - 615 p.

163. Furquim R.D., Pascotto R.C., Neto J.R., Cardoso J.R., Ramos A.L. Low-level laser therapy effects on pain perception related to the use of orthodontic elastomeric separators // *Dental Press J Orthod.* - 2015. - Vol. 20. - № 3. - P.37-42.
164. Esper M.A.L.R., Nicolau R.A., Arisawa E.A.L.S. The effect of two phototherapy protocols on pain control in orthodontic procedure—a preliminary clinical study // *Lasers Med Sci.* - 2011. - Vol. 26. - P.657-663.
165. Sant'Anna E.F., Araújo M.T.S., Nojima L.I., Cunha A.C., Silveira B.L., Marquezan M. High-intensity laser application in orthodontics // *Dental Press J Orthod.* - 2017. - Vol. 22. - № 6. - P 99-109.
166. Habib F.A.L., Gama S.K.C., Ramalho L.M.P., Cangussú M.C.T., Neto F.P.S., Lacerda J.A., Araújo T.M., Pinheiro A.L.B. Laser-induced alveolar bone changes during orthodontic movement: a histological study on rodents // *Photomed Laser Surg.* - 2010. - Vol. 28. - № 6. - P.823-830.
167. AlSayed H.M.M.A., Sultan K., Hamadah O. Low-level laser therapy effectiveness in accelerating orthodontic tooth movement: a randomized controlled clinical trial // *Angle Orthod.* - 2017. - Vol. 87. - № 4. - P.499-504.
168. Stein S., Korbmacher-Steiner H., Popovic N., Braun A. Pain reduced by low-level laser therapy during use of orthodontic separators in early mixed dentition // *J Orofac Orthop.* - 2015. - Vol. 76. - P.431-439.
169. Bjordal J.M., Johnson M.I., Iversen V., Aimbire F., Lopes-Martins R.A. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials // *Photomed Laser Surg.* - 2006. - Vol. 24. - № 2. - P.158-168.
170. AlSayed Hasan M.M.A., Sultan K., Hamadah O. Evaluating low-level laser therapy effect on reducing orthodontic pain using two laser energy values: a split-mouth randomized placebo-controlled trial // *Eur J Orthod.* - 2018. - Vol. 40. - №1. - P.23-28.

171. Figueira I.Z., Sousa A.P.C., Machado A.W., Habib F.A.L, Soares L.G.P, Pinheiro A.L.B. Clinical study on the efficacy of LED phototherapy for pain control in an orthodontic procedure // *Lasers Med Sci.* - 2019. - Vol. 34. - №3. - P.479-485.
172. Qamruddin I., Alam M.K., Fida M., Khan A.G. Effect of a single dose of low-level laser therapy on spontaneous and chewing pain caused by elastomeric separators // *Am J Orthod Dentofac Orthoped.* - 2016. - Vol. 149. - № 1. - P. 62-66.
173. Farias R.D., Closs L.Q., Jr SAQM. Evaluation of the use of low-level laser therapy in pain control in orthodontic patients: a randomized split-mouth clinical trial // *Angle Orthod.* – 2016. - Vol. 86. - № 2. - P.193–198.
174. Almeida V.L., Gois V.L.A., Andrade R.N.M., Cesar C.P.H.A.R., Albuquerque-Junior R.L.C., Rode S.M., Paranhos L.R. Efficiency of low-level laser therapy within induced dental movement: a systematic review and meta-analysis // *J Photochem Photobiol B Biol.* - 2016. - Vol. 158. - P.258-266.
175. Habib F.A., Gama S.K., Ramalho L.M., Cangussú M.C., dos Santos Neto F.P., Lacerda J.A., de Araújo T.M., Pinheiro A.L. Effect of laser phototherapy on the hyalinization following orthodontic tooth movement in rats // *Photomed Laser Surg.* - 2012. - Vol. 30. - № 3. - P.179-85.
176. Cifter M., Celikel A.D.G., Cifter E.D., Tagrikulu B., Olgaç V., Erdem M.A., Cankaya A.B. Comparison of the efficiency of alveolar decortication and low level laser therapy on orthodontic tooth movement and alveolar metabolism in rats // *J Dent Sci.* - 2019. - Vol. 14. - № 4. - P.401-407.
177. Misra N., Chittoria N., Umapathy D., Misra P. Efficacy of diode laser in the management of oral lichen planus // *BMJ Case Rep.* - 2013. - Vol. 15. -№ 10. -P. 260-269.
178. Köllner K., Wimmershoff M., Landthaler M., Hohenleutner U. Treatment of oral lichen planus with the 308-nm UVB excimer laser-early preliminary results in eight patients // *Lasers Surg Med.* - 2003. - Vol. 33. - № 3. - P.158–60.
179. Vasconcelos E.C., Henriques J.F., Sousa M.V., de Oliveira R.C., Consolaro A., Pinzan A., Henriques F.P., Bronfman A.N. Low-Level Laser Action on

- Orthodontically Induced Root Resorption: Histological and Histomorphometric Evaluation // *J Lasers Med Sci.* - 2016. - Vol. 7. - № 3. - P.146-151.
180. Rosa C.B., Habib F.A., de Araújo T.M., Dos Santos J.N., Cangussu M.C., Barbosa A.F., de Castro I.C., Pinheiro A.L. Laser and LED phototherapy on midpalatal suture after rapid maxilla expansion: Raman and histological analysis // *Lasers Med Sci.* - 2017. - Vol. 32. - № 2. - P.263-274.
181. Cauwels R.G., Martens L.C. Low level laser therapy in oral mucositis: a pilot study // *Eur Arch Paediatr Dent.* - 2011. - Vol. 12. - № 2. - P.34-78.
182. Arora H., Pai K.M., Maiya A., Vidyasagar M.S., Rajeev A. Efficacy of He-Ne laser in the prevention and treatment of radiotherapy induced oral mucositis in oral cancer patients // *Oral Surg Oral Med.* - 2008. - Vol. 105. - № 2. - P.180-186.
183. Baeder F.M., Pelino J.E., De Almeida E.R., Duarte D.A., Santos M.T. High-power diode laser use on Fordyce granule excision: a case report // *J Cosmet Dermatol.* - 2010. - Vol. 9. - № 4. - P.321-324.
184. DeLong L., Burkhart N.W. *General and Oral Pathology for the Dental Hygienist.* 3rd ed. Baltimore. - MD: Wolters Kluwer, 2018. - 592 p.
185. Neville B.W., Damm D.D., Allen C.M., Chi A.C. *Oral and Maxillofacial Pathology.* 4th ed. - St. Louis, MO: Elsevier, 2016. - 928 p.
186. Gaballah K.Y., Rahimi I. Can presence of oral Fordyce's granules serve as a marker for hyperlipidemia? // *Dent Res J (Isfahan).* - 2014. - Vol. 11. - № 5. - P.553-558.
187. Madani F.M., Kuperstein A.S. Normal variations of oral anatomy and common oral soft tissue lesions: evaluation and management // *Med Clin North Am.* - 2014. - Vol. 98. - № 6. - P.1281-1298.
188. Гажва С.И., Адаева С.А. Распространенность и интенсивность основных стоматологических заболеваний у детей Владимирской области, и их профилактика // XI Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов. - СПб., 2006. - С. 33-34.

189. Бавыкина Т.Ю., Ефремова О.А. Полость рта - зеркало заболеваний внутренних органов // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. - 2011. - Т. 14. - № 10. - С. 236-238.
190. Банченко Г.В., Максимовский Ю.М., Гринин В.М. Язык - "зеркало" организма. - М.: ОАО "Стоматология", 2000. - 407 с.
191. Боровский Е.В. Терапевтическая стоматология. - М: МИА, 2004. - 840 с.
192. Сазонова Н.В. Проявления воспаления пародонта при различных соматических заболеваниях // Образование и наука в России и за рубежом. - 2019. - Т.51. - № 3. - С. 71-76.
193. Банченко Г.В. Сочетанные заболевания слизистой оболочки полости рта и внутренних органов. - М., Медицина, 1979. - 190 с.
194. Altenburg N. El-Haj, Micheli Ch., Puttkammer M., Badawy Abdel-Naser M., Zouboulis Ch.C. The Treatment of Chronic Recurrent Oral Aphthous Ulcers // Deutsches Ärzteblatt International. - 2014. - 111. - № 40. - P.665-673.
195. Янушевич О.О., Дмитриева Л.А. Национальное руководство. Пародонтология - 2-е изд. - М.: Гэотар-Медиа, 2018. - 752 с.
196. Tarakji B.I, Gazal G., Ali Al-Maweri S., Azzeghaiby S.N., Alaizari N. Guideline for the Diagnosis and Treatment of Recurrent Aphthous Stomatitis for Dental Practitioners // J Int Oral Health. - 2015. - Vol. 7. - № 5. - С.74-80.
197. Цепов Л.М., Орехова Л.Ю., Николаев А.И., Михеева Е.А. Некоторые аспекты этиологии и патогенеза хронических воспалительных генерализованных заболеваний пародонта (обзор литературы). Ч. I // Пародонтология. - 2005. - № 2. - С. 3-6.
198. Islam M.N., Cohen D.M., Ojha J. Chronic ulcerative stomatitis: diagnostic and management challenges-four new cases and review 2007of literature // Oral. Surg. Oral Med. Oral Pathol.Oral Radiol.Endod. - 2007. - Vol. 22. - P.194-203.
199. Усманова И.Н. Особенности микробиоценоза полости рта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды // Клинич. стоматология. - 2011. - № 3. - С. 94-96.

200. Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., Чеминава Н.Р., Тачалов В.В., Лобода Е.С. Проблемы стоматологического здоровья у лиц молодого возраста (обзор литературы) // Пародонтология. - 2014. - Т. 19. - № 2. - С.3-5.
201. Рабинович И.М., Рабинович О.Ф., Островский А.Д. Особенности подготовки пациентов с патологией слизистой оболочки полости рта к ортопедическому лечению // Клиническая стоматология. - 2012. - Т. 4. - С.40-43.
202. Piskin S, Sayan C, Durukan N, Senol M. Serum iron, ferritin, folic acid, and vitamin B12 levels in recurrent aphthous stomatitis // J Eur Acad Dermatol Venereol. - 2002. - Vol. 16. - № 1. - P.66-77.
203. Bethke G., Kolde G., Bethke G., Reichart P.A. Focal palmoplantar and oral mucosa hyperkeratosis syndrome // Mund Kiefer Gesichtschir. - 2001. - Vol. 5. - № 3. - P.202-205.
204. Иванова Е.В., Рабинович О.Ф., Рабинович И.М., Тупицын Н.Н. Патогенетическая иммунокорректирующая терапия плоского лишая слизистой оболочки рта // Клиническая стоматология. - 2002. - № 4. - С.26-29.
205. Кузьмина Э.М., Цветкова Л.А. Клинические проявления плоского лишая на слизистой оболочке полости рта, и схема комплексного лечения // DentalForum. - 2005. - № 3. - С.59-64.
206. Bagan J.V., Aguirre J.M., del Olmo J.A., Milián A., Peñarrocha M., Rodrigo J.M., Cardona F. Oral lichen planus and chronic liver disease: a clinical and morphometric study of the oral lesions in relation to transaminase elevation // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. - 1994. - Vol. 78. - № 3. - P. 337-342.
207. Спицына В.И., Лемспкая Т.И., Волков Е.А. Заболевания слизистой оболочки полости рта. Клиника, диагностика, лечение: учебное пособие. - М.: ММСИ, 1996. - 200 с.
208. Данилевский Н.Ф., Несин А.Ф., Рахний Ж.И. Заболевания слизистой оболочки полости рта. - М.: ОАО «Стоматология», 2001. - 271 с.
209. Кузьмина Э.М. Профилактика стоматологических заболеваний. - М.: «Поли-Медиа Пресс», 2001. - 216 с.

210. Шевченко Е.А., Решетина М.В. Разработка новой схемы патогенетической терапии хронического рецидивирующего афтозного стоматита // Современные проблемы науки и образования. - 2016. - № 4. - С. 25-31.
211. Максимовский Ю.М., Чиркова Т.Д., Ульянова М.А. Особенности клеточного иммунитета при катаральном гингивите (Сообщение 2) // Стоматология. - 2003. - № 3.- С.6-8.
212. Максимовский Ю.М., Чиркова Т.Д., Фролова Т.А. и соавт. Клинико-иммунологические особенности патогенеза катарального гингивита (Сообщение 1) // Стоматология. - 2003. - № 3. - С.24-27.
213. Самойлов К.О., Шкурупий В.А., Верещагина Г.Н. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров десен больных с хроническим катаральным гингивитом на фоне дисплазии соединительной ткани // Стоматология. - 2004. - № 4.- С. 9-12.
214. Сарап Л.Р., Бутакова Л.Ю., Зенкова Ю.А. и соавт. Профилактика патологии слизистой оболочки рта у пациентов со съёмными зубными протезами // Клиническая стоматология. - 2007. - № 1. - С.44-46.
215. Lewkowicz N., Lewkowicz P., Kurnatowska A., Banasik M., Glowacka E., Cedzyński M., Swierzko A., Lauk-Puchala B., Tchórzewski H. Innate immune system is implicated in recurrent aphthous ulcer pathogenesis // J. Oral. Pathol. Med. - 2003. - Vol. 32. - № 8. - P. 475-481.
216. Савичук Н.О., Савичук А.В., Пьянкова А.В. Новый фармакотерапевтический подход в лечении хронических стоматитов // Украинский медицинский журнал. - 2003. - № 3. - С.34-36.
217. Campisi G., Di Liberto C., Iacono G., Compilato D., Di Prima L., Calvino F., Di Marco V., Lo Muzio L., Sferrazza C., Scalici C., Craxì A., Carroccio A. Oral pathology in untreated coeliac disease // Aliment. Pharmacol. Ther. - 2007. - Vol. 26. - №11-12. - P.1529-1536.
218. Lichon J.F. Treatment of recurrent oral aphthous and herpetic ulcerations // Dent. Today. – 1994. - Vol. 13. - № 10. - P. 88-89.

219. Natah S.S., Hayrinen-Immonen R., Hietanen J., Malmstrom M. Factor XHIIa-positive dendrocytes are increased in number and size in recurrent aphthous ulcers (RAU) // J. Oral. Pathol. Med. - 1997. - № 9. - P.408-413.
220. Biagioni P.A., Lamey P.J. Acyclovir crem prevents clinical and thermographic progression of recrudescant herpes labialis beyond the prodromal stage // Acta. Derm. Venereol. - 1998. - Vol. 78. - № 1. - P. 46-47.
221. Лукиных Л.М. Заболевания слизистой оболочки полости рта / Л.М Лукиных. - Н - Новгород.: НГМА, 2000. - 367 с.
222. Лукиных Л.М. Болезни полости рта. - Нижний Новгород: Изд-во НижГМА, 2004. - 413 с.
223. Quinn M., Babb P., Brock A. Cancer trends in England and Wales 1950 - 1999. - Palgrave Macmillan, 2001. - 159 p.
224. Боровский Е.В. Терапевтическая стоматология. - М: «Медицинское информационное агентство», 2003. - 746 с.
225. Шумский А.В. Применение препарата имудон при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта // Стоматология. - 2000. - № 6. - С. 30-34.
226. Банченко Г.В. Проблемы заболевания слизистой оболочки полости рта // Зубоврачебный вестник. - 1993. - Т. 2. - № 1. - С. 13-18.
227. Дмитриева Л.А. Разработка комплексных индивидуальных методов лечения заболеваний слизистой оболочки полости рта в зависимости от иммунологического статуса пациента. - М.: Медицина, 2001. - 135 с.
228. Прохончуков А.А., Жижина Н.А. Применение лазерного физиотерапевтического аппарата Оптодан для профилактики и лечения стоматологических заболеваний: методические рекомендации. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 1994. - 42 с.
229. Пашков Б. М. Поражения слизистой оболочки полости рта при кожных и венерических болезнях. 2-е изд., доп. и испр. - М.: Медгиз, 1963. - 299 с.

230. Рабинович О.Ф., Рабинович И.М., Островский А.Д. Оценка мукозального иммунитета у пациентов с дисбактериозом слизистой оболочки полости рта до и после применения комплексного лечения // Иммунология. - 2013. - №2. - С.91-94.
231. Рабинович И.М., Банченко Г.В. Рецидивирующий афтозный стоматит. Клиника, диагностика и лечение // Клиническая стоматология. - 1998. - № 3. - С.26-28.
232. Прикулс В.Ф. Фофтофорезоксолиновой мази в комплексном лечении больных хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом // Вопр. курорт., физиотер. ЛФК. - 2000. - № 6. - С. 39-42.
233. Рыбаков А.И., Платонов Е.Е. Терапевтическая стоматология: учеб. для студентов стоматол. интернов (фак.). - М.: Медицина, 1968. - 667 с.
234. Рабинович И.М., Банченко Г.В., Рабинович О.Ф., Безрукова И.В. Применение Тантум Верде при лечении заболеваний слизистой оболочки полости рта // Стоматология. - 1997. - № 2. - С. 76.
235. Рабинович И.М., Рабинович О.Ф., Вахрушина Е.В. Рецидивирующий афтозный стоматит - классификации, клинические формы и лечение (часть II) // Стоматология. - 2010. - № 3. - С. 76-80.
236. Рабинович И.М., Рабинович О.Ф., Панфилова Е.Л., Вахрушина Е.В. Рецидивирующий афтозный стоматит – этиология, патогенез (часть I) // Стоматология. - 2010. - № 1. - С. 71-74.
237. Рыбаков А.И. Заболевания слизистой оболочки полости рта. - М.: Медицина, 1978. - 231 с.
238. Каракоев К.Г. Рецидивирующие и рубцующиеся афты при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Учебное пособие. - Ставрополь. Издательство СтГМУ, 2014. - 112 с.
239. Ронь Г.И., Чернышева Н.Д., Хонина Т.Г. Эффективность лечения инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта с

- использованием препарата на основе кремнийорганического глицерогидрогеля // Дентал Юг. - 2008. - Т. 56. - № 7. - С. 32-33.
240. Рабинович О.Ф., Рабинович И.М., Гусева А.В., Абрамова Е.С. Лечение больных с рецидивирующим афтозным стоматитом, осложненным дисбактериозом полости рта // Клиническая стоматология. - 2009. - № 3. - С. 18-20.
241. Лукиных Л.М., Толмачева С.М., Спиридонова С.А. Хронический рецидивирующий герпетический стоматит как болезнь иммунной системы // Современные технологии в медицине. - 2012. - № 3. - С. 121-125.
242. Барер Г.М., Ионов В.А. Состояние микробиоценоза слизистой оболочки полости рта при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите // Cathedra- кафедра. Стоматологическое образование. – 2008. – Т. 6. -№ 4. – С.24-27.
243. Анисимова И.В., Недосеко В.Б., Ломиашвили Л.М. Заболевания слизистой оболочки рта и губ (клиника, диагностика). - СПб.:ООО «МЕДИ-издательство», 2005. - 92 с.
244. Boras V.V., Bruilo V., Lukac J., Kordić D., Blažić-Potočki Z. Salivary interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in patients with burning mouth syndrome // Oral Dis. - 2006. - Vol. 12. - № 3. - P.353-355.
245. Сохов С.Т., Цветкова А.А., Аксамит Л.А. Комплексное лечение ХРАС с применением сублингвальных таблеток иммуномодулирующего препарата галавит // Российская стоматология. - 2009. - № 2. - С.56-60.
246. Сохов С.Т., Цветкова А.А., Терещенко А.В., Цветкова Л.А. Применение иммуномодулятора «Галавит» в комплексном лечении хронического рецидивирующего афтозного стоматита // DentalForum. - 2007. - № 3. - С. 18-22.
247. Успенская О.А., Казарина Л.Н., Шевченко Е.А. изменения местного иммунитета полости рта у пациенток с хроническим рецидивирующим

- афтозным стоматитом на фоне урогенитальной инфекции // Современные проблемы науки и образования. - 2015. - № 1. С.13-19.
248. Максимовская Л.Н. Использование даларгина для лечения рецидивирующего афтозного стоматита // Стоматология. - 1995. - Т. 74. - № 4. - С. 15-17.
249. Леус П.А., Горегляд А.А., Чудакова И.О. Заболевания зубов и полости рта. - М.: Феникс, 2002. - 289 с.
250. Сидельникова Л.Ф. Клинико-лабораторные аспекты применения препарата «Имудон» в комплексном лечении больных красным плоским лишаем // Современная стоматология. - 2003. - Т. 23. - № 3. - С. 34-36.
251. Байдик О.Д., Титаренко М.А., Сысолятин П.Г. Тканевая инженерия в стоматологии // Стоматология. - 2015. - №2. - С. 65-67.
252. Rees T.D., Binnie W.H. Recurrent aphthous stomatitis // Dermatol Clin. - 1996. - Vol.14. -P.243-256.
253. Боровский Е.В., Машкиллейсон А.Л. Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ. - М.: Медицина, 2001. - 320 с.
254. Айрапетян Г.О., Веретинская А.Г. Возможность применения нейротропных средств для предотвращения афтозных стоматитов // Бюл. экспер. биол. и мед. - 1985. - Т. 100. - № 27. - С. 42-43.
255. Дроботько Л.Н., Страхова С.Ю. Хронический рецидивирующий афтозный стоматит // Российский Медицинский Журнал. - 2006. - № 29. - С. 2096-2098.
256. Македонова Ю.А., Федотова Ю.М., Фирсова И.В., Поройский С.Ю. Эффективность стоматологического лечения пациентов с красным плоским лишаем слизистой полости рта // Пародонтология. - 2016. - Т. 21. - № 2 - С. 61-64.
257. Михайловская В.П., Попруженко Т.В., Белая Т.Г. Герпесвирусы в патологии челюстно-лицевой области у детей: учеб.- метод. пособие– 2-е изд. - Минск : БГМУ, 2009. - 75с.

258. Petruzzi M., Lucchese A., Baldoni E., Grassi R., Serpico R. Use of Lugol's iodine in oral cancer diagnostics: An overview // *Oral Oncol.* - 2010. - Vol. 46. - № 11. - P.811- 823.
259. Эпельдимова Е.Л. Рабинович О.Ф. Методы диагностики и местного лечения заболеваний слизистой оболочки рта (красный плоский лишай, рецидивирующий афтозный стоматит, декубитальные язвы) // *Стоматология.* - 2005. - № 3. - С.356-362.
260. Терехова Н.В., Хазанова В.В., Земская Е.А., Быкова И.А., Филоненко О.Ф., Косорукова Н.Я., Рабинович И.М. Т-активин в лечении больных рецидивирующим афтозным стоматитом // *Стоматология.* - 1991. - № 2. - С. 35-37.
261. Sun A., Wang J.T., Chia J.S., Chiang C.P. Levamisole can modulate the serum tumor necrosis factor-alpha level in patients with recurrent aphthous ulcerations // *Oral Pathol Med.* - 2006. - Vol. 35. - № 2. - P.111-116.
262. Weckx L.L., Hirata C.H., Abreu M.A. Treatment of recurrent aphthous stomatitis with clofazimine // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* - 2009. - Vol. 108. - № 5. - P. 714-21.
263. Weckx L.L., Hirata C.H., Abreu M.A., Fillizolla V.C, Silva O.M.P. Levamisole does not prevent lesions of recurrent aphthous stomatitis: a double-blind placebo-controlled clinical trial // *Rev Ass Med Bras.* - 2009. - Vol. 55. - № 2. - P.132-138.
264. Gül U., Kiliç A., Gönül M., Cakmak S.K., Bayis S.S. Clinical aspects of epidermodysplasia verruciformis and review of the literature // *Int J Dermatol.* - 2007. - Vol. 46. - P.1069-1072.
265. Koybasi S., Parlak A.H., Serin E., Yilmaz F, Serin D. Recurrent aphthous stomatitis: investigation of possible etiologic factors // *Am J Otolaryngol.* - 2006. - Vol. 27. - № 4. - P.229-232.
266. Ogrita M., Yamamoto T., Morita M., Watanabe T. A case-control study on food intake of patients with recurrent aphthous stomatitis // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* - 2001. - Vol. 91. - № 1. - P.45-49.

267. Nolan A., Lamey P.J., Milligan K.A., Forsyth A. Recurrent Aphthous Ulceration and Food Sensitivity // *J Oral Pathol Med.* – 1991. - Vol. 20. - P.473-475.
268. Козловская Л.В., Белик Л.П., Шнип Е.В., Чичко М.В. Хронический рецидивирующий афтозный стоматит у детей: многофакторность этиопатогенеза, особенности клинических проявлений, комплексная терапия // *Экологическая антропология: Ежегодник Белорусского комитета «Дети Чернобыля».* - Мн., 2011.- С.266-269.
269. Altenburg A., Abdel-Naser M.B., Seeber H., Abdallah M., Zouboulis M.M. Practical aspects of management of recurrent aphthous stomatitis // *J Eur Acad Dermatol Venereol.* - 2007. - Vol. 21. - № 8. - P.1019-1026.
270. Boldo A. Major recurrent aphthous ulceration: case report and review of the literature // *Conn med.* - 2008. - Vol. 72. - № 5. - P.271-273.
271. Neville B.D., Damum D.D., Allen C.M., Vouquot J. *Oral and Maxillofacial Pathology, 3rd Edition.* - Saunders, 2008. - 984 p.
272. Косюга С.Ю., Кленина В.Ю. Современные аспекты этиопатогенеза рецидивирующего афтозного стоматита // *Современные проблемы науки и образования.* - 2014. - № 6. - С. 25-31.
273. Хазанова В.В., Рабинович И.М., Земская Е.А., Рабинович О.Ф., Дмитриева Н.А. Изучение микробиоценоза при хронических заболеваниях слизистой оболочки полости рта // *Стоматология.* - 1996. - № 2. - С. 26-27.
274. Борисова О.В., Елькова Н.Л., Щербаченко О.И. Применение плаз-мафереза в лечении рецидивирующего афтозного стоматита. *Стоматология.* - 1997. - Т. 76. - № 3. - С. 23-25.
275. Румянцев В.А., Шиманский Ш.Л., Будашова Е.И., Юсупова Ю.И., Афонегнкова В.С., Моисеев Д.А. Современная концепция поляризации макрофагов и ее значение для пародонтологии (обзор литературы) // *Пародонтология.* - 2018. - Т. 88. - №3. - С. 64-69.

276. Румянцев В.А., Шиманский Ш.Л., Будашова Е.И. Влияние репрограммирования фенотипа макрофагов пародонта на их морфологические признаки // Морфология. - 2019. - Т.155. - № 2. - С. 244.
277. Кулик И.В. Лечение парестезий слизистой оболочки полости рта с учетом характера изменений не специфических адаптационных реакций организма: автореф. дис. канд. мед. Наук. - СПб., 2007. - 23 с.
278. Сабанцева Е.Г. Патогенетическое обоснование коррекции микроциркуляции при воспалительно-деструктивных заболеваниях слизистой оболочки рта: автореф. дис. д-ра мед. наук. - М., 2005. - 22 с.
279. Woo S.B., Sonis S.T. Recurrent aphthous ulcers: A review of diagnosis and treatment // JADA. - 1996. - Vol. 127. - P.1202–1213.
280. Сафронов А.Г., Храмов В.В., Колесова О.Г., Свищева Е.М., Чиж А.Г., Исламова Е.А. Физические факторы в лечении и профилактике патологии челюстно-лицевой области: учебно-методические рекомендации. - Саратов: Изд-во Саратов. мед. ун-та, 2009. - 84 с.
281. Ушаков А.А. Заболевания зубов и тканей полости рта. Руководство по практической физиотерапии. - М.: Медиа, 1996. - 242 с.
282. Mahdavi O., Boostani N., Jajaram H., Falaki F., Tabesh A. Use of low level laser therapy of oral lichen planus // J Dent (Shiraz). - 2013. - Vol. 14. - № 4. - P. 201-204.
283. Trehan M., Taylor C.R. Low-dose excimer 308-nm laser for the treatment of oral lichen planus // Arch Dermatol. – 2004. - Vol. 140. - № 4. - P.415-420.
284. Firsova I.V., Makedonova Iu. A., Mikhalchenko D.V., Poroiskii S.V., Sirak S.V. Clinical and experimental study of the regenerative features of oral mucosa under autohemotherapy // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2015. - Vol. 6. - № 6. - P.1711-1716.
285. Kamakshi A.L.N.V., Uppoor A. S., Nayak D.G., Pralhad S. Evaluation of papilla levels following three different techniques for the second stage of implants - A

- clinical and radiographic study // J Indian Soc Periodontol. - 2021. - Vol. 25. - № 2. - P.120-127.
286. Спицына В.И., Савченко З.И. Иммунологические аспекты эффективности ГБО-терапии у больных ХРАС // Российский стоматологический журнал. - 2002. - № 2. - С. 23-26.
287. Прохончуков А.А., Жижина Н.А. Применение лазерного физиотерапевтического аппарата Оптодан для профилактики и лечения стоматологических заболеваний: методические рекомендации. - М.: Медицина, 1994. - 42 с.
288. Прохончуков А.А., Жижина Н.А., Колесник А.Г., Алябьев Ю.С., Стебелькова М.Л., Рассадин А.М., Сабуров Б.А., Вахтин В.И., Авраамова О.Г. Лечение заболеваний тканей пародонта с применением лазерного и магнитолазерного излучения // Лазерная медицина. - Т.15. - № 2. - 2011. -С. 105.
289. Прикулс В.Ф. Фофтофорез оксолиновой мази в комплексном лечении больных хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом // Вопр. курорт., физиотер. ЛФК. - 2000. - № 6. - С. 39-42.
290. Маркина Л.А., Эктова Т.В., Щукин А.И., Рузова Т.К. Применение фотофореза коллегеля у больных хроническим афтозным стоматитом // Научно-практический журнал «Физиотерапевт». – 2012. - № 7. - С.45-47.
291. Лукиных Л.М., Успенская О.А. Физиотерапия в практике терапевтической стоматологии (учебное пособие). - Н.Новгород: НГМА, 2005. - 36 с.
292. Чумак Л.Б. Эффективность применения поляризованного света в комплексном лечении заболеваний пародонта: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21. - Ставрополь, 2001. - 20 с.
293. Яночкина Н.С. Комплексное применение магнито-лазерной терапии и дентальной адгезивной пасты солкосерила для профилактики и лечения хронического рецидивирующего афтозного стоматита: автореферат дисс.канд. мед. Наук: 14.00.51. - Москва, 2006. - 26 с.

294. Ешиев А.М., Азимбаев Н.М., Курманбеков Н.О. Комплексное лечение хронического рецидивирующего афтозного стоматита с применением синего света // Вестник ОшГУ. - 2015. - № 3. - С.120-123.
295. Prahl S.A., Gemert M.J.C., Welch A.J. Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method // Appl. Opt. - 1993. - Vol. 32. - №4. - P. 559-568.
296. Bashkatov A.N., Genina E.A., Kozintseva M.D., Kochubey V.I., Gorofkov S.Y., Tuchin V.V. Optical properties of peritoneal biological tissues in the spectral range of 350–2500 nm // Opt. Spectrosc. - 2016. - Vol. 120. - № 1. - P. 1-8.
297. Cheong W.F., Prahl S.A., Welch A.J. A review of the optical properties of biological tissues // IEEE J. Quantum Electron. - 1990. - Vol. 26. - P. 2166-2185.
298. Schutt J.B., Arens J. F., Shai C. M., Stromberg E. Highly Reflecting Stable White Paint for the Detection of Ultraviolet and Visible Radiations. // Appl. Opt. 1974. Vol. 13. P. 2218-2221.
299. Zijp J.R., Bosch J.J.T. Theoretical model for the scattering of light by dentin and comparison with measurements // Applied Optics. - 1993. - Vol. 32. - №4. - P. 411-415.
300. Kienle A., Lilge L., Patterson M.S., Hibst R., Steiner R., Wilson B.C. Spatially resolved absolute diffuse reflectance measurements for noninvasive determination of the optical scattering and absorption coefficients of biological tissue // Appl. Opt. - 1996. - Vol. 32. - № 13. - P.2304-2314.
301. Belikov A.V. Skripnik A.V., Shatilova K.V. Study of the Dynamics of the Absorption Spectra of Human Tooth Enamel and Dentine under Heating and Ablation by Submillisecond Pulse Radiation of an Erbium Laser with a Generation Wavelength of 2.79 μm // Optics and Spectroscopy. - 2010. - Vol. 109. - № 2. - P.211-216.
302. Ko F., Tien G., Chuang M., Huang T., Hung M., Sung K. In-vivo diffuse reflectance spectroscopy (DRS) of oral mucosa of normal volunteers // OSA Publishing. Conference Papers. - 2016. - P. JTU3A.45.

303. Richards-Kortum R., Sevick-Muraca E. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis // *Annu Rev Phys Chem.* – 1996. - Vol. 47. - P.555-606.
304. Selifonov A.A., Zyuryukina O.A., Lazareva E.N., Skibina Yu.S., Zagorovskaya T.M., Syrova O.V., Aleshkina O.Yu., Tuchin V.V. Measurement of Optical Properties of Human Gums and Dentin in the Spectral Range from 350 to 800 nm // *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Physics.* - 2020. - Vol. 20. - № 4. - P. 258-267.
305. Polat S., Er K., Polat N. T. Penetration depth of laser Doppler flowmetry beam in teeth. // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* - 2005. - Vol. 100. - № 1. - P.125-129.
306. Максимовский Ю.М., Митронин А.В. *Терапевтическая стоматология.* - М.: Гэотар-Медиа, 2012. - 422 с.
307. Selifonov A.A., Tuchin V.V. Determination of the kinetic parameters of glycerol diffusion in the gingival and dentinal tissue of a human tooth using optical method: in vitro studies // *Optical and Quantum Electronics.* - 2020. - Vol. 123. - №52.
308. Schwindt D.A., Wilhelm K.P., Maibach H.I. Water diffusion characteristics of human stratum corneum at different anatomical sites in vivo // *J. Invest. Dermatol.* - 1998. - Vol. 111. - P. 385-389.
309. Mériaux S., Conti A., Larrat B. Assessing Diffusion in the Extra-Cellular Space of Brain Tissue by Dynamic MRI Mapping of Contrast Agent Concentrations // *Front. Phys.* - 2018. - Vol. 6. - P. 38-41.
310. Tuchina D.K., Meerovich I.G., Sindeeva O.A., Zherdeva V.V., Savitsky A.P., Bogdanov A.A., Tuchin V.V. Magnetic Resonance Contrast Agents in Optical Clearing: Prospects for Multimodal Tissue Imaging // *J. Biophotonics.* - 2020. - Vol. 13. - № 11. - P.e201960249.
311. Grisimov V., Radlinsky S. Biomechanics of teeth and restorations // *DentArt: Journal of Science and Art in Dentistry.* - 2018. - Vol. 2. - P. 482006.
312. Kienle A., Michels R., Hibst R. Magnification-a New Look at a Long-known Optical Property of Dentin // *J. Dental Research.* - 2006. - Vol. 85. - № 10. - P. 955.

313. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. - М: Медицина, 1991. - 304 с.
314. Bjelkhagen H., Sundström F., Angmar-Månsson B., Ryden H. Early detection of enamel caries by the luminescence excited by visible laser light // Swed. Dent. J. - 1982. - Vol. 6. - № 1. - P. 1-7.
315. De Josselin de Jong E., Sundström F., Westerling H., Tranaeus S., Bosch J., Angmar-Månsson B. A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence // Caries Res. - 1995. - V. 29. - № 1. - P. 2-7.
316. Shi X.-Q., Tranæus S., Angmar-Månsson B. Comparison of QLF and DIAGNOdent for quantification of smooth surface caries // Caries Res. 2001. Vol. 35, № 1. P. 21-26.
317. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека: Учебное пособие. Издание второе, исправленное. - СПб: Специальная Литература, 1998. - 248 с.
318. Nanci A. Ten Cate's oral histology: development, structure and function. - Mosby, 2003. - 445 p.
319. Xia W., Lindahl C., Persson C., Thomsen P., Lausmaa J., Engqvist H. // J. Biomaterials and Nanobiotechnology. - 2010. - Vol. 1. - № 1. - P. 7-10.
320. Mjor I.A., Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth // Oral Biol. - 1996. - Vol. 41. - P. 401-412.
321. Belikov A.V., Feldchtein F.I., Altshuler G.B. Laser Ablation of Hard Tissues // Handbook of Biophotonics. Vol.2: Photonics for Health Care, First Edition. Edited by Jurgen Popp, Valery V. Tuchin, Arthur Chiou, and Stefan Heinemann. - Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012. - P. 1095–1110.
322. Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов. - М.: Дрофа, 2006. - 285 с.
323. Klepac-Ceraj V., Patel N., Song X., Holeva C., Patel C., Kent R., Amiji M.M., Soukos N.S. Photodynamic effects of methylene blue-loaded polymeric

- nanoparticles on dental plaque bacteria // *Lasers Surg. Med.* - 2011. - Vol. 43. - P. 600-606.
324. Kotyk A., Janacek K. Cell membrane transport. Principles and Techniques. Second edition. - Czechoslovakia In collaboration with the Staff of the Laboratory PLENUM PRESS. New York and London, 1974. - 583 p.
325. Генина Э.А., Башкатов А.Н., Чикина Е.Э., Тучин В.В. Диффузия метиленового синего в слизистой оболочке верхнечелюстной пазухи человека. *Биофизика.* - 2007. - Vol. 52. - № 6. - P. 1104-1111.
326. Selifonov A.A., Zagorovskaya T.M., Syrova O.V., Aleshkina O.Yu., Zimnyakov D.A., Tuchin V.V. Optical properties of human gums after photodynamic therapy with methylene blue (*in vitro*) // *Proc. SPIE, Photonic Diagnosis, Monitoring, Prevention, and Treatment of Infections and Inflammatory Diseases.* - 2020. - 1122315.
327. Selifonov A.A., Aleshkina O.Yu., Zagorovskaya T.M., Syrova O.V., Tuchin V.V. Determination of diffusion coefficients of photosensitizers in human oral mucosa // *Asian Journal of Physics.* - 2020. - Vol. 29. - № 3 & 4. - P.329-336.
328. Селифонон А.А., Тучин В.В. Разработка персонифицированного подхода при выявлении патологических участков слизистой оболочки полости рта на основе определения проницаемости десны к метиленовому синему // *Молекулярная медицина.* - 2021. - Т. 19. - №1. - С. 47-53.
329. Генина Э. А., Башкатов А. Н., Тучин В. В. Исследование диффузии фотодинамического красителя индоцианинового зеленого в коже с помощью спектроскопии обратного рассеяния // *Квантовая электроника.* - 2014. - Т. 44. - № 7. - С. 689-695.
330. Селифонон А.А., Тучин В.В. Изучение диффузии метиленового синего в дентине зуба человека // *Биофизика.* - 2018. - Т. 63. - Вып. 6. - С.1211-1220.
331. Селифонон А.А., Шаповал О.Г., Микеров А.Н., Тучин В.В. Определение коэффициента диффузии растворов метиленового синего в дентине зуба человека с помощью спектроскопии отражения, и их антибактериальная

- активность при лазерном воздействии // Оптика и спектроскопия. - 2019. - Т. 126. - Вып. - 6. - С.832-842.
332. Selifonov A.A., Tuchin V.V. Diffusion of methylene blue in human dentin in the presence of glucose: in vitro study // Proc. SPIE 11065, Saratov Fall Meeting 2018: Optical and Nano -Technologies for Biology and Medicine. - 2019. - 110651Y.
333. Селифонон А.А., Алешкина О.Ю., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Тучин В.В. Определение коэффициентов диффузии некоторых фармпрепаратов в ткани десны спектроскопическим методом (*in vitro*) // Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «Нанозлектроника, нанофотоника и нелинейная физика», Изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С.239-240.
334. Selifonov A.A., Tuchin V.V. Determination of the diffusion coefficient of rivanol in dentin of a human tooth in vitro // Proc. SPIE 11359, Biomedical Spectroscopy, Microscopy, and Imaging. – 2020. - 113591S.
335. Чернова Р.К., Доронин С.Ю. Определение органических аналитов в растворах ПАВ: ионные и мицеллярные эффекты. - Саратов: изд-во Сарат. ун-та, 2017. - 200 с.
336. <https://omlc.org/spectra/water/> (Дата обращения 02.04.2019).
337. Селифонон А.А., Тучин В.В. Управление оптическими свойствами тканей десны и дентина зуба человека на лазерных линиях в диапазоне 200-800 нм // Квантовая электроника. - 2020. - Т. 50. - № 1. - С. 47-54.
338. Selifonov A.A., Tuchin V.V. Determination of the kinetic parameters of glycerol diffusion in the gingival and dentinal tissue of a human tooth using optical method: in vitro studies // Optical and Quantum electronics. - 2020. - Vol. 123. - №52.
339. Carneiro I., Carvalho S., Henrique R., Selifonov A., Oliveira L., Tuchin V.V. Enhanced Ultraviolet Spectroscopy by Optical Clearing for Biomedical Applications // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. - 2021. - Vol. 27. - № 4. - P. 9153126-9153126-8.

340. Дьяконов И.А. Глицерин. Химическая энциклопедия: в 5 т. М.: Советская энциклопедия. - Т. 1: А Дарзана, 1988. - 623 с.
341. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. Study of the diffusion of the photodynamic dye of indocyanine green in the skin using backscattering spectroscopy // *Quantum Electronics*. - 2014. - Vol. 44. - № 7. - P. 689- 695.
342. Tuchina D.K., Genin V.D., Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. Optical clearing of skin tissue *ex vivo* with polyethylene glycol // *Opt. Spectrosc.* - 2016. - Vol. 120. - № 1. - P. 28-37.
343. Селифонов А.А., Алешкина О.Ю., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Тучин В.В. Спектроскопия диффузного отражения в определении основных эндогенных хромофоров ткани слизистой десны // Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «Нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика». - Изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С.233-234.
344. Селифонов А.А., Алешкина О.Ю., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Тучин В.В. Изменение оптических свойств ткани слизистой десны человека при «просветлении» *in vitro* // Сборник трудов XIV Всероссийской конференции молодых ученых: «Нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика». - Изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2019. - С. 233-234.
345. Genina E.A., Bashkatov A.N., Sinichkin Yu.P., Tuchin V.V. Optical clearing of skin under action of glycerol: *Ex vivo* and *in vivo* investigations // *Opt. Spectrosc.* - 2010. - Vol. 109. - № 2. - P. 225-231.
346. Селифонов А.А., Алешкина О.Ю., Загоровская Т.М., Сырова О.В., Тучин В.В. Определение коэффициентов диффузии некоторых фармпрепаратов в ткани десны спектроскопическим методом (*in vitro*) // Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «Нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика», Изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С.239-240.
347. Селифонов А.А., Тучин В.В. Влияние концентрации глицерина на эффективность оптического просветления слизистой ротовой полости //

- Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика», изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С. 235-236.
348. Trunina N.A., Lychagov V.V., Tuchin V.V. OCT monitoring of diffusion of water and glycerol through tooth dentine in different geometry of wetting // Proc. SPIE. - 2010. - 7563.
349. Vogel A., Venugopalan V.: Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues // Chem. Rev. - 2003. - Vol. 103. - P.577-644.
350. Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. ch. 19. Measurement of glucose diffusion coefficients in human tissues. In: Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues. Ed. Valery V. Tuchin. - Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009. - 587 p.
351. Селифонов А.А., Тучин В.В. Определение коэффициента диффузии 40%-глюкозы в ткани десны человека оптическим методом // Оптика и спектроскопия. - 2020. - Т. 128. - вып. 6. - С. 760-765.
352. Gutter F.J., Kegeles G. Diffusion in supersaturated solutions: II. Glucose solutions // J. Am. Chem. Soc. - 1953. - Vol. 75. - № 15. - P. 3900.
353. Григорьев И.С., Мейлихов Е.З. Физические величины. Справочник. -М.: Энергоатомиздат, 1991. - 1232 с.
354. Oliveira L.M., Carvalho M.I., Nogueira E., Tuchin V.V. The characteristic time of glucose diffusion measured for muscle tissue at optical clearing // Laser Physics. - 2013. - Vol. 23. - № 7. - P. 075606.
355. Селифонов А.А., Тучин В.В. Оптические свойства дентина зуба человека при иммерсии *in vitro* в глюкозе и кинетика этого процесса // Оптический журнал. - 2020. - Т. 87 - вып.03. - С.46-55.
356. Selifonov A.A., Tuchin V.V. Diffusion of methylene blue in human dentin in the presence of glucose: *in vitro* study // Proc. SPIE: 11065. Saratov fall meeting 2018: optical and nano-technologies for biology and medicine - 2019. - Article number 10651Y.

357. Генина Э.А., Башкатов А.Н., Семячкина-Глушковская О. В., Тучин В.В. Оптическое просветление черепной кости многокомпонентными иммерсионными растворами, и визуализация церебрального венозного кровотока // Изв. Саратов. Ун-та. Нов. Сер. Сер. Физика. - 2017. - Т. 17. - № 2. - С. 98-110.
358. Селифонов А.А. Определение проницаемости десны к люголю / А.А. Селифонов, В.В. Тучин // Сборник трудов XV всероссийской конференции молодых ученых «нанoeлектроника, нанoфотоника и нелинейная физика», изд-во: Саратов «Техно-декор». - 2020. - С.237-238.
359. Michalos A. Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research. - Springer, 2014. - 7347 p.
360. Брещенко Е.Е., Быков И.М. Биохимия полости рта, ротовой и десневой жидкостей: учебно методическое пособие. - Краснодар: Качество, 2018. - 63 с.
361. О состоянии и об охране окружающей среды Саратовской области в 2019 году. - Саратов, 2020. - 211 с.
362. Селифонов А.А. Частота возникновения, тяжесть течения и сопутствующие заболевания хронического рецидивирующего афтозного стоматита // Актуальные вопросы стоматологии: сборник всероссийской научно-практической конференции с международным участием/ Под ред. Л.М. Железнова, - Киров: Кировский государственный медицинский университет. - 2020. - С.232-364.
363. Селифонов А.А. Анализ стоматологического статуса пациентов детской поликлиники №3 г. Саратова Волжского района // Сборник научных работ X межвузовской научно-практической конференции студентов и молодых ученых, «Актуальные проблемы стоматологии» / под общ. Ред. Н.А. Лысова. - Самара: медицинский университет «Реавиз». - 2020. - С.217-218.
364. Селифонов А.А. Определение микробиологического патогена пациентов с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом. Сборник научных

- работ X межвузовской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. «Актуальные проблемы стоматологии» / под общ. Ред. Н.А. Лысова. - Самара: медицинский университет «Реавиз». - 2020. - С. 218-220.
365. Selifonov A.A., Tuchin V.V. Tissue Optical Clearing in the Ultraviolet for Clinical Use in Dentistry to Optimize the Treatment of Chronic Recurrent Aphthous Stomatitis // J-BPE. - 2020. - Vol. 6. - №4. - P. 040301-1 -6.
366. Селифонов А.А. Изменения некоторых показателей ротовой жидкости при включении в комплексное лечение хронического рецидивирующего афтозного стоматита у детей процедур светолечения. Актуальные вопросы детской стоматологии: сборник всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. Л.М. Железнова. - Киров: Кировский государственный медицинский университет. - 2021. - С.124-127.