Динамика температурного поля в биологических тканях при локальном лазерном нагреве

© *Ю.К. Седова*[1], *А.П. Свиридов*[1], *А.Н. Коновалов*[1], *О.Л. Захаркина*[1], *Н.Ю. Игнатьева*[2]

[1] Институт фотонных технологий Курчатовского комплекса кристаллографии и фотоники НИЦ „Курчатовский институт“, Москва, Троицк, Россия
[2] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
E-mail: yulia.sedova94@gmail.com

Поступило в Редакцию 5 мая 2025 г.
В окончательной редакции 20 июня 2025 г.
Принято к публикации 20 июня 2025 г.

Проведен цикл экспериментов по модификации кожи кролика лазерным излучением с длиной волны 1560 nm и диаметром пучка 200 и 600 μm. Получены пороговые значения мощностей лазерного излучения, при которых происходит денатурация коллагена кожи. С помощью интегрирующей сферы и тепловизора определены оптические и теплофизические параметры образцов, которые были использованы для вычисления световых и температурных полей. Показана необходимость учета коэффициента рассеяния света и фактора анизотропии рассеяния при расчете динамики температурного поля в коже.

Ключевые слова: температурное поле, фракционный фототермолиз, Монте-Карло, лазерное излучение, кожа.

DOI: 10.61011/PJTF.2025.18.61082.7990

Лазерное излучение становится важным инструментом в регенеративной медицине для целевой модификации биологических тканей. Оно позволяет осуществлять прецизионные локальные изменения структуры и состава тканей, что способствует инициированию регенерации измененного участка, а также активации регенеративных процессов в окружающих тканях [1]. В косметологии нанесение множества локальных воздействий позволяет осуществить омоложение увядшей кожи, значительно уменьшить рубцевание, вызванное травмами или акне [2]. Как правило, изменения ткани происходят в результате нагрева до температуры коагуляции в области диаметром 200–300 μm на глубину до 500 μm. Спустя несколько дней заживления отмечаются эстетические улучшения, при этом не остается видимых следов лазерного воздействия. Чтобы обеспечить эффективность и безопасность процедуры, необходимо выбрать оптимальные параметры лазерного воздействия, такие как длина волны и мощность излучения, длительность, диаметр лазерного пучка [3]. В конечном итоге размеры зоны коагуляции можно оценить исходя из динамики индуцируемого температурного поля. Оно в свою очередь существенно зависит от оптических и теплофизических характеристик ткани [4]. В настоящей работе ставится задача определить оптические и теплофизические параметры кожи, затем с учетом этих параметров и рассеяния света рассчитать с помощью математической модели нестационарное световое и температурное поле, индуцируемое тонким лазерным пучком в коже при фракционном лазерном термолизе, и сравнить измерения пороговых мощностей денатурации с результатами моделирования.

Для выполнения экспериментов использовался лазерный скальпель ЛСК 1.56 (ИРЭ-Полюс, Россия) с длиной волны излучения 1560 nm, мощностью до 5 W. Доставка излучения к образцам осуществлялась с помощью оптических кварцевых волокон диаметром 200 и 600 μm с числовой апертурой 0.22. Объектом исследования служила ткань кожи внутренней части ушной раковины кролика. Уши половозрелых кроликов были получены на кроличьей ферме не позднее чем через 5 h после забоя. После механического удаления волосков кожу сепарировали и разделяли на участки размером около 20×20 mm. Всего было изготовлено 40 образцов. Толщина кожи внутренней части ушной раковины меняется от вершины уха до его основания в пределах от 300 до 500 μm. Для эксперимента выбиралась область кожи с толщиной от 350 до 400 μm, погрешность составляла $\pm 30\,\mu$m. С помощью лиофильной сушки и термогравиметрического анализа было измерено содержание воды в образцах кожи $c_w = 74 \pm 2\,\%$. Поскольку среди компонент кожи основным поглотителем излучения на длине волны 1560 nm является вода, мы полагаем коэффициент поглощения $\mu_a = \mu_w c_w$. Подставляя $\mu_w = 10.5\,\mathrm{cm}^{-1}$ [5], получаем $\mu_a \approx 7.8\,\mathrm{cm}^{-1}$. В дальнейшем это значение μ_a будем использовать при моделировании световых полей.

Для определения коэффициента рассеяния μ_s и фактора анизотропии рассеяния g кожи мы использовали интегрирующую сферу. Измеряли доли энергии пучка света, прошедшего через образец (T_d) и отраженного от образца (R_d). Во всех экспериментах выходной торец оптического волокна устанавливали на расстоянии нескольких миллиметров от поверхности образца. Дополнительно измеряли энергию света, прошедшего в сферу через диафрагму, установленную с обратной стороны образца и центрированную с осью входного пучка (T_c). При этом диаметры диафрагм (260 и 648 μm) были близки к диаметрам оптических воло-

кон, используемых для доставки лазерного излучения. Полученные значения R_d, T_d и T_c сопоставлялись с результатами моделирования при варьировании μ_s и g. Значения μ_s и g, давшие наилучшее согласие моделирования и эксперимента, принимались в качестве искомых величин. Критерием для оценки служил минимум суммы квадратов отклонений для всей совокупности экспериментов и соответствующих модельных расчетов. Для минимизации этой суммы применяли методы последовательных приближений, в частности алгоритм Левенберга–Марквардта.

В отдельном эксперименте были получены пороговые значения мощности лазерного излучения, при которых происходит денатурация коллагена. Образцы кожи уха кролика толщиной $350 \pm 30\,\mu$m облучали контактно импульсным излучением с длительностью импульса 70 ms, использовали оптические волокна диаметром 200 и $600\,\mu$m. Мощность излучения варьировали с шагом 0.5 W в диапазоне 0.5–2 W для пучка диаметром $200\,\mu$m и в диапазоне 1–3 W для пучка диаметром $600\,\mu$m. Мощность лазерного излучения контролировали измерителем мощности UP12-H (Gentec Electro-Optics, Канада). После лазерной обработки образцы кожи помещали в раствор трипсина с концентрацией 1.5 mg/ml при температуре 37 °C на 24 h. Затем ткань вынимали из раствора и отмывали в 0.15 M растворе NaCl. Известно, что под действием трипсина протеолизу подвергаются все белки, кроме нативного коллагена [6,7]. Обработка трипсином образцов кожи, в которых произошла полная денатурация коллагена, приводила к полному растворению матрикса в области лазерного воздействия с образованием отверстия, коррелирующего по форме и размеру с лазерным пятном. В тех случаях, когда трипсинизации подвергали ткань с частичной денатурацией, наблюдали только истончение ткани. Наличие отверстий в ткани определяли на цифровом микроскопе Digital Industrial Microscope GS-23 (рис. 1).

Динамику температурного поля на поверхности образцов при лазерном нагреве регистрировали с помощью тепловизора FLIR A655sc с дополнительным объективом FOL25 (FLIR Systems Inc., США), максимальная частота кадров 200 Hz, пространственное разрешение ~ 10 px/mm. Погрешность измерения температуры ± 2 °C, температурная чувствительность < 30 mK. Для обработки термограмм использовалось программное обеспечение FLIR Research IR Max, которое позволяло определять динамику максимальной температуры,



Рис. 1. Отверстия в коже уха кролика после лазерного облучения и трипсинизации.

достигаемой на поверхности, среднюю температуру нагрева в зоне облучения и температурный профиль вдоль заданной линии.

Для расчета светового поля использовали метод Монте-Карло. Геометрические параметры образца имитировали двумерной матрицей. Для этого образец цилиндрической формы разбивали на n_z слоев одинаковой толщины и n_r круговых сегментов с некоторым шагом по радиусу. При этом формировали эквивалентную двумерную сетку A размером $n_z \times n_r$. Распределение координат входящих лучей на поверхности образца генерировалось либо однородно, либо по Гауссу. В последнем случае диаметр луча выбирали на уровне $1/e$ от максимального значения. Лучи были направлены перпендикулярно поверхности. Оценочные расчеты показали, что ввиду малой толщины образца влиянием расходимости пучка в сравнении с влиянием рассеяния можно пренебречь. В дальнейшем при моделировании мы фиксировали коэффициент поглощения $\mu_a = 7.8\,\mathrm{cm}^{-1}$ и показатель преломления $n = 1.45$. Варьировали лишь коэффициент рассеяния μ_s и фактор анизотропии g. Длину свободного пробега луча выбирали согласно выражению $l = -\lg(\mathrm{RAND})/(\mu_a + \mu_s)$. В случае акта поглощения значение энергии в соответствующей ячейке матрицы A увеличивали на энергию луча. В случае акта рассеяния отклонение луча определяли с помощью формулы Хеньи–Гринстейна. При достижении верхней или нижней границы образца луч с вероятностью, определяемой формулой Френеля, отражался и продолжал свое блуждание в среде, иначе выходил за пределы образца. При выходе из образца энергия луча дополняла компоненты R_d или T_d соответственно достигнутой границе. При достижении боковой стенки луч прекращал свое существование, дополнив член T_{lost}. Как правило, выполняется неравенство $T_{lost} \ll T_d, R_d$.

В основу расчета трехмерного температурного поля, индуцированного инфракрасным лазерным излучением, положено уравнение теплопроводности в цилиндрических координатах

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r}\frac{\partial}{\partial r}\left(\chi(r,z)r\frac{\partial T}{\partial r}\right) + \frac{\partial}{\partial z}\left(\chi(r,z)\frac{\partial T}{\partial z}\right) + f(r,z,t),$$

где $\chi(r,z)$ — коэффициент температуропроводности [cm^2/s], $T(r,z,t)$ — температура в точке с координатами (r,z) в момент времени t, $f(r,z,t)$ — функция источников тепла, обусловленная поглощением лазерного излучения [K/s]. Распределение температуры по образцу в начальный момент времени однородно и равно температуре окружающей среды T_0. На границах образца устанавливали условия третьего рода, обусловленные конвекцией воздуха. Более подробно они описаны в работе [8]. Элементы матрицы источников тепла рассчитывались согласно выражению $f(i,j,t) = P(t)A(i,j)/NC_pV(i,j,t)$, где P —

Таблица 1. Сопоставление экспериментальных результатов с модельными расчетами

R_d		T_d		T_c		Диаметр, mm (волокно/диафрагма)
Эксперимент	Модель	Эксперимент	Модель	Эксперимент	Модель	
0.18 ± 0.02	0.16	0.31 ± 0.03	0.31	0.80 ± 0.02 0.48 ± 0.02	0.81 0.48	0.6/0.64 0.2/0.248

Таблица 2. Минимальная мощность и плотность энергии лазерного излучения, приводящая к полной денатурации коллагена в образцах кожи

Диаметр пятна, μm	P, W	E, J/mm^2	$T_{\max}$, °C
200	1.0 ± 0.2	2.23 ± 0.45	72 ± 3
600	2.0 ± 0.2	0.49 ± 0.05	74 ± 3

мощность лазерного пучка [W], N — общее число входящих лучей, C_p — теплоемкость материала образца [J/K · cm^3], $V(i, j)$ — физический объем ячейки (i, j) матрицы A [cm^3].

Экспериментально измеренные коэффициенты полного диффузного отражения R_d, полного диффузного пропускания T_d, а также доли выходного луча T_c, прошедшего через диафрагму, представлены в табл. 1. Путем минимизации выражения $\sum\left(1 - R_{exp}/R_{calc}(\mu_s, g)\right)^2$ при варьировании μ_s и g были получены значения коэффициента рассеяния $\mu_s = 85 \pm 5\,\text{cm}^{-1}$ и фактора анизотропии $g = 0.65 \pm 0.05$. Здесь суммирование производилось по совокупности всех экспериментальных точек. Уместно отметить, что основной вклад в ошибку определения этих параметров вносит неопределенность толщины образца кожи ($h = 0.35 \pm 0.03\,\text{mm}$), обусловленная его неоднородностью и степенью сжатия при измерении толщины микрометром. В табл. 1 представлены также соответствующие значения, полученные моделированием светового поля методом Монте-Карло.

Минимальная мощность (P) и плотность энергии (E) лазерного излучения, приводящая к полной денатурации коллагена в образце кожи уха кролика в условиях эксперимента, представлены в табл. 2. Также в ней представлена максимальная температура ($T_{\max}$), измеренная на обратной стороне образца с помощью тепловизора. Температура денатурации коллагена T_{den} в коже при ее квазиравновесном нагреве в печи калориметра составляет 65 °C [9]. Однако для коллагена значение T_{den} не является неотъемлемым свойством. Эта величина может меняться от 55 до 90 °C в зависимости от внешних условий нагрева (приложенной нагрузки, длительности [10,11] и однородности [9]). Температурный порог денатурации коллагена характеризует стабильность ткани в конкретных обстоятельствах. В условиях данного эксперимента оказалось, что денатурация по всей глубине образца и в объеме, достаточном для визуальной регистрации с помощью трипсинизации, произойдет при достижении точечной температуры на задней поверхности $T_{\max} \sim 75$ °C.

На рис. 2 приведена динамика температуры в центре лазерного пучка на различных глубинах образца кожи. Видно, что, когда максимальная температура $T_{\max}$ нижнего слоя образца достигает порога денатурации ~ 75 °C, верхний слой, обращенный к лазерному лучу, существенно перегревается.

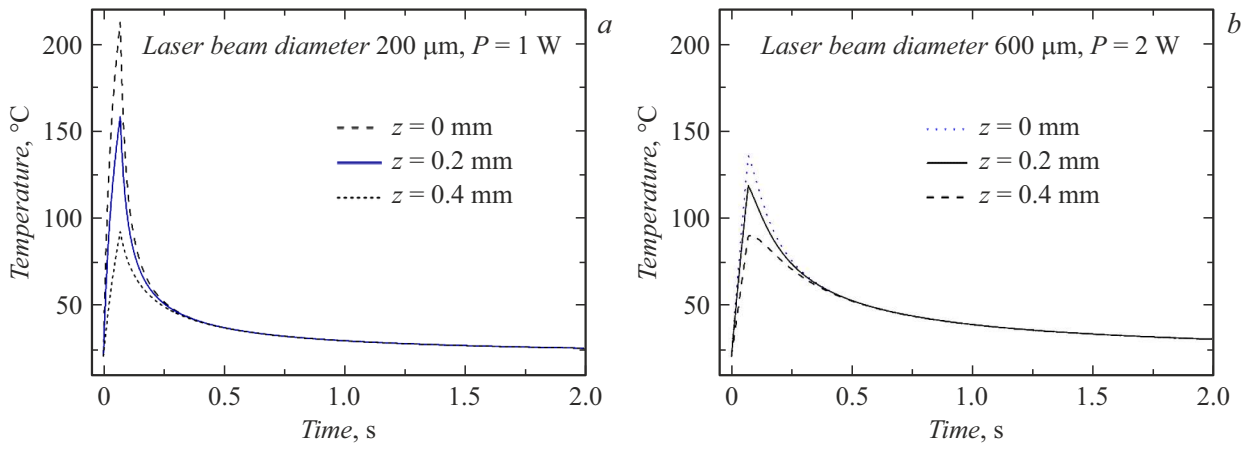


Рис. 2. Динамика температуры в центре лазерного пятна диаметром 200 (a) и 600 μm (b) на разных глубинах (z) образца кожи толщиной 0.4 mm в случаях порога по мощности для денатурации на всю толщину.

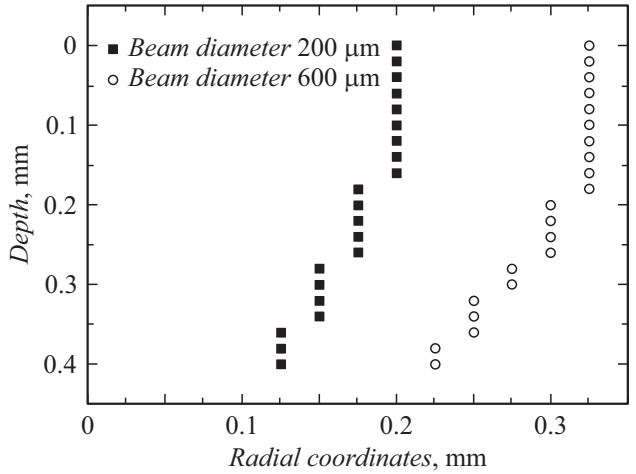


Рис. 3. Координаты точек, температура которых превысила 75°C при импульсном нагреве в тех же условиях, что и на рис. 2.

В принципе с помощью моделирования мы можем определить профиль границы температурного поля, достигшей заданной величины. Границы области, где температура образца достигает значений выше 75 °C, приведены на рис. 3.

Обратим внимание на то, что эти границы при импульсном нагреве превышают размеры лазерного пучка, причем тем сильнее, чем меньше диаметр пучка. Этот факт естественным образом объясняется передачей тепла из перегретой центральной зоны на прилегающие более холодные области.

Таким образом, в настоящей работе представлены результаты экспериментов, направленных на целевую модификацию кожи локальным воздействием импульсного лазерного излучения с длиной волны 1560 nm. Измерения пропускания луча через образец кожи и диафрагмы показали необходимость учета вклада рассеяния света. При помощи интегрирующей сферы определены коэффициенты рассеяния и фактор анизотропии, которые использовались для вычисления светового поля методом Монте-Карло и затем для решения нестационарной тепловой задачи с распределенными источниками тепла. Оценены значения пороговых мощностей, при которых коагуляция образца происходит на всю глубину. Также рассчитаны геометрические границы области, в которой происходит коагуляция ткани при диаметрах лазерного пучка 200 и 600 μm. Показано, что размеры зоны коагуляции могут существенно превышать размеры лазерного пятна. Модельные и экспериментальные результаты показали хорошее согласие. Полученные результаты могут быть использованы для планирования лазерных лечебных процедур, подобных фракционному термолизу.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦ „Курчатовский институт“ в части оптических измерений и математического моделирования, а также в рамках государственного задания АААА-А21-121011990019-4 в части измерений объема коагулированной ткани.

Соблюдение этических стандартов

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] J.D. Sherrill, D. Finlay, R.L. Binder, M.K. Robinson, X. Wei, J.P. Tiesman, M.J. Flagler, W. Zhao, C. Miller, J.M. Loftus, A.B. Kimball, C.C. Bascom, R.J. Isfort, PLoS One, **16** (11), e0260095 (2021). DOI: 10.1371/journal.pone.0260095
[2] Z. Al Timimi, A.F. Al-Rubaye, D.M. Diwan, Irish J. Med. Sci., **94**, 923 (2025). DOI: 10.1007/s11845-025-03942-3
[3] J.D. Lee, M.J.M. Oh, *Lasers in dermatology: parameters and choice* (Springer Singapore, Singapore, 2022). DOI: 10.1007/978-981-19-7568-4
[4] M.A. Ansari, M. Erfanzadeh, E. Mohajerani, J. Lasers Med. Sci., **4** (3), 99 (2013).
[5] L. Kou, D. Labrie, P. Chylek, Appl. Opt., **32** (19), 3531 (1993). DOI: 10.1364/AO.32.003531
[6] I.Z. Nagy, V.N. Tóth, F. Verzár, Connect. Tissue Res., **2** (4), 265 (1974). DOI: 10.3109/03008207409152255
[7] P. Kronick, B. Maleeff, R. Carroll, Connect. Tissue Res., **18** (2), 123 (1988). DOI: 10.3109/03008208809008064
[8] А.В. Кондюрин, А.П. Свиридов, М.В. Обрезкова, В.В. Лунин, ЖФХ, **83** (8), 1575 (2009). [A.V. Kondyurin, A.P. Sviridov, M.V. Obrezkova, V.V. Lunin, Russ. J. Phys. Chem., **83** (8), 1405 (2009). DOI: 10.1134/S0036024409080275].
[9] N. Ignatieva, O. Zakharkina, A. Dadasheva, A. Shekhter, A. Sviridov, V. Lunin, J. Biophoton., **12** (12), e201960024 (2019). DOI: 10.1002/jbio.201960024
[10] S.S. Chen, N.T. Wright, J.D. Humphrey, J. Biomech. Eng., **120** (3), 382 (1998). DOI: 10.1115/1.2798005
[11] P.B. Wells, S. Thomsen, M.A. Jones, S. Baek, J.D. Humphrey, Biomech. Mod. Mechanobiol., **4** (4), 201 (2005). DOI: 10.1007/s10237-005-0002-1