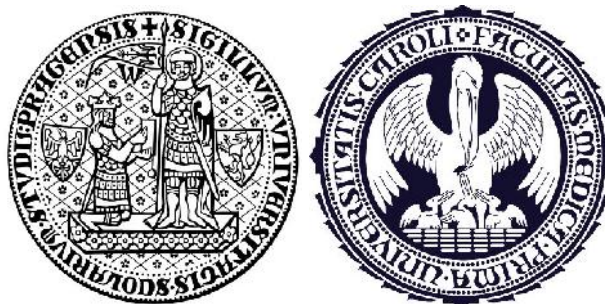


Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Postgraduální doktorské studium biomedicíny

Obor: Lékařská biofyzika



MUDr. Eva Remlová

**BIOLOGICKÁ ODEZVA TKÁNĚ NA INTRACELULÁRNÍ ÚROVNI NA
RŮZNÉ FYZIKÁLNÍ PARAMETRY LASERU**

*Response of the tissue at intracellular level to various physical lasers
parameters*

Dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Leoš Navrátil, CSc.

Praha 2011

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli prof. MUDr. Leoši Navrátilovi, CSc. za pomoc a odborné vedení. Velký dík patří Ing. Janě Vránové, CSc. za její volný čas a pomoc při statistickém zpracování výsledků. Děkuji také prof. MUDr. Taťáně Dostálové, DrSc., PhD., MBA a doc. MUDr. Jozefu Rosinovi CSc. za pomoc a podporu. Obětavá spolupráce a podnětné připomínky všech výše jmenovaných byly pro mě velmi cenným přínosem.

MUDr. Eva Remlová

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, dne 31. 8. 2011

MUDr. Eva Remlová

Obsah

1. Úvod	1
1.1. Historie použití laserů v medicíně	1
1.2. Fyzikální podstata	4
1.3. Využití laserů	6
2. Interakce laserového záření s biologickou tkání	10
2.1. Interakce laserového záření s biologickou tkání na molekulární úrovni	10
2.1.1. Energetické stavy molekul	10
2.1.2. Absorpce fotonu molekulou	11
2.1.3. Deexcitace	12
2.2. Typy interakcí mezi laserovým zářením a biologickou tkání	13
2.2.1. Typy interakcí	13
2.2.2. Výběr mechanismu interakce	16
2.3. Fotochemická interakce	17
2.4. Fototepelná interakce	18
2.4.1. Ohřev tkání	18
2.4.1.1. Rozložení tepla: kontinuální záření	20
2.4.1.2. Rozložení tepla: pulzní záření	20
2.4.1.3. Nárůst teploty	21
2.4.1.4. Vedení tepla	22
2.4.1.5. Difuzní rovnice	22
2.4.1.6. Rovnice přenosu tepla v živých organizmech	23
2.4.1.7. Řešení tepelné disperzní rovnice	24
2.4.1.8. Tepelná hloubka vniku	25
2.4.1.9. Tepelná doba relaxace	26
2.4.2. Účinky zvýšené teploty na tkáň	26
2.4.2.1. Složení tkání	26
2.4.2.2. Teplotní účinky	27
2.4.2.3. Hypertermie: integrál poškození	27
2.4.2.4. Arrheniova rovnice: kinetika denaturace	29
2.4.2.5. Vaporizace tkání	30
2.4.2.6. Řezání CO ₂ laserem	31
2.5. Fotoablace	32
2.5.1. Práh fotoablace	33
2.6. Ablace indukčně vázaným plazmatem a fotodisrupce	34
2.6.1. Optické poškození tkáně	34
3. Využití laserů v medicíně	36
3.1. Komplikace laserové terapie	41
3.2. Lasery používané v ambulanci AVE LASER CENTRUM	42
3.2.1. Erbiový laser Er: YAG BEAUTYLAS	42
3.2.2. PDL Laser Candela V-beam Perfecta	43
3.2.3. Alexandritový laser Candela GentleLASE	44
3.2.4. Terapeutický laser MAESTRO CCM	45

4. Cíle výzkumu	47
5. Výsledky.....	47
5.1. Využití při léčbě hemangiomů, výsledky vyhlazování jizev po popálení u dětí, léčba akné, bradavic, růže a ohně	47
5.1.1. Hemangiomy	47
5.1.1.1. Diagnostika a klinický obraz	47
5.1.1.2. Terapie	49
5.1.1.3. Výsledky	49
5.1.2. Popáleniny	51
5.1.2.1. Rozdělení popálenin	51
5.1.2.2. Jizvy	51
5.1.2.3. Terapie	52
5.1.2.4. Výsledky	53
5.1.3. Akné, Rosacea, Verrucae, Naevus flammeus	54
5.1.3.1. Akné	54
5.1.3.2. Rosacea	55
5.1.3.3. Verrucae	56
5.1.3.4. Naevus flammeus	57
5.2. Vyhodnocení úspěšnosti léčby	58
5.2.1. Specifikace zadání	58
5.2.2. Statistické metody	59
5.2.2.1. Mannův-Whitneyův U-test	59
5.2.2.2. Kruskal-Wallisova ANOVA	60
5.2.3. Výsledky	61
6. Diskuse	78
7. Závěr	79
8. Literatura	80
9. Publikace a konference autora	86

1. ÚVOD

1.1 Historie použití laseru v medicíně

V roce 1900 německý profesor teoretické fyziky Max Karl Ernest Ludwig Planck (1858- 1947) přichází s hypotézou, že světlo je tvořeno malými částicemi energie – tzv. kvanty. Energie každého kvanta je úměrná kmitočtu záření. Podle M. Plancka má světlo dvojaký charakter – vlnový a korpuskulární. Planckova kvanta energie byla později nazvána fotony. Fotony letí prostorem a při srážce s jinou částicí se chovají jako částice. Mezi sebou fotony interferují jako vlny. Planckova hypotéza však nevysvětlovala principy vyzařování a pohlcování záření atomy. Oba tyto principy v roce 1912 – 1913 vysvětlil Niels Bohr, který vypracoval planetární model vodíku a poukázal na to, že přeskočí-li elektron z jedné dráhy na druhou, může atom získat nebo ztratit energii v podobě elektromagnetického záření. Energie atomu se změní právě o vyzářené nebo pohlcené kvantum.

Historie laseru začíná v roce 1917, kdy Albert Einstein ukázal, že kromě spontánní emise a absorpce musí existovat ještě stimulovaná emise [1]. Další krok směrem k vynálezu laseru učinil ruský fyzik V. A. Fabrikant, který v roce 1939 poukázal na možnost použití stimulované emise k zesilování elektromagnetického záření procházejícího prostředím. Později v roce 1951 spolu s M. M. Vudynským a F. A. Butajevovou vypracovali metodu zesilování elektromagnetického záření (ultrafialového, viditelného, infračerveného a pásma rádiových vln) založenou na tom, že záření prochází prostředím, ve kterém je vytvořen nerovnovážený stav. Poprvé byla tato myšlenka realizována pro zesílení záření v mikrovlnné oblasti – v roce 1952 ruští fyzikové N. G. Basov a A. M. Prochorov [2] uvádějí na konferenci o radiospektroskopii MASER (molekulární svazkový generátor). Prakticky současně byla vyjádřena myšlenka použití stimulované emise milimetrových vln americkým fyzikem Ch. H. Townesem. V roce 1954 byl sestrojen první molekulární generátor atd.

V roce 1962 byly masery uvedeny i v České republice, o rok později se objevily i lasery.

Od roku 1961 pronikají lasery do medicíny. Poprvé použil rubínový laser v oftalmologii [3] Ch. J. Campbell a brzo po něm L. Goldman v dermatologii [4]. Rubínový laser byl přínosem pro terapeutické účely v dermatochirurgii a onkologii. Polynyiho první zkušenosti s CO₂ laserem rozvinul do praxe před více než 40 lety průkopník laserové

chirurgie profesor Issac Kaplan [5]. Argonový a Nd: YAG laser se uplatnily v medicíně až s rozvojem přenosu paprsku světlovodným vláknem. Nd:YAG laser byl poprvé použit k vytvoření laserové energie Geisicem a spol. v roce 1964. Průkopníky jeho rozvoje v medicíně byli Nath a Kiefhaber. CO₂ laser na miliwattové úrovni byl dostatečný k ablaci většiny materiálů, včetně biologických tkání – první aplikaci provedl Pathel. Barvivový laser na bázi organických barviv byl poprvé vyzkoušen Sorokinem a Lankardem v roce 1966. Jejich následovníci prokázali, že může být nabídnuto mnoho rozmanitých barev od ultrafialové až po infračervenou vlnovou délku. První, kam lasery pronikly, bylo oční lékařství. Oko je propustné pro světlo a oftalmogové už byli zvyklí na práci se světlem a optikou. Předtím používali koherentní světelný zdroj k fixaci sítnice, takže záměna tohoto světla za laser byl logickým krokem. Na konci 60. let se tímto problémem zabýval Zweng. Lash a Maser představují první dermatologické studie, zkoumající užití laseru k léčbě rozmanitých kožních lézí, protože kůže byla snadno dosažitelným cílem. Koncem 60. let maďarský lékař E. Mester (průkopník rozvoje stimulačních, neinvazivních laserů), představuje nejenom teoretické práce, ale i praktické využití [6]. Koncem 70. let přichází CO₂ laser s kontinuální vlnou, čím začínají lasery nacházet své uplatnění i ve všeobecné chirurgii. Kontinuální mód CO₂ laseru, zajišťující současně řezání a kauterizaci, umožnil operace i vysoce vaskularizovaných oblastí. Výhody nekontaktního řezu jsou neocenitelné u neurochirurgických operací CNS.

Začátkem 80. let využití laserů v medicíně výrazně změnilo 2 události:

1. představení kontrolované studie Noem a spol.: využití argonového laseru k léčbě naevus flammeus;
2. studium fyzikálních, chemických a biologických vlastností jednotlivých tkání, použité ke správnému určení laserových parametrů, včetně vlnové délky, šířky, pulsu atd. až k dosažení optimálního terapeutického efektu.

90. léta jsou charakteristická rychlým rozvojem optiky, spektroskopie, užitím světla a velkými technologickými pokroky.

1. laser – vysoká prostorová koherence, laditelnost, schopnost vytvářet silný energetický impuls;

2. vývoj optických vláken, která mohou „doručit“ vysoké dávky laserového světla o vysoké intenzitě do vzdálených míst na povrchu i uvnitř těla;
3. využití rychlých, velkokapacitních počítačů k analýze dat a řízení lékařských nástrojů v reálném čase.

Toto umožnilo minimálně invazivní léčbu ve formě endoskopů, katétrů, laparoskopů, hypotermických jehel apod. V současnosti si laser našel uplatnění téměř ve všech oblastech medicíny – v léčbě, ve výzkumu, a je neustále dynamicky se rozvíjející oblastí.

Hlavní mezníky v historii a vývoji laserové techniky jsou následující [7]:

- **1917** Albert Einstein předpovídá, že kromě absorpce a emise záření existuje ještě **stimulovaná emise**, při níž dochází k zesílení světla, procházejícího látkou.
- **1928** Poprvé byla stimulovaná emise pozorována R. Ladenburgem a H. Kopfermannem v plynu.
- **1940** Sovětský fyzik V. A. Fabrikant navrhl využít stimulovanou emisi v plynném prostředí k zesilování světla.
- **1947** Britsko-maďarský vědec D. Gabor vypracoval teorii holografie.
- **1954** Sovětské fyzikové N. G. Basov a A. M. Prochorov a americký fyzik Ch. H. Townes položili základy novému fyzikálnímu oboru - kvantové elektronice. Byl sestrojen první maser, ve kterém docházelo ke vzniku mikrovlnného záření molekul čpavku. V následujících letech vznikla řada maserů různých typů.
- **1958** Američtí vědci A. L. Schawlow a jeho švagr Ch. H. Townes publikovali v odborném časopise Physical Review článek "Infračervený a optický maser". V něm navrhli konstrukci optického kvantového generátoru, později nazvaného "laser".
- **1960** Theodore H. Maiman, pracující v laboratořích firmy Hughes Aircraft, zkonstruoval první laser, jeho aktivní látkou byla tyčinka ze syntetického rubínu. Vydával červené světlo o vlnové délce 694,3 nanometrů.
- **1960** A. Javan, W. Bennett a D. Herriott sestrojili první plynový laser, aktivní látkou byla směs hélia a neonu. Vlnová délka jeho světla byla 1150 nanometrů. Začal bouřlivý vývoj různých typů laserů a hledání jejich využití.
- **1962** Vznikly první polovodičové lasery, využívající přechodu p-n (R. Hall). Musely být chlazeny kapalným dusíkem na teplotu -196 °C.

- **1964** Basov, Prochorov a Townes obdrželi Nobelovu cenu za fyziku jako ocenění zásluh o vznik a rozvoj kvantové elektroniky.
- **1964** Kumar Patel sestrojil první výkonný laser s oxidem uhličitým jako aktivní látkou, vlnová délka záření 1060 nanometrů.
- **1964** První neodymový laser (Nd:YAG) uvedli do provozu J. F. Geusic a R. G. Smith.
- **1965** První chemický laser, ve kterém dochází k buzení energií, uvolněnou při chemických reakcích.
- **1965** Pomocí laserového světla byly vytvořeny první hologramy (D. Gabor a další).
- **1967** E. Mester – první publikace o stimulačním účinku neinvazivních laserů
- **1971** I. Hayashi a M. Panish zkonstruovali první polovodičový laser, pracující při pokojové teplotě.
- **1975** První excimerový laser s excitovanými molekulami xenonu.
- **1983** V USA byl uveden do provozu první excimerový laser, pracující v ultrafialové oblasti (vlnová délka 193 nanometrů).

1.2 Fyzikální podstata

Laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* – zesilování světla stimulovanou emisí záření) je moderním zdrojem koherentního (všechny vlny mají stejnou frekvenci a fázi, jsou tzv. **uspořádané**), polarizovaného (vektor intenzity E elektrického pole je vždy kolmý na směr, kterým se vlnění šíří a **kmitá stále v jednom směru**), monochromatického (s „jednou“, přesně definovanou vlnovou délkou, resp. velmi úzkým rozsahem vlnových délek, tzv. **jednobarevné**) elektromagnetického záření s malou divergencí, nejčastěji v optické oblasti elektromagnetického spektra, využívající jevu stimulované emise záření aktivních částic (atomů, molekul, iontů, elektronů) buzených vnějším zdrojem energie. Laserové záření vzniká konverzí některého druhu energie (např. elektrické, optické, chemické) na elektromagnetické záření. Účinnost této přeměny je od zlomku procenta do více než 80 procent, podle typu laseru.

Lasery využívají **jevu stimulované emise** záření aktivních atomů, molekul, iontů nebo elektronů **buzených vnějším zdrojem** energie [8]. Vynálezem laseru získala věda nový zdroj světla s vlastnostmi, kterých by u klasických světelných zdrojů (žárovky, zářivky, výbojky) nebylo možné dosáhnout. Lasery jsou založeny na stimulované emisi fotonů ze soustavy, ve které většina atomů má elektrony v excitovaném stavu a na stejné hladině energie.

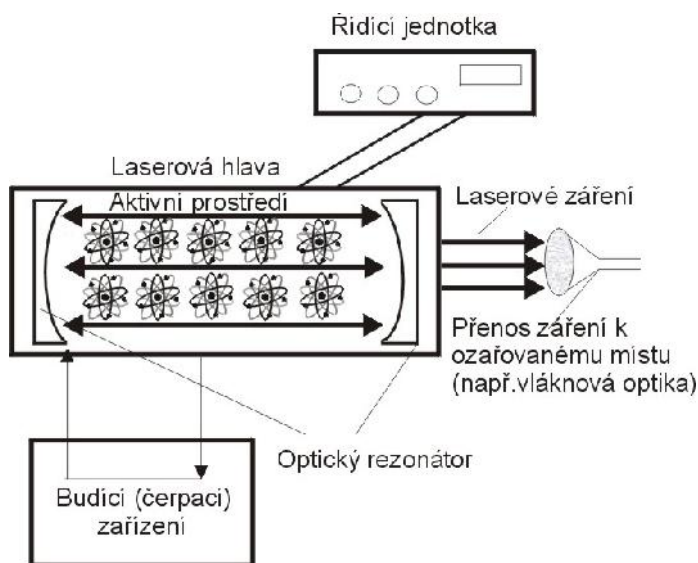
Obecný princip různých typů laserů je stejný: laser obsahuje **aktivní prostředí**, kterým může být pevná látka s příměsemi (krystal, sklo, polovodič), kapalina, plyn nebo směs plynů (CO₂, He + Ne), **optický rezonátor**, který je tvořen obvykle zrcadly, mřížkami, světlovodem a **zdroj čerpací energie** (proud elektronů, výbojky, jiné lasery, chemická reakce). Základem laserového přístroje je laserová hlava, kde je v optickém rezonátoru umístěno aktivní prostředí, ve kterém vzniká stimulovaná emise záření, budící (čerpací) zařízení a řídicí jednotka (obrázek 1).

Hmotné prostředí může záření buď **pohlcovat** (absorbovat), anebo **vysílat** (emitovat). Zatímco **absorpce** záření je **jednoznačná záležitost**, **emise** může být buď **samovolná** (spontánní), nebo **vynucená** (indukovaná, stimulovaná).

Atom se nachází v určitém energetickém stavu. Říkáme, že je na určité **energetické hladině** (největší pravděpodobnost má stav, ve kterém je celková energie atomu nejnižší). Svůj energetický stav atom mění **nabytím energie** a přechází do stavu **vyšší energetické hladiny** (např. působením elektrického pole při výboji v trubici se zředěným plynem atom získává určitou energii a proto přechází do excitovaného stavu). Zde ovšem nesetrvá dlouho, ale vrací se zpět do stavu s nižší energií. Přechod atomu do nižšího energetického stavu je spojen s **vyzářením energie** ve formě fotonů elektromagnetického záření. Tyto změny energie probíhají nahodile a označujeme je jako **samovolnou** (spontánní) **emisi fotonů** elektromagnetického záření. Za určitých podmínek (např. při elektrickém výboji ve speciální trubici obsahující směs helia a neonu za sníženého tlaku) lze dosáhnout toho, že se atomy udrží ve vzbuzeném stavu delší dobu a do nižšího energetického stavu přecházejí všechny vzbuzené atomy prakticky současně po vnějším podnětu (tzv. **vynucená emise**). Při vynucené emisi dopadá na atom kvantum elektromagnetického záření. Zastihne-li **atom na nízké energetické hladině**, může být atomem pohlceno a atom přeskočí na horní energetickou hladinu, hovoříme o absorpci. Setká-li se elektromagnetické záření s **atomem na vysoké energetické hladině**, může ho donutit vyzářit další kvantum energie (elektromagnetického záření) a přejít na spodní hladinu. Pak hovoříme o indukované emisi, tedy o fyzikálním jevu, na kterém je činnost laserů založena a jehož existenci předpokládal již Albert Einstein.

K praktickému využití vynucené emise bylo nutné vytvoření nerovnovážného stavu, kdy bude více atomů na vyšších energetických hladinách než na hladinách nižších. V takovém případě hovoříme o **populační inverzi**. Druhým technickým problémem bylo najít způsob, jak udržet paprsek uvnitř aktivního prostředí dostatečně dlouhou dobu, aby stihl nabrat co nejvíce energie vynucených emisí. Pomohla optika a nabídla dvě rovnoběžná zrcadla, tzv. rezonátoru, mezi která se vloží aktivní prostředí.

Vznikající záření má pak nejen velkou intenzitu, ale i další vlastnosti významné pro praktické využití. Záření laseru je soustředěno do velmi úzkého svazku paprsků a vzhledem ke značné intenzitě záření je laserovým paprskem přenášena také velká energie.



Obrázek 1. Schéma laseru

Lasery můžeme rozdělit podle různých hledisek:

- podle vlnové délky vyzařovaného elektromagnetického vlnění na infračervené, ultrafialové lasery a lasery pracující ve viditelné oblasti elektromagnetického vlnění;
- podle možnosti měnit vlnovou délku emitovaného záření na lasery s pevnou vlnovou délkou a lasery, s proměnnou vlnovou délkou;
- podle časového průběhu stimulované emise na pulzní lasery, s modulovaným výkonem a lasery kontinuální, kde je intenzita světla v čase konstantní;
- podle skupenství aktivního prostředí se lasery dělí na pevnolátkové, kapalinové a plynové a plazmatické. Zvláštní třídu tvoří tzv. lasery polovodičové.

1.3 Využití laser

Laser se za dobu padesáti let od svého vzniku uplatnil v celé řadě oborů. Jako přístroj se dnes využívá v medicíně, v mnoha odvětvích výzkumu, při různých technologických operacích ve výrobě, v astronomii, geodesii, metrologii, chemii, biologii, spektroskopii, v energetice, ve výpočetní technice, v technice spojů, ve vojenské technice, v automatizaci a

dálkovém řízení. V laboratorní praxi i v klinickém výzkumu se využívá jako zdroj záření v mnoha optických přístrojích. Některé z těchto aplikací jsou popsány níže.

Laser v mikroelektronice

Od počátku sedmdesátých let se začaly objevovat technologie jako doladování jmenovitých hodnot odporů, kondenzátorů a elektrických filtrů [9].

Laser v astronomii, geodézii, geofyzice a ekologii

Velmi brzy po uvedení laseru do provozu byl laser použit v systému radaru jako vysílač záření. Pomocí tohoto tzv. laserového radaru jsou měřeny vzdálenosti k objektům, které odraží laserové záření zpět do směru přicházejícího svazku. Dosah laserového radaru je do 20 km při měření pozemních objektů, oblačnosti, letadel, lodí apod.

Vzdálenost 10 000 km byla dosažena při měření umělých družic Země a nejvzdálenější objektem měřeným laserovým radarem jsou laserové odražeče umístěné povrchu Měsíce (asi 380 000 km). Přesnost měření vzdálenosti laserovým radarem je dána dosažitelnou přesností změření časového intervalu, geometrií měřeného objektu, konstrukcí a umístěním odražečů, přesností matematického modelu šíření optického záření atmosférou. Hodnota přesnosti se pohybuje od několika decimetrů při měření objektu bez odražečů, až několika milimetrů při měření umělých družic Země.

V geodézii byl vyhodnocením dlouhodobých laserových družicových měření určen tvar zemského geoidu s přesností na 10 cm.

V geofyzice umožnila tato měření určit vzájemný pohyb částí pevnin (vzájemný pohyb kontinentů dosahuje rychlosti 4 až 5 cm za rok). Výsledky těchto měření jsou významné také pro seismologii.

V ekologii se laserové radary používají k měření znečištění ovzduší, vody apod. [10].

Laser ve výpočetní technice

Pro tuto aplikaci se využívají z důvodů malých rozměrů především polovodičové lasery. Do oblasti výpočetní techniky patří např. laserová tiskárna, která je dnes součástí vybavení výpočetních center. Dále je to čtení disků a zapisování na ně. Laserová tiskárna je zařízení používající laserové záření k vytvoření obrazce, který má být tištěn, tj. přenášen z rotujícího válce na papír [11].

Laserová spektroskopie

Spektrum každé látky je složeno ze souboru charakteristických spektrálních čar, který studovanou látku jednoznačně určuje. Obor fyziky zaměřený na studium spektra, která vzniká v procesu interakce mezi látkou a elektromagnetickým vlněním, se nazývá spektroskopie. Prostřednictvím spektroskopie lze studovat kvantové přechody a usuzovat na energetické hladiny atomů, molekul a makroskopických soustav, a tak získat informaci o stavbě a vlastnostech látky (např. lze analyzovat prvky obsažené ve vzorku látky, získat informace o složení hvězd a galaxií atd.) [12].

Laserové svařování

Svařování laserem téměř vytlačilo obloukové svařování. Výhodou sváření laserem je absence fyzického kontaktu s elektrodou, lokalizovaný ohřev a rychlé chladnutí, schopnost svářet součástky v dané atmosféře nebo zatavené uvnitř opticky transparentního materiálu. Vlastní svár je bezporézní a neobsahuje cizí příměsi [13].

Laserové vrtání

Laserové vrtání je založeno na odstraňování materiálu odpařováním. Intenzita svazku musí být vyšší než u svařování, a proto se pro tento účel používá impulsních laserů s délkou impulsu menší než 1ms [14].

Laserové řezání

Laserového řezání se využívá v případě, kdy je nutné oddělit materiál s malou tepelnou vodivostí [15].

Využití laseru při obrábění

Pro výrobu miniaturních součástek se vyžadují procesy obrábění, které garantují vysokou přesnost a výkonnost.

Lasery v medicíně

Významu laserů v medicíně je věnována celá další kapitola, proto tady uvádíme pouze základní obecné údaje. První klinickou aplikací laseru bylo jeho použití v očním lékařství. Ostrý svazek (proužek) laserových paprsků pro chirurgické zákroky se používá jako skalpel. Při využití laseru v léčbě jiných zhoubných nádorů je nutno použít nesrovnatelně větší energie než v očním lékařství, kde postačují v jednom pulsu desetiny až setiny J. Laser se využívá i v

zubním lékařství k odstranění zubního kamene a k nahrazení klasické zubní vrtačky. Laser pronikal a proniká postupně i do dermatologie, plastické chirurgie, neurochirurgie, otorinolaryngologie, urologie, gynekologie a dalších. Zájem lékařů o tento druh optického záření je pochopitelný a plyne z unikátních vlastností laserového záření, které umožňují oproti původním zdrojům světla lepší přesnost zásahu a větší účinek daný mnohonásobným výkonem laserového světla.

Kromě terapeutického využití má v medicíně laser uplatnění i v diagnostice. Používá se hlavně k intenzivnímu osvětlení vnitřních orgánů. Monochromatické světlo se s úspěchem přenáší pomocí ohebných světlovodů, které se zavádějí přirozenými otvory do hloubky lidského organismu. Jedním z nejdůležitějších diagnostických uplatnění laseru je jeho použití při objevování rakoviny plic v počátečním stadiu [16,17].

2. Interakce laserového záření s biologickou tkání

2.1 Interakce laserového záření s biologickou tkání na molekulární úrovni

Abychom lépe pochopili mechanismus interakcí, ke kterým dochází při působení optického paprsku (fotonů) na biologickou tkáň, je potřebné znát děje, ke kterým dochází při této interakci, tj. mechanismus absorpce fotonů molekulami tkání a mechanismy excitace a následné deexcitace elektronů.

Je potřebné mít na paměti, že:

- Každá tkáň se skládá z různých typů molekul (proteiny, lipidy, sacharidy, voda, DNA atd.);
- Různé molekuly absorbují fotony různých vlnových délek;
- Různé molekuly se po absorpci optického záření chovají různě [18, 19, 20, 21, 22].

2.1.1 Energetické stavy molekul

Stavy molekul jsou určeny nejen jejich elektronovou konfigurací, ale také jejich vzájemným pohybem. Celková energie molekuly se skládá z rotační, vibrační a translační kinetické energie, elektronové energie a spinového stavu jader. Poslední jmenovaný energetický stav se neuplatňuje při interakci mezi laserovým zářením a biologickou tkání.

Rotační kinetické energetické hladiny vznikají v důsledku rotace molekuly jako celku. Přechody mezi jednotlivými rotačními stavy jsou provázeny pohlcením nebo vyzářením fotonu. Vlnové délky se obvykle pohybují v mikrovlnné oblasti v intervalech od 0,1 mm do 1 cm.

Kmitání jednotlivých atomů molekuly je definováno tzv. **vibračními** kinetickými energetickými hladinami. Vibrace víceatomové molekuly je složitá forma kmitavého pohybu, kterou můžeme popsat jako součet jednoduchých harmonických pohybů, tzv. *normálních vibrací*. Při normální vibraci všechny atomy v molekule vibrují se stejnou frekvencí a ve stejné fázi ale s různými amplitudami. Vibrační energie vazby, případně celé molekuly, se

podle zákonů elektrodynamiky a kvantové mechaniky může zvýšit absorpci elektromagnetického záření jen tehdy, mění-li se při vibraci její *dipólový moment* (vektor, jehož velikost závisí na distribuci kladných a záporných nábojů v molekule). Tyto vibrace se označují jako aktivní v infračerveném spektru (do 1 mm). Nedochozí-li k jeho změně (např. u molekul, jako je O₂, N₂, Cl₂, které dipólový moment nemají a ani se v důsledku symetrie molekuly při vibraci nemění), molekula neabsorbuje infračervené záření a nemůže tedy dojít k přechodu do vyššího vibračního stavu. Přechody mezi jednotlivými vibračními stavy jsou provázány pohlcením nebo vyzářením fotonu. Vzdálenosti mezi jednotlivými vibračními hladinami jsou o něco větší než vzdálenosti mezi rotačními energetickými hladinami.

Elektrony, které jsou sdíleny jednotlivými atomy molekuly, mají **elektronovou energii**, a mohou se nacházet, v závislosti na energii, nejen v základním, ale také v excitovaném stavu. Při přechodu mezi jednotlivými energetickými stavy získáváme elektronové spektrum. Energetické hladiny, které obsazují jednotlivé elektrony, jsou od sebe vzdáleny mnohem více než při rotačních nebo vibračních pohybech. Elektronové přechody jsou velmi rychlé. Předpokládá se, že při nich nedochází ke změně vzdáleností jader atomů v molekule, tzn. vibrační a rotační pohyby atomů v molekule můžeme při elektronových přechodech zanedbat. Po absorpci energie dochází k excitaci molekuly. Její návrat z excitovaného stavu může probíhat různými způsoby. Molekula v excitovaném stavu může ztratit veškerou energii, čímž elektron přejde přímo do svého základního stavu. Molekula v excitovaném stavu však může ztratit pouze část své energie (např. srážkami s jinými molekulami), takže excitovaný elektron se posune na nižší hladinu [23].

2.1.2 Absorpce fotonu molekulou

Elektromagnetické záření se dělí do různých oblastí v závislosti na vlnové délce (frekvenci), má však společné to, že vždy jde o tok fotonů, který se liší pouze energií. Energie fotonu je svázaná s frekvencí záření jednoduchým vztahem:

$$E = hf = \frac{hc}{\lambda}$$

Kde $h = 6.626069 \times 10^{-34}$ Js je Planckova konstanta, f je frekvence záření, λ jeho vlnová délka a c je rychlost světla.

Rotační, vibrační a elektronové stavy molekul jsou kvantovány, přísluší jim diskrétní energie. Má-li molekula přejít z jednoho stavu do druhého (z nižšího do vyššího, nebo opačně), musí energetický rozdíl ΔE mezi oběma stavy souhlasit s energií fotonu, který je molekulou pohlcen nebo vyzáren $\Delta E = h\nu$. Nelze pozorovat žádný přechod, který by tuto podmínku nesplňoval. Není to však podmínka postačující: každý přechod má svou pravděpodobnost, která se makroskopicky demonstruje jako intenzita přechodu ve spektru. Přechody, které pozorujeme, označujeme jako povolené. Ostatním říkáme zakázané.

Jak bylo uvedeno výše, vzdálenosti mezi elektronovými energetickými hladinami jsou větší než vzdálenosti mezi vibračními hladinami a rotačními hladinami. To znamená, že nízkoenergetické fotony (s malou frekvencí) nemůžou způsobit přechody elektronů mezi různými energetickými stavy, ale pouze vibrační anebo (u ještě větších vlnových délek) rotační energetické přechody.

2.1.3 Deexcitace

Po excitaci (absorpci fotonu molekulou) se snaží daná molekula dostat se zpět do rovnovážného (stabilního) stavu, charakterizovaného minimální energií, přičemž se tak může dít dvěma způsoby – *zářivými a nezářivými přechody*. Zářivými přechody dochází během deexcitace k emisi světelného kvanta do okolí a tím obecně pozorujeme luminiscenci (patří k ní například fluorescence, zpožděná fluorescence a fosforescence). Mezi nezářivé přechody spadají jevy jako přeměna energie na teplo, vnitřní a mezisystémová konverze a další.

Fluorescence spolu s *fosforescencí* patří mezi luminiscenční jevy, které jsou nejčastěji způsobeny elektromagnetickým zářením v oblasti viditelného, popřípadě ultrafialového světla. Tyto dva jevy odlišuje jednak způsob, jakým tyto jevy nastávají a dále tzv. délka dohasínání. Doba dohasínání fluorescence trvá řádově 10^{-8} s, vnitřní konverze, která proběhne asi 10 000krát rychleji, je obecně dokončena ještě před emisí. Z tohoto důvodu nastává fluorescence nejčastěji z nejnižší energetické vibrační hladiny. Fosforescence vzhledem k fluorescenci je posunuta do vyšších vlnových délek (nižších energií).

Fotochemická reakce nastane v případě, kdy je energie fotonů dostatečně vysoká k tomu, aby došlo k přesunu elektronů v elektronovém obalu. Dělíme ji na primární fotochemický děj, při kterém dochází k fotodisociaci molekuly nebo přechodu molekuly do fotoaktivního stavu po absorpci fotonu o vhodné vlnové délce, a na následný sekundární děj,

který je charakterizovaný kvantovým výtěžkem reakce – poměr přeměněných molekul k počtu absorbovaných fotonů.

Ve fotoaktivním excitovaném stavu molekuly, kdy dochází k redistribuci absorbované světelné energie uvnitř tkáně, dochází ke kolizím mezi jednotlivými molekulami. Část vibrační energie excitované molekuly se přenáší na kolidující molekulu jako translační kinetická energie, která se v makroskopickém měřítku projeví nárůstem teploty a vede tedy k *fototermickým účinkům*.

Posledním mechanismem, kterým jsme se ještě nezabývali, ale který je z klinického použití laserů velmi důležitý, je *vznik plazmatu*. Pokud je energie laserového paprsku dostatečně vysoká a paprsek je dostatečně úzce fokusován, může jeho elektrické pole zrychlit volný elektron (tj. elektron, který není vázán k žádné molekule), tj. zvýšit jeho kinetickou energii natolik, že je schopen ionizovat kolidující molekulu, bez toho aby došlo k jeho navázání na tuto molekulu. Tímto způsobem vznikají dva volné elektrony, atd. Tato řetězová reakce vede k vzniku plazmatu, který definujeme jako kvazineutrální plyn nabitých (volné elektrony a ionty) a neutrálních částic, který vykazuje kolektivní chování. K tomu aby nedošlo k přerušení řetězové reakce, je nutné, aby intenzita elektrického pole toku fotonů byla dostatečně vysoká, tj. aby rychlost uvolňování elektronů byla vyšší, než rychlost s jakou dochází k jejich zpětné vazbě s ionty. Protože elektrony v plazmatu můžou nabývat jakékoliv energie (jejich energie není kvantována), plazma může absorbovat všechnu dopadající energii [24].

2.2 Typy interakcí mezi laserovým zářením a biologickou tkání

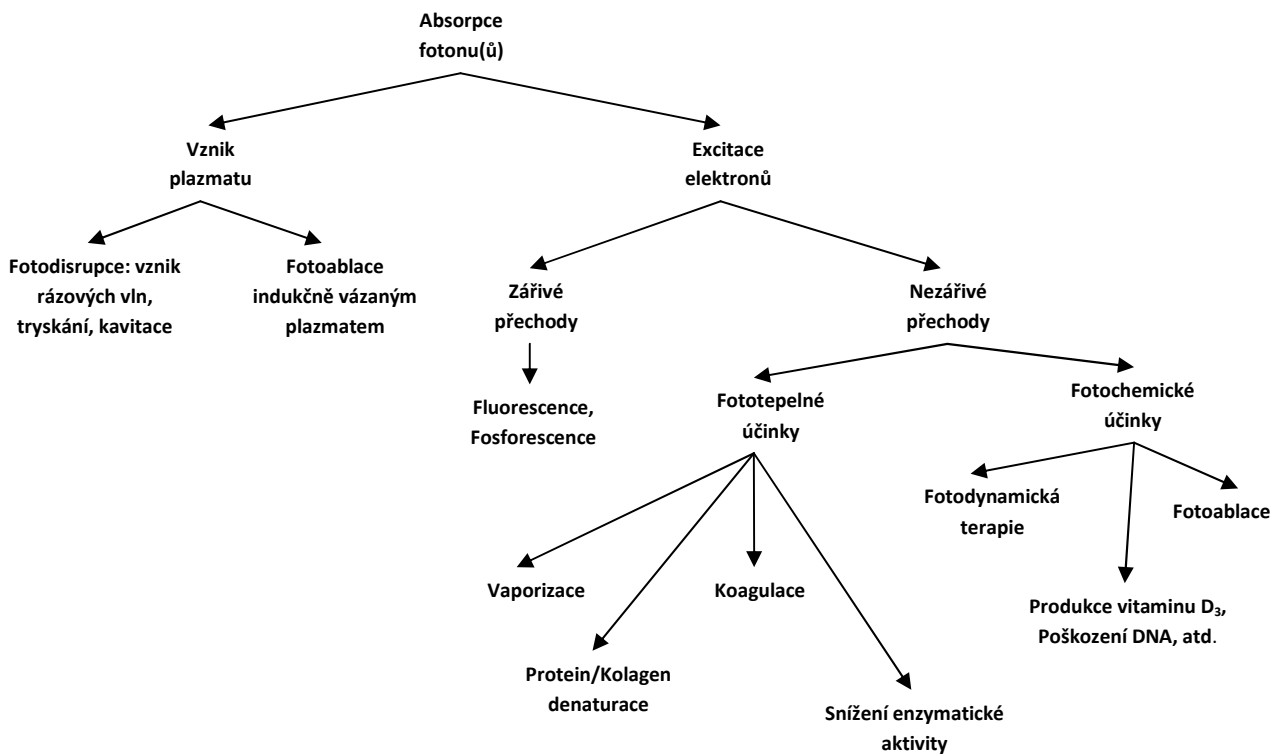
2.2.1 Typy interakcí

Při aplikaci laserů v medicíně dochází k různým typům interakcí mezi laserovým zářením a biologickou tkání organismu. Tato různorodost je dána jak strukturou tkání a vlastnostmi tkání, především optickými a tepelnými, tak i základními parametry laserového záření, a to vlnovou délkou, dobou expozice, množstvím vyzářené aplikované energie, výkonovou a energetickou hustotou paprsku a také velikostí plochy stopy paprsku.

V současné době rozeznáváme pět základních typů interakce laserového záření s biologickou tkání (obrázek 2):

1. *Fotochemická interakce.* Pokud molekula absorbuje foton s dostatečně vysokou energií, odevzdá tuto energii elektronům. Elektrony s vyšší energií snadněji překonají síly, které je vážou k jádru atomu. Takto excitované molekuly (molekuly s elektrony na vyšších energetických hladinách) snadněji reagují (dochází k výměně, nebo sdílení elektronů) s okolními molekulami. Fotochemické reakce hrají velmi významnou roli při *fotodynamické terapii* [25, 26, 27], která je založená na aplikaci fotosenzitivní látky, jež se po aplikaci hromadí přednostně v nejrychleji proliferujících (tedy nádorových) buňkách a po ozáření světlem určitého spektra způsobí smrt odpovídajících buněk. K fotochemickým reakcím dochází při nízkých výkonových hustotách (typicky $1\text{W}/\text{cm}^2$) a při dlouhých dobách expozice trvajících od milisekund až do kontinuálního záření. V mnoha případech se využívají vlnové délky viditelného spektra (např. Rhodamine Dye laser, 630 nm) kvůli dostatečné efektivitě a vysoké optické hloubce průniku.
2. *Fototepelná interakce.* Změna energie fotonů (absorbované chromofory, látkami odpovídajícími za absorpci elektromagnetického, v našem případě světelného záření) na tepelnou energii, ke které dochází v důsledku molekulárních vibrací a kolizí. Dochází k řadě tepelných efektů od tkáňové koagulace až po vaporizaci [28]. Využití v laserové chirurgii při přesném řezání tkání bez poškození okolí a zanesení případné infekce do rány.
3. *Fotoablace.* Absorpce vysokoenergetických ultrafialových (UV) fotonů elektrony, při které dochází k přechodu elektronů z nízkoenergetických vazebných molekulových orbitalů na energeticky vyšší nevazebné orbitály [29]. Tato absorpce způsobuje prudkou expanzi ozářeného objemu a odpaření tkáně z povrchu.
4. *Fotoablace indukčně vázaným plazmatem.* Využití při laserové kapsulotomii při kataraktě. Tento postup umožňuje otevřít čočkové pouzdro laserem a provést řezy čočkového jádra [30].
5. *Fotodisrupce.* Mechanické účinky, které vznikají jako průvodní jevy při tvorbě plazmatu – vznik bublin, kavitace, tryskání (jetting) a vznik rázových vln. Tyto

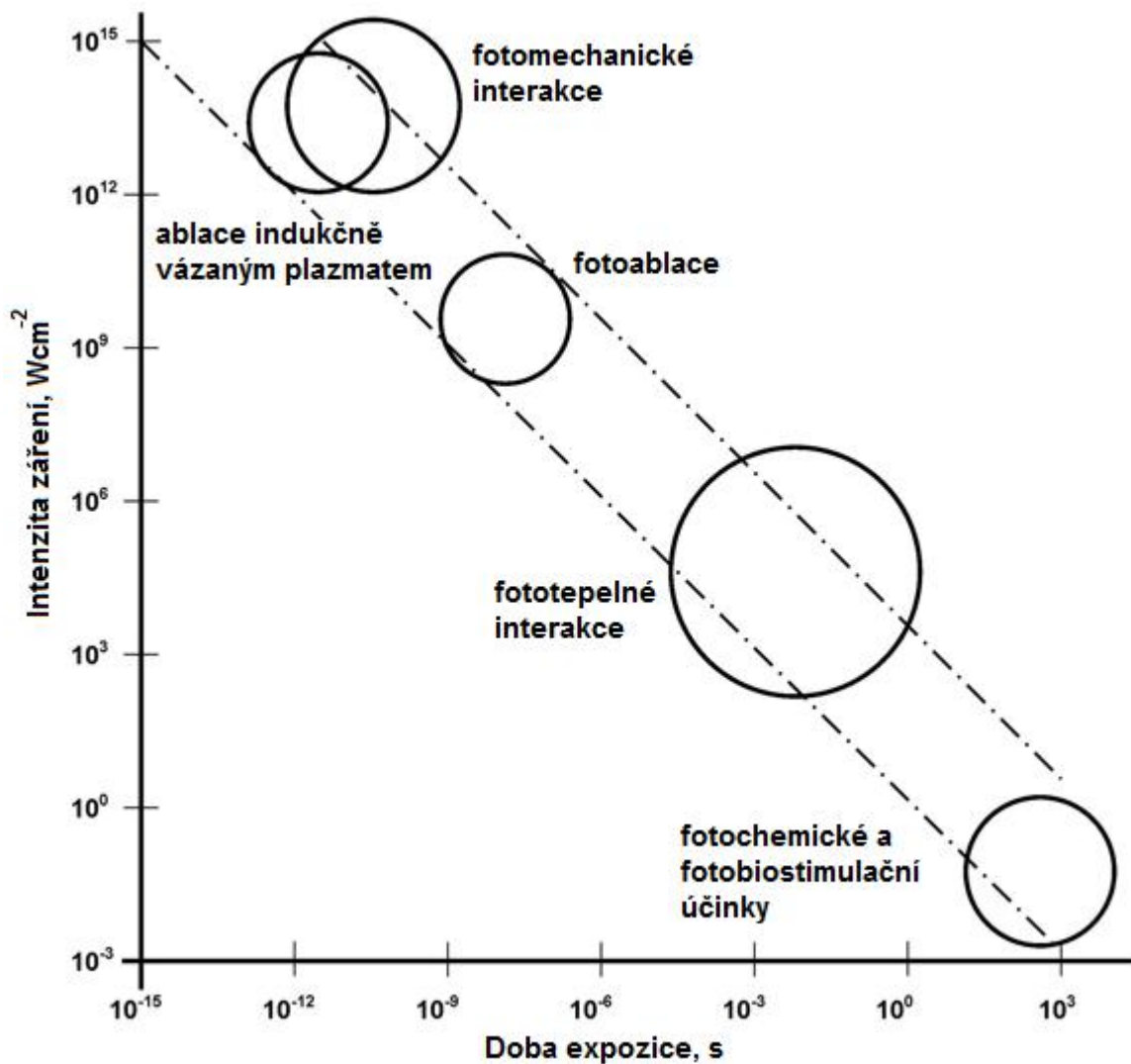
mechanizmy můžeme použít při litotrypsii – rozbíjení močových nebo žlučových kamenů [31].



Obrázek 2. Typy interakce laserového záření s biologickou tkání (převzato z [23])

Pro všech pět druhů interakcí je charakteristický společný rozsah vyzářené energetické hustoty (výkonová hustota působící po určitou dobu), který se pohybuje v rozmezí 1 Jcm^{-2} až 1000 Jcm^{-2} . Logaritmický graf popisující vzájemný vztah mezi výkonovou hustotou (W/cm^2) a délkou expozice vidíme na obrázku 3. Diagonální přerušované čáry zobrazují konstantní energetickou hustotu 1 J/cm^2 a 1000 J/cm^2 . Na základě tohoto grafu můžeme rozdělit časovou škálu do pěti různých oblastí: kontinuální záření, nebo záření s dobou trvání $> 1 \text{ s}$: *fotochemické účinky*; délka expozice kratší než 1 s a delší než $1 \mu\text{s}$: *tepelné účinky*; délka expozice v rozmezí $1 \mu\text{s}$ až 1 ns : *fotoablace* a nakonec při délce expozice $< 1 \text{ ns}$ dochází současně k *ablaci indukčně vázaným plazmatem* (při energetické hustotě 1 Jcm^{-2}) nebo k *fotodisrupci* (při 1000 Jcm^{-2}). Obrázek 3 nám dále demonstruje, že jakýkoliv typ interakce laserového záření a biologické tkáně je vyvolán přibližně stejnou energetickou hustotou laserového záření, a tedy, že rozhodujícím parametrem, který určuje, k jakému typu interakce dojde, je délka expozice. Dalším rozhodujícím faktorem je vlnová délka, která určuje

hloubku, ve které daný typ interakce proběhne. Jednotlivé typy interakce nemůžeme od sebe přísně oddělit [32].



Obrázek 3. Typy interakce laserového záření s biologickou tkání, vzájemný vztah mezi intenzitou záření a dobou expozice, které určují, který z pěti typů interakce dominuje (převzato z [23])

2.2.2 Výběr mechanismu interakce

Rozhodujícími faktory, které určují, který z pěti uvedených typů interakce bude dominantní v konkrétním případě, jsou:

1. Typ molekul, které tvoří danou tkáň.
2. Frekvence (vlnová délka) optického záření, tj. energie spojená s každým jednotlivým fotonem.
3. Výkonová hustota laseru.
4. Doba expozice, nebo v případě pulzního laseru opakující rychlost pulzů.

Zvolené základní parametry určují, která z pěti typů interakcí bude rozhodující (např. fotoablace vyžaduje UV záření, fotodisrupce vyžaduje velmi krátké pulzy, atd.), jejich pečlivým výběrem přesně definujeme požadovaný mechanismus interakce.

Hlavní předností laserového paprsku jako nástroje v medicíně jsou následující [33]:

- Laserové záření lze soustředit do nepatrného bodu a zaměřit přesně na určené místo, aniž by byla zasažena okolní tkáň.
- Vhodnou volbou výkonu laseru, hustoty energie, vlnové délky a doby, po jakou laserové záření působí, lze velmi operativně regulovat účinky a hloubku průniku laserového záření.
- V mnoha případech lze využít selektivnosti laserového záření – vhodnou volbou parametrů záření lze zajistit, že laser výrazně působí pouze na vybrané tkáni a okolí ponechá beze změny i při jejich zasažení. Navíc lze analýzou odraženého záření kontrolovat postup zákroku.
- Operace laserovým paprskem může probíhat zcela bezkontaktně a tkáň je účinky laserového záření desinfikována, takže se značně snižuje riziko vzniku infekce.
- Pomocí optického vlákna umístěného v endoskopu lze laserové záření aplikovat na obtížně dostupných místech uvnitř těla bez nutnosti chirurgického zákroku.

2.3 Fotochemická interakce

Fotochemické reakce jsou látkové přeměny, které jsou aktivovány absorpcí světla. V přírodě jsou velmi rozšířené. Jednou z nejdůležitějších fotochemických reakcí je fotosyntéza. Pro člověka důležitou fotochemickou reakcí je i fotochemická syntéza vitamínu D, který nám slouží pro souhrnné označení pro kalciferoly, prekurzory steroidního hormonu kalcitriolu, který významně ovlivňuje metabolismus vápníku a fosforu. Působením ultrafialového záření dochází v kůži k fotochemické reakci, při níž se otevře jedno z jader provitamínu 7-dehydrocholesterolu za vzniku provitamínu D₃. Provitamín D₃ se spontánně přemění na svůj izomer, cholekalciferol.

Fotochemických účinků laserového záření se používá k léčbě zhoubných nádorů metodou fotodynamické terapie (PDT) [34, 35, 36, 37, 38].

2.4 Fototepelná interakce

Tepelná interakce je nejvíce rozšířenou formou interakce, se kterou se setkáváme při aplikaci laserů v lékařské praxi. Existuje mnoho způsobů laserové terapie, které využívají právě tepelné účinky laserů, od vypařování (vaporizace) nádorů, svařování (welding) žaludečních vředů až po odstranění mateřských znamének a tetování.

Při fotochemické interakci existuje přesný mechanismus, jakým dochází k poškození tkání. U fototepelné interakce přesný mechanismus neexistuje, foton může být v podstatě absorbován jakoukoliv molekulou biologické tkáně a vždy může způsobit tepelný efekt [39]. Tepelná energie vzniká uvnitř tkáně kolizní reakcí molekul, která se navenek projevuje nárůstem teploty ozářené tkáně. Při difuzi tepelné energie tkáněmi dochází k nárůstu teploty i okolních tkání.

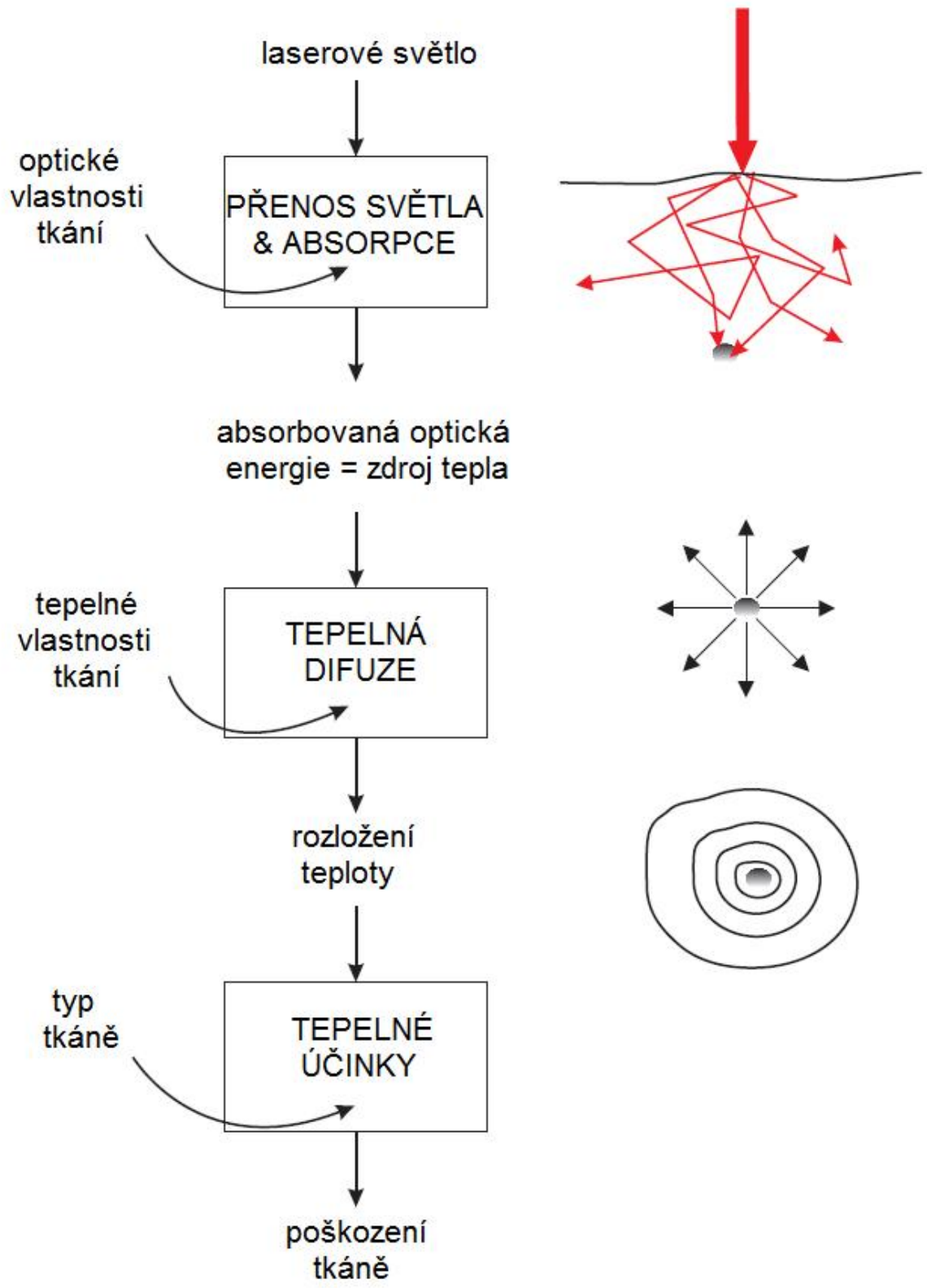
Rozsah poškození tkání závisí na výsledné dosažené teplotě a na čase, po který tuto zvýšenou teplotu udržujeme.

Schematické zobrazení mechanismu tepelné interakce je znázorněn na obrázku 4.

2.4.1 Oh ev tkání

Aby se energie fotonů dopadajícího laserového paprsku proměnila na teplo, musí dojít k následujícím dějům:

1. *Absorpce*. Foton musí být absorbován molekulou tkáně tak, aby se molekula dostala do svého excitovaného stavu
2. *Vibrační relaxace*. Kolize s okolními molekulami, mají za následek nárůst kinetické energie těchto kolizních molekul, který se v makroskopickém měřítku projeví nárůstem teploty tkáně.



Obrázek 4. Mechanismus tepelného účinku laserového záření (převzato z [23])

2.4.1.1 Rozložení tepla: kontinuální záření

Předpokládejme kontinuální laserový paprsek dopadající na povrch tkáně. Rozložení světla můžeme vyjádřit pomocí intenzity záření (plošná hustota zářivého toku) ψ , která je funkcí polohy v tkáni $\mathbf{x} = (x, y, z)$. Jednotkou funkce $\psi(\mathbf{x})$ je Wm^{-2} a je tedy definován, jako zářivý tok procházející jednotkovou plochou kolmo ke směru šíření vlnění neboli energie záření za jednotku času.

Při kontinuálním záření, představuje množství světelné energie absorbované v jednotkovém objemu za jednotku času absorbovanou výkonovou hustotu, $Q(\mathbf{x})$ v jednotkách Wm^{-3} a pomocí intenzity záření jej můžeme vyjádřit následující rovnicí:

$$Q = \mu_a \psi \quad (1)$$

kde $\mu_a(\mathbf{x})$ je absorpční koeficient v m^{-1} .

K odvození vztahu (1) předpokládejme šíření světelného záření pouze v jednom směru. Označme ψ_z jako intenzitu záření v hloubce z , potom změna intenzity v hloubce $z + \Delta z$ je definovaná rozdílem $\psi(z) - \psi(z + \Delta z)$. Absorbovanou výkonovou hustotu definujeme jako rozdíl intenzity záření na jednotku délky (hloubky), potom

$$Q = \frac{\psi(z) - \psi(z + dz)}{dz} \rightarrow -\frac{\partial \psi}{\partial z}, \text{ v případě že } \partial z \rightarrow 0 \quad (2)$$

Protože pokles intenzity záření můžeme vyjádřit v tomto případě rovnicí $\psi = \psi_0 e^{-\mu_a z}$, potom podle rovnice (2) pro absorbovanou výkonovou hustotu Q platí:

$$Q = -\frac{\partial \psi}{\partial z} = \mu_a \psi_0 e^{-\mu_a z} = \mu_a \psi \quad (3)$$

2.4.1.2 Rozložení tepla: pulzní záření

Nyní předpokládejme, že na povrch tkáně dopadá pulzní záření. V prvním okamžiku (v řádu několika ps) po zapnutí laseru, se bude intenzita záření měnit v čase, $\psi(\mathbf{x}, t)$, než dojde k ustálení na stabilní hodnotu a intenzita záření se stane funkcí pouze polohy, $\psi(\mathbf{x})$. V praktickém použití můžeme předpokládat, že k tomuto ustálenému stavu intenzity záření dochází okamžitě po zapnutí laseru, a to z toho důvodu, že čas potřebný k tomu, aby intenzita

záření dosáhla svého stabilního stavu, je o několik řádů nižší, než jakýkoliv jiný časový interval, který nás zajímá při užití tepelných účinku laserové terapie, např. délka trvání pulzu. Za tohoto předpokladu můžeme intenzitu záření jako funkci času vyjádřit rovnicí:

$$\psi(\mathbf{x}, t) = \psi(\mathbf{x}) f(t) \quad [Wm^{-2}] \quad (4)$$

kde $f(t)$ je funkce popisující časový průběh pulzu. Pro absorbovanou výkonovou hustotu potom platí:

$$Q(\mathbf{x}, t) = \mu_a(\mathbf{x}) \psi(\mathbf{x}) f(t) \quad [Wm^{-3}] \quad (5)$$

Pro pulzní lasery je důležitou veličinou absorbovaná energie za jeden pulz. Absorbovanou hustotu energie lze vyjádřit následovně:

$$E = \int_0^{\infty} Q(\mathbf{x}, t) dt = \mu_a \psi \int_0^{\infty} f(t) dt \quad [Jm^{-3}] \quad (6)$$

2.4.1.3 Nárůst teploty

Pokud nedojde při ozáření laserem ke změně skupenství (např. k varu), potom nárůst tepelné energie na jednotkový objem, dE , vede k nárůstu teploty dT . Velikost nárůstu teploty můžeme spočítat z měrné tepelné kapacity, C_p , kterou definujeme jako množství tepla potřebného k ohřátí 1 kg látky o 1 teplotní stupeň (1 Kelvin, nebo 1 °Celsia) při konstantním tlaku.

$$C_p = \frac{1}{\rho} \left(\frac{\partial E}{\partial T} \right)_p \quad (7)$$

Pro vzájemný vztah mezi nárůstem energie dE a nárůstem teploty dT potom platí:

$$dE = \rho C_p dT \quad (8)$$

kde ρ je měrná hustota tkáně, kgm^{-3} a C_p je měrná tepelná kapacita v $Jkg^{-1}K^{-1}$. Pro vodu platí $C_p = 4350 Jkg^{-1}K^{-1}$. Pro tkáně používáme následující aproximace:

$$C_p = 1550 + 2800 \left(\frac{\rho_w}{\rho} \right) \quad (9)$$

kde ρ_w je měrná hustota vody.

2.4.1.4 Vedení tepla

Vedení tepla je nejčastější způsob šíření tepla v pevných tělesech, a tedy také v biologických tkáních, jejichž různé části mají různé teploty. Absorbovaná tepelná energie nezůstává v místě svého vzniku, ale šíří se do okolních tkání. Vektor tepelného toku, $\mathbf{q} = (q_x, q_y, q_z)$ v jednotkách Wm^{-2} je definován jako množství tepelné energie, které projde jednotkovým povrchem kolmým na směr šíření za jednotku času. Empiricky bylo prokázáno, že směr vektoru tepelného toku je opačný jako gradient nárůstu teploty, tj. tepelná energie se pohybuje z oblasti s vyšší teplotou do oblasti s nižší teplotou. Pro tepelný tok a teplotní spád (gradient) platí:

$$\mathbf{q} = -\kappa \nabla T \quad (10)$$

Kde konstanta κ se nazývá tepelná vodivost, které je vyjádřen v $\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$. Pro měkké tkáně můžeme tepelnou vodivost κ aproximovat rovnicí:

$$\kappa = 0,06 + 0,57 \left(\frac{\rho_w}{\rho} \right) \quad (11)$$

Rovnice (10) vyjadřuje Fourierův zákon vedení.

2.4.1.5 Difúzní (tepelná) rovnice

To, co nás zajímá při využití tepelných účinků laserové terapie, je rozložení teploty v tkáních, tj. nakolik k poškození tkání dochází v důsledku vysokých teplot. Potřebujeme tedy rovnici, která popisuje rozložení teploty v ozářené oblasti a v průběhu času.

Předpokládejme, že máme krychli tkáně s rozměry dx , dy a dz . Při dodržení zákona zachování energie musí platit, že čistý nárůst tepelné energie uvnitř této krychle na jednotku objemu a jednotku času se musí rovnat množství tepelné energie, které do této krychle vstoupilo, na jednotku objemu a času.

Změna tepelné energie v jednotkovém objemu na jednotku času, tj. rychlost změny tepelné energie v jednotkovém objemu je úměrná rychlosti změny teploty, $\partial T / \partial t$. Jako konstanta úměrnosti slouží měrná hustota tkáně ρ v kgm^{-3} a měrná tepelná kapacita C_p v jednotkách $\text{Jkg}^{-1}\text{K}^{-1}$:

$$\text{nárůst energie v krychli} = \rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} \quad (12)$$

Existuje dva zdroje nárůstu tepelné energie vstupující do krychle (na jednotku objemu a času): první zdroj existuje uvnitř krychle – energie, která vzniká v důsledku absorpce fotonů Q , druhý zdroj představuje energie, která vstupuje do krychle z okolních tkání:

$$\text{čistá tepelná energie vstupující do krychle} = -\nabla \cdot \mathbf{q} + Q \quad (13)$$

kde $\nabla \cdot \mathbf{q}$ je divergence tepelného toku \mathbf{q} .

Sjednocením rovnic (12) a (13) dostáváme:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{q} + Q \quad (14)$$

Pokud zkombinujeme rovnice (10) a (14) získáme vztah závislosti teploty a tepelné energie:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} - \nabla \cdot (\kappa \nabla T) = Q \quad (15)$$

V případě, že κ je pro danou tkáň homogenní, platí:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} - \kappa \nabla^2 T = Q \quad (16)$$

Tuto parciální diferenciální rovnici nazýváme difuzní (tepelnou) rovnicí. Někdy ji také můžeme psát ve tvaru:

$$\frac{\partial T}{\partial t} - D \nabla^2 T = \frac{Q}{\rho C_p} \quad (17)$$

kde $D \equiv \kappa / \rho C_p$ je difuzní součinitel.

2.4.1.6 Rovnice přenosu tepla v živých systémech

Stejným způsobem, jakým dochází k přenosu tepla vedením, může být teplo přenášeno i radiací (sáláním) a konvekcí (prouděním). Proudění můžeme zanedbat při laserových aplikacích v případě, že ozařujeme měkké tkáně, v stomatologii apod. Avšak naopak

v případě, kdy průtok krve tkání je významný, jako například při laserové angioplastice, je nutné uvažovat i odvod tepla proudící krví, protože ten představuje největší ztrátu tepelné energie v daném místě. Tuto energetickou ztrátu odvodil již v roce 1948 H. H. Pennes [40]:

$$Q_p = P\rho_b C_b (T - T_b) \quad (18)$$

Kde T je teplota tkáně, T_b , C_b a ρ_b jsou postupně teplota, měrná tepelná kapacita a hustota krve. P je průtok krve, který definujeme jako objem krve, protékající jednotkovým objemem za jednu sekundu.

Pro rovnice přenosu tepla v živých systémech ([bioheat transfer equation](#)) potom platí (upravená rovnice (16)):

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} - \kappa \nabla^2 T = Q - Q_p \quad (19)$$

2.4.1.7 řešení tepelné difuzní rovnice

Najdeme řešení následující difuzní rovnice:

$$\frac{\partial T}{\partial t} - D \nabla^2 T = \hat{Q} \quad (20)$$

kde $D \equiv \kappa / \rho C_p$ je difuzní součinitel a kde zdrojová energie $\hat{Q} = Q / \rho C_p$ je způsobená absorpcí fotonů laserového záření a její transformací na tepelnou energii.

Kontinuální záření

V případě, kdy tkáň je ozařovaná kontinuálním laserovým zářením, po určitém čase dojde k teplotně ustálenému stavu. V tomto případě je $\partial T / \partial t = 0$ a difuzní rovnice přechází na Poissonovu rovnici:

$$\nabla^2 T = -\frac{\hat{Q}}{D} \quad (21)$$

Pulzní záření

[Greenova funkce](#) je řešením difuzní rovnice v případě, kdy zdrojová funkce $\hat{Q}(\mathbf{x}, t)$ je bodový zdroj s infinitezimálně krátkým pulzem. Takový zdroj můžeme matematicky popsat delta funkcí $\delta(x - x')\delta(t - t')$. Tak například v rovnici

$$\frac{\partial g}{\partial t} - D\nabla^2 g = \delta(x - x')\delta(t - t') \quad (22)$$

je tepelná energie v okamžiku $t = t'$ uložena v místě $x = x'$. Funkce $g(\mathbf{x}, t; x', t')$ je řešením této rovnice; popisuje, jak se mění teplotní rozložení v čase t a v prostoru \mathbf{x} v závislosti na rozložení tepla v čase t' a v místě x' .

Řešení pro bodový zdroj v prostoru 3D:

Greenova funkce pro bodový zdroj v 3D se rovná:

$$g(\mathbf{x}, t; x', t') = \left(\frac{1}{8(\pi D(t - t'))^{3/2}} \right) \exp\left(-\frac{|\mathbf{x} - \mathbf{x}'|^2}{4D(t - t')} \right) \quad (23)$$

Pokud je zdroj energie E uložen v místě $x' = 0$ a zároveň $t' = 0$, potom pro rozložení teploty platí:

$$T(\mathbf{x}, t) = \frac{E}{\rho C_p} \left(\frac{1}{8(\pi D t)^{3/2}} \right) \exp\left(-\frac{|\mathbf{x}|^2}{4Dt} \right) \quad (24)$$

Řešení pro plošný zdroj (1D):

$$T(z, t) = \frac{E}{\rho C_p} \left(\frac{1}{2\sqrt{\pi D t}} \right) \exp\left(-\frac{z^2}{4Dt} \right) \quad (25)$$

2.4.1.8 Tepelná hloubka vniku

Rovnice (25) obsahuje člen $\exp(-z^2/4Dt)$. Protože jsme předpokládali pro tuto rovnici, že energie E je uložena v místě $z = 0$, teplota zde bude vždy větší, jak teplota kdekoli jinde. Ve skutečnosti v čase t , bude teplota v hloubce $z = \sqrt{4Dt}$ rovna $1/e \approx 0,37$ násobku teploty v místě $z = 0$. To platí pro všechny časové okamžiky t . Tuto hloubku nazýváme *tepelnou hloubkou vniku* a platí pro ni:

$$z_{th} = \sqrt{4Dt} \quad (26)$$

Vidíme, že neexistuje lineární závislost mezi hloubkou vniku a časem.

2.4.1.9 Tepelná doba relaxace

Podobným způsobem nám tepelná doba relaxace říká, za jak dlouho dosáhne teplota v hloubce z hodnoty $1/e$ násobku nejvyšší možné dosažitelné teploty (tj. teploty v $t = 0$ a $z = 0$). Jinými slovy nám vlastně říká, za jak dlouho se rozšíří tepelná energie do hloubky z .

Řešení pro plošný zdroj (1D):

$$t_{\text{planar}} \approx \frac{z_0^2}{4D} \quad (27)$$

V případě, že světelné záření dopadne na dokonale pohlcující prostředí (absorber), tepelná energie exponenciálně klesá s hloubkou vniku, $\exp(-\mu_a z)$. Hodnota $1/\mu_a$ je potom tepelnou hloubkou vniku a tepelná doba relaxace se v tomto případě rovná:

$$t_{\text{absorber}} \approx \frac{1}{4D\mu_a^2} \quad (28)$$

Výrazy pro cylindrické a sférické souřadnice jsou následující:

$$t_{\text{cylind}} \approx \frac{d^2}{16D}, \quad t_{\text{sphere}} \approx \frac{d^2}{24D} \quad (29)$$

kde d je průměr.

2.4.2 Úinky zvýšené teploty na tkán

2.4.2.1 Složení tkání

Nakonec nás bude zajímat, co se odehrává ve tkáních po dosažení určité teploty. Abychom pochopili děje, ke kterým dochází v jednotlivých biologických tkáních, musíme znát jejich složení. Při velmi velkém zjednodušení můžeme předpokládat, že tkáň se skládá z kolagenu, vody, hemoglobinu a možná z několika chromoforů, jako např. melanin.

Pro naše účely budeme předpokládat, že buňka je ohraničený útvar, který je naplněný vodou, přestože v mnoha aplikacích sehrávají velkou úlohu i proteiny (např. hemoglobin v erythrocytech při léčbě névus flammeus – oheň).

Extracelulární prostředí je fibrotická matrice, ve které jsou uloženy buňky, a která určuje pevnost a strukturu tkáně. Je tvořena kolageny a elastinem a dalšími glykoproteiny a proteoglykany. Poměr prostor obsazený buňkami vs. extracelulární prostor se velmi liší mezi různými typy tkání. Např. u jater a svalů převyšují buňky, u kostí, šlach a např. retiny přísluší větší objem extracelulárnímu prostředí. Kolagen obsažený v extracelulárním prostředí je velmi důležitý z hlediska tepelných efektů, protože k jeho poškození dochází při teplotách daleko nižších jako 100°C.

2.4.2.2 Teplotní úinky

- ~ 37 °C je normální tělesná teplota, při nárůstu o prvních 1,5 °C, dochází pouze k nepatrným nevratným změnám
- ~ 41 °C Při této teplotě, dochází k řadě efektů, které označujeme stejným názvem *hypertermie*. U buněčných proteinů – membránových i cytoplazmatických – dochází ke konformačním změnám (změny v uspořádání molekul). K těmto změnám dochází v důsledku přerušování vodíkových vazeb (které udržují molekuly v stabilním původním stavu) s neustále se zvyšujícím nárůstem teploty. Pokud molekula proteinu změní své uspořádání, může se stát, že již více nemůže plnit svou funkci uvnitř buňky – tento problém je pozorován například u enzymů. Z těchto důvodů již při tomto, ne příliš velkém, zvýšení teploty některé buňky umírají. Rychlost buněčné nekrózy, resp. apoptózy narůstá s teplotou.
- ~ 45 °C Nad touto teplotou se vlákna kolagenu smršťují v důsledku rozpadu trojitě helikální struktury. Dochází k změknutí kolagenu, který nabývá formy želatiny. Tkáň koaguluje a dochází k vzniku krevních sraženin.
- ~ 100 °C Při této teplotě voda v buňkách i v extracelulární tekutině vře. Dochází k velkému nárůstu objemu v důsledku změny skupenství vody (voda se vypařuje, vaporizuje). V důsledku vypařování může dojít k eliminaci části tkáně z ozářeného povrchu.
- V případě odpaření veškeré vody, dochází ke spálení zbývajících organického materiálu (karbonizace, zuhelnatění). Při velmi vysokých teplotách může dojít přímo k jeho odpaření.

2.4.2.3 Hypertermie: Integrál poškození (damage integral)

Hypertermie je obecně používaný termín určený k popisu poškození tkání teplotou nižší než 100 °C.

Nevratné poškození tkání pozorujeme již kolem 41 °C, kdy dochází k denuraci proteinů. Toto poškození závisí také na délce trvání, kdy je tkáň vystavená této teplotě, např. 63 % epidermální tkáň odumře, pokud je vystavena teplotě 45 °C 9 hodin, ke stejnému poškození však dojde za 1 sekundu při teplotě 60 °C.

Poškození tkáně můžeme kvantifikovat pomocí „integrálu poškození“ [41,42].

Předpokládejme že C_0 je počáteční množství nepoškozené tkáně a $C(t)$, je množství nepoškozené tkáně v čase t . Pokud budeme dále předpokládat, že při dané teplotě za jednotku času dojde k poškození pevně stanoveného množství tkáně, potom můžeme psát, že rychlost změny C v čase je úměrná množství nepoškozené tkáně C podle vztahu:

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (30)$$

kde k je rychlostní konstanta v s^{-1} , která závisí na teplotě a na typu tkáně.

Pokud je konstanta k časově nezávislá, potom množství nepoškozené tkáně exponenciálně klesá a tento pokles můžeme vyjádřit následující rovnicí:

$$C(t) = C_0 e^{-kt} \quad (31)$$

Avšak k je obvykle časově závislé, nakolik v průběhu aplikace laserového záření může dojít ke změně teploty. Potom rovnici (30) musíme v čase integrovat, a to v intervale 0 až t :

$$\int_0^t \frac{1}{C} dC = -\int_0^t k dt' \quad (32)$$

$$\ln\left(\frac{C(t)}{C_0}\right) = -\int_0^t k dt' \equiv -\Omega \quad (33)$$

Rovnice (33) je „integrálem poškození“. Procento poškozené tkáně můžeme nyní vyjádřit pomocí výrazu:

$$\frac{C(t)}{C_0} = e^{-\Omega(t)} \quad (34)$$

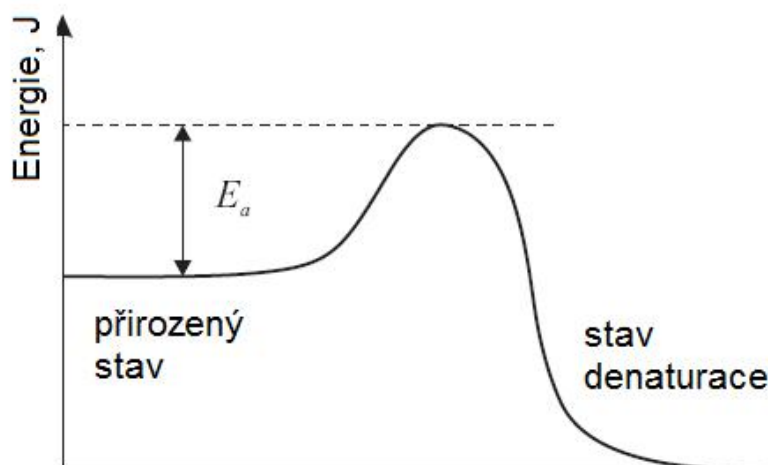
V případě, že dojde k poškození 63 % zdravé tkáně, považujeme danou tkáň za odumřelou.

2.4.2.4 Arrheniova rovnice: Kinetika denaturace

Poškození tkáně při teplotách pod bodem varu je způsobeno denaturací (změna tvaru, struktury) kolagenu, proteinů a dalších molekul [43]. Předpokládejme, že máme molekuly tkáně v stabilním stavu při teplotě přibližně 37 °C. K tomu, aby došlo ke konformním změnám molekul (tj. k přetržení určitých vazeb a k vytvoření nových), je potřebná aktivační energie E_a , která bude rozdílná pro různé molekuly a pro různé způsoby denaturace. Přechod molekuly ze svého rovnovážného stavu do denaturačního stavu vidíme na následujícím obrázku 5. Vzhledem k tomu, že molekuly jsou v neustálém pohybu, můžou některé molekuly náhodně překročit aktivační práh a přejít do stavu denaturace. Pravděpodobnost tohoto přechodu se samozřejmě zvyšuje s rostoucí teplotou, kdy narůstá vibrace molekul. Tuto tepelnou závislost Arrhenius vyjádřil následující rovnicí:

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (35)$$

Kde $R = 8,3 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$ je plynová konstanta, E_a je aktivační energie připadající na jeden mol, A v s^{-1} je pre-exponenciální faktor, nebo také prefaktor. Rovnici (35) nazýváme Arrheniovou rovnicí.



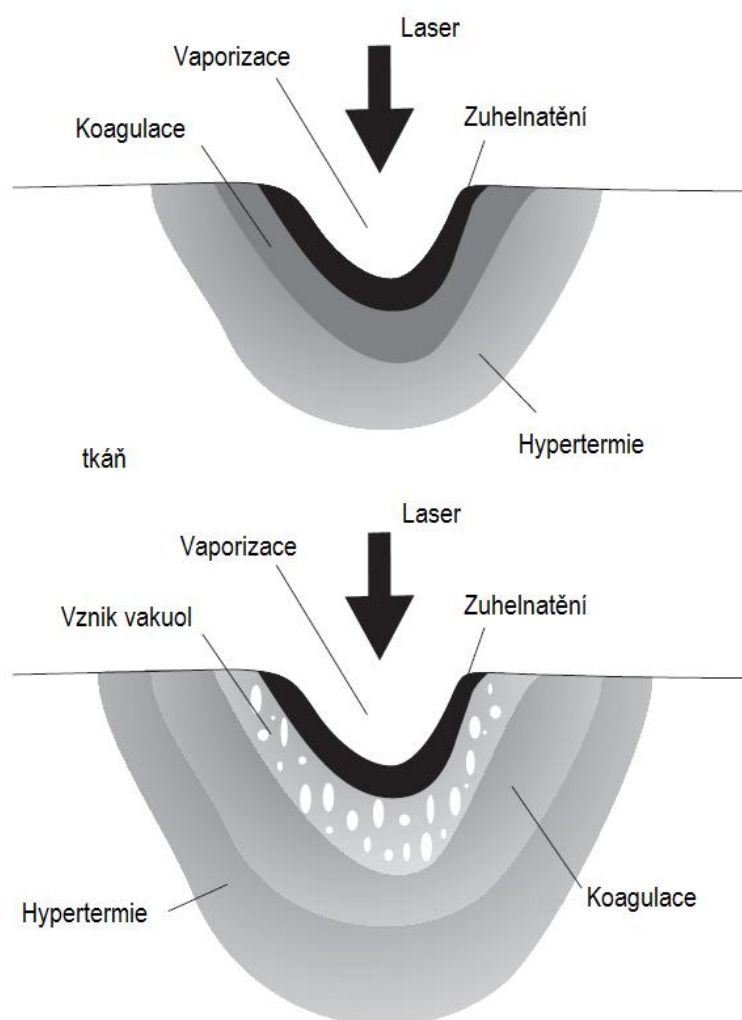
Obrázek 5. Průběh denaturace: k tomu, aby molekula přešla ze svého přirozeného stavu do stavu denaturace, musí překročit určitý energetický práh (převzato z [23])

Aktivační energie nutná k tomu, aby došlo k denaturaci, závisí na samotném typu molekuly a na jejím energetickém stavu. Rychlost, s jakou dosáhneme denaturace, k , závisí na

vlastnostech prostředí, ve kterém se molekula nachází, tj. na typu biologické tkáně. Tuto skutečnost v sobě zahrnuje prefaktor A [44].

2.4.2.5 Vaporizace tkání

Množství tepelné energie absorbované tkání po dopadu laserového paprsku klesá se vzdáleností od povrchu ozářené tkáně (s hloubkou vniku). Když dosáhne teplota $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, voda se začne odpařovat. U zbývajících organického materiálu může dojít k zuhelnatění. Míra poškození podkožních tkání závisí na konečné teplotě, na kterou tkáň zahřejeme. Tato teplota závisí na délce pulzu, na tepelné vodivosti a na perfuzi tkáně. Na obrázku 6, vidíme průběh vaporizace. Ve druhém případě, dochází také k vaporizaci vody uvnitř tkáně, kdy pára však nemůže opustit tkáň, a tak vytváří v biologické tkáni vakuoly.



Obrázek 6. Prostorové rozložení tepelných účinků, vznikajících v důsledku vaporizace (odpaření) tkáně (převzato z [23])

2.4.2.6 řezání CO₂ laserem

CO₂ laser s vlnovou délkou 10,6 μm se používá především v chirurgických aplikacích k řezání tkání vaporizací. Při těchto vlnových délkách dochází k velké absorpci a světlo prostupuje pouze do hloubky ≈10 μm. Celá světelná energie je absorbována malým objemem tkáně, v důsledku čeho dochází k rychlému nárůstu teploty z 37 °C na 100 °C. V momentě, kdy dojde k odpaření povrchové vrstvy tkáně, světelné paprsky dopadají na další vrstvu tkáně, vaporizují ji atd. O povrchu tkáně, na který právě dopadá světelné záření, a který má být vaporizován, říkáme, že dosáhl *vaporizační roviny*. V ustáleném stavu je množství vaporizované tkáně za jednotku času konstantní a v tomto případě můžeme určit rychlost, s jakou se pohybuje vaporizační rovina, tj. rychlost, s jakou narůstá hloubka řezu [45].

Objemová hustota energie potřebná k zahřátí tkáně o T stupňů K je:

$$E_B = \rho C_p T \quad (36)$$

Objemová hustota energie nutná k tomu, aby došlo ke změně skupenství je:

$$E_L = \rho L \quad (37)$$

kde L je skupenské teplo vypařování ($L_{\text{vody}} = 2,26 \cdot 10^6 \text{ Jkg}^{-1}$). Pokud je intenzita záření, zářivý tok dopadající kolmo na plochu tkáně za jednotku času $\psi_0 [\text{Wcm}^{-2}]$, potom pro rychlost vaporizační roviny můžeme psát:

$$v = \frac{\psi_0}{\rho(C_p T + L)} \quad (38)$$

Mechanismus pro ablaci a řezání tkání je velmi spolehlivý, protože:

- Hloubka řezu je velmi přesně nastavitelná
- Zároveň dochází ke koagulaci cév přítomných v tkáni, čímž se snižuje krvácení.

2.5 Fotoablace

Fotoablace je mechanismus interakce mezi laserovým zářením a biologickou tkání, při kterém dochází k přímému přerušení vazeb mezi atomy, tím dochází k disociaci molekul a tkáň se rozpadá [46, 47, 48, 49]. Při velmi krátkých pulzech, trvajících pouze několik ps nedochází k žádným tepelným účinkům a proto někdy hovoříme o studené ablací. Skutečnost, že fotoablace nezpůsobuje tepelné poškození okolních tkání a umožňuje velmi přesnou definici oblasti leptání, je jednou z hlavních výhod použití této interakce při léčebných aplikacích, a to především v oftalmologii.

Po dopadu vysokoenergetických UV fotonů z excimerových laserů, např. ArF laserů, na povrch tkáně, dochází k vyrážení vazebných elektronů do nevazebných orbitalů. Tyto elektrony mohou buď fluoreskovat (a v mnoha případech fluorescenci při fotoablací pozorujeme) anebo v důsledku následných vibrací dochází k přerušení atomové vazby, tj. k disociaci molekul. Pokud je rychlost disociace vyšší, než rychlost zpětné rekombinace, dochází k fotoablací.

Energie fotonů musí být vyšší než vazebná energie atomů, aby došlo k disociaci. V následující tabulce vidíme některé typické vazby a jejich vazebnou energii a energie fotonů různých laserů. Nejčastějšími vazbami kolagenu, který je nejdůležitější součástí rohovky, jsou C–C, C–N a C–O (vazebná energie N≡N je velmi vysoká).

Tabulka 1: levá část) Typické vazby atomů a jejich vazebná energie; pravá část) různé typy laserů, jejich vlnová délka a energie

Vazebná energie			Energie fotonů pro různé lasery		
Vazba	Energie (eV)	Energie (aJ)	Laser	Vlnová délka (nm)	Energie fotonů (eV)
N ≡ N	9,8	1,57	ArF	193	6,4
C = O	7,7	1,23	KrF	248	5,0
C = C	6,4	1,02	XeCl	308	4,0
O = O	5,1	0,82	XeF	351	3,5
H – O	4,8	0,77	Argon ion	514	2,4
H – C	4,3	0,69	He-Ne	633	2,0
N = N	4,3	0,69	Ruby	694	1,8
H – N	4,1	0,65	Nd:YLF	1053	1,2
C – C	3,6	0,58	Nd:YAG	1064	1,2
C – O	3,6	0,58	Ho:YAG	2120	0,6
C – N	3,1	0,49	Er:YAG	2940	0,4
N – O	2,2	0,35	CO ₂	10600	0,1
N – N	1,6	0,26			

2.5.1 Práh fotoablace

Podmínkou fotoablace pro biologickou tkáň je: *rychlost disociace molekul* > *rychlost zpětné rekombinace*. Protože rychlost disociace vazby je přímo úměrná počtu fotonů dopadajících na povrch tkáně za jednu sekundu, který je úměrný intenzitě záření ψ , bude existovat práh intenzity záření, pod kterým k fotoablaci nedojde.

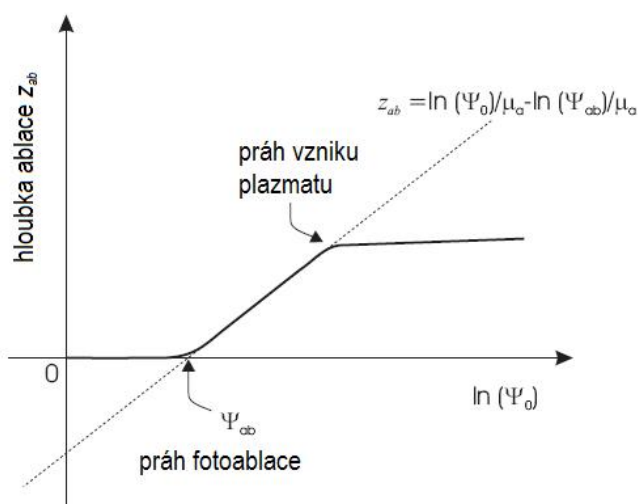
Předpokládejme, že na povrch tkáně dopadá světelný tok s intenzitou záření

$$\psi = \psi_0 e^{-\mu_a z} \quad (39)$$

Kde ψ_0 je intenzita záření na povrchu tkáně, μ_a je absorpční koeficient a z je hloubka vniku. Pokud je práh intenzity pro fotoablaci roven ψ_{ab} , potom hloubku, ve které dochází k ablaci z_{ab} , můžeme vyjádřit následovně:

$$z_{ab} = \frac{1}{\mu_a} \ln(\psi_0) - \frac{1}{\mu_a} \ln(\psi_{ab}) \quad (40)$$

Graf závislosti hloubky z_{ab} na logaritmu dopadající intenzity záření je zobrazen na obrázku 7. V grafu jsou vyznačeny počátek fotoablace při dosažení prahu intenzity ψ_{ab} a horní práh intenzity záření, nad kterým již nedochází k ablaci ve větších hloubkách. Horní práh vzniká jako důsledek vzniku plazmatu, nad touto hodnotou, je již všechna intenzita záření absorbována plazmou.



Obrázek 7. Hloubka ablace jako funkce intenzity dopadajícího záření

2.6 Ablace indukčně vázaným plazmatem a fotodisrupce

Když intenzita záření dosáhne plazmatické prahu, vzniká plazma – směs iontů a volných elektronů. V minulosti, kdy neexistovaly lasery s ultrakrátkými pulsy (v řádu ps a fs), generování plazmy bylo často spojeno s fotodisrupčními jevy, jako například generování rázových vln, kavitace, tvorba bublin, tryskání atd. V mnoha lékařských aplikacích jsou tyto jevy užitečné – laserová litotripsie, rozbíjení žlučových a ledvinových kamenů, avšak při aplikacích, kdy vyžadujeme přesnou ablaci, fotodisrupce představuje nežádoucí účinky, nakolik dochází k destrukcím okolních tkání. Tento nežádoucí účinek odstraňují právě pico- a femto-sekundové lasery.

Mezi hlavní výhody ablace indukčně vázaným laserem patří:

- tepelné poškození tkání je minimální
- tímto způsobem můžeme postupovat i u průhledných tkání
- při použití ps a fs pulzů je vymezení oblasti působení velmi přesné
- vzhledem k tomu, že vysoká absorpce fotonů plazmou má stínící efekt, je vhodná k aplikaci v oblastech nacházejících se blízko kritických orgánů (tkání), kdy nesmí dojít k jejich poškození

Tvorba plazmatu vyžaduje volné elektrony. Ve vysoce absorbujících tkáních, lineární absorpce vede k mírnému nárůstu teploty a elektrony vznikají jako výsledek termionických emisí. V případě nízko absorbujících (průsvitných) tkání, kdy nedochází ke zvýšení teploty, je nutná k tvorbě dostatečného množství elektronů multifotonová absorpce, kdy dochází k multifotonové ionizaci. Tato vyžaduje vysokou energii [50, 51, 52].

2.6.1 Optické poškození tkán

Práh intenzity záření, při kterém dochází k ablaci indukčně vázaným plazmatem, závisí na délce trvání pulzu. Typické hodnoty pro tkáň rohovky jsou následující:

Délka pulzu	10 ps	100 ns
Intenzita záření	$8 \times 10^{-11} \text{ W.cm}^{-2}$	$7,3 \times 10^{-9} \text{ W.cm}^{-2}$
Hustota energie	8 J.cm^{-2}	730 J.cm^{-2}

Průvodní jevy optického poškození tkáně:

- *Vznik plazmatu*
- *Stínění plazmatem* Plazma je vysoce absorbující, protože volné elektrony můžou absorbovat fotony jakékoliv vlnové délky (jejich energie není kvantována). Proto má plazma tendenci absorbovat veškerou dopadající světelnou energii a přeměnit ji na energii kinetickou za vzniku tepla. Při provádění kapsulotomie, plazmatické stínění chrání sítnici před dopadajícím poškozujícím světlem
- *Vznik rázových vln* V případě, kdy dochází k prudkému nárůstu plazmy, vzniká tlaková vlna, která se šíří do okolních tkání. Velikost této vlny závisí na teplotě plazmatu, tj. na intenzitě dopadajícího záření
- *Kavitace* Bublinky páry, které vznikají kolem plazmatu, můžou narůstat do kritických velikostí a rychle prasknout, v důsledku čeho můžou vzniknout další rázové vlny
- *Tryskání* V případě, kdy bubliny vznikají u povrchu tkání, dochází při jejich prasknutí k vytrysknutí biologického materiálu do prostoru

Poslední tři průvodní jevy patří k fotodisrupci a často představují nežádoucí jevy, nakolik představují poškození tkáně v oblastech vzdálených od ohniska laseru.

3. Využití laser v medicíně

Rozsah použití laseru v současné medicíně je velmi široký a jeho aplikací stále přibývá. Od jejich prvního použití – v roce 1960 – je zřejmá přesnost tohoto nástroje. V průběhu dalšího vývoje vznikl optický nůž, který bezkontaktně a s exaktně nastavitelnou velikostí a hloubkou řezu pracuje s přesností zlomků milimetrů. Je však jasné, že vynikající řezné vlastnosti laserového paprsku jsou doprovázeny tepelným poškozením okolních tkání, vznikem jizev apod. A tak před vědeckými pracovníky a lékaři stojí dnes úkol najít optimální kompromis pro jednotlivé indikace, a to jak volbou vhodného laseru, vhodnou kombinací různých laserů, tak i vývojem nových modifikací laserů.

Indikace k léčbě laserem by měly vždy vycházet ze znalosti mechanismu působení všech druhů laserových přístrojů, ze znalosti limitů efektu i možných komplikací.

Základné rozdělení laserů v medicíně, je rozdělení dle výkonu:

- LLLT – Low Level Laser Therapy – nízkovýkonné, stimulační lasery
- HLLT – High Level Laser Therapy

Nízkovýkonné stimulační lasery LLLT mají příznivý biostimulační, protizánětlivý a protibolestivý efekt na živou tkáň, podporují regenerační schopnosti organismu. Zároveň působí vasodilatačně, antiedematózně a in vitro baktericidně. Paprsky záření pomocí indukce mediátorů (např. histaminu, serotoninu, cytokinů aj.) paralyzují prekapilární sfinktery, působí zlepšení mikrocirkulace, zrychlují odtok lymfy. Výsledkem je stimulace metabolismu na buněčné úrovni s následnou úpravou homeostázy. Kromě zlepšení vaskularizace laser podporuje migraci fibroblastů, tvorbu kolagenních vláken a epitelizaci defektu v jednotlivých fázích hojení ran [53]. Upravuje rovněž reologické vlastnosti krve a snižuje nebezpečí hyperkoagulace. Na buněčné úrovni vidíme zmnožení a elongaci mitochondrií, endoplazmatického retikula a výrazně vyvinutý Golgiho aparát. Laserové paprsky zvyšují mitotickou aktivitu T-lymfocytů, plazmatických buněk, hladinu lysozymu ve slinách a aktivují diferenciaci B-lymfocytů. Během laboratorních výzkumů nebyly pozorovány žádné změny na chromosomech, záření nemá mutagenní efekt. Toto záření je účinným pomocníkem při terapii herpes zoster, herpes simplex, protizánětlivé účinky u léčby akné, zlepšuje

prokrvení vlasových folikulů [54], kůže u hojení po různých intervencích (operace, laserové zákroky vysokovýkonovým laserem, popáleniny, úrazy-pohmožděniny, otoky, hematomy, zlepšuje hojení dekubitů, postradiačních defektů, bércových vředů, a jiných stavů spojených se změnou trofiky kůže) [55, 56, 57]. Stimulační lasery pracují optimálně při výkonu od 5 do 500mW. Při vyšším výkonu mizí stimulační odpověď buněk, které již nereagují na dodávanou energii. Dolní hranice vymezuje práh fotodynamické citlivosti buněčných receptorů lidské tkáně. Tyto měkké lasery mají nejlepší účinnost co do průniku tkáněmi s vlnovými délkami 630-670 nm (oblast červeného viditelného spektra) a 780-904 nm (oblast neviditelného infračerveného záření). Přístroje s kratší vlnovou délkou (červené spektrum) působí na povrchu kůže a sliznic, a to maximálně do hloubky 20 mm, při výkonu kolem 10 mW, a mají široké uplatnění v dermatologii a kosmetice. Čím je vlnová délka kratší, tím je menší hloubka průniku do tkáně, ale větší koncentrace energie v místě působení. Hlouběji uložené struktury zasáhneme pomocí přístrojů, které indukují infračervené spektrum. Jeho průnik je do 50 mm pod kožní povrch. Biostimulačních lasery dělíme dle druhu zdroje na polovodičové (zdroj záření tvoří dioda) a plynné (He-Ne).

Vysokovýkonné lasery HLLT, používané v medicíně, se dělí dle různých kritérií. Nejvíce aplikací vysokovýkonných laserů zaznamenáváme na kůži. Dle ošetřované kožní léze tj. dle indikace se dělí na ablativní (CO2 a Er:YAG) a neablativní (cévní – vaskulární, depigmentační, depilační) [58, 59, 60].

Vaskulární lasery prošly několika generacemi vývoje:

- Argonový-dnes obsolentní, dostatečná šířka pulsu ale malá pulzní energie E;
- Barvivový dye laser je dnes nejvíce využívaný, ideální vlnová délka 585 nm a selektivnější 595 nm, variabilně nastavitelná šířka pulzu a na ní závislá purpura po ošetření;
- KTP laser- zdvojená frekvence a dlouhý pulz (frequency doubled long pulsed Nd:YAG), pracuje se zeleným světlem 532 nm vlnové délky, která je volena těsně vedle absorpčního maxima neokysličeného a okysličeného hemoglobinu (tzv. off-peak efekt), co umožňuje hlubší průnik E laserového paprsku do ošetřované cílené cévky a dobrá absorpce jak ve vénách, tak v arteriích.

Základní parametry cévních (vaskulárních) i depilačních laserů vidíme v následujících tabulkách 1 a 2.

Tabulka 1: Vaskulární lasery

Laser	CO2	Er: YAG
Vlnová délka	10,600 nm	2940 nm
Šíře pulzu	60 – 90 ms	200 – 300 ms
Energie	250 – 500 mJ/cm ²	2 – 20 J/cm ²
Abladovaná tkáň / 1 pass	20 – 30 mm	2 – 3 mm
Termální poškození	30 – 100 mm	2 – 30 mm
Reepitelizace	7 – 10 dnů	4 – 5 dnů
Erytém	1 – 3 měsíce	2 – 8 týdnů

Tabulka 2: Depigmentační lasery

Typ laseru	Specifikace
Pulsed dey	510 nm, 300 ns pulse
Copper vapor	511 nm, quasi-CW
Krypton	520 – 530 nm, quasi-CW
KTP	532 nm, quasi-CW
Q-switched frequency-doubled Nd: YAG	532 nm, 5 ns pulse
Q-switched ruby	694 nm, 25-40 ns pulse
Q-switched alexandrite	755 nm, 50-100 ns pulse
Q-switched Nd: YAG	1064 nm, 10-20 ns pulse
Diode	800 nm, bez chlazení
CO2 high energy	10 600 nm, ultrapulsed, ošetření vaporizací
Er high energy	2940 nm, ultrapulsed, ošetření vaporizací

V tabulce 3 vidíme další rozdělení laserů používaných v medicíně, a to podle vlnové délky paprsku a především podle prostředí, ve kterém je paprsek absorbován:

Tabulka 3: Přehled laserů podle vlnové délky a jeho absorpce v prostředí

Typ laserů	Vlnová délka [nm]	Absorpce v prostředí
Argon	488, 514	Hemoglobin, melanin
CO2	10 600	H2O
Nd: YAG	1064, 532	H2O (hemoglobin, melanin)
Dye	577, 585 590, 595, 600	hemoglobin, melanin
Copper vapor	510, 578	hemoglobin, melanin
Rubín	694	Melanin, exogenní pigment
Er: YAG	2940	H2O
Krypton	521, 530, 568	Hemoglobin
Alexandrite	755	Melanocyty

Laser má významné postavení především v [chirurgii](#) [61]. Laserové operace jsou bezdotykové a jejich výsledkem je ostře ohraničený řez tkání bez poškození okolí. Současně s řezem dochází ve tkáni ke koagulaci – teplem se uzavřou konce cév, takže rána nekrváčí. Rozvoj vláknové optiky umožnil přenos laserového záření optickými vlákny i do různých vnitřních orgánů.

Laserového světla se užívá v [očním lékařství](#) [62] při velmi složitých a citlivých operacích. Zářením se může „přivařit“ odchlípená oční sítnice, odstraňuje se zelený zákal, léčí se postižení sítnice při cukrovce. Zřejmě nejpopulárnějšími aplikacemi laseru v očním lékařství jsou operace očních vad (krátkozrakost, dalekozrakost) excimerovým laserem, označované zkratkou LASIK. Podstatou uvedených očních vad bývá obvykle nepřiměřené zakřivení rohovky vzhledem k délce oka. Laserovým paprskem se v takovém případě tvar rohovky upraví a vada se zcela nebo částečně odstraní.

Dalšími obory, kde se využívají různé typy interakcí laserového paprsku s biologickou tkání, jsou [onkologie](#) – ablace zhoubných nádorů (fototepelný účinek, odpařování) [63] a fotodynamická terapie (fotochemický účinek); [neurochirurgie](#) – bezkontaktní řezání, vaporizace a koagulace (fototepelný účinek) [64]; [angioplastika](#) – odstraňování ateromatozních plátů při ateroskleróze (fototepelný účinek) [65, 66]; [ortopedie](#) – ablace kostí a chrupavky (fototepelný účinek); [gastroenterologie](#) – endoskopické operace k zastavení gastrointestinálního krvácení, léčba benigních nebo maligních stenóz, např. jícnu (fototepelný

účinek) [67]; otorinolaryngologie – mikrochirurgie hltanu, stapedotomie (fototepelný účinek) [68].

Velmi rozšířené je použití laserů v dermatologii i v kosmetických salonech [69, 70, 71, 72, 73]. Hlavní indikace k ošetření laserem je možné rozdělit do tří skupin:

- cévní změny
- léze pigmentové (včetně nežádoucího ochlupení)
- nerovnosti kožního povrchu
- selektivní fototermolýza
 - Základní pravidlo správné volby používané technologie „správné vlnové délky k jednotlivým indikacím“ je u monochromatického laseru princip tzv. selektivní fototermolýzy. Světlo používané na konkrétní aplikaci, musí mít takové vlastnosti, které mu umožní *působit* žádoucím způsobem s minimem vedlejších účinků (selektivně) pouze na ošetřovaném cíli – tzv. chromoforu. Po absorpci světelné energie působícího paprsku v zasažené cílové struktuře se tato mění v požadovaný efekt, např. prostřednictvím vyvolané biochemické reakce v daném místě nebo svojí přeměnou na jiný druh energie – např. na tepelnou energii, která tuto žádoucí reakci vyvolá (fototermolýza).

Cévní změny

Cévní změny jsou ošetřovány lasery, které pracují v absorpčním spektru hemoglobinu. V současnosti se používají dva druhy laserů: první způsobují tepelné „spečení“ cévy a druhé lasery vedou k rozrušení cévy (což se klinicky projeví krvácením do kůže – tzv. purpurou). Hlavní indikací pulzních barvivových laserů je léčba kapilárních malformací (ohně), jež vyžadují opakované ošetření v intervalech nejméně 4 týdnů. Přesto jen 10 % lézí vymizí kompletně, u většiny dojde k výraznému zlepšení. Pozitivní efekty jsou popsány u světlejších plochých eflorescencí a u dětí. Při ošetřování cévních malformací, které jsou vyvýšené nad povrch kůže, je nutné využít kombinovanou léčbu (s CO₂, Nd:YAG či argonovým laserem).

Pigmentové změny

Kožní barvivo melanin může být selektivně zacílen ultrakrátce působícími ablativními vysoce výkonnými pulzními CO₂ lasery, i když je možno užít i lasery nízkovýkonné pracující v kontinuálním režimu. Ještě šetrnější k povrchu epidermis je neablativní alexandritový laser.

Tetováže

Tetováže mohou být ošetřovány: 1. ablativními lasery-všechny barvy pigmentů: buď odpařením pomocí CO₂ laseru anebo Er: YAG laserem, který pigment rozbije. Výsledný efekt závisí na druhu pigmentu, jeho barvě a hloubce uložení v kůži. Komplikacemi mohou být poruchy pigmentace a eventuálně jizvení při použití neablativních QS laserů, a to selektivně: alexandritový 755nm, rubínový 694 nm, Nd: YAG laser 1064 nm – všechny barvy kromě červené, oranžové a žluté (tyto jsou řešitelné Nd:YAG 532 nm a pulzním barvivovým 510 nm).

Epilace

Lasery používané k dlouhodobé až trvalé epilaci pracují na stejném principu jako lasery k odstranění pigmentací – laserový paprsek je zacílen na melanin vlasové cibulky a tzv. výdutě vlasu (chlupu). Problémem ošetření nežádoucího ochlupení jsou růstové fáze vlasu, neboť jen vlas v růstové fázi může být zasažen laserovým paprskem. Proto je třeba nejen opakované ošetření, ale znalost doby trvání této růstové fáze, jež se na různých místech těla velmi liší.

Ablace kůže – vyhlazení nerovností kožního povrchu

Světlo blízké infračervené oblasti spektra je rychle absorbováno ve vodě a tudíž i ve tkáni. Po absorpci laserového paprsku ve vodě dojde k odpaření povrchových vrstev kůže, nejedná se přitom o působení selektivní. Odpaření je omezeno na ty buňky, které zasáhne laserový paprsek, kolem těchto buněk je úzký pruh tepelného poškození (jehož šíře závisí na typu laseru, hustotě paprsku a době expozice). Prvním laserem užitým k vaporizaci byl CO₂ laser, který je chirurgickým laserem - lze jej užít také k řezu podobně jako skalpel. Poté, co byl vyvinut scanner k CO₂ laseru, je možné ošetřit větší plochu a léčit např. jizvy nebo vrásky. K odpaření epidermis se využívá také tzv. Er:YAG laser.

Kombinovaná laserová terapie jizev po popálení u dětí

Popáleninové trauma u dětí kromě velmi bolestivého průběhu a dlouhodobé léčby zanechává často trvalé následky. Kromě všech nezbytných klasických postupů je možné výrazně pomoci doléčování a korekci jizev kožního krytu kombinací vhodných laserových technologií.

3.1 Komplikace laserové terapie

Navzdory velkému pokroku, kterým lasery procházejí, není ve všech případech léčebný efekt laserem 100%. Na druhé straně lasery slouží buď jako alternativa k terapii

kožních projevů léčitelných klasickými postupy (vyhlazování jizev, nezhoubné kožní nádory), anebo laserová terapie představuje zcela novou metodu do té doby lézí neléčitelných (naevus flammeus, epilace). Možné komplikace se liší podle druhu použitého laseru. Souhrnně je dělíme na akutní a dlouhodobé. Mezi první patří bolestivost zákroku, otok zarudnutí, krvácení, dále tvorba krust, přechodné poruchy pigmentace; k dlouhodobým komplikacím patří poruchy pigmentace a jizvy.

3. 2 Lasery, používané v ambulanci AVE LASER CENTRUM, s. r. o., Olomouc

3.2.1 Erbiový laser Er:YAG BEAUTYLAS

Erbiový ablativní vysokovýkonný laser má velmi široké využití v medicíně v oborech jako korektivní dermatologie, dermatologie, plastická chirurgie, čelistní a obličejová chirurgie a chirurgie. Nejčastějšími indikacemi jsou: excise benigních lézí (fibromy, papilomy, xantelazmata a jiné), omlazení pokožky – rejuvenace, odstraňování tetováže.



Doba trvání laserového pulsu je menší než jedna milisekunda, a tak nedochází k přílišnému zahřátí okolí řezu. Laserový paprsek je pohlcen opravdu jen v nejsvrchnější vrstvičce tkáně. Voda, hlavní součást tkání, pohlcuje paprsek Er:YAG laseru 10x více, než třeba paprsek jinak používaného CO₂ laseru. Er:YAG laser je natolik jemný, že při respektování některých zón se zvýšeným nebezpečím nadměrného jizvení (např. kolem hrudní kosti) a správné technice práce je možno dosáhnout příznivých výsledků po celém povrchu těla. Díky jemnosti a přesnosti Er:YAG laseru jen nepatrně tepla poškodí okolní tkáně. Minimální množství zničených buněk, které se musí odloučit a nahradit jinými, je po použití našeho přístroje ve srovnání s konkurenční příčinou nejrychlejšího hojení. Pokud pacient spolupracuje a dodržuje nutný režim po ošetření (zejména se musí vystríhat přímého slunečního záření), hrozí mu u Er:YAG laseru minimální riziko nežádoucího zjizvení a ještě mnohem častější riziko dočasné či trvalé změny pigmentace.

Technické parametry:

Vlnová délka:	2,94 μm
Režim generace:	pulzní
Střední výkon laseru:	0,4 – 15 W
Energie impulzu:	0,2 – 1,5 J
Opakovací frekvence:	10 – 20 Hz

3.2.2 PDL laser Candela V-beam Perfecta

Tento neablativní vysokovýkonový pulzní barvivový laser má vlnovou délku 595 nm. Obecně pracuje na principu selektivní fototermolýzy, kdy dochází k přeměně světelné energie v energii tepelnou, která působí selektivně na ošetřovanou tkáň prostřednictvím tzv. chromoforu (tkáňová struktura, která maximálně absorbuje elektromagnetické záření, je to např. hemoglobin, voda, melanin), a tak chrání okolní tkáň před poškozením. Cílovou tkání je hemoglobin, kde je paprsek laseru silně absorbován. Vysoká teplota způsobí tepelné slepení cévní stěny, přičemž okolní struktury kůže zůstanou nepoškozeny. Tak dochází k destrukci cévy bez tepelného poškození okolní tkáně. V-beam Perfecta-kromě velmi specifické vlnové délky 595 nm dále disponuje možností volby šířky pulsu, čímž pomáhá zlepšit efektivnost zákroku a stav pokožky po ošetření (s purpurou či bez ní), možností volby různé šířky stopy laserového paprsku a volby různé energetické hladiny odvíjející se od velikosti stopy. V neposlední míře je velmi důležitá možnost využití tzv. DCD (dynamic cooling device) systému chlazení povrchu epidermis kryogenním sprejem za účelem ochrany před popálením a zmírnění bolestivosti v průběhu zákroku.

Všechny tyto parametry umožňují vysoce efektivní léčbu následujících kožních patologií:

- Teleangiektázie (rozšířené červené cévky) v obličeji
- Teleangiektázie na dolních končetinách
- Hemangiomy
- Naevus flammeus
- Rosacea

- Strie
- Kosmeticky a funkčně nevyhovující jizvy různé etiologie
- Léčba psoriázy
- Léčba akné
- Rejuvenace čili omlazení pleti



Technické parametry:

Vlnová délka:	595 nm
Režim generace:	pulzní
Délka pulzu:	0,45 – 40 ms
Průměr skvrn:	3, 5, 7, 10, 12 mm
Energie:	7 – 40 Jcm ⁻²

3.2.3 Alexandritový laser Candela GentleLASE

Neablativní vysokovýkonový alexandritový laser GentleLASE CANDELA pracuje na vlnové délce 755 nm. Vysoká energie laseru umožňuje jedním výstřelem epilovat oblast o průměru až 18 mm. Největší pracovní stopa z řady epilačních laserů na trhu spolu s integrovaným dynamickým chlazením kůže DCD chránícím pokožku představují rychlou, bezpečnou a komfortní epilaci všech typů kůže. GentleLASE odstraňuje pigmentace (stařecké i sluneční), tetování a cévky o průměru 0,5–2,0 mm, používá se na rejuvenaci (omlazení) pleti.

Systém chlazení pokožky u zákroků výkonovými lasery zásadním způsobem určuje účinnost zákroku, jeho bezpečnost a opakovatelnost výsledků. Candelou patentované DCD

(Dynamic Cooling Device) chlazení představuje počítačově řízené pulzní chlazení pokožky synchronizované s výstřely laseru. Pacientovi přináší komfortní zákrok a maximální ochranu.



Technické parametry:

Vlnová délka:	755 nm
Režim generace:	pulzní
Opakovací frekvence:	do 1,5 Hz
Délka pulzu:	3 ms
Průměr skvrn:	6, 8, 10, 12, 15, 18 mm
Energie:	do 100 Jcm ⁻²

3.2.4 Terapeutický laser MAESTRO CCM

Dynamický laserový přístroj nové generace MDTL , který splňuje i ty nejpřísnější nároky uživatelů laserové terapie:



- možnost současného připojení dvou laserových sond s rozdílnými parametry
- možnost současného připojení jedné laserové sondy pro bodovou terapii a scanneru pro plošné aplikace
 - automatické nastavení parametrů zákroku na základě zvolené diagnózy
 - možnost uložení vlastních terapeutických sestav do paměti přístroje

- vlnová délka sond podle přání: 635nm, 670nm, 830 (IR)nm
- výkon podle typu sondy na přání: 3 - 300 mW

Použití laseru MAESTRO CCM je následující:

AKUPUNKTURA

Kompletní sestavy frekvenční modulace dle Nogiéra a Bahra: universální, relaxační, nutritivní, metabolická, subkortikální, antalgická, stimulativní, regenerační aj.

DERMATOLOGIE

Akné, alopecie, decubitus, dermatitis, eczema, furunculus, hematom, herpes, jizva čerstvá, keloid, striae, ulcus cruris

GYNEKOLOGIE

adnexitis, bartholinitis, cervicitis, epiziotomie, HPV, kolpitis, menorrhagie, parametritis, pelvipathie, striae, sutura

CHIRURGIE

Bolest traumatická, decubitus, edém, furunculus, hematom, hojení pooperační, kontraktura, spáleniny, zlomeniny

KOSMETIKA

akné, alopecie, biostimulace pleti, dermatitidy, hematom, migréna, myorelaxace, striae, ošetření po čištění

ORL

Herpes, tinnitus, ozařování středoušní, perforace bubínku, polypy, tonsilektomie

REHABILITACE

artritida, arthroza, edém, C páteř, TH páteř, LS páteř, myorelaxace, obrna spast., morbus Bechtěrev, svaly, šlachy, úpony

STOMATOLOGIE

Alveolitis, aphtae, citlivé krčky, decubitus, dentitio diff., extrakční rány, hyperemie, herpes, hojení pooperační, parodontosis, periodontitis, pulpitis, preparace, resekce, zánět dásní

4. Cíle výzkumu

- Využití laserů při léčbě hemangiomů, výsledky vyhlazování jizev po popálení u dětí, léčba akné, bradavic, růže (acne rosacea) a ohně (naevus flammeus).
- Vyhodnocení úspěšnosti léčby – porovnání léčebného efektu 4 druhů laserů a také nežádoucích účinků, kterými jsou ztráta pigmentu a vznik jizvy v oblasti ozářené právě těmito lasery.

5. Výsledky

5.1 Využití laserů při léčbě hemangiomů, výsledky vyhlazování jizev po popálení u dětí, léčba akné, bradavic (verrucae), růže (acne rosacea) a ohně (naevus flammeus).

5.1.1 HEMANGIOMY

V léčbě **hemangiomů u novorozenců a kojenců** se přistupuje k léčbě laserem v případech, že dochází k rychlému růstu léze, jinak se obvykle doporučuje nejprve vyčkat samovolného vymizení projevu. Podle hloubky a postižení měkkých tkání rozdělujeme hemangiomy na superficiální, hluboké a smíšené [74]. Superficiální nádory se na kůži projevují jasně červenou barvou a obvykle vyklenují nad povrch. Hluboké angiomy bývají spíše namodralé, mnohdy se ale změnou barvy nemusí projevovat. Dále můžeme angiomy rozlišovat na lokalizované a segmentální, kdy pokrývají rozsáhlejší úsek těla a nemají jasnou hranici. V 72 % případů bývají lokalizované, v 17 % jsou segmentální, v 8 % neurčité, v 3 % multifokální [75, 76]. Tyto klasifikace napomáhají při odhadu prognózy, určují pravděpodobnost výskytu komplikací a ovlivňují rozhodování o další terapii [75, 76]. Mnohočetné angiomy jsou většinou provázeny orgánovým postižením, které převážně postihuje mozek, játra nebo gastrointestinální trakt [77]. Hemangiomy procházejí od období

svého vzniku několika klinickými stádii. Fází vzniku, fází počáteční a fází pozdní proliferace, která obvykle trvá 6 – 10 měsíců. Dále nastává období tzv. plató fáze a následná závěrečná fáze involuční, jejíž trvání je mezi 7. – 10. rokem věku.

5.1.1.1 Diagnostika a klinický obraz

Cévní anomálie lze většinou diagnostikovat klinicky. Pro superficiální léze není potřeba dalších doplňujících vyšetření. Arteriovenózní malformace, na rozdíl od benigních cévních tumorů, nemají tendenci spontánně vymizet, neobjevují se tak často a jsou přítomny již perinatálně (hemangiomy se objeví většinou až po narození). Prekurzorové léze, které bývají přítomny hned při narození, mají různou podobu. Můžou to být červené drobné papulky, teleangiektázie, bledé makuly, tzv. anemické névy nebo pseudoekchymózy [78]. Hemangiom superficiální postihuje pouze kůži a většinou zůstává i v období růstu stále plochý, kavernózní hemangiom postihuje jak kůži, tak podkožní vazivo a hluboké hemangiomy postihují podkoží, ale nikoli kůži. V případě, že hemangiom vychází ze svalové tkáně, anebo se objeví u dospělého člověka, měli bychom vždy zvážit jinou diagnózu. Hemangiom je většinou tuhý, nebo elastický a jeho barva se v průběhu prvního roku, tedy proliferativní fáze, zintenzivňuje, zatímco cévní malformace se projevuje jako měkkí, snadno stlačitelná masa, která barvu nemění. Krvácení u hemangiomů je typické na místech, která jsou vystavena vnějšímu působení (např. ret a ušní boltec). Krvácení ale většinou není nebezpečné a je zastavitelné pouhou aplikací vyššího tlaku na postižené místo. Navzdory vzhledu některých větších červených superficiálních nádorů, nejsou, ani při vystavení menšímu traumatu, náchylné k ruptuře nebo poranění. U hlubokých hemangiomů můžeme pro zpřesnění diagnózy využít neinvazivní metody, jako ultrazvuk, angiografii, počítačovou tomografii i magnetickou rezonanci. Správná diagnóza kožních vaskulárních anomálií je komplikovaná. Klinicky jsou si anomálie podobné. Proto v obtížných a nejistých případech určí vždy přesnou diagnózu histologie [79]. Velmi důležitá pro správnou diagnózu je také mezioborová spolupráce mezi dermatologií, pediatrií, onkologií, plastickou chirurgií, otorinolaryngologií, radiologií a hematologií. Přesnou diagnostikou a také výzkumy, které se zabývají patomorfologickou a molekulární podstatou cévních anomálií, se dosahuje neustálého zlepšování terapeutické strategie [77].

5.1.1.2 Terapie

Hemangiomy

Moderním způsobem ošetření, kterým se naruší nádorové cévy a nedojde při tom k poškození kůže, je vysokovýkonný diodový a neablativní pulzní barvivový laser. Tato terapie se užívá především u menších superficiálních nádorů, popřípadě u zbytkových teleangiektázií, které pacienta poškozují hlavně esteticky. Další možnosti léčby hemangiomů se opírají o nové poznatky v oblasti angiogeneze a molekulární genetiky. Jedná se o jinak rizikové celkové podávání steroidů asi na 2 týdny, poté v následujících 3 – 4 týdnech dochází ke snižování dávky, případně k intraleziózním aplikacím. Zbytková fibrotuková tkáň s přebytečnou kůží se odstraňuje chirurgicky. U pacientů s nedostačující steroidní léčbou se podává Interferon Alfa, dále derivát Thalidomid-Lenalidomid a nově neselektivní betablokátor Propranolol a Avastin – humanizovaná monoklonální protilátka.

Arteriovenózní malformace

Při volbě typu terapie u malformací se řídíme jejich hloubkou, rozsahem a anatomickou lokalizací. Metodou volby je vysokovýkonný laser nebo embolizace, následovaná chirurgickou intervencí. Pomalu proudící kapilární a venózní malformace se řeší ve většině případů diodovým laserem, lymfatické jsou řešitelné pouze chirurgicky.

5.1.1.3 Výsledky

Na následujících obrázcích vidíme průběh uzdravení u dětských pacientů:

Pacient 1: 8týdenní kojeneček již v r. 2003 odeslán z kliniky Plastické chirurgie FN pro opakované krvácení z kapilárního hemangiomu na levé tváři k ošetření PDL – předešlé ošetření, 5 min po ošetření s PDL viditelná purpura – krátká délka pulzu a 2 měsíce poté bez známek zjizvení po zákroku



Pacient 2: (8týdenní kojeneček s kapilárním hemangiomem v perianální lokalitě – vysoce rizikové – brána pro infekci, kde komplikované hojení, dítě odeslané z Dětské kliniky Kramáre Bratislava k laserovému ošetření – po 2 zákrocích vymizení projevu).



Pacient 3: 6týdenní kojeneček – dítě (holčička) odeslaná z dětské kardiologické poradny s plastickým povrchním hemangiomem k posouzení eventuálně k léčbě projevů. Jedenácti opakovanými zákroky jsme postupnou regresí útvaru dosáhli po cca 20 měsících úplné regrese, bez zjizvení či recidivy.



5.1.2 POPÁLENINY

Ve své práci představuji 13 let svých zkušeností s laserovými metodami ošetřování jizev.

5.1.2.1 Rozdělení popálenin

Působením teploty vyšší než 45°C dochází k bolestivým vněmům a ke vzniku popálenin I. až III. stupně.

I. stupeň – **erytém**, zarudlá a bolestivá kůže, na níž je edém epidermis, poškození viditelné téměř bezprostředně a je největší v epidermis a horním kóriu, hojení do týdne

II. stupeň – **tvorba puchý** s čirou a později rosolovitou tekutinou – subepidermálně, značná bolest

- povrchovější – jen stratum germinativum – spodina je růžová, hojení do 3 týdnů
- hlubší – zasahuje i spodní vrstvu koria a spodina je tmavě červená, hojení 4-6 týdnů

III: stupeň – zblednutí, nebo zhnědnutí kůže spálené v celé tloušťce – suchá a tvrdá kůže, vznikají příškvary, které nebolí

Nekrotická kůže se po několika týdnech začne za častého hnisání spontánně odlučovat, hojení, které trvá řadu týdnů až měsíců, končí vznikem jizev – plošných, hypertrofických až keloidních bizarních tvarů. Tvorba jizevnatého hojení rány závisí na délce trvání reepitelizace.

1. hojení do 2 týdnů – minimum zajizvení
2. hojení do 3 týdnů – minimum zajizvení s výjimkou rizikových skupin – pacienti tmavé pleti (Afroameričani a Hispánci)
3. hojení delší než 3 týdny – hypertrofické zajizvení u více než 50% pacientů

5.1.2.2 Jizvy

Odhaduje se, že 4,5 % až 16 % obyvatel je ovlivněno nadměrnou tvorbou hypertrofických jizev a keloidů. Vyskytují se zejména v tzv. predilekčních zónách tvorby keloidů, tj. na přední straně hrudníku – nad sternem, v tlaku, nebo v pohyb-dependentních oblastech – lopatka, bederní část zad, anebo v lokalitách pomalého hojení ran. Aberací normálního hojení rány plochou jizvou je **jizva hypertrofická**, lišící se i mikroskopicky. Má

zvýšenou vaskularitu, jiné rozložení kolagenu a přítomnost fibronektinu. Makroskopicky je tuhá, zarudlá bolestivá a svědicí tkáň prominující nad niveau, ale nikdy nepřerůstající okraje povodní léze. Hojení hypertrofickou jizvou vzniká kombinací histologických, biochemických a celulárních změn, kde má základní roli snížená regulace a nadprodukce TGF beta (transformující růstový faktor beta). Je to u hlubokých dermálních popálenin IIb a hlubokých poranění ponechaných k hojení per sekundam, a časté u tvorby jizevnatých kontraktur (trvalé zkrácení jizevnaté tkáně – vedoucí k deformitě s omezením normálního rozsahu pohyblivosti). Tvorba kontraktur a tvorba hypertrofického jizvení vrcholí 3 – 6 měsíců po traumatu a při adekvátní rehabilitaci dochází k vyžrávání jizvy (oploštění, regresi barevných změn, zvláčnění, zlepšení elasticity) v intervalu 12 – 18 měsíců od traumatu.

Keloidní jizva

Keloidní jizva je další abnormalitou v hojení rány s nadměrnými depozity kolagenu, charakteristická výraznou prominencí nad niveau, zarudnutím, tmavší barvou, svěděním, pálením a bolestivou tuhostí s viditelnými uzly kolagenu, nepřerůstající okraje povodní léze.

5.1.2.3 Terapie

Chirurgické metody

Klasická excize jizev je pro vysoké procento recidivy omezená jenom na malé jizvy, ale i tak k dosažení co nejlepších kosmetických efektů je nezbytně nutné tuto tradiční terapii kombinovat s terapií lasery [80, 81]. CO₂ a argonový laser mají na zrání jizev minimální vliv, po ablaci CO₂ laserem pozorujeme dokonce velmi časté recidivy až zhoršení původní jizvy. Další ablativní Er: YAG laser lze použít velmi zřídka – u hypertrofických starých, vybledlých jizev, avšak ne v predilekčních zónách. Nejeftektivnější způsob terapie představuje PDL laser – mohu potvrdit svou 10letou zkušeností s PDL laserem, který dlouhodobě zlepšil vyžrávání ošetřených hypertrofických jizev – snížená elevace jizvy, upravená textura pokožky, zvýšená elasticita, redukce edému a svědivosti ošetřované lokality, která se ani časem ani růstem dětského organismu již nezhoršila, naopak došlo přímo k remodelaci tkáně, nejlépe viditelné na obličeji [82, 83, 84]. Kryoterapie má v 50 – 70 % pozitivní efekt, avšak nedosahuje srovnatelný výsledek s PDL laserem v ošetřování jizev na obličeji.

LLLT- nízkovýkonové biostimulační lasery podporují nebolestivou cestou regenerační schopnosti tkáně při optimálním výkonu 5 – 500 mW. LLLT při výkonu kolem 10 mW, s vlnovou délkou v oblasti červeného viditelného spektra (tj. 630 – 670 nm) působí do 20 mm pod povrchem kůže a sliznic. Hlouběji uložené struktury (až do 50 mm) je možné

zasáhnout měkkými lasery vyšších výkonů s indukcí větších vlnových délek – tj. až z oblasti neviditelného infračerveného spektra (**780 – 904 nm**).

Účinek nízkovýkonových laserů je **biostimulační, protizánětlivý a protiboslestivý**, vasodilatační, antiedematózní a in vitro baktericidní. Díky působení paprsku měkkého laseru dochází k desenzibilizaci nociceptorů, změně permeability kapilár, indukci mediátorů (histaminu, serotoninu, cytokinů atd.), k zlepšení mikrocirkulace a následné lymfodrenáži, čím dochází nejenom k zlepšení reparačních procesů ale i k aktivaci protizánětlivých reakcí buněk (monocyty, lymfocyty, polymorfonukleáry).

Zlepšením prokrvení LLLT podporuje **reologické vlastnosti** krve (snižuje nebezpečí hyperkoagulace), **migraci fibroblastů, neokologenezi a epitelizaci** defektu v jednotlivých fázích hojení ran: 1. týden – stimulace zánětlivého kolagenu typu III versus 3. týden tlumí zánětlivou reakci a zlepšuje ukládání kolagenu typu I). Díky těmto pozitivním efektům biostimulačního laseru je velmi vhodný k doplnění hojení popáleninových jizev a jako podpůrný po léčbě vysokovýkonovým cévním laserem. Nejefektivnější se jeví LLLT typ se skenerem v kontinuálním režimu s hustotou 3 – 5 J/cm² a frekvencí 100 – 250 Hz, denně v období 2 – 3 týdnů. V kombinaci již zmíněné aplikaci vaskulárního laseru PDL (595 nm) cca 1x za 3 – 4 týdny, nejlépe doplněné tlakovými masážemi, hydratací a promašťování ošetřovaných ploch. Dochází nejenom k viditelnému zmírnění plasticity jizev ale i zlepšení kvality pokožky.

HLLT -Vysokovýkonový neablativní cévní laser PDL (pulsed dye laser **595 nm**) má největší vaskulární specificitu díky své vlnové délce – v blízkosti absorpčního maxima oxyhemoglobinu.

5.1.2.4 Výsledky

Na následujících obrázcích vidíme průběh uzdravení u pacienta:

Pacient 4: 8letý chlapec, odeslaný z Kliniky popálenin s hypertrofickými až keloidními jizvami v obličeji po hlubokém popálení. Kombinací 2 laserových technologií HLLT a LLLT jsme opakovanými zákroky v rozmezí 1 – 2 měsíce (cca 8 ošetření) dosáhli výrazného zlepšení, vyblednutí, změknutí a vyhlazení (remodelaci) jizev.



5.1.3 AKNE, ROSACEA, VERRUCAE, NAEVUS FLAMMEUS

5.1.3.1 Akné

Účinnost PDL v terénu zarudnutí a červených cévek nám pomáhá v léčbě zánětlivých projevů na tváři u všech věkových skupin a obou pohlaví. Jedná se i o těžší formy akné, někdy již nereagující na konzervativní farmakologickou terapii. Zde následkem PDL ošetření nejenom ustoupí zánět – vybledne zarudnutí, ale se i remodeluje reliéf jizev pod niveau – doplněním a nad niveau – vyhlazením.

Celková léčba akné i rosacey se skládá z několika se opakujících zákroků s minimálně 4týdenními odstupy a kombinací s LLLT – stimulačním laserem, vhodnou kosmetikou a péčí o ošetřovanou pleť. Četnost a frekvence ošetření vždy závisí od výchozího stavu pleti, tj. od stavu zarudnutí, potíží se záněty, od typu pokožky. Co do kvantity pulzů a dávky potřebného záření u jednotlivých zákroků je potřebné se v daný okamžik ošetření individuálně rozhodnout pro konkrétní parametry nastavení a dle reakce pleti je popřípadě upravit.

Na následujících obrázcích vidíme průběh uzdravení u pacienta:

Pacient 5: 19letý student s těžkou formou akné – opakovaně léčen ATB, Roacutanem a chirurgickými incizemi. Po sérii 10 zákroků dochází k vyhojení nejenom zánětů ale i vyhlazení jizev a nerovností pleti.



5.1.3.2 Rosacea

Rosacea, která víc trápí dospělou populaci, se stává s teleangiektáziemi nejčastější diagnózou ošetřovanou PDL laserem. Dokonce za poslední 4 roky jsem zaznamenala nárůst rosacey u mužů přicházejících k laserovému ošetření až na 40 % z celkového počtu ošetřených. Jedná se zejména o nos a tváře. K velké úspěšnosti v laserové léčbě této diagnózy přispívá možnost nastavení časově delších pulzů (spotů), čím předcházíme vzniku tzv. purpur „modřinek“ vzniklých rozprsknutím cévek do podkoží s následným zmodráním ošetření plochy. Eliminací těchto adverzních projevů je pro pacienta příjemnější pozákladové „vstřebávací“ období. Samozřejmě možnost využít ochlazení epidermis DCD sprayem v průběhu ošetření také přispívá k zvýšení efektivity zákroku a zmírnění jeho bolestivosti a minimalizaci rizika popálení povrchu kůže.

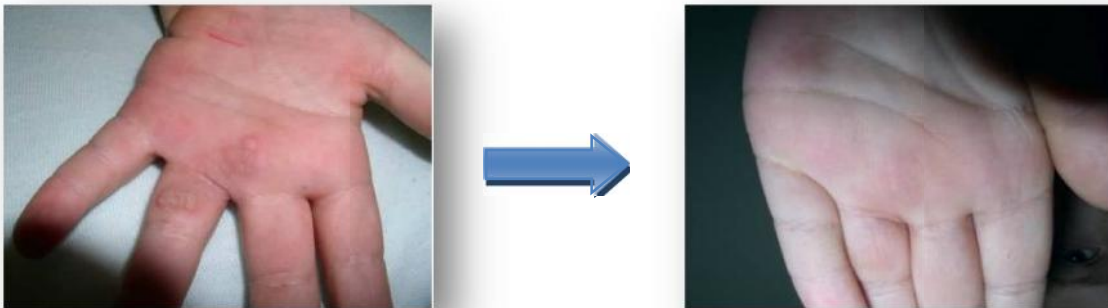
Pacient 6: 60letá žena s těžkou formou rosacey, nereagující na farmakologickou léčbu odeslaná dermatologem k laserovému ošetření, již po 1 zákroku výrazně zlepšen stav pleti, výsledky po sérii 3 zákroků, kdy pacientka už nepožaduje další pro velmi uspokojivý stav.



5.1.3.3 Verrucae

Bradavice virového původu zejména na ploskách nohou či na dlaních trápí všechny generace obou pohlaví. U dětí však mnohdy konzervativní lokální aplikace různých farmak nezabírají a chirurgická léčba je tou poslední žádanou, navíc se mnohdy objeví recidivy. Likvidace virových bradavic neablativním cévním laserem má velký úspěch. Následkem zasažení vyživující cévy bradavice laserovým paprskem PDL specifické vlnové délky dochází k poruše její výživy, k postupnému odumírání – nekróze, k jejímu odloučení – demarkaci a nakonec k vyhojení ošetřené lokality nahrazením novou kůží. Zákrok je nekrvavý, délka trvání je několik sekund, hojení trvá 2 – 4 týdny.

Pacient 7: Na fotografii je dlaň 8leté dívky s bradavicemi – před a měsíc po zákroku bez zjizvení.



5.1.3.4 Naevus flammeus

Poslední dobou významně přibývá případů vaskulárních anomálií, a to nejenom vaskulárních tumorů – hemangiomů, ale i vaskulárních malformací – PWS (Port Wine Stain), tzv. ohňů. Specifická vlnová délka 595 nm pulzního barvivového laseru V Beam perfecta je nejvhodnější k likvidaci zarudnutí způsobeného cévami přeplněnými krví u těchto projevů. Samotná léčba ohňů je běh na dlouhou trať a je mnoho úskalí, které jí komplikují, avšak v zásadě na obličeji a krku, kde bývá jejich výskyt nejčastější, se léčba PDL laserem jeví nejúspěšněji. Toto onemocnění postihuje častěji ženskou populaci. Příklady průběhů sérií ošetření našich pacientů vidíme na následujících obrázcích.

Pacient 8: 16letá studentka odeslaná z jiného laserového pracoviště s PWS v typické lokalitě hlavy a krku. Výsledky jsou velmi překvapující, po 1. a 2. zákroku PDL laserem s pravidelným intervalem 4týdenní pauzy mezi jednotlivými zákroky bylo pozorováno výrazné vyblednutí a zlepšení stavu ošetřované pokožky.



Pacient 9: 27letá mladá žena, opět s typickou lokalitou PWS na levé tváři a krku. Ošetřena sérií 10 zákroky s různě dlouhou pauzou 1 – 6 měsíců mezi jednotlivými zákroky. Z vínového zbarvení je kůže výrazně vybledlá a potíže se zarudnutím jsou minimalizovány.



5.2 Vyhodnocení úspěšnosti léčby – porovnání léčebného efektu 4 druhů laserů a také nežádoucích účinků, kterými jsou ztráta pigmentu a vznik jizvy v oblasti ozářené právě těmito lasery

5.2.1 SPECIFIKACE ZADÁNÍ

Ve své práci jsme vyhodnotili úspěšnost léčby – léčebný efekt 4 typů laserů a také nežádoucí účinky, kterými jsou ztráta pigmentu a vznik jizvy v oblasti ozářené právě těmito lasery.

Do naší retrospektivní studie jsme zařadili 869 pacientů, kteří byli podrobeni léčbě následujícími lasery:

1. skupinu tvořili pacienti, kteří byli ozářeni **Alexandritovým** laserem (N = 85, 65 žen a 20 mužů), do 2. skupiny jsme zařadili pacienty ozářené **CO₂** laserem (N = 78, 58 žen a 20 mužů), 3. skupinu tvořili pacienti, kteří podstoupili léčbu **ERB** laserem (N = 105, 87 žen a 18 mužů) a nejpočetnější skupinu tvořili pacienti, kteří podstoupili léčbu **PDL** laserem (N = 601, 453 žen a 148 mužů).

Pacienti ve všech skupinách byli rozděleni do věkových kategorií, které byly definovány následovně: **do30**: > 20 let, ≤ 30 let, **do40**: > 30 let, ≤ 40 let, **do50**: > 40 let, ≤ 50 let, **do60**: > 50 let, ≤ 60 let, **do70**: > 60 let, ≤ 70 let a poslední **do80**: > 70 let, ≤ 80 let. Přesné rozdělení pacientů podle věku – absolutní hodnoty i procentuální zastoupení v jednotlivých skupinách je uvedeno v tabulkách 3 až 6 v části Výsledky.

Ve své studii jsme se snažili zjistit, zda existuje statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými použitými lasery, a to jak v léčebném efektu, tak i ve vzniku nežádoucích účinků, tj. ve ztrátě pigmentu i vzniku jizev. Dále jsme chtěli vědět, zda tyto tři faktory (**léčebný efekt, ztráta pigmentu, vznik jizvy**) jsou závislé na věku pacientů a na jejich pohlaví.

Vzhledem k tomu, že všechny sledované proměnné jsou kvalitativní (léčebný efekt – Ano/Ne, ztráta pigmentu – Ano/Ne, vznik jizvy – Ano/Ne), použili jsme ke statistickému zpracování neparametrické metody, a to Mannův-Whitneyův U-test a Kruskal-Wallisovu ANOVu. Ke statistickému vyhodnocení jsme použili statistický program STATISTICA verze 9 od firmy StatSoft.

5.2.2 STATISTICKÉ METODY

5.2.2.1 Mann v – Whitney v U – test

Mannův – Whitneyův U – test je obdobou Studentova t – testu pro dva nezávislé výběry. Je jedním z nejlepších neparametrických testů. Poprvé byl uveden Frankem Wilcoxonem v roce 1945 pro výběry stejného rozsahu a následně v roce 1947 byl upraven pro použití pro výběry libovolných rozsahů H. B. Mannem a D. R. Whitneyem.

U Mannova – Whitneyho testu testujeme nulovou hypotézu H_0 : „Dva různé výběry o rozsahu n_1 a n_2 pocházejí ze stejné základní populace.“

Platí-li H_0 , můžeme všechny prvky shrnout do výběru jediného o rozsahu $n_1 + n_2$. Prvky uspořádáme podle velikosti a u každého si označíme, do kterého výběru patří. Každý prvek označíme jeho pořadovým číslem. Pokud několik prvků x_i má stejnou hodnotu, dostanou všechny stejné pořadové číslo, rovné průměru všech pořadí, která by jim příslušela. Kdyby H_0 skutečně platila, měly by prvky prvního výběru stejné průměrné pořadí jako prvky druhého výběru (až na náhodné kolísání), které je rovno průměrnému pořadí ze všech prvků, tj. $\frac{n_1 + n_2 + 1}{2}$. V testu dále používáme výběr, jehož rozsah je menší, můžeme jej označit číslem 1, potom platí: $n_1 \leq n_2$.

Za platnosti H_0 by součet pořadových hodnot v 1. výběru byl

$$T_1' = \frac{n_1(n_1 + n_2 + 1)}{2}.$$

Skutečně zjištěný součet pořadových hodnot výběru 1 je T_1 . Testová charakteristika je rozdíl mezi teoretickým a skutečným součtem pořadí výběru 1 v absolutní hodnotě:

$$u = |T_1' - T_1|.$$

Spočtenou hodnotu porovnááme s kritickou hodnotou u_{α} , pro zvolenou hladinu významnosti α . Pokud je námi spočtená hodnota větší než kritická hodnota, zamítáme H_0 a přijímáme alternativní hypotézu H_A : „Výběry nepocházejí ze stejné základní populace.“

Pro výběry s větším rozsahem můžeme použít aproximace pomocí normálního rozložení.

5.2.2.2 Kruskal – Wallisova ANOVA

Kruskal – Wallisova ANOVA je obdobou analýzy rozptylu, pokud nemůžeme předpokládat normalitu sledovaných znaků, co platí pro všechny naše proměnné.

Předpokládejme k nezávislých výběrů, $k > 2$, o kterých se chceme přesvědčit, zda se liší polohou. Rozsahy jednotlivých výběrů n_i mohou být různé. Vyslovíme hypotézu, že výběry se svou polohou neliší, tj. že je to vlastně k výběrů, které patří do jedné základní populace. Za platnosti H_0 , můžeme opět dát všechny výběry do jednoho jediného, opět uspořádat naměřené hodnoty x_i podle velikosti a každé naměřené hodnotě potom přiřadit pořadové číslo. Dále zjistíme součet pořadových hodnot všech prvků náležejících do jednotlivých skupin. Za platnosti H_0 by se průměrné pořadí v jednotlivých skupinách nemělo lišit. Čím větší jsou rozdíly mezi průměrnými hodnotami pořadí, tím je menší pravděpodobnost, že platí H_0 .

Testovací charakteristika Kruskal – Wallisovy ANOVy je:

$$\chi_{KW}^2 = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{T_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

kde T_i je součet pořadových hodnot prvků i – tého výběru, n_i je počet prvků v i – tém výběru a χ_{KW}^2 je kritická hodnota χ^2 rozložení při $k - 1$ stupních volnosti.

Spočteme χ_{KW}^2 a porovnáme tuto hodnotu s tabelovanou hodnotou χ_α^2 pro zvolenou hladinu významnosti α . Jestliže $\chi_{KW}^2 > \chi_\alpha^2$, zamítáme nulovou hypotézu H_0 a přijímáme alternativní hypotézu, že se jednotlivé výběry polohou mezi sebou liší.

Pokud je rozdíl mezi skupinami průkazný – statisticky významný, provedeme dále vícenásobné porovnání průměrného pořadí pro všechny skupiny. Toto vícenásobné porovnání nám slouží k nalezení statisticky významného rozdílu postupně vždy mezi dvěma skupinami.

5.2.3 VÝSLEDKY

V následujících četnostních tabulkách 4 až 7 jsou uvedeny absolutní četnosti i relativní čísla – procentuální zastoupení – pacientů, podle toho jakým laserem byli léčeni, dále jsou pacienti rozděleni také podle pohlaví a podle věkové kategorie. V těchto tabulkách vidíme, u kolika pacientů byl pozorován léčebný efekt, u kolika pacientů došlo ke ztrátě pigmentu a také u kolika pacientů vznikla v ozářené oblasti jizva.

V tabulce 8 jsou shrnuty výsledky Mannova – Whitneyho U – testu, který jsme použili ke zjištění, zda existuje statisticky významný rozdíl mezi muži a ženami (2 skupiny) v efektu léčby, ve ztrátě pigmentu i ve vzniku jizev. Analýzu jsme provedli napřed pro všechny pacienty bez ohledu na použitý laser a potom také pro každý laser zvlášť.

V následující tabulce 9 jsou potom uvedeny výsledky Kruskal – Wallisovy ANOVy. Tuto statistickou metodu jsme použili pro zjištění rozdílů mezi jednotlivými věkovými kategoriemi (počet věkových kategorií $k = 6$), a to opět jak pro všechny lasery dohromady, tak i pro jednotlivé lasery zvlášť. Výsledky Kruskal – Wallisovy ANOVy spolu s výsledky vícenásobného porovnávání jsou uvedeny v tabulkách 9 až 15.

Kruskal – Wallisovu ANOVu jsme také použili ke zjištění, zda existuje rozdíl v odezvě na léčbu (léčebný efekt, ztráta pigmentu, vznik jizvy) mezi jednotlivými lasery bez ohledu na věk a pohlaví pacientů (počet skupin $k = 4$, laser: Alexandritový, CO₂, ERB a PDL). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 16, hodnoty testů vícenásobného porovnání jsou potom uvedeny v tabulkách 17 až 19.

Statisticky významné výsledky jsou zvýrazněny tučně a červeně.

Tabulka 4: Věkové rozložení pacientů, kteří byli léčeni Alexandritovým laserem – počty a procentuální zastoupení

Alexandritový laser od 20 do 30 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	8	100,00	6	75,00	8	100,00	4	100,00	4	100,00	3	75,00
Ano	0	0,00	2	25,00	0	0,00	0	0,00	0	4,00	1	25,00
Alexandritový laser od 30 do 40 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	15	100,00	7	47,00	10	66,67	6	100,00	6	100,00	6	100,00
Ano	0	0,00	8	53,00	5	33,33	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Alexandritový laser od 40 do 50 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	19	86,00	16	73,00	22	100,00	6	100,00	6	100,00	6	100,00
Ano	3	14,00	6	27,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Alexandritový laser od 50 do 60 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	6	75,00	4	50,00	8	100,00	3	100,00	3	100,00	2	66,67
Ano	2	25,00	4	50,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	33,33
Alexandritový laser od 60 do 70 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	9	90,00	2	20,00	10	100,00	1	100,00	1	100,00	1	100,00
Ano	1	10,00	8	80,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Alexandritový laser od 70 do 80 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	2	100,00	2	100,00						
Ano	2	100,00	0	0,00	0	0,00						
Alexandritový laser – všichni pacienti												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	57	87,69	37	56,92	60	92,31	20	100,00	20	100,00	18	90,00
Ano	8	12,31	28	43,08	5	7,69	0	0,00	0	0,00	2	10,00
Alexandritový laser – MUŽI + ŽENY												
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy								
Počet	%	Počet	%	Počet	%							
Ne	77	90,59	57	67,06	78	91,76						
Ano	8	9,41	28	32,94	7	8,24						

Tabulka 5: Věkové rozložení pacientů, kteří byli léčeni CO₂ laserem – počty a procentuální zastoupení

CO ₂ laser od 20 do 30 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	1	20,00	0	0,00	0	0,00	1	50,00	0	0,00
Ano	5	100,00	4	80,00	5	100,00	2	100,00	1	50,00	2	100,00
CO ₂ laser od 30 do 40 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	3	37,50	2	25,00	0	0,00	1	50,00	1	50,00
Ano	8	100,00	5	62,50	6	75,00	2	100,00	1	50,00	1	50,00
CO ₂ laser od 40 do 50 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	5	33,33	2	13,33	0	0,00	3	50,00	2	33,33
Ano	15	100,00	15	66,67	13	86,67	6	100,00	3	50,00	4	66,67
CO ₂ laser od 50 do 60 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	1	5,00	10	50,00	3	15,00	1	12,50	5	62,50	2	25,00
Ano	19	95,00	10	50,00	17	85,00	7	87,50	3	37,50	6	75,00
CO ₂ laser od 60 do 70 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	7	70,00	5	50,00	0	0,00	1	50,00	1	50,00
Ano	10	100,00	3	30,00	5	50,00	2	100,00	1	50,00	1	50,00
CO ₂ laser od 70 do 80 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne												
Ano												
CO ₂ laser – všichni pacienti												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	1	1,72	26	44,83	12	20,69	1	5,00	11	55,00	6	30,00
Ano	57	98,28	32	55,17	46	79,31	19	95,00	9	45,00	14	70,00
CO ₂ laser – MUŽI + ŽENY												
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy								
Počet	%	Počet	%	Počet	%							
Ne	2	2,56	37	47,44	18	23,08						
Ano	76	97,44	41	52,56	60	76,92						

Tabulka 6: Věkové rozložení pacientů, kteří byli léčeni ERB laserem – počty a procentuální zastoupení

ERB laser od 20 do 30 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	2	50,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00
Ano	4	100,00	2	50,00	4	100,00	1	100,00	0	0,00	1	100,00
ERB laser od 30 do 40 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	20	66,67	1	3,33	0	0,00	5	100,00	1	20,00
Ano	30	100,00	10	33,33	29	96,67	5	100,00	0	0,00	4	80,00
ERB laser od 40 do 50 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	38	84,44	15	33,33	0	0,00	9	100,00	4	44,44
Ano	45	100,00	7	15,56	30	66,67	9	100,00	0	0,00	5	55,56
ERB laser od 50 do 60 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	5	100,00	4	80,00	0	0,00	2	100,00	2	100,00
Ano	5	100,00	0	0,00	1	20,00	2	100,00	0	0,00	0	0,00
ERB laser od 60 do 70 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	1	33,33	3	100,00	3	100,00	0	0,00	1	100,00	1	100,00
Ano	2	66,67	0	0,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00
ERB laser od 70 do 80 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne												
Ano												
ERB laser – všichni pacienti												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	1	1,15	68	78,16	23	26,44	0	0,00	18	100,00	8	44,44
Ano	86	98,85	19	21,84	64	73,56	18	100,00	0	0,00	10	55,56
ERB laser – MUŽI + ŽENY												
Efekt			Ztráta pigmentu			Vznik jizvy						
Počet		%	Počet		%	Počet		%				
Ne		1	0,95		86	81,90		31	29,52			
Ano		104	99,05		19	18,10		74	70,48			

Tabulka 7: Věkové rozložení pacientů, kteří byli léčeni PDL laserem – počty a procentuální zastoupení

PDL laser od 20 do 30 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	80	100,00	80	100,00	0	0,00	42	100,00	42	100,00
Ano	80	100,00	0	0,00	0	0,00	42	100,00	0	0,00	0	0,00
PDL laser od 30 do 40 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	109	100,00	109	100,00	0	0,00	37	100,00	37	100,00
Ano	109	100,00	0	0,00	0	0,00	37	100,00	0	0,00	0	0,00
PDL laser od 40 do 50 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	108	100,00	103	95,37	0	0,00	44	100,00	44	100,00
Ano	108	100,00	0	0,00	5	4,63	44	100,00	0	0,00	0	0,00
PDL laser od 50 do 60 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	106	100,00	106	100,00	0	0,00	25	100,00	25	100,00
Ano	106	100,00	0	0,00	0	0,00	25	100,00	0	0,00	0	0,00
PDL laser od 60 do 70 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	50	100,00	50	100,00						
Ano	50	100,00	0	0,00	0	0,00						
PDL laser od 70 do 80 let												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne												
Ano												
PDL laser – všichni pacienti												
Ženy						Muži						
Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		Efekt		Ztráta pigmentu		Vznik jizvy		
Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Ne	0	0,00	453	100,00	448	98,90	0	0,00	148	100,00	148	100,00
Ano	453	100,00	0	0,00	5	1,10	148	100,00	0	0,00	0	0,00
PDL laser – MUŽI + ŽENY												
Efekt			Ztráta pigmentu			Vznik jizvy						
Počet		%	Počet		%	Počet		%				
Ne		0	601		100,00	596		99,17				
Ano		601	0		0,00	5		0,83				

Tabulka 8: Mannův – Whitneyův U – test. Porovnání efektu léčby a nežádoucích účinků – ztráty pigmentu, vzniku jizev mezi muži a ženami.

	Všechny typy laserů						
	U	Z	p	Z upravené	p	N ženy	N muži
Efekt	67404,50	0,28	0,7788	0,56	0,5748	663	206
Ztráta pigmentu	63135,50	1,64	0,1015	3,13	0,0017	663	206
Vznik jizvy	64548,00	-1,19	0,2346	-1,84	0,0664	663	206
	Alexandritový laser						
Efekt	570,00	0,82	0,4101	1,63	0,1034	65	20
Ztráta pigmentu	370,00	2,90	0,0038	3,56	0,0004	65	20
Vznik jizvy	635,00	0,15	0,8806	0,32	0,7524	65	20
	CO ₂ laser						
Efekt	561,00	0,21	0,8323	0,77	0,4394	58	20
Ztráta pigmentu	521,00	0,67	0,5032	0,77	0,4390	58	20
Vznik jizvy	526,00	-0,61	0,5404	-0,84	0,4016	58	20
	ERB laser						
Efekt	774,00	-0,07	0,9424	-0,43	0,6675	87	18
Ztráta pigmentu	612,00	1,45	0,1472	2,17	0,0297	87	18
Vznik jizvy	642,00	-1,20	0,2323	-1,51	0,1306	87	18
	PDL laser						
Efekt	33522,00	0,00	1,0000			453	148
Ztráta pigmentu	33522,00	0,00	1,0000			453	148
Vznik jizvy	33152,00	-0,20	0,8403	-1,28	0,2003	453	148

Z tabulky 8 vidíme, že statisticky významný rozdíl existuje mezi muži a ženami pouze ve ztrátě pigmentu, a to u Alexandritového a ERB laseru a také ve ztrátě pigmentu mezi muži a ženami bez ohledu na použitý typ laseru.

Tabulka 9: Kruskal – Wallisova ANOVA. Porovnání efektu léčby a nežádoucích účinků – ztráty pigmentu, vzniku jizev mezi věkovými kategoriemi pacientů.

	Všechny typy laserů			
	Počet pacientů	sv	H	p
Efekt	869	5	4,8724	0,4317
Ztráta pigmentu	869	5	5,6440	0,3424
Vznik jizvy	869	5	20,8646	0,0009
	Alexandritový laser			
Efekt	85	5	23,449	0,0003
Ztráta pigmentu	85	5	12,1499	0,0328
Vznik jizvy	85	5	10,308	0,0670
	CO ₂ laser			
Efekt	78	4	3,6184	0,4601
Ztráta pigmentu	78	4	4,1049	0,3920
Vznik jizvy	78	4	7,7907	0,0996
	ERB laser			
Efekt	105	4	25,2500	0,0000
Ztráta pigmentu	105	4	7,5281	0,1105
Vznik jizvy	105	4	32,3218	0,0000
	PDL laser			
Efekt	601	4	0,0000	1,0000
Ztráta pigmentu	601	4	0,0000	1,0000
Vznik jizvy	601	4	14,8689	0,0050

Z předchozí tabulky vidíme, že léčebný efekt i ztráta pigmentu a vznik jizev je závislý na věku pacientů. U CO₂, ERB a PDL laserů jsme pro statistické zpracování vyloučili skupinu do80, protože tato věková skupina nebyla těmito lasery léčena.

V následujících tabulkách 10 až 15 uvádíme výsledky vícenásobného porovnání pro ty sledované proměnné (pro jednotlivé typy laserů), pro které platí, že rozdíl mezi středními hodnotami pořadí je podle Kruskal – Wallisovy ANOVy statisticky významný. V těchto tabulkách jsou uvedeny hodnoty p důležité pro vyhodnocení průkaznosti rozdílu mezi součty pořadí příslušných kategorií grupovací proměnné – mezi jednotlivými věkovými kategoriemi.

Tabulka 10: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Věkové kategorie, proměnná – Vznik jizvy, všechny skupiny (všechny typy laserů)

Vznik jizvy	Do30 R:469,31	Do40 R:415,77	Do50 R:410,88	Do60 R:446,63	Do70 R:474,14	Do80 R:508,00
Do30		0,709	0,373	1,000	1,000	1,000
Do40			1,000	1,000	1,000	1,000
Do50				1,000	0,788	1,000
Do60					1,000	1,000
Do70						1,000
Do80						

Tabulka 11: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Věkové kategorie, proměnná – Léčebný efekt, laser: Alexandritový

Léčebný efekt	Do30 R:39,00	Do40 R:39,00	Do50 R:43,56	Do60 R:46,73	Do70 R:42,86	Do80 R:81,50
Do30		1,000	1,000	1,000	1,000	0,362
Do40			1,000	1,000	1,000	0,300
Do50				1,000	1,000	0,535
Do60					1,000	1,000
Do70						0,626
Do80						

Tabulka 12: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Věkové kategorie, proměnná – Ztráta pigmentu, laser: Alexandritový

Ztráta pigmentu	Do30 R:36,08	Do40 R:45,19	Do50 R:38,11	Do60 R:44,46	Do70 R:59,91	Do80 R:29,00
Do30		1,000	1,000	1,000	0,311	1,000
Do40			1,000	1,000	1,000	1,000
Do50				1,000	0,200	1,000
Do60					1,000	1,000
Do70						1,000
Do80						

Tabulka 13: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Věkové kategorie, proměnná – Léčebný efekt, laser: ERB

Léčebný efekt	Do30 R:53,50	Do40 R:53,50	Do50 R:53,50	Do60 R:53,50	Do70 R:40,38
Do30		1,000	1,000	1,000	1,000
Do40			1,000	1,000	1,000
Do50				1,000	1,000
Do60					1,000
Do70					

Tabulka 14: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Věkové kategorie, proměnná – Vznik jizvy, laser: ERB

Vznik jizvy	Do30 R:37,50	Do40 R:40,50	Do50 R:55,97	Do60 R:82,50	Do70 R:90,00
Do30		1,000	1,000	0,116	0,102
Do40			0,192	0,009	0,020
Do50				0,301	0,311
Do60					1,000
Do70					

Tabulka 15: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Věkové kategorie, proměnná – Vznik jizvy, laser: PDL

Vznik jizvy	Do30 R:303,50	Do40 R:303,50	Do50 R:293,62	Do60 R:303,50	Do70 R:303,50
Do30		1,000	1,000	1,000	1,000
Do40			1,000	1,000	1,000
Do50				1,000	1,000
Do60					1,000
Do70					

Pomocí vícenásobného porovnání se nám podařilo prokázat statisticky významný rozdíl mezi věkovými kategoriemi pouze u laseru ERB ve vzniku jizvy a to konkrétně mezi věkovými kategoriemi do40 vs. do60 a do40 vs. do70.

V posledních tabulkách 16 až 19 jsou postupně uvedeny výsledky Kruskal – Wallisovy ANOVy pro porovnání léčebného efektu i nežádoucích účinků různých typů laserů – bez ohledu na pohlaví a věk pacientů a vícenásobného porovnání pro průměry pořadí.

Tabulka 16: Kruskal – Wallisova ANOVA. Porovnání efektu léčby a nežádoucích účinků – ztráty pigmentu, vzniku jizev mezi různými typy laserů.

	Alexandritový vs. CO ₂ vs. ERB vs. PDL			
	Počet pacientů	sv	H	p
Efekt	869	3	746,273	0,0000
Ztráta pigmentu	869	3	277,685	0,0000
Vznik jizvy	869	5	531,608	0,0000

Tabulka 17: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Typ laseru, proměnná – Léčebný efekt

Léčebný efekt	Alexandritový R:81,39	CO ₂ R:463,86	ERB R:470,86	PDL R:475,00
Alexandritový		0,000	0,000	0,000
CO ₂			1,000	1,000
ERB				1,000
PDL				

Tabulka 18: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Typ laseru, proměnná – Ztráta pigmentu

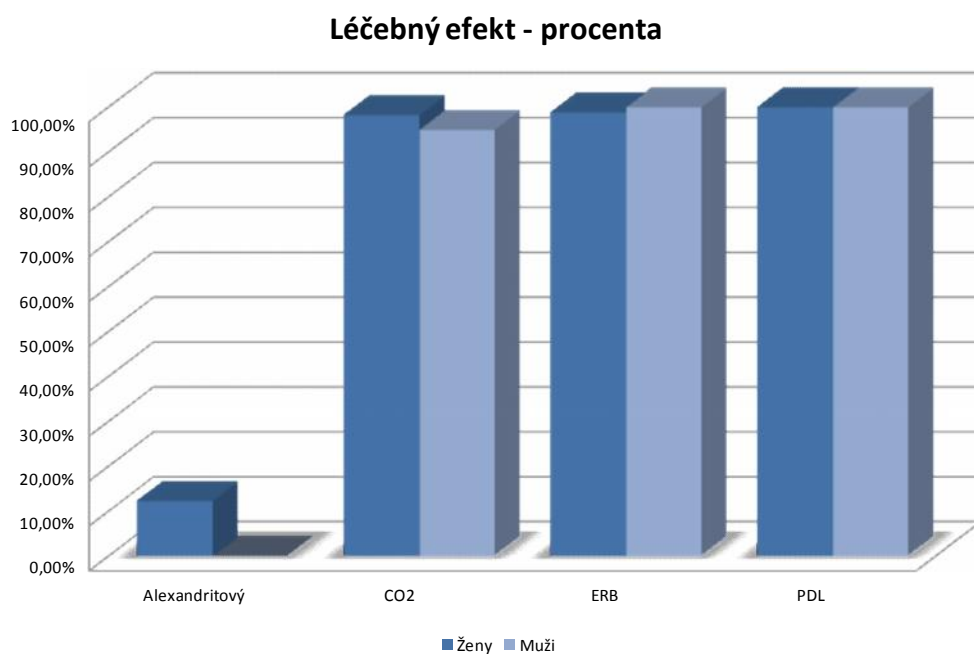
Ztráta pigmentu	Alexandritový R:534,13	CO ₂ R:619,39	ERB R:469,62	PDL R:391,00
Alexandritový		0,181	0,469	0,000
CO ₂			0,000	0,000
ERB				0,018
PDL				

Tabulka 19: Vícenásobné porovnání – p hodnoty. Grupovací proměnná – Typ laseru, proměnná – Vznik jizvy

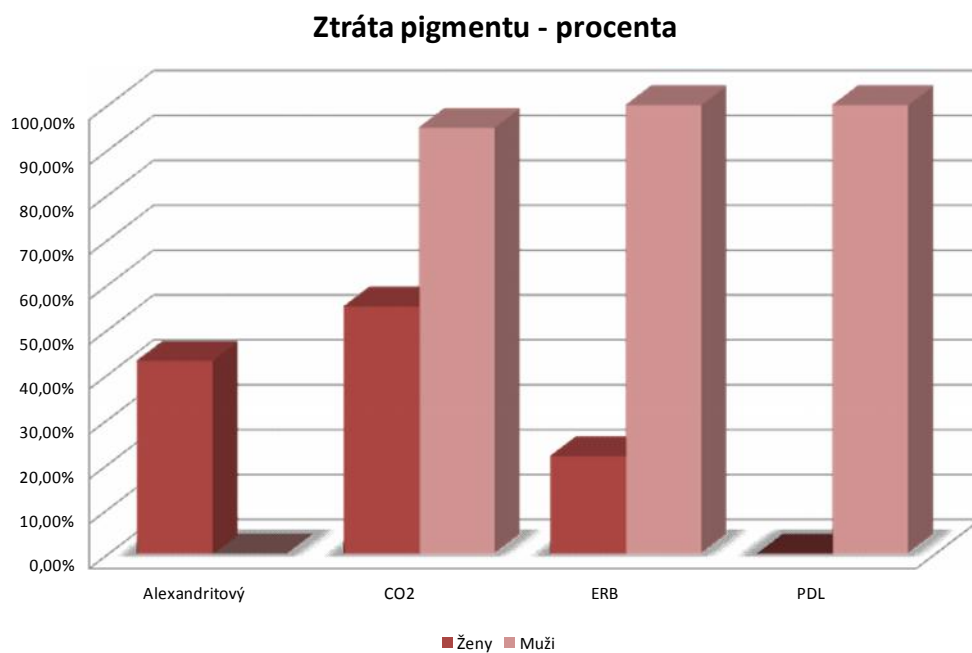
Vznik jizvy	Alexandritový R:472,22	CO ₂ R:173,77	ERB R:201,78	PDL R:504,39
Alexandritový		0,000	0,000	1,000
CO ₂			1,000	0,000
ERB				0,000
PDL				

Jak vidíme z výše uvedených tabulek, podařilo se nám prokázat statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými typy laserů, a to jak v léčebném efektu, tak také v nežádoucích účincích (ztráta pigmentu, vznik jizvy). Pomocí vícenásobného porovnání jsme tento statisticky významný rozdíl prokázali.

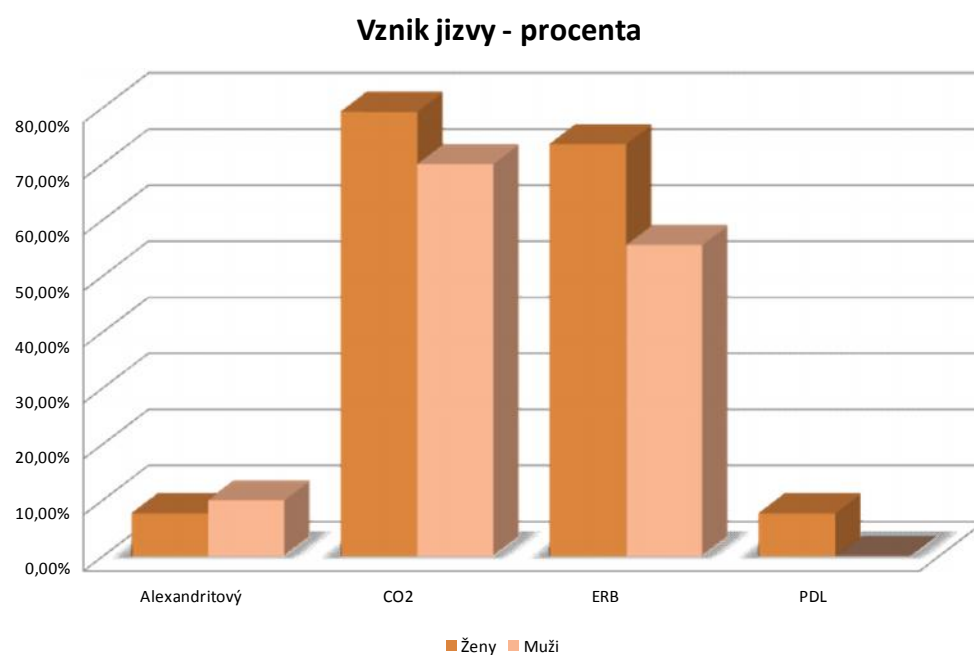
Grafické znázornění rozložení léčebného efektu a nežádoucích účinků pro jednotlivé lasery vidíme na obrázcích 8 až 15 – absolutní četnosti i procentuální zastoupení. Z těchto grafů je patrné, že léčebný efekt všech laserů kromě Alexandritového je velmi vysoký – téměř 100%. U laserů CO2 a ERB vidíme také vysoké procento vzniku nežádoucích účinků. Při ozáření těmito lasery dochází ke ztrátě pigmentu a vzniku jizev. Nejvyšší terapeutický efekt, jen s nepatrnými nežádoucími účinky dosáhneme laserem PDL.



Obrázek 8: Procentuální vyjádření léčebného efektu u mužů a žen pro 4 druhy laseru

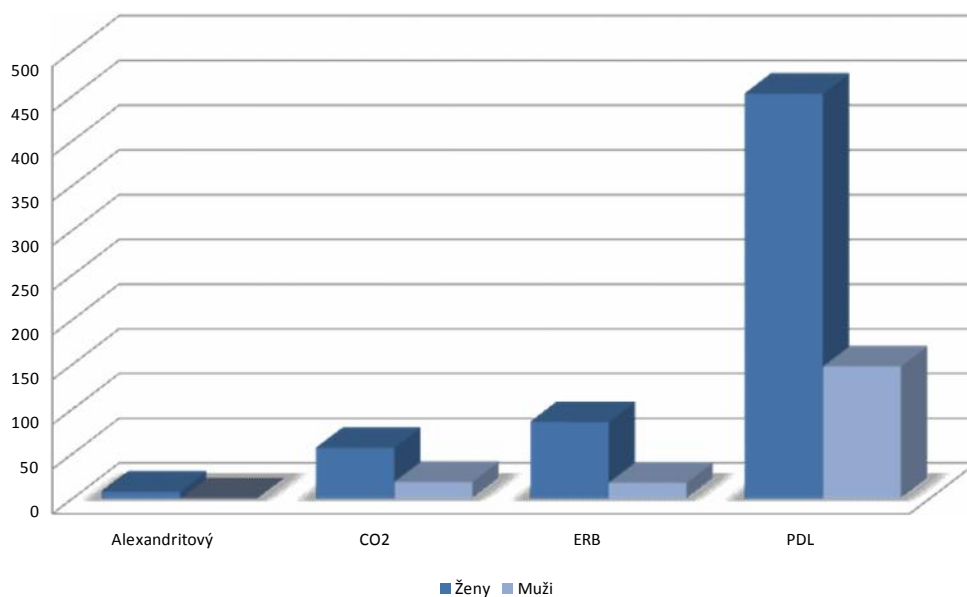


Obrázek 9: Procentuální vyjádření ztráty pigmentu u mužů a žen pro 4 druhy laseru



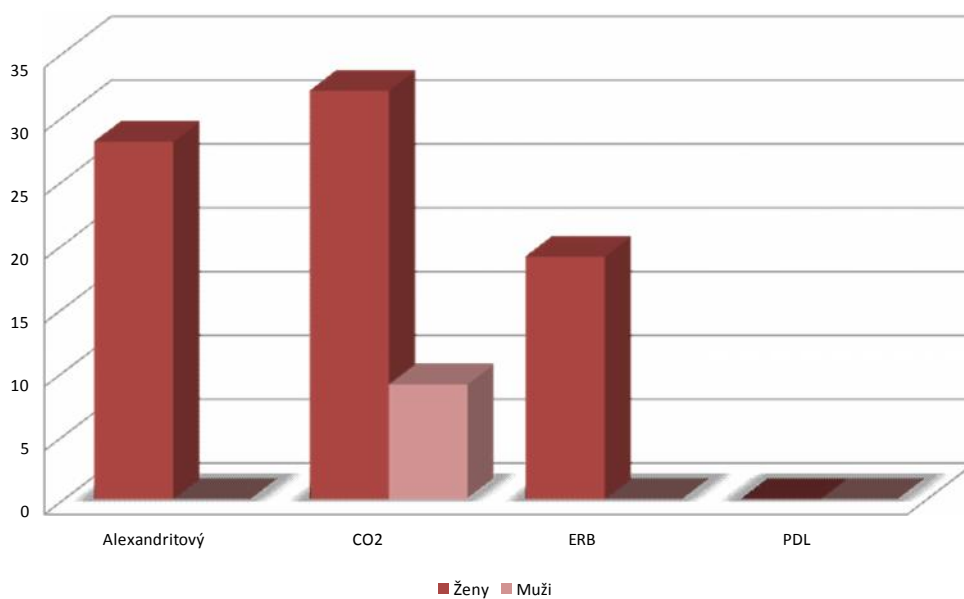
Obrázek 10: Procentuální vyjádření vzniku jizvy u mužů a žen pro 4 druhy laseru

Léčebný efekt - absolutní četnosti

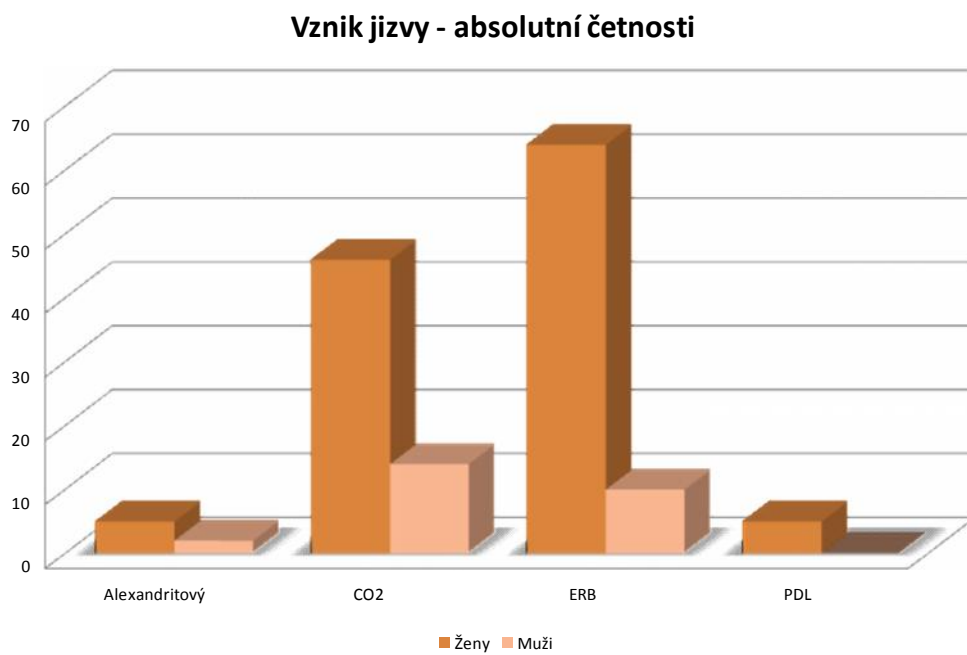


Obrázek 11: Absolutní četnosti úspěšného léčebného efektu u mužů a žen pro 4 druhy laseru

Ztráta pigmentu - absolutní četnosti



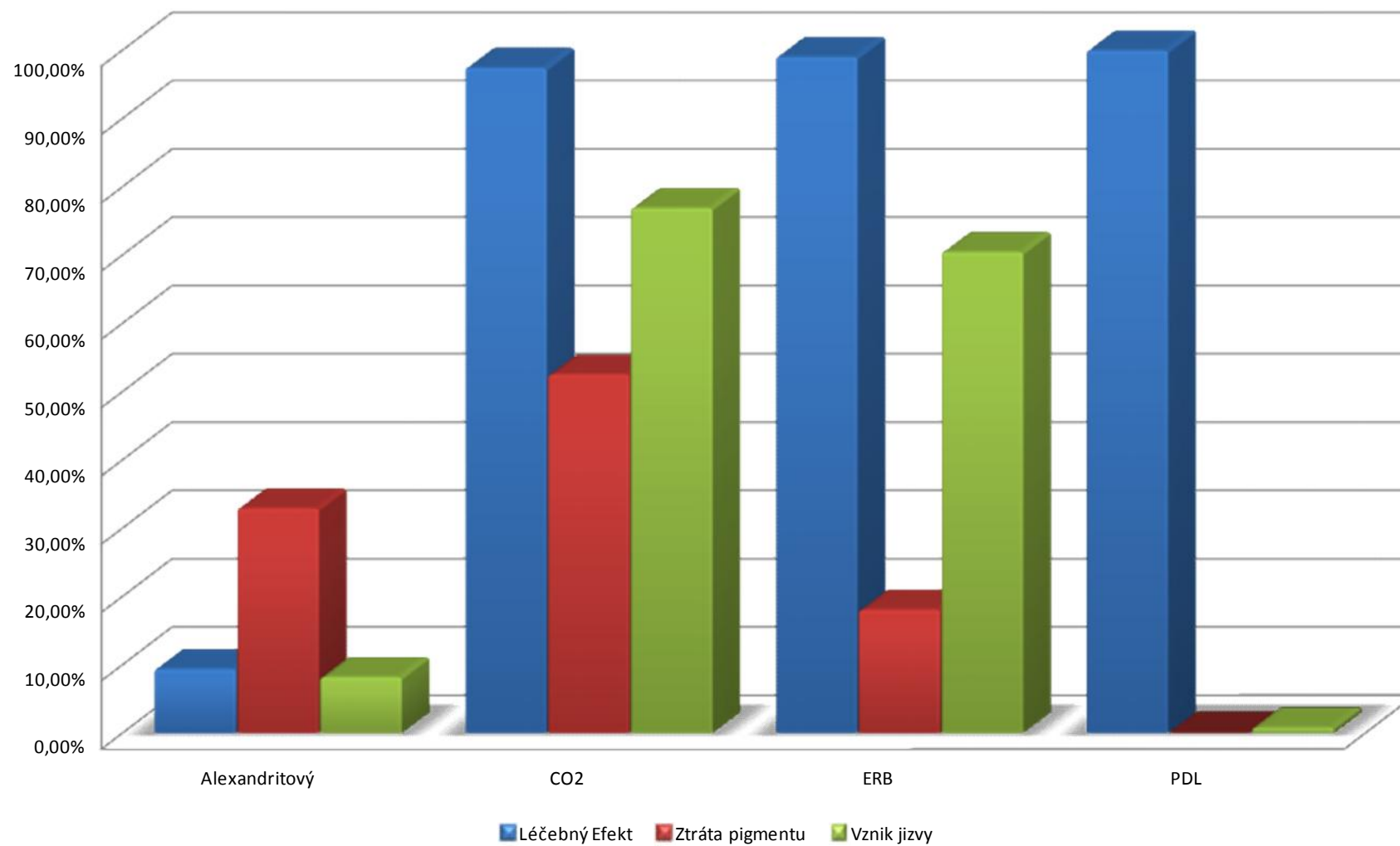
Obrázek 12: Absolutní četnosti výskytu ztráty pigmentu u mužů a žen pro 4 druhy laseru



Obrázek 13: Absolutní četnosti vzniku jizvy u mužů a žen pro 4 druhy laseru

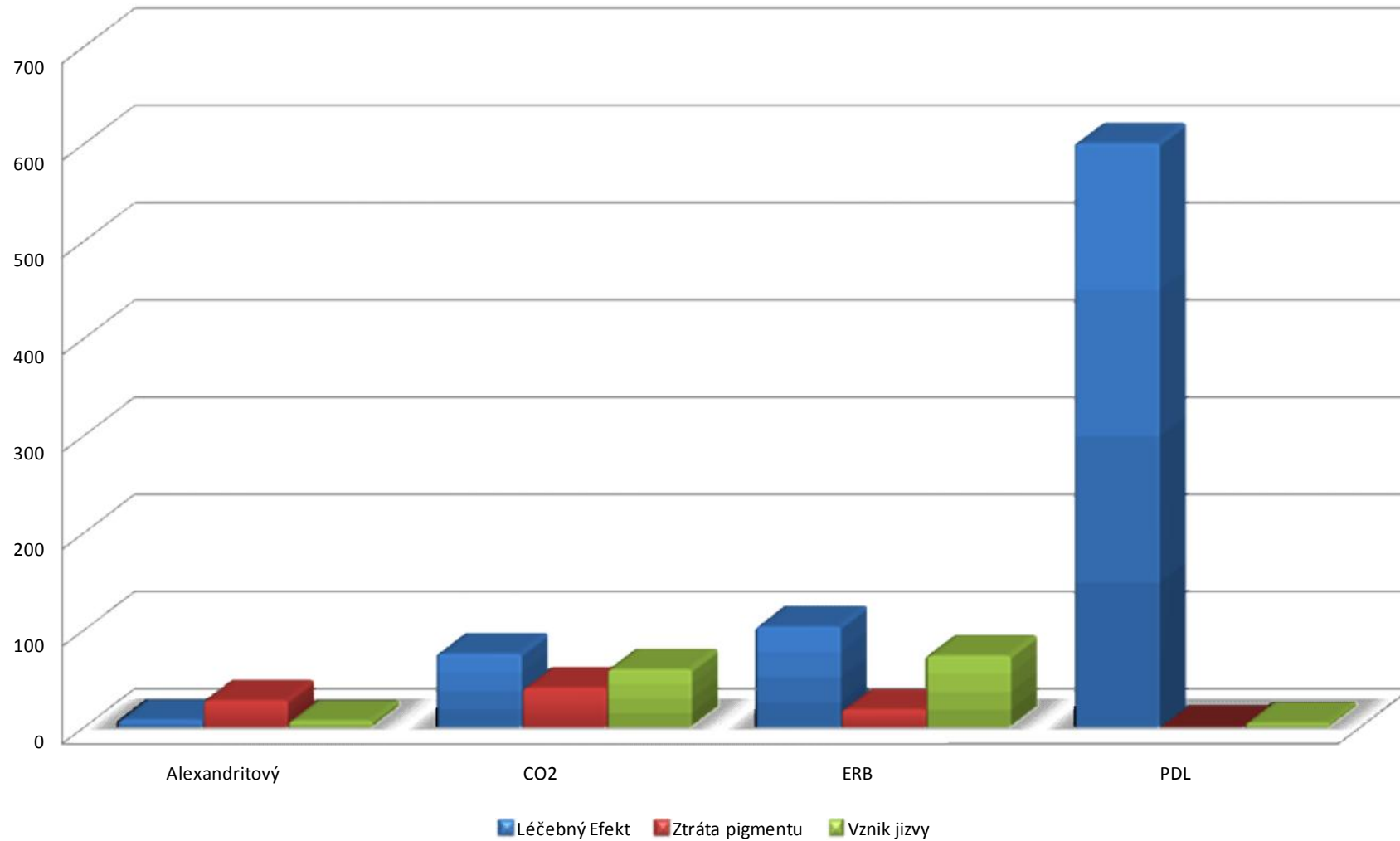
Na posledních obrázcích 14 a 15 jsou znázorněny opět relativní i absolutní četnosti pro všechny sledované proměnné, pro všechny pacienty (muži + ženy).

Léčebný efekt, Ztráta pigmentu, Vznik jizvy - procenta



Obrázek 14: Léčebný efekt, ztráta pigmentu a vznik jizvy u všech 4 druhů laserů – relativní četnosti (procenta)

Léčebný efekt, Ztráta pigmentu, Vznik jizvy - absolutní četnosti



Obrázek 15: Léčebný efekt, ztráta pigmentu a vznik jizvy u všech 4 druhů laserů – absolutní četnosti

6. DISKUSE

Dopadem laserového záření na tkáň dochází k fyzikálním jevům odrazu a lomu, absorpce a rozptylu laserového záření ve tkáni. Fyzikální vlastnosti laserového záření významně determinují jeho účinky stejně jako i fyzikální vlastnosti tkáně, na kterou působí.

Pro medicínskou praxi je důležité znát nejenom nejvhodnější vlnovou délku laseru ale i délku impulsu udávající dobu působení, expozice laserového záření na tkáň a případné další nastavitelné parametry – velikost stopy, možnost nastavení individuální dávky (hustoty výkonu nebo energie) či možnost nastavení chlazení. Pro praxi z medicínského hlediska je důležité srovnání a vyhodnocení účinnosti používaných laserů, aby bylo možné pomocí jejich aplikací dosáhnout co nejlepších terapeutických účinků. To znamená - najít pro každou indikaci optimální kompromis vlnové délky a léčebné dávky.

Jako příklad volby optimální laserové terapie uvádíme kazuistiky pacientů léčených v ordinaci AVE LASER CENTRUM v Olomouci s následující indikací – hemangiomy, hojení jizev u dětí a adolescentů po popálení, akné, rosacea, névus flammeus. K nejefektivnějšímu způsobu léčby drobného superficiálního hemangiomu do průměru 3 mm byly využity 4 různé vysokovýkonové laserové technologie – 2 ablativní lasery: CO₂ a Erb:YAG a 2 neablativní lasery: pulzní barvivový PDL (pulsed dye laser) a alexandritový laser. Působením ablativních systémů (CO₂ – hlubší vaporizace, ERB - jemná ablace po setinách mm) je hemangiom téměř vždy spolehlivě odstraněn, avšak většinou s drobnou jizvičkou po zahojení, nebo změnou v pigmentaci povrchu. U neablativních vysokovýkonových HLLT laserů ošetření probíhá na principu tzv. selektivní fototermolýzy. Zde se projevuje výrazný rozdíl působení specifických vlnových délek. Záření alexandritového laseru je absorbováno odkysličeným, namodralým krevním barvivem a melaninem. Právě proto většina drobných povrchních hemangiomů nebylo možno jeho působením odstranit.

Záření barvivového laseru je selektivně absorbováno červeným oxyhemoglobinem, dochází velmi efektivně k odstranění tkáně hemangiomu s minimem nežádoucích projevů a následků po vyhojení. Díky tomu jsou klinické možnosti využití barvivového laseru obrovské. Např. v redukci popáleninových jizev v obličeji, zvláště u dětí, svým minimálním zatížením pro dětský organizmus a vysokou účinností je téměř nenahraditelné. Zde se výrazným způsobem uplatňuje redukce cévek v jizvách, čímž dochází k měknutí, vyhlazení a vyblednutí

keloidních a hypertrofických projevů (bez krvácení a s minimem adverzních projevů) a postupné remodelaci – tzv. rejuvenaci pleti v obličeji (tj. vyhlazení a zlepšení často mutilujících následků popáleninových inzultů). Vzhledem ke své selektivitě je neablativní barvivový laser použitelný s velmi dobrými výsledky i v léčbě dalších diagnóz. Velmi významné je použití kromě vysloveně cévních diagnóz jako jsou PWS (Port Wine Stain – ohně) a hemangiomy, různé cévy-teleangiektázie nejenom v obličeji, ale i na končetinách a trupu, také různé projevy akné, bradavic a jizev – strií, jizev různého původu – po akné, chirurgických intervencích ale i post-traumatických – zvláště u malých dětí.

7. ZÁV R

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia v doktorském studijním oboru lékařské biofyziky na 1. lékařské fakultě UK Praze s využitím svých 13letých zkušeností s lasery v medicíně. Práce se zabývá fyzikálně biologickou podstatou účinku laserového záření na tkáň v závislosti na různých fyzikálních parametrech laserů.

V úvodu jsou zahrnuty hlavní mezníky v historii a vývoji laseru, laserové techniky a jeho fyzikální podstata. Je zde zmíněno, že využití laserových technologií zasahují do všech oblastí našeho každodenního bytí a lasery jsou už dnes základem nebo velkým pomocníkem řady odvětví, nejenom medicínské diagnostiky či terapie.

Základem pro použití laserového přístroje v medicíně je znalost interakce laserového záření s tkání, proto se další část disertační práce věnuje popisu různých typů interakcí laserového záření s biologickou tkání v závislosti na vlnové délce, době působení laseru a intenzitě záření. Jedná se o fotokoagulaci, selektivní fototermolýzu, vaporizaci, fotochemickou ablací, fotodisrupci a fotochemickou interakci.

Na základě tohoto rozboru obsahuje další kapitola práce ověření a srovnání účinků čtyř vysokovýkonových laserových přístrojů s různými výstupními parametry. Jednalo se o 2 ablativní (CO₂ a Er:YAG laser) a 2 neablativní lasery (alexandritový a pulsní barvivový laser). Oba neablativní lasery jsou navíc vybaveny systémem dynamického chlazení kryogenním sprejem, tzv. DCD /dynamic cooling device/. K porovnání účinnosti těchto laserových technologií byly použity statistické metody, jako je Mannův – Whitney U – test a Kruskal – Wallisova ANOVA. Objektem biologických účinků laserů na tkáň byl zvolen povrchový hemangiom do 3 mm průměru v souboru 869 pacientů. Výsledky statisticky

jednoznačně optimalizovaly působení neablativního pulsního barvivového laseru- jako nejefektivnější metody léčby povrchového cévního projevu kůže.

Podrobný popis použitých metod a výsledků byl shrnut do desítky prezentací na konferencích a mezinárodních symposiích v Evropě a celosvětovém workshopu LASER PHYSICS 2011 a publikován v řadě sborníků z kongresů a v renomovaných – impaktovaných časopisech fyzikálních a medicínských (viz přílohy).

Závěrem je možno konstatovat, že práce shrnuje nové poznatky léčby kůže, které byly do doby „laserové revoluce v medicíně“ doménou chirurgických postupů a dnes jsou díky vývoji poznání interakce laserového záření s tkání vytlačovány na okraj nutnosti chirurgické intervence. Kromě cévních sem patří i řada pigmentových projevů, odstranitelných většinou ablací a někdy taky lépe neablativním – depigmentačním alexandritovým laserem – bez jakékoliv stopy po ošetření. Vždy ovšem hraje velmi významnou roli správné určení diagnózy a výběr terapie.

Indikace k léčbě laserem by měly vždy vycházet ze znalosti mechanismu působení více druhů laserových přístrojů, ze znalosti limitů efektů i možných komplikací.

8. Literatura

1. Graudenz, K., Raulin, C. From Einstein's quantum theory to modern laser therapy. The history of lasers in dermatology and aesthetic medicine. Hautarzt Volume 54, Issue 7, 1 July 2003, Pages 575-582
2. Karlov, N.V., Krokhin, O.N. , Lukishova, S.G. History of quantum electronics at the Moscow Lebedev and General Physics Institutes: Nikolaj Basov and Alexander Prokhorov. Applied Optics. Volume 49, Issue 25, 1 September 2010, Pages F32-F46
3. Munnerlyn, C.R. Lasers in ophthalmology: Past, present and future. Journal of Modern Optics Volume 50, Issue 15-17, 2003, Pages 2351-2360
4. Anderson, R.R. Dermatologic history of the ruby laser: The long story of short pulses. Archives of Dermatology Volume 139, Issue 1, 1 January 2003, Pages 70-74

5. Bainerman, J. LASER MEDICINE IN ISRAEL. *Lasers & Applications* Volume 3, Issue 5, May 1984, Pages 106-107
6. Ohshiro, T. Light and life: A review of low reactive-level laser therapy, following 13 years' experience in over 12000 patients. *Laser Therapy* Volume 5, Issue 1, 1993, Pages 5-22
7. Laser a jeho využití. URL document: WWW address:
<http://www.cez.cz/edee/content/microsites/laser/k12.htm>, cited: [2011-08-19]
8. Navrátil L., Rosina J. *Medicínská biofyzika*, Grada 2010
9. Fedeli, J.-M., Ben Bakir, B., Olivier, N., Grosse, Ph., Grenouillet, L., Augendre, E., Philippe, P., Gilbert, K., Bordel, D., Harduin, J. InP on SOI devices for optical communication and optical network on chip *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*. Volume 7942, 2011, Article number 794200
10. Norvig, P. 2020 visions *Nature* Volume 463, Issue 7277, 7 January 2010, Page 26
11. Yu, D.M., Li, X.J. , Su, J., Wang, D., Gao, Z.H. Xiong, Y. The effect of the scanning mode on the finished precision for sla technology *Key Engineering Materials* Volume 458, 30 December 2011, Pages 374-379
12. Haider, A.F.M.Y., Rony, M.A., Lubna, R.S., Abedin, K.M. Detection of multiple elements in coal samples from Bangladesh by laser-induced breakdown spectroscopy. *Optics and Laser Technology* Volume 43, Issue 8, November 2011, Pages 1405-1410
13. Le Guen, E., Fabbro, R., Carin, M., Coste, F., Le Masson, P. Analysis of hybrid Nd:Yag laser-MAG arc welding processes. *Optics and Laser Technology* Volume 43, Issue 7, October 2011, Pages 1155-1166
14. Döring, S., Richter, S., Tünnermann, A., Nolte, S. Evolution of hole depth and shape in ultrashort pulse deep drilling in silicon. *Applied Physics A: Materials Science and Processing* 2011, Pages 1-6
15. Powell, J., Al-Mashikhi, S.O., Kaplan, A.F.H., Voisey, K.T. Fibre laser cutting of thin section mild steel: An explanation of the 'striation free' effect. *Optics and Lasers in Engineering* Volume 49, Issue 8, August 2011, Pages 1069-1075
16. Castro, D.J., Castro, D.J., Saxton, R.E., Paiva, M.B., Vanderwerf, Q., Soudant, J. Dye-assisted CO2 laser photodermabrasion: A simplified technique for skin resurfacing. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery* Volume 13, Issue 6, 1995, Pages 387-395
17. Pogorelsky, I.V. , Babzien, M., Polyanskiy, M.N., Yakimenko, V., Dover, N.P., Palmer, C.A.J., Najmudin, Z., Shkolnikov, P., Williams, O., Rosenzweig, J., Oliva, P.,

- Carpinelli, M., Golosio, B., Delogu, P., Stefanini, A., Endrizzi, M. Lasers as particle accelerators in medicine: From laser-driven protons to imaging with Thomson sources. *AIP Conference Proceedings Volume 1336*, 2011, Pages 386-390
18. Fischer, M.C., Samineni, P., Li, B., Claytor, K., Warren, W.S. Accessing nonlinear phase contrast in biological tissue using femtosecond laser pulse shaping. *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE Volume 8086*, 2011, Article number 80860O
 19. Jawad, M.M., Qader, S.T.A., Zaidan, A.A., Zaidan, B.B., Naji, A.W., Qader, I.T.A. An overview of laser principle, laser-tissue interaction mechanisms and laser safety precautions for medical laser users. *International Journal of Pharmacology Volume 7*, Issue 2, 2011, Pages 149-160
 20. Zhang, X. , Zhao, H., Zhan, Z., Ye, Q., Xie, S. Laser-induced hard tissue ablation by assisted with a liquid film on target tissue surface. *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE Volume 7845*, 2010, Article number 78451N
 21. Fanjul-Velez, F., Ortega-Quijano, N., Salas-Garcia, I., Arce-Diego, J.L. Thermal injury models for optical treatment of biological tissues: a comparative study. *Conference proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference Volume 2010*, 2010, Pages 532-535
 22. Stratakis, E., Ranella, A., Farsari, M., Fotakis, C. Laser-based micro/nanoengineering for biological applications. *Progress in Quantum Electronics Volume 33*, Issue 5, September 2009, Pages 127-163
 23. Cox B. Introduction to Laser-Tissue interactions. October 2010.
 24. Boulnois J.L. Photophysical Processes in Recent Medical Laser Developments: a Review. *Laser Medical Science*, 1, 47-66 (1986)
 25. A.P. Castano, P. Mroz and M.R. Hamblin, "Photodynamic therapy and anti-tumour immunity" *Nature Reviews Cancer*, 6, 535-545 (2006)
 26. D.E.J.G.J. Dolmans, D. Fukumara and R.K. Jain, "Photodynamic therapy for cancer" *Nature. Reviews Cancer*, 3, 380-387 (2003)
 27. T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan and Q. Peng, "Review: Photodynamic Therapy" *Journal of the National Cancer Institute*, 90(12), 889-905 (1998)
 28. A.L. McKenzie, "Review article: Physics of thermal processes in laser-tissue interaction" *Physics in Medicine and Biology*, 35(9), 1175-1209 (1990)

29. G. Paltauf and P.E. Dyer, "Photomechanical Processes and Effects in Ablation" Chemical Reviews, 103, 487-518 (2003)
30. A. Vogel and V. Venugopalan, "Mechanisms of Pulsed Ablation of Biological Tissues" Chemical Reviews, 103, 577-644 (2003)
31. Pustovalov, V.K., Jean, B. Theoretical investigations of the processes of selective laser interaction with melanin granules in pigmented tissues for laser applications in medicine. Laser Physics Vol. 16, Issue 7, July 2006, Pages 1011-28
32. Niemz M.H. Laser-Tissue Interactions, Third, Revised Edition, Springer-Verlag (2004)
33. Šulc J.. Lasery a jejich aplikace. Říjen 2002
34. Moan, J., Christensen T. Photodynamic effects on human cells exposed to light in the presence of hematoporphyrin. Localisation of the active dye. Cancer Lett. 11, 209-14, 1982
35. Berns, M.W., Dahlman, A., Johnson, F., Burns, R., Sperling, D., Guiltinan, M., Siemens, A., Walter, R., Wright, R., Hammer-Wilson, M, Wile, A. In vitro cellular effects of hematoporphyrin derivative. Cancer Res., 42, 2325-29, 1982
36. Malik, Z., Hanania, J., Nitzan, Y. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins – an alternative approach to antimicrobial drugs. J. Photochem. Photobiol. 5, 281-93, 1990
37. Wilson, M., Donson, J., Harvey, W. Sensitization of streptococcus sanguis to killing by light from helium/neon laser. Laser Med. Sci. 8, 69-73, 1993
38. Roder, B., Nather, D., Lewald, T., Braune, M., Freyer, W., Nowak, C. Photophysical properties and photodynamic activity in vivo of some tetrapyrroles. Biophys. Chem. 35, 303-12, 1990
39. Parrish, J.A., Deutchs, T.F. Laserphotomedicine, IEEE J. Qu. Electron. QE-20, 1396-96, 1984
40. Pannes H. H. Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm. J. Appl. Physiol. 1:93–122, 1948.
41. Brownell, A.S., Hysell, D.K. Analysis of laser induced skin burns by a damage integral model. US Army Medical Research laboratory, March 1970
42. Feng, Y., Rylander, M.N., Bass, J., Oden, J.T., Diller, K. Optimal design of laser surgery for cancer treatment through nanoparticles. NSTI – Nanotech 2005, 1, 39-42
43. Laidler, K. J. (1997) Chemical Kinetics, Third Edition, Benjamin-Cumming

44. Welch, A.J., The thermal response of laser irradiated tissue. *IEEE J. Qu. Electron.* QE-20, 1471-81, 1984
45. Pearce, J.A. Models for thermal damage in tissues: Processes and Applications. *Critical Reviews in Biomedical Engineering* Volume 38, Issue 1, 2010, Pages 1-20
46. Srinivasan, R., Mayne-Banton, V. Self-developing photoetching of poly (ethylene terephthalate) films by far-ultraviolet excimer laser radiation. *Appl. Phys. Lett.* 41, 567-78, 1982
47. Brannon, J.H., Lamkard, J.R., Baise, A.I., Burns, F., Kaufman, J. Excimer laser etching of polyimide. *J. appl. Phys.* 58, 2036-43, 1985
48. Srinivasan, R., Braren, B., Dreyfus, R.W., Hadel, L., Seeger, D.E. Mechanism of the ultraviolet laser ablation of polymethyl methacrylate at 193 and 248 nm: laser-induced fluorescence analysis, chemical analysis, and doping studies. *J. Opt. Soc. Am.* B3, 785-91, 1986
49. Andrew, J.E., Dyer, P.E., Forster, D., Key, P.H. Direct etching of polymeric materials using a XeCl laser. *Appl. Phys. Lett.* 43, 717-19, 1983
50. Teng, P., Nishioka, N.S., Anderson, R.R., Deutch, T.F. Acoustic studies of the role of immersion in plasma-mediated laser ablation. *IEEE J. Qu. Electron.* QE-23, 1842-53, 1987
51. Stern, D., Schoenlien, R.W., Puliafito, C.A., Dobi, E.T., Birngruber, R., Fujimoto, J.G. Corneal ablation by nanosecond, picosecond and femtosecond lasers at 532 nm and 625 nm. *Arch Ophthalmol.* 107, 587-92, 1989
52. Niemz, M.H., Klancnik, E.G., Bille, J.F. Plasma-mediated ablation of corneal tissue at 1053 nm using a Nd:YLF oscillator/regenerative amplifier laser. *Lasers Surg. Med.* 11, 426-31, 1991
53. Alipanah, Y., Asnaashari, M., Anbari, F. The effect of low level laser (GaAlAs) therapy on the post-surgical healing of full thickness wounds in rabbits. *Medical Laser Application* Volume 26, Issue 3, August 2011, Pages 133-138
54. Rose, P.T. The latest innovations in hair transplantation. *Facial Plastic Surgery* Volume 27, Issue 4, 2011, Pages 366-377
55. Sobanko, J.F., Alster, T.S. Laser treatment for scars and wounds. *Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia* Volume 144, Issue 5, October 2009, Pages 583-593
56. Whinfield, A.L., Aitkenhead, I. The light revival: Does phototherapy promote wound healing? A review. *Foot* Volume 19, Issue 2, June 2009, Pages 117-124

57. Sobanko, J.F. , Alster, T.S. Efficacy of low-level laser therapy for chronic cutaneous ulceration in humans: A review and discussion. *Dermatologic Surgery* Volume 34, Issue 8, August 2008, Pages 991-1000
58. Ohshiro, T. Laser blood saving campaign and world federation of societies for laser medicine and surgery. *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE* Volume 5610, 2004, Article number 28, Pages 165-184
59. Ohshiro, T., Fujino, T. Laser applications in plastic and reconstructive surgery. *Keio Journal of Medicine* Volume 42, Issue 4, December 1993, Pages 191-195
60. Ohshiro, Toshio New classification of clinical laser: Practical application. *Pacific Rim Conference on Lasers and Electro-Optics, CLEO - Technical Digest* 1997, Page 313
61. Jones, T., Fleming, C., Llewelyn, J. Management of vascular lesions of the mouth and lips using a potassium titanyl phosphate (KTP) laser: Review of patient satisfaction. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* Volume 49, Issue 5, July 2011, Pages 364-367
62. Ranchod, T.M., Capone, A. Tips and tricks in pediatric vitreoretinal surgery. *International Ophthalmology Clinics* Volume 51, Issue 1, December 2011, Pages 173-183
63. Sroka, R., Hennig, G., Zillinberg, K., Khoder, W.Y. Diode laser supported partial nephrectomy in laparoscopic surgery: Preliminary results. *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE* Volume 8092, 2011, Article number 809210
64. Shen, C.-C., Yang, Y.-C., Liu, B.-S. Large-area irradiated low-level laser effect in a biodegradable nerve guide conduit on neural regeneration of peripheral nerve injury in rats. *Injury* Volume 42, Issue 8, August 2011, Pages 803-813
65. Carradice, D., Mekako, A.I., Mazari, F.A.K., Samuel, N., Hatfield, J., Chetter, I.C. Clinical and technical outcomes from a randomized clinical trial of endovenous laser ablation compared with conventional surgery for great saphenous varicose veins. *British Journal of Surgery* Volume 98, Issue 8, August 2011, Pages 1117-1123
66. Carradice, D., Mazari, F.A.K., Samuel, N., Allgar, V., Hatfield, J., Chetter, I.C. Modelling the effect of venous disease on quality of life. *British Journal of Surgery* Volume 98, Issue 8, August 2011, Pages 1089-1098
67. Rosenfeld, G., Enns, R. Argon photocoagulation in the treatment of gastric antral

- vascular ectasia and radiation proctitis. *Canadian Journal of Gastroenterology* Volume 23, Issue 12, December 2009, Pages 801-804
68. von Gierke, L.a , Baumann, I.b , Plinkert, P.K.b , Praetorius, M. Microsurgical middle ear operations: Variability of the audiometric results from frequency variations. *HNO* Volume 59, Issue 7, July 2011, Pages 676-682
69. Micali, G., Lacarrubba, F., Massimino, D., Schwartz, R.A. Dermatoscopy: Alternative uses in daily clinical practice. *Journal of the American Academy of Dermatology* Volume 64, Issue 6, June 2011, Pages 1135-1146
70. Alcántara González, J., Boixeda, P., Truchuelo Díez, M.T., Fleta Asín, B. Keratosis pilaris rubra and keratosis pilaris atrophicans faciei treated with pulsed dye laser: Report of 10 cases. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* Volume 25, Issue 6, June 2011, Pages 710-714
71. Srinivasan, C., Kumaresan, M. Lasers for vascular lesions: Standard guidelines of care *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* Volume 77, Issue 3, May 2011, Pages 349-368
72. Kim, H.S., Lee, J.Y., Kim, H.O., Park, Y.M. En coup de sabre presenting as a port-wine stain initially treated with a pulsed dye laser. *Journal of Dermatology* Volume 38, Issue 2, February 2011, Pages 209-210
73. Wu, D., Chen, B., Shi, S.-Y., Cao, X.-D., Luo, D., Xue, Z.-Y., Bi, Z.-G. Analysis of clinical efficacy of Q-switch 585 nm laser, intensive pulsed light and long-pulse 1 064 nm Nd: YAG laser in the treatment of superficial dermovascular diseases. *Journal of Clinical Dermatology* Volume 39, Issue 12, 5 December 2010, Pages 793-795
74. Chang LC, Haggstrom AN, et al. Growth characteristics of infantile hemangiomas: implications for management. *Pediatrics*, 122, 2008, s. 360-367
75. Chiller KG, Passaro D, Frieden IJ. Hemangiomas of infancy: clinical characteristics, morphologic subtypes and their relationship to race, ethnicity and sex. *Arch Dermatol*,138, 2002, s. 1567-1576
76. Waner M, Suen JY. Hemangiomas and vascular malformationf of the head and neck. 1.edition, Hoboken:Wiley, 1999, ISBN 978-0-471-17597-1
77. Buckmiller LM, Richter GT et al. Diagnosis and management of hemangiomas and vascular malformations of the head and neck. *Oral Disease*,16, 2010, s. 405-418
78. Werner JA, Dünne AA, Folz BJ, Rochels R, Bien S, Ramaswamy A, Lippert BM. Current concepts in the classification, diagnosis and treatment of hemangiomas and

- vascular malformations of the head and neck. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 258, 2001, s. 141-149
79. Sanguenza OP, Requena L. Pathology of vascular skin lesions: clinicopathological correlations. In: DamjanovI, ed. *Current clinical pathology*. Totowa: Humana Press, 2003, s. 136-150
80. Perosino, E., Tati, E. Case report: Treatment of keloid with Intense Pulsed Light. *Journal of Plastic Dermatology* Volume 6, Issue 2, 2010, Pages 149-152
81. Sobanko, J.F., Alster, T.S. Laser treatment for scars and wounds. *Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia* Volume 144, Issue 5, October 2009, Pages 583-593
82. Han, Y.-J. , Jeong, Y. , Whang, K.-K. Treatment of hypertrophic scars and keloids using intense pulsed light. *Korean Journal of Dermatology* Volume 47, Issue 4, April 2009, Pages 395-402
83. Donelan, M.B., Parrett, B.M., Sheridan, R.L. Pulsed dye laser therapy and z-plasty for facial burn scars: The alternative to excision. *Annals of Plastic Surgery* Volume 60, Issue 5, May 2008, Pages 480-486
84. Martins, A., Trindade, F., Leite, L. Facial scars after a road accident: Combined treatment with PDL and Q-switched ND:YAG laser. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy* Volume 10, Issue 3, 2008, Pages 174-176

9. Publikace autora související s využitím laser v medicíně

Časopisy s IF:

1. Remlová, E., Vránová, J., Rosina, J., Navrátil, L. Analysis of therapeutical effects of Er:YAG and CO₂ laser post treatments of small hemangiomas. *Laser Physics* , pp. 1-5
Přijato v tisku. **(IF: 1,319)**
2. Remlova E, Dostalová T, Michalusová I, Vránová J, Navrátil L, Rosina J. Hemangioma Curative Effect of PDL, Alexandrite, Er: YAG and CO₂ Lasers. *Photomed Laser Surg*. 2011 Jul 27. Přijato v tisku **(IF: 1,633)**
3. E. Remlová, T. Dostálová, J. Vránová, L. Navrátil, J. Rosina. *Laser in Medical Science*, Springer London Publisher: Long term evaluation of PDL laser in dermatology **(IF 2,574)**

Články v časopisech s recenzním řízením:

1. Duda M, Gryga A, Dlouhý M, Remlová E, Svach I. : Surgery of gastroduodenal ulcers in the Czech Republic]. Rozhl Chir. 1997; Vol 76, No. 1: s. 32-5.
2. Duda M, Gryga A, Dlouhý M, Remlová E, Svach I. Chirurgie gastroduodenálního vředu v České republice. Praktický lékař 1997.; Vol. 77, Supplementum 1, s.19 – 21.

Seznam přednášek:

1. Remlová E.: 8 years experience with PDL 10th International Congress of Dermatology, PRAHA 20. – 24. 5. 2009
2. Remlová E.: 8 let zkušeností s pulzním barvivovým laserem. Celostátní konference LASERY v MEDICINĚ 2009, BRNO 27. –28. 9. 2009
3. Remlová E.: Co nového v laserech a IPL ? Celostátní konference LASERY v MEDICINĚ 2009, BRNO 27. – a 28. 9. 2009
4. Remlová E.: 8 rokov skúseností s PDL 10th International Congress of Dermatology, DERMAPARTY, ŽILINA SK, 6. – 8. 12. 2009
5. Remlová E.: 9 ročné skúsenosti s cievny laserom 1. Laserový Májový kongres, PIEŠŤANY SK, 1. 5. 2010
6. Remlová E.: 9 years experience with Pulsed Dye Laser LASEREUROPE 2010, TARRAGONA, ŠPANĚLSKO 6. – 9. 5. 2010
7. Remlová E.: Využití pulzního barvivového laseru (PDL) v medicíně. Multioborová konference LASER 50, (AVČR), TŘEŠŤ, 4. – 6. 10. 2010
8. Remlová E.: 9 years experience with Pulsed Dye Laser 23rd International Congress Laser Medicine IALMS LASER FLORENCE 2010, FLORENCIE, ITÁLIE 4. A – 5. 11. 2010
9. Remlová E.: 10 let zkušeností s PDL. 7. kongres českých a slovenských dermatovenerologů a jarní symposium EADV, KARLOVY VARY 12. – 17. 4. 2011.
10. Remlová E.: 10 years experience with Pulsed Dye Laser in medicine LPHYS'11, 20th International Laser Physics Workshop, (3. Biophotonica), SARAJEVO, BOSNA - HERCEGOVINA 11. – 15. 7. 2011
11. Remlová E: Long term evaluation of PDL laser in dermatology
12. POSTER: Hemangioma Treatment Effect of PDL, Alexandrite, Er: YAG and CO₂ Lasers
13. Přijat abstrakt k posteru a přednášce na 25th LASER FLORENCE, 24th International Academy laser medicine and Surgery Firenze, 4. – 6. 11. 2011

SUMMARY

The study was worked out during my combined studies on medical biophysics on the 1st Faculty of Medicine at Charles University in Prague using my 13-year experience with lasers in medicine.

The study focuses on physical and biological bases of laser beam effects on the tissue depending on the different physical parameters of lasers.

The introductory chapter includes a review of laser development, laser equipment and the basic principles of laser. Laser technologies interfere into all spheres of our daily life and they are the basic of several medical diagnostics and therapy as well as helpers in other branches. The next part describes different kinds of laser beam interactions with biological tissue and their dependence on the wavelength and the pulse duration. Namely: photocoagulations, selective photothermolysis, vaporizations, photochemical ablations, photodisruptions and photochemical interactions.

From the medical point of view it is important to compare and evaluate effectivity of used lasers, which helps us to achieve the best results. It means to find the optimal compromise for all the indications to choose an optimal wavelength or their combination and to develop new modifications of laser technologies. As an example of optimal laser therapy some cases of patients treated in AVE LASER CENTRUM OLOMOUC with following indications are introduced: hemangiomas, scars- mainly after burns, acne, rosacea, naevus flammeus, and verrucae vulgaris.

The four different types of HLLT (High Level Laser Therapy) technologies for the most effective therapy of the small superficial hemangioma to 3 mm on diameter were used: two ablative lasers: CO₂ and Er: YAG and two nonablative lasers: pulsed dye PDL and alexandrite laser. With the ablative lasers we provide deep vaporization (CO₂) and smooth ablation (Er: YAG). Hemangiomas were removed, but small scars or pigment spots might appear after healing. Non-ablative lasers work on the principle of selective photothermolysis. Alexandrite laser beam is well absorbed deoxygenation carboxyhemoglobin, blue blood colour and melanin. Therefore most of the superficial hemangiomas could not be removed with alexandrite laser. PDL is selectively well absorbed by red oxyhemoglobin and it provides a very effective treatment of these types of hemangioma with minimum adverse effects. Thus PDL can be widely used for reduction of scars after burns, mainly in children. It provides reduction of vessels in scars, resulting smoothing and rejuvenating of keloid and hypertrophic effects.

It can be used to treat other diagnosis such as: PWS, face and legs teleangiectasis, acne, rosacea, warts.

The detail description of used methods and results has been summarized in more than ten presentations at conferences and international congresses in Europe and in the workshop LASER PHYSICS'11 and it published in many journals on physics and medicine.

Finally I would like to emphasize from the surgeon's approach (I was preoccupied with treatment of skin problems, which before the "laser revolution in medicine" were used to be treated surgically), that apart from vascular lesions, many pigment problems can be removed by ablative or nonablative lasers without any side effect.

The correct diagnosis and perfect choice of therapy are absolutely essential.