

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biofyziky a fyzikální chemie

**MĚŘENÍ ZMĚN MECHANICKÝCH VLASTNOSTÍ LIDSKÉ
KŮŽE PO APLIKACI TERAPEUTICKÉHO LASERU**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

Hradec Králové 2013

Veronika Jurčíová

Děkuji Mgr. Monice Kuchařové, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce, za ochotu, připomínky a cenné rady, které mi pomáhaly při sepisování práce. Děkuji také doc. RNDr. Petru Klemmerovi, CSc. za pomoc při zpracování získaných výsledků.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Kandidát: Veronika Jurčiová

Vedoucí práce: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

Název diplomové práce: Měření změn mechanických vlastností lidské kůže po aplikaci terapeutického laseru

Tato diplomová práce v teoretické části popisuje vlastnosti lidské kůže, vlastnosti laserového záření a podstatu interakce laserového záření s lidskou kůží. Praktická část práce se zabývá *in vivo* měřením změn mechanických parametrů lidské kůže po aplikaci terapeutického laseru. Mechanické parametry lidské kůže byly měřeny u deseti dobrovolníků před aplikací laserového záření a po jeho aplikaci. Použitá hustota energie laserového záření v jednotlivých sériích měření rostla od 30 do 90 J·cm⁻². Sledovanými parametry byly Hookeův koeficient, Newtonův koeficient a časová konstanta. Hookeův koeficient vypovídá o tuhosti kůže jako celku, Newtonův koeficient charakterizuje její viskozitu, časová konstanta udává čas, za který se kůže navrátí po deformaci do původního stavu. K měření těchto parametrů byl použit dynamický elastometr.

Experimentem bylo zjištěno, že bezprostředně po aplikaci terapeutického laserového záření o vlnové délce 830 nm, výkonu 188 mW a při hustotě energie laserového záření od 30 do 90 J·cm⁻², došlo k růstu hodnot Hookeova a Newtonova koeficientu. U časové konstanty růst prokázán nebyl. Dále jsme zjistili, že se změny Hookeova a Newtonova koeficientu a časové konstanty statisticky významně neliší v závislosti na aplikované hustotě energie laserového záření.

ABSTRACT

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biophysics and Physical Chemistry

Candidate: Veronika Jurčiová

Supervisor: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

Title of diploma thesis: Measurement of changes in mechanical properties of human skin after application of therapeutic laser

This diploma thesis describes in the theoretical part the properties of human skin, the properties of laser radiation and the nature of interaction of laser radiation with human skin. The practical part deals with an *in vivo* measurement of changes in mechanical parameters of human skin after application of therapeutic laser radiation. The mechanical parameters of human skin were measured in ten volunteers before the application of laser radiation and then after the application. Used energy density of the laser radiation increased from 30 to 90 J·cm⁻². The observed parameters were Hooke's coefficient, Newton's coefficient and the time constant. Hooke's coefficient describes the stiffness of the skin as a whole, Newton's coefficient characterises the viscosity of the skin, the time constant is the time in which skin returns to the original state after deformation. For measurement of those parameters was used dynamic elastometer.

It was found out that the changes of Hooke's and Newton's coefficient had increased immediately after the application of the therapeutic laser radiation with the wave length of 830 nm, the power of 188 mW and the energy density of laser radiation from 30 to 90 J·cm⁻². An increase of the time constant was not proved. The changes in Hooke's and Newton's coefficient and in the time constant aren't statistically significantly different in reliance to the applied energy density of the laser radiation.

OBSAH

1.	ZADÁNÍ PRÁCE	8
2.	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1.	Anatomie a histologie kůže.....	9
2.1.1.	Pokožka	9
2.1.2.	Škára	11
2.2.	Biochemie kůže.....	12
2.2.1.	Chemické složení kůže	12
2.2.1.1.	Keratin.....	12
2.2.1.2.	Kolagen	12
2.2.1.3.	Elastin.....	13
2.2.1.4.	Mezibuněčná matrix	14
2.2.2.	Metabolismus kůže	15
2.3.	Funkce kůže	16
2.4.	Mechanické vlastnosti kůže	18
2.4.1.	Základy reologie kůže	18
2.4.1.1.	Reologické charakteristiky.....	19
2.4.1.2.	Reologické modely.....	20
2.4.2.	Vybrané metody používané k měření mechanických vlastností kůže.....	23
2.5.	Laserové záření	24
2.5.1.	Laser	24
2.5.1.1.	Princip laseru.....	24
2.5.1.2.	Typy laserů.....	27
2.5.2.	Interakce laserového záření a kůže.....	30
2.5.2.1.	Optická fáze	30
2.5.2.2.	Fotochemická a fototermická fáze	31
2.5.2.3.	Biologické účinky laserového záření	32
2.5.3.	Využití laserů v medicíně.....	35
2.5.3.1.	Využití neinvazivního laseru.....	35
2.5.3.2.	Využití invazivního laseru	37

3.	PRAKTICKÁ ČÁST.....	39
3.1.	Použitá technika	39
3.1.1.	Měřicí aparatura.....	39
3.1.2.	Laser	40
3.2.	Metodika a pracovní postup	42
3.2.1.	Impulsní charakteristiky	42
3.2.2.	Zpracování dat	43
3.2.3.	Pracovní postup	44
3.3.	Výsledky	46
3.3.1.	Hookeův koeficient	46
3.3.1.1.	Analýza výsledků Hookeova koeficientu.....	48
3.3.2.	Newtonův koeficient	49
3.3.2.1.	Analýza výsledků Newtonova koeficientu.....	52
3.3.3.	Časová konstanta	53
3.3.3.1.	Analýza výsledků časové konstanty.....	55
4.	DISKUZE.....	56
5.	ZÁVĚR	58
6.	SEZNAM LITERATURY	59

1. ZADÁNÍ PRÁCE

Katedra biofyziky a fyzikální chemie Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové se dlouhodobě zabývá studiem mechanických vlastností biologických struktur a umělých materiálů. Pro měření mechanických vlastností těchto materiálů byl na katedře vyvinut dynamický elastometr. Elastometr umožňuje měřit mechanické vlastnosti biologických materiálů jako je kůže, kosti nebo stěny cév, přičemž měření mechanických vlastností kůže je na něm možné provádět *in vivo*.

Lidská kůže tvoří bariéru mezi vnitřním a zevním prostředím organismu, působí na ni proto řada vnějších faktorů, které ji mohou ovlivnit. Mezi tyto faktory patří i laserové záření, které se používá k léčebným účelům.

Cílem této práce je studium vlivu působení terapeutického laserového záření na změnu mechanických parametrů lidské kůže. Práce navazuje na započatý výzkum vlivu vnějších faktorů a parametrů vzorků na mechanické vlastnosti biologických materiálů. V teoretické části práce jsou popsány vlastnosti lidské kůže, další část se věnuje laserovému záření, podstatě jeho interakce s kůží a využití laserů v medicíně. Praktická část se zabývá měřením mechanických vlastností lidské kůže po aplikaci zvyšující se hustoty energie laserového záření. Byly měřeny impulsní charakteristiky a byl sledován bezprostřední vliv laserového záření na změnu Hookeova a Newtonova koeficientu kůže dobrovolníků. Z těchto koeficientů pak byla vypočtena časová konstanta a sledoval se vliv laserového záření na její změny.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Anatomie a histologie kůže

Kůže (*cutis*) je orgán, který pokrývá povrch lidského těla a tvoří tak bariéru mezi vnitřním a vnějším prostředím organismu. Její plošný rozsah je u dospělého člověka asi 1,6 – 2,0 m².

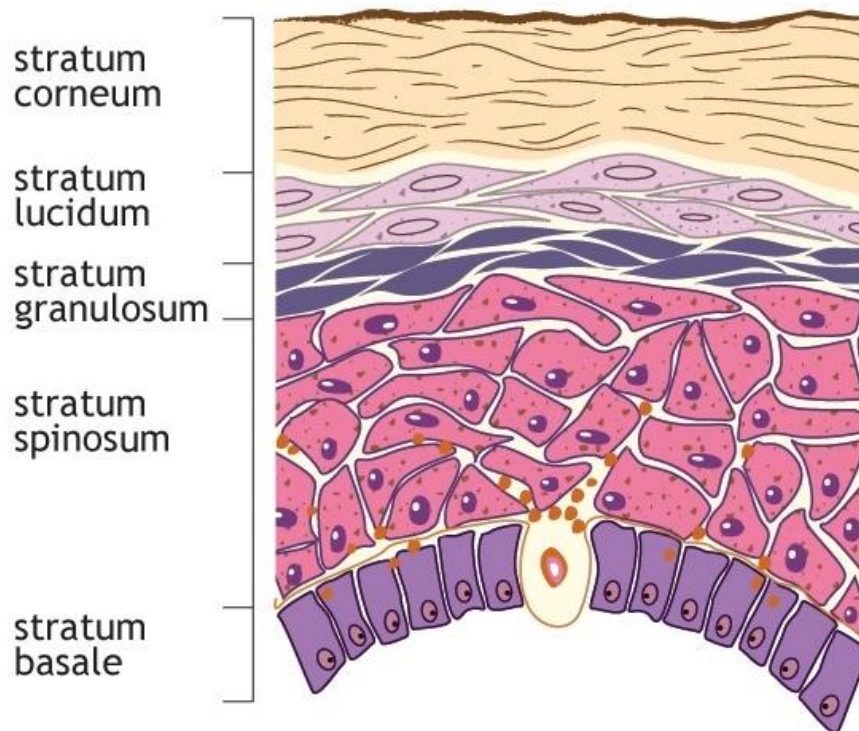
Kůže má dvě vrstvy: pokožku (*epidermis*) a škáru (*dermis, corium*).

2.1.1. Pokožka

Pokožka je povrchová vrstva tvořená zrohovatělým mnohvrstevným epitelem, dosahuje tloušťky od 0,03 do 4 mm a to v závislosti na tělesné lokalizaci [1] [2]. Pokožka je tvořena převážně epitelovými buňkami (keratinocyty), dále mesenchymovými buňkami (Langerhansovy buňky) a buňkami, které mají neuroektodermový původ (melanocyty a Merkelovy buňky).

Dle morfologie keratinocytů rozlišujeme v pokožce několik vrstev (obr. 1):

1. *stratum germinativum* – zárodečná vrstva, která zahrnuje *stratum basale* a *stratum spinosum*
 - *stratum basale* – vrstva cylindrických buněk při bazální membráně, pouze v této vrstvě probíhá buněčné dělení
 - *stratum spinosum* – vrstva oplošťujících se buněk navazující na *stratum basale*
2. *stratum granulosum* – 1 až 3 vrstvy oploštělých buněk, ve kterých se vytváří granula keratohyalinu, prekurzoru keratinu
3. *stratum lucidum* – tenká vrstva plochých buněk zřetelná hlavně v kůži dlaní a plosek, obsahuje eleidin, prekurzor keratinu
4. *stratum corneum* – četné vrstvy plně zrohovatělých bezjaderných plochých buněk, které se na povrchu olupují [3] [4].



Obr. 1: Vrstvy pokožky [5]

Langerhansovy buňky mají mesodermový původ, vznikají v kostní dřeni a nacházejí se hlavně ve *stratum spinosum*. Jsou to dendritické buňky schopné fagocytózy a zpracování antigenu před jeho interakcí s lymfocyty. Na 1 mm² kůže jich připadá 500 – 1000, počet roste při kontaktních alergických reakcích [3] [4].

Melanocyty jsou buňky neuroektodermového původu, v pokožce se nacházejí mezi buňkami *stratum basale* [4], na 2000 mm² kůže jich připadá asi 500. Jejich dendritické výběžky zasahují až do *stratum spinosum*. Funkcí melanocytů je tvorba melaninu, pigmentu chránícího genetickou informaci před působením ultrafialového záření. Melanin se hromadí v oválných tělíscích, tzv. melanosomech, které přestupují z dendritických výběžků do okolních keratinocytů. Jeden melanocyt takto dodává melanin asi třiceti keratinocytům.

Merkelovy buňky jsou smyslové buňky neuroektodermového původu řídky rozmístěné v bazální vrstvě pokožky. Společně se Schwannovými buňkami a nervovými zakončeními tvoří komplex, který má mechanorecepční a neurosekreční funkci. Schwannovy buňky jsou buňky, které obklopují axony periferních nervů, vytvářejí tím myelinovou pochvu [3] nezbytnou pro správné vedení vzruchu mezi neurony [6].

2.1.2. Škára

Škára je vrstva nacházející se pod pokožkou, je složena z kolagenních a elastických vláken vaziva. Dělí se na dvě další vrstvy:

1. *stratum papillare* – povrchová jemnější vrstva škóry bohatá na buňky a vlákna vaziva, s pokožkou je spojena papilami – vazivovými výběžky různého tvaru a uspořádání [2]. Počet a velikost papil kolísá dle lokalizace kůže, u velmi tenké kůže mohou i zcela chybět [4].
2. *stratum reticulare* – hlubší vrstva škóry, oproti *stratum papillare* obsahuje méně vazivových buněk, skládá se z hustě propletených svazků kolagenních vláken, méně ze svazků vláken elastických, tyto svazky vláken určují mechanické vlastnosti kůže [2] [3].

Kolagenní a elastická vlákna jsou složena ve svazky, ty se mezi sebou proplétají a kříží. Vlnitý průběh svazků kolagenního vaziva umožňuje tažnost kůže, elastická vlákna pak zajišťují navrácení do původního stavu [3].

Vrstvy škóry mezi sebou nemají ostrou hranici, ale zvolna v sebe přecházejí. Tloušťka škóry je asi 0,5 – 2,5 mm a závisí na tělesné lokalizaci [1].

Ve škáře se nacházejí také buňky hladkého svalstva. Jednak je to ve formě svazků, které vedou od pochvy chlupu šikmo směrem k pokožce, tyto útvary se nazývají vzpřimovače chlupů. V hlubších vrstvách škóry pak nalezneme i síť buněk hladkého svalstva obsahující elastická vlákna.

Další součástí škóry jsou cévy a nervy. Nervstvo kůže je tvořeno somatosensitivními a visceromotorickými vlákny. Somatosensitivní vlákna zajišťují vjemy dotyku, chladu, tepla a bolesti. Visceromotorická vlákna ovlivňují činnost žláz a cév.

Pod škárou je podkožní vazivo (*tela subcutanea*) obsahující vazivové pruhy, které vedou k povázce a okostici. Podkožní vazivo obsahuje i tukovou tkáň ve formě lalůček tvořících tukový polštář. Podkožní tukové vazivo funguje jako skladiště zásobních látek a má ochrannou a izolační funkci [3].

2.2. Biochemie kůže

2.2.1. Chemické složení kůže

Převažující složkou kůže je voda a to hlavně ve škáře. Její obsah závisí na věku jedince, u novorozence je obsah vody kolem 80 %, u starších lidí kolem 63 %. Z hlediska zastoupení organických složek se jednotlivé vrstvy kůže liší. V epidermis převládá keratin, ve škáře kolagen a elastin, v podkožním vazivu se pak nachází kolagen a tuk.

2.2.1.1. Keratin

Keratin je nerozpustná bílkovina s α -konformací, ze které může navlhčením a zrušením vodíkových vazeb vznikat roztažená β -konformace. Z aminokyselin je pro něj charakteristický cystin obsahující ve své molekule disulfidovou vazbu. Právě díky velkému zastoupení disulfidových vazeb je keratin nerozpustný ve vodě a odolává kyselinám i slabým zásadám. Keratin kůže se označuje jako měkký keratin a obsahuje asi 2 % síry, tvrdý keratin s obsahem asi 5 % síry se nachází ve vlasech a nehtech [7].

Keratin vzniká v průběhu keratinizace, při níž buňky cestují k povrchu kůže. Z proteinů bohatých na síru je v nich keratin syntetizován posupně, tudíž v každém vývojovém stupni keratinocyty najdeme různé typy keratinů [7] [6]. Buňky se při cestě k povrchu oplošťují, ztrácí jádro a další orgány a mění se na ploché šupinky, které obsahují prakticky jen keratin [6].

Keratiny typu I a II tvoří intermediární filamenta cytoskeletu ve všech epiteliálních tkáních. Dlouhou dobu byly tyto keratinové struktury považovány jen za kostru, která epiteliální buňce dává pevnost. Podle nových poznatků je keratinový cytoskelet zapojen i do buněčné migrace, diferenciaci a proliferace [8].

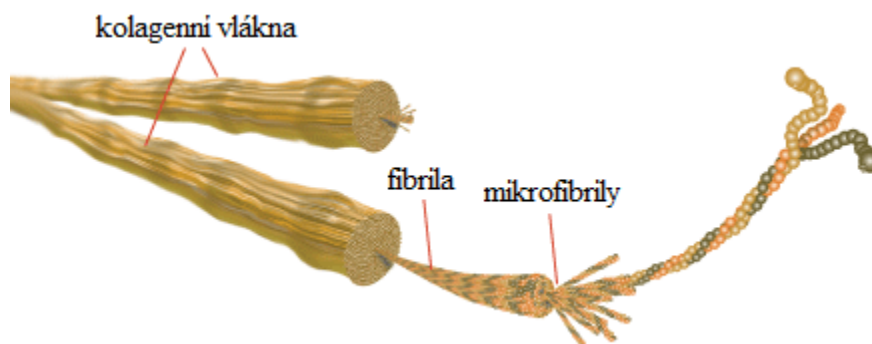
2.2.1.2. Kolagen

Pojem kolagen zahrnuje celou rodinu proteinů nacházejících se v pojivové tkáni, tj. ve šlachách, vazivu parenchymatózních orgánů, vazech, bazálních membránách,

cévách, chrupavkách, kostech, zubech, rohovce a také v kůži. Kolagen tvoří třetinu všech proteinů v lidském těle.

Kolagenů existuje spousta typů, můžeme je rozdělit do dvou skupin. První skupinou jsou kolageny klasické, které vytvářejí morfologicky definovaná kolagenní vlákna, kolageny druhé skupiny tato vlákna netvoří. Hlavní součástí škůry a podkožního vaziva je kolagen I, dále v kůži nalezneme kolagen typu III a IV, ten patří mezi neklasické kolageny. Typickými aminokyselinami v kolagenu jsou glycin, prolin a zejména 4-hydroxyprolin vznikající z prolinu posttranslační modifikací.

Základem zralého kolagenního vlákna je tropokolagen, trojšroubovice vzniklá spojením tří základních řetězců α_1 a α_2 stočených podél společné osy. Při biosyntéze kolagenu vzniká postupně prokolagen (hydroxylací a glykosylací pro- α -řetězců a tvorbou trojšroubovice), z něj se tvoří odstraněním nehelikálních částí tropokolagen. Polymerací tropokolagenu pak vznikají kolagenní mikrofibrily, které se skládají do kolagenních fibril a ty do kolagenních vláken (obr. 2). Fibrily jsou ještě stabilizovány kovalentními příčnými vazbami mezi molekulami lysinu, fibrila je po této úpravě velmi pevná, ale málo roztažitelná [7].



Obr. 2: Struktura kolagenního vlákna [9]

2.2.1.3. Elastin

Elastin je bílkovina, pro niž je typická ohebnost a elasticita. Stejně jako kolagen představuje elastin celou rodinu bílkovin. Je schopný několikanásobného roztahnutí a návratu do původní polohy, má také určitou pevnost v tahu, ale ve srovnání s kolagenem menší. Zajišťuje ohebnost a pružnost stěn cév, kůže, chrupavek ušního boltce, hrtanu a plicního vaziva. V aminokyselinovém složení převažují nepolární

molekuly: glycin, alanin, valin, leucin a isoleucin, z polárních aminokyselin má významnější zastoupení lysin.

Výchozí molekulou při syntéze elastinu je globulární tropoelastin. Molekuly tropoelastinu vytvoří na základě vzájemných hydrofobních interakcí koacervát, v něm se pak mezi molekulami lysinu formují příčné vazby a vzniká desmosin. V desmosinu jsou tedy tropoelastinové globule spojené kovalentními vazbami do trojrozměrné sítě, to udává zralému elastickému vláknu typické vlastnosti. Trojrozměrná síťovina se pak kolem glykoproteinového vlákénka formuje do elastické mikrofibrily. Kromě elastického vlákna jsou známy i další elastinové útvary: elastická lamela a elastická plachta (v kůži) [7].

2.2.1.4. Mezibuněčná matrix

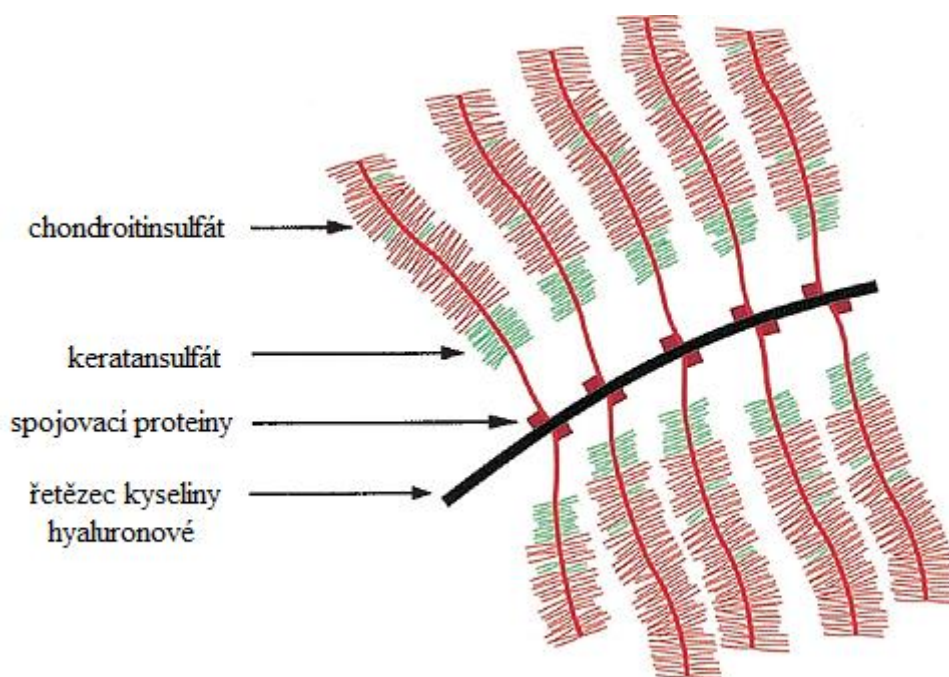
Mezibuněčná hmota se skládá z bílkovinných vláken a ze základní substance – matrix, v níž se nachází glykosaminoglykany a glykoproteiny.

Glykosaminoglykany (GAG)

GAG jsou molekuly složené z opakujících se disacharidových jednotek, které jsou většinou tvořené aminocukrem a uronovou kyselinou, v poloze 4 nebo 6 aminocukru jsou sulfatovány. Jsou základem pro syntézu proteoglykanů – makromolekulárních struktur tvořených bílkovinným řetězcem a GAG.

V pojivu se z GAG vyskytuje nevázaně pouze kyselina hyaluronová. Ostatní GAG jako např. keratansulfát nebo chondroitinsulfát jsou součástí proteoglykanů. Monomer proteoglykanu je tvořen bílkovinou, na kterou jsou napojeny řetězce GAG. Při syntéze proteoglykanového monomeru se nejprve na serinovou OH-skupinu osově bílkoviny napojují aktivované monosacharidy a vytvoří tak spojovací úsek, k němu se potom syntetizují různě dlouhé řetězce GAG. Proteoglykanové monomery pak dále agregují – nechemickými interakcemi nasedají na řetězec kyseliny hyaluronové, vazba s ní je ještě zesilována spojovacími proteiny, jak je znázorněno na obr. 3.

Agregáty proteoglykanů jsou vysoce hydrofilní, váží ionty a vodu, a proto kladně ovlivňují hydrataci kůže [7].



Obr. 3: Agregát proteoglykanových monomerů a kyseliny hyaluronové [10]

Glykoproteiny

V molekule glykoproteinu jsou na OH-skupinu serinu nebo threoninu bílkovinného řetězce *O*-glykosidově vázány kratší rozvětvené oligosacharidové jednotky. Do struktury glykoproteinu se tedy nezařazují opakující se disacharidové jednotky jako při syntéze GAG.

Glykoproteiny vykonávají různé úlohy, např. mají strukturální funkce. Připojení oligosacharidového řetězce k proteinu zvyšuje odolnost tohoto proteinu vůči denaturačním činidlům a má vliv na dobu existence bílkovinné molekuly [7].

2.2.2. Metabolismus kůže

Metabolické pochody v kůži jsou převážně anaerobní. Zdrojem energie pro kůži jsou stejně jako v jiných tkáních sacharidy. Glukosa, která je získávána z glykogenu, je metabolizována hlavně anaerobně. Při nedostatečném přísunu glukosy se jako zdroj energie uplatňují mastné kyseliny.

Pokožka je metabolicky aktivnější než škára [7].

2.3. Funkce kůže

Funkce kůže vyplývá ze skutečnosti, že je to hranice mezi vnitřním a vnějším prostředím organismu. To ji primárně předurčuje k tomu, aby chránila vnitřní prostředí před nepříznivými vlivy, má ale i další důležité úkoly [6].

Ochranná funkce

Kůže díky svým fyzikálním vlastnostem – pevnosti, pružnosti a tažnosti – chrání tělo proti tlakům a tahům. Její celistvý povrch brání vniknutí mikroorganismů a jiných škodlivých látek do organismu [11]. Invazi mikroorganismů ztěžuje kyselé pH kůže, antibakteriální látky obsažené v potu a produktech mazových žláz a Langerhansovy buňky, které rozpoznávají, zpracovávají a prezentují antigen. Další složkou obrany je komplexní zánětlivá reakce.

Ochranu před ultrafialovým zářením zajišťují melanocyty a v nich obsažený pigment melanin. Tato ochrana je velice důležitá, neboť ultrafialové záření může poškozovat Langerhansovy buňky a buňky zárodečné vrstvy [6] [12].

Termoregulační funkce

Kůže se účastní jak přijímání, tak i vydávání tepla. Spolu s podkožním tukem funguje jako tepelná izolace a zamezuje tak větším ztrátám tepla. Tepelná regulace se uskutečňuje změnami v průsvitu kožních cév, za vyšší teploty se dilatují a teplo se uvolňuje, v chladu jsou cévy zúžené [11]. Druhým termoregulačním mechanismem je odpařování potu, což vede k odvádění přebytečného tepla.

Smyslová funkce

V kůži se nachází velké množství receptorů somatosensitivního systému, které zajišťují nepřetržitou komunikaci se zevním prostředím [6]. Patří sem receptory pro tlak, chlad, teplo a bolest. Počíték tlaku zprostředkovávají Vater-Paciniho tělíška. Chlad registrujeme pomocí Krauseho tělíšek, teplo pomocí Ruffiniho tělíšek. Oba druhy tělíšek mají velkou adaptační schopnost na vnímání jak chladu, tak tepla, a proto je jejich striktní dělení na chladové a tepelné zpochybňováno. Bolest je registrována volnými nervovými zakončeními [11].

Exkrecní a resorpční funkce

Kožní exkrece je realizována mazovými a potními žlázami. Mazové žlázy produkují maz, lipidový exkret zajišťující ochranu před vlhkem a vysycháním, kromě toho působí také baktericidně. Potní žlázy dělíme na apokrinní a ekrinní. Apokrinní jsou lokalizovány hlavně v podpaží a perigenitální oblasti a produkují pachové signály. Ekrinní žlázy se nacházejí po celém povrchu těla. Jsou to právě potní žlázy produkující pot, mají tedy termoregulační funkci.

Kůže je schopna i resorpce, díky níž je možné aplikovat liposolubilní léčivé látky ve formě masti [6]. Léčivé látky jsou rozpuštěny v tukových rozpouštědlech, které narušují kožní maz a jeho ochrannou funkci, čímž je umožněno vstřebání léčivých látek [11].

Sekrece cytokinů v kůži

Cytokiny jsou stimulační a inhibiční faktory sloužící k ovlivňování buněk a k předávání informací mezi nimi. Na základě působení stimulačních a inhibičních cytokinů existuje v kůži rovnováha mezi počtem buněk produkovaných ve *stratum basale* a množstvím šupinek odlupujících se z kožního povrchu.

Cytokiny produkované keratinocyty dělíme na tři skupiny: růstové faktory, interleukiny a kolonie stimulující faktory. Většina faktorů je stimulačních, inhibiční faktory produkované keratinocyty autokrinně tlumí jejich vlastní růst. Cytokiny také zprostředkovávají imunitní reakce v kůži. Při poškození keratinocytů ultrafialovým zářením, mechanickým poraněním, popálením nebo infekcí uvolňují keratinocyty cytokiny a ty se váží na receptory buněk produkující prozánětlivé cytokiny. Je tak aktivována zánětlivá reakce [6].

Produkce vitamínu D

Ve *stratum granulosum* se nachází prekurzor vitamínu D 7-dehydrocholesterol, který se působením ultrafialového záření mění na cholekalciferol (vitamin D₃) [6]. Cholekalciferol musí být hydroxylací v játrech a ledvinách převeden na aktivní metabolit kalcitriol, v této formě pak ovlivňuje hospodaření s vápníkem a s fosforem [7].

2.4. Mechanické vlastnosti kůže

Mechanické vlastnosti lidské kůže závisí na struktuře a vlastnostech kolagenních a elastických vláken a proteoglykanů obsažených v kůži [13]. Mechanické vlastnosti lidské kůže a dalších biologických materiálů závisí rovněž na věku a zdravotním stavu organismu, dají se tedy potenciálně využít jako indikátor stupně funkčního zestárnutí tkání a orgánů, jako marker biologického věku a jako diagnostický prostředek [14] [15].

2.4.1. Základy reologie kůže

Reologie je věda o přetváření materiálů, studuje deformaci a tok materiálů, přičemž se zabývá zejména dynamikou těchto dějů. Z hlediska reologie řadíme kůži mezi viskoelastická tělesa [14] [16].

Reologické axiomy

1. Každý materiál má vlastnosti, které jsou souhrnem všech typů reologických vlastností (viskozity a elasticity).
2. Projevuje-li materiál jen jednu reologickou vlastnost, je to v důsledku potlačení ostatních reologických vlastností.
3. Za působení hydrostatického tlaku reagují všechny materiály pružně [16].

Mechanické vlastnosti viskoelastických těles

Mechanické chování viskoelastických těles, kam kromě kůže řadíme i cévní stěny, struktury vnitřních orgánů a další biologické materiály, má částečně viskózní (plastický) a částečně elastický (pružný) charakter [14]. Viskózní charakter je spojen s disipací energie dodané při namáhání, elastický charakter s jejím uchováváním. V kůži dochází k disipaci dodané energie kvůli posuvu kolagenních vláken přizpůsobujících se směru působící síly. Tyto změny v orientaci kolagenních vláken během deformace jsou nezbytné pro zachování roztažnosti kůže. Elastické chování kůže je důležité pro navrácení do původního tvaru [13].

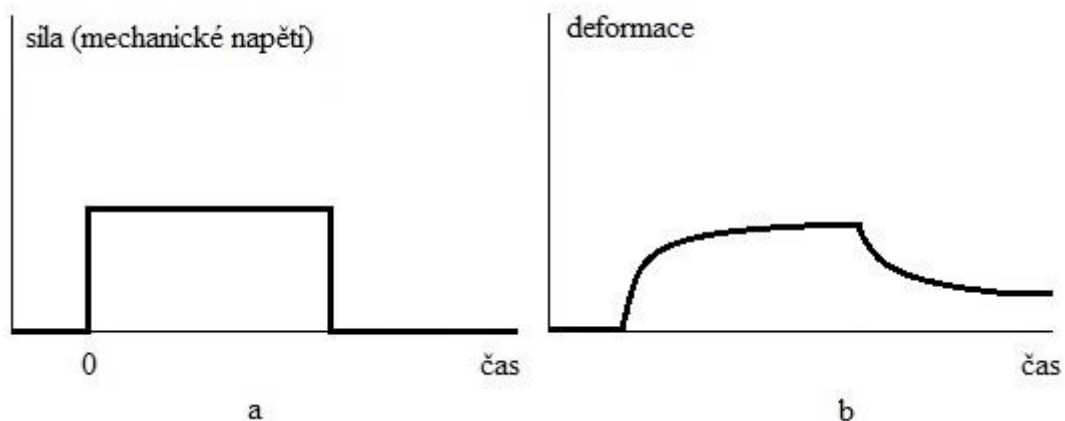
Klasické metody hodnocení mechanických vlastností vycházejí u pevných těles z teorie pružnosti a pevnosti, u kapalin z hydromechaniky. U viskoelastických těles ale tyto postupy nevystihují dostatečně jejich mechanické vlastnosti, a proto se pro jejich

hodnocení využívá jiných metod [14]. Při identifikaci chování viskoelastických těles vycházíme ze vztahů mezi vstupními veličinami systémů. K popisu mechanického chování viskoelastických těles se často používají křivky toku. Identifikaci je možné založit i na zpracování dalších charakteristik – impulsních, přechodových nebo frekvenčních [15]. Pro získání přesnějších a úplnějších informací se využívá konstrukce reologických modelů. K hodnocení mechanických vlastností měřených materiálů pak slouží struktura těchto modelů a hodnoty jejich parametrů [14].

2.4.1.1. Reologické charakteristiky

Křivky toku

Křivky toku (obr. 4) jsou charakteristiky, které udávají závislost deformační časové odezvy tělesa na časově omezené působení konstantního deformujícího mechanického napětí, tj. na obdélníkový impuls mechanického napětí. Deformační odezva je sledována v průběhu působení deformačního napětí a ještě nějakou dobu po jeho odstranění [14] [15].



Obr. 4: Příklad průběhu křivky toku pro viskoelastická tělesa

(a) vstupní obdélníkový impuls (b) křivka toku [15]

Impulsní charakteristiky

Impulsní charakteristiky představují odezvu výstupní veličiny na vstup trvajícím velmi krátkou dobu, teoreticky by mělo být vstupní působení nekonečně krátké, prakticky řádově kratší než jsou časové konstanty systému. Systém se tímto impulsem uvede rychle do pohybu, po skončení impulsu se deformace systému dále mění, dynamika deformace je závislá pouze na parametrech systému. Metoda se používá při měření vlastních tlumených kmitů systému.

Přechodové charakteristiky

Přechodové charakteristiky jsou deformační odezvy na deformující působení, které má formu velmi rychlé změny vstupu z nulové úrovně na konstantní nenulovou hladinu. Pro biologické materiály je typické, že počáteční hladina je různá od nuly, což je dáno jejich určitým namáháním i v klidovém stavu. Přechodová charakteristika se měří jako odezva na skok mezi dvěma konstantními hladinami vstupu.

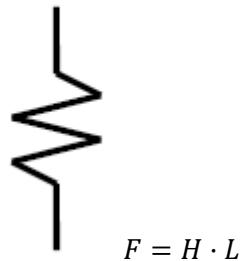
Frekvenční charakteristiky

Frekvenční charakteristiky (na rozdíl od předchozích uvedených charakteristik, které představují odezvy na jednorázové zatěžování) jsou odezvy na cyklické zatěžování. Jedná se o odezvy na harmonický průběh vstupní veličiny. Ta má zpravidla sinusový průběh o stálé amplitudě a fázi, v průběhu měření se mění její frekvence. Měří se amplituda a fáze výstupní veličiny [17].

2.4.1.2. Reologické modely

Jak již bylo uvedeno, mechanické chování viskoelastických těles má jak rysy elastických těles, tak rysy viskózních těles. Viskoelastické těleso je systém s rozloženými parametry – elastickými, setrvačnými a viskózními. Z matematického hlediska je popis takového systému obtížný, proto je přijatelnější popisovat chování reálných viskoelastických těles pomocí reologických modelů. Reálné těleso je nahrazeno modelem, který je tvořen kombinací základních těles, ve kterých jsou soustředěny příslušné vlastnosti [14]. Mezi základní reologická tělesa patří Hookeovo, Newtonovo a setrvačné těleso.

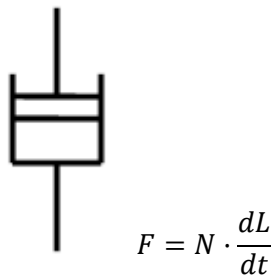
Hookeovo těleso (obr. 5) je těleso chovající se jako pružina, představuje tedy elastickou složku chování tělesa.



Obr. 5: Symbol a základní rovnice mechanického chování Hookeova tělesa

V rovnici popisující mechanické chování Hookeova tělesa je F síla, H je Hookeův koeficient a L je deformace [17].

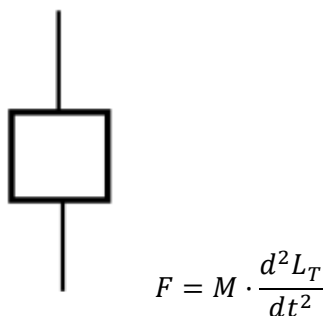
Newtonovo těleso (obr. 6) reprezentuje viskózní složku chování tělesa a znázorňuje se písmem.



Obr. 6: Symbol a základní rovnice mechanického chování Newtonova tělesa

V rovnici popisující mechanické chování Newtonova tělesa je F síla, N je Newtonův koeficient, L je deformace a t je čas.

Setrvačné těleso (obr. 7) reprezentuje setrvačné síly, které je také třeba brát při analýze dynamického mechanického chování viskoelastických těles do úvahy.



Obr. 7: Symbol a základní rovnice mechanického chování setrvačného tělesa

V rovnici popisující mechanické chování setrvačného tělesa je F síla, M je hmotnost, L_T je poloha těžiště a t je čas [17].

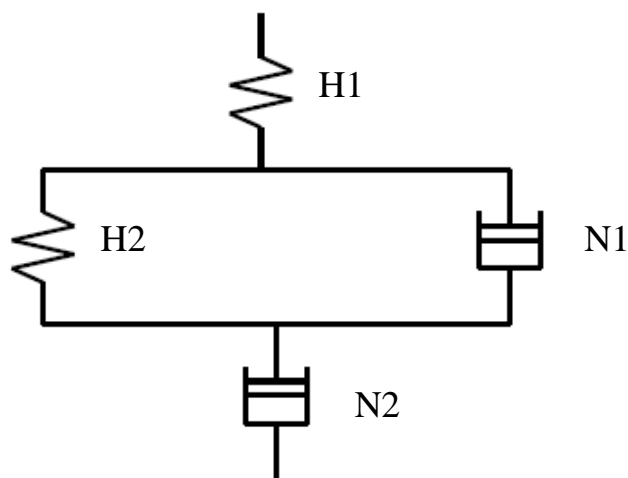
Kombinací těchto základních těles získáme různě složité modely. Mezi jednoduché modely řadíme model Voigtův a Maxwellův [14].

Voigtův model je tvořen paralelní kombinací Hookeova a Newtonova tělesa, Maxwellův model je tvořen jejich sériovou kombinací (obr. 8). Ani jeden model nebere v úvahu vliv setrvačných sil [17].



Obr. 8: a) Voigtův model b) Maxwellův model

V řadě praktických případů se používá model viskoelastického tělesa (obr. 9), je to zjednodušený model mechanického chování reálných viskoelastických těles, který umožňuje jednoduchý odhad parametrů modelu na základě experimentálně zjištěné křivky toku. Model neuvažuje možnost výskytu nelinearity a má příliš redukovanou strukturu. Vliv setrvačnosti se v tomto modelu zanedbává, ve většině praktických případů je sice vliv setrvačných sil malý, u citlivých měření se ale může projevit [14].



Obr. 9: Model viskoelastického tělesa, H – Hookeovo těleso, N – Newtonovo těleso

2.4.2. Vybrané metody používané k měření mechanických vlastností kůže

K měření mechanických vlastností lidské kůže, resp. k měření parametrů, které tyto vlastnosti charakterizují, se využívají i jiné postupy, než je metoda použitá v této práci.

Měření s použitím sání (suction test)

Měření touto metodou spočívá v aplikaci negativního tlaku na povrch kůže pomocí sání. Kůže je nasávána do otvoru, kde vytvoří kopuli. Zaznamenává se použitý tlak, výška kopule a poloměr otvoru sacího zařízení [18]. Výsledkem měření je určení Youngova modulu pružnosti materiálu (E), pro jeho určení se dá použít vzorec:

$$E = \frac{0,45pa^4}{e^4 \left[\frac{u_0}{e} + 0,3 \left(\frac{u_0}{e} \right)^3 \right]} \quad (1)$$

kde p je aplikovaný negativní tlak, a je poloměr kruhového otvoru sacího zařízení, e je tloušťka kůže, u_0 je vyvýšení ve středu vzniklé kopule [19]. Youngův model pružnosti udává poměr mezi napětím a relativní deformací, platí:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (2)$$

kde σ je normálové napětí a ε je relativní deformace [17].

Metoda využívající proud vzduchu

Bezkontaktní metoda, která sleduje změny v posunu povrchu kůže způsobené tlakem vzduchu. Vzduch je pod tlakem 0,21 MPa foukán na kůži pod úhlem 45°, kůže se v reakci na tento proud vzduchu pohybuje vertikálně. Podstatou metody je měření tohoto vertikálního posunu a času, za který se kůže vrátí do původního stavu [20].

Jiná metoda využívá k určení mechanických charakteristik kůže měření hloubky penetrace sondy v závislosti na použité síle [21]. Další používaná metoda je založená na měření rychlosti šíření elastických smykových vln kůží, tato rychlost koreluje s tuhostí kůže [22]. Uvedené metody neumožňují měřit viskózní složku chování kůže.

2.5. Laserové záření

Laserové záření je elektromagnetické, vysoce monochromatické, polarizované, koherentní záření s malou divergencí, jehož zdrojem je laser. Slovo laser je akronymem pro anglický termín Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation – zesilování světla stimulovanou emisí záření [23].

2.5.1. Laser

Laser se skládá ze tří základních částí: z aktivního prostředí, optického rezonátoru a zdroje budící energie [23]. Teoretický základ pro sestavení laseru, tj. stimulovanou emisí světla, představil ve své práci Albert Einstein už v roce 1917. První laser byl ale sestaven až v roce 1960 Theodorem Maimanem, který jako aktivní prostředí použil rubínový krystal [24].

2.5.1.1. Princip laseru

K pochopení principu laseru je třeba znát zákonitosti kvantové fyziky, rozumět pojmům jako je základní energetický stav, excitovaný energetický stav, elektromagnetické záření, foton apod.

Všechny fyzikální systémy (tedy i atomy) se snaží zaujmout stav s co nejmenší možnou energií – základní energetický stav (E_0). Při převedení do vyššího energetického stavu (E_1) přijme atom energii (E) rovnající se rozdílu energií vyššího a základního energetického stavu. Při návratu do základního energetického stavu stejné množství energie v podobě elektromagnetického záření vydá. Vyjádřeno rovnicí:

$$E = E_1 - E_0 \quad (3)$$

Elektromagnetické záření má duální charakter, to znamená, že má vlastnosti typické jak pro vlnění, tak pro proud částic (korpusek).

K popisu vlnového charakteru elektromagnetického záření používáme veličiny jako je vlnová délka (λ), frekvence (ν) nebo fáze. Vztah mezi vlnovou délkou a frekvencí je:

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad (4)$$

Symbol c představuje rychlost světla v daném prostředí.

Při korpuskulárním přístupu je záření chápáno jako proud fotonů. Každý foton má energii (E), která je úměrná frekvenci záření (ν):

$$E = h \cdot \nu \quad (5)$$

Konstanta h je Planckova konstanta a má hodnotu $6,626 \cdot 10^{-34}$ J·s [25].

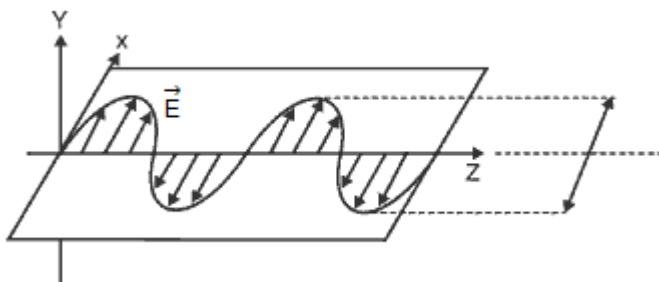
Interakce atomu s fotonem

S využitím korpuskulárního přístupu můžeme vysvětlit interakce mezi zářením a látkou: k interakci atomu s fotonem dochází pouze v případě, že energie fotonu je rovna rozdílu energetických hladin v atomu, jak vyjadřuje vztah

$$E_1 - E_0 = h \cdot \nu \quad (6)$$

V tomto případě dojde k pohlcení fotonu atomem a ten se tak dostane do excitovaného stavu, děj se nazývá absorpce [25]. Po určité době je pak foton spontánně uvolněn a atom přechází zpět do nižšího energetického stavu, tento děj se nazývá spontánní emise. Vedle absorpce a spontánní emise existuje ještě třetí proces – stimulovaná emise, kterou popsal ve své práci Albert Einstein [26]. Je-li atom v excitovaném stavu a dostane-li se do interakce s fotonem o vhodné energii, může dojít ke stimulované emisi. Takto stimulovaně vyzářený foton má stejnou energii, polarizaci a stejnou fázi jako foton, který emisi inicioval. Tím se stimulovaná emise liší od spontánní. Při spontánní emisi má totiž vyzářený foton náhodnou fázi a polarizaci a je vyslán náhodným směrem [25].

Stimulovanou emisí tedy získává laserové záření své charakteristické vlastnosti. Je monochromatické – fotony mají stejnou frekvenci [26], polarizované – vektor intenzity elektrického pole \vec{E} kmitá v jedné rovině, jak je patrné z obr. 10 [23].



Obr. 10: Schéma polarizovaného záření [27]

Laserové záření je dále koherentní – fotony jsou ve fázové shodě, to znamená, že vlny vůči sobě nejsou posunuté [25]. Další vlastností je minimální divergence záření – paprsek má malou rozbíhavost [23].

Zesilování záření

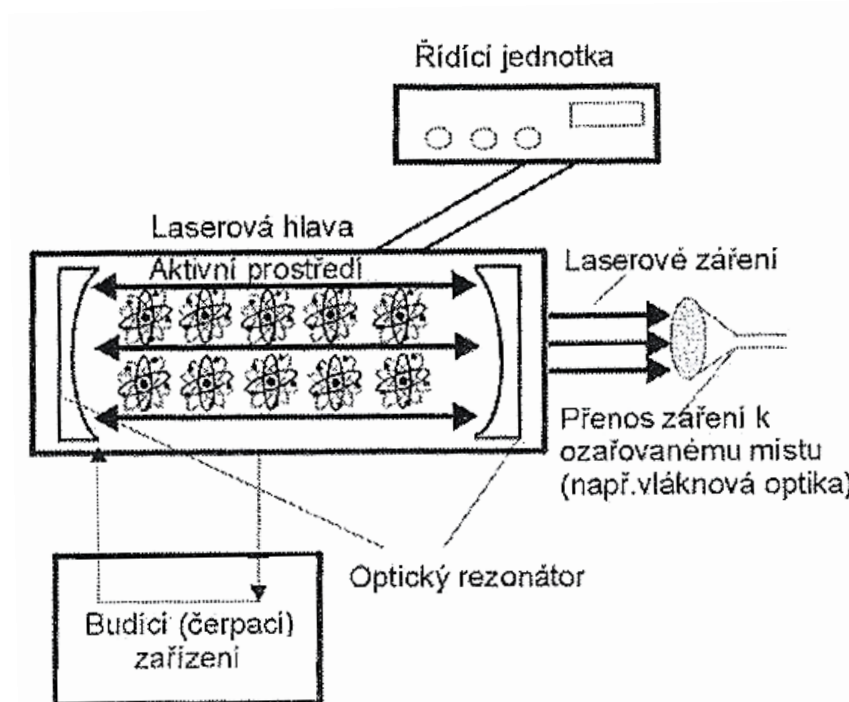
Šance, že foton bude absorbován atomem v základním energetickém stavu, je stejná, jako že bude duplikován interakcí s atomem v excitovaném stavu. Pro funkci laseru je důležité, aby byla upřednostněna stimulovaná emise před absorpcí a spontánní emisí. Toho se dosáhne dodáním energie do systému [28]. Dodaná energie zajistí dostatečný počet atomů ve vyšších energetických stavech, tento jev se nazývá inverze populace [23].

Proces stimulované emise pak pokračuje a fotony podněcují vyzáření dalších totožných fotonů. Dochází ke kaskádovému efektu, jenž vede k zesílení záření [29].

Součásti laseru

Jak již bylo uvedeno, laser má tři základní části: aktivní prostředí a optický rezonátor, které jsou uloženy v laserové hlavě, a zdroj budící energie (obr. 11). Aktivním prostředím může být pevná látka (krystal, sklo, polovodič), kapalina, plyn nebo směs plynů. Optický rezonátor je obvykle tvořen zrcadly [23], polopropustným a plně reflexním. Vhodným umístěním aktivního prostředí do optického rezonátoru v podstatě vzniká laser.

Záření je v aktivním prostředí zesilováno, na zrcadlech se buď úplně, nebo částečně odráží a znovu vstupuje do zesilujícího prostředí. Polopropustné zrcadlo pak umožňuje výstup laserového paprsku [26]. Jako zdroj budící energie může být použit proud elektronů, výbojka, jiný laser, chemická reakce apod. Další nezbytnou součástí laseru je řídicí jednotka [23].



Obr. 11: Schéma laseru [23]

2.5.1.2. Typy laserů

Podle časového režimu provozu laseru rozlišujeme tři typy laserů:

- kontinuální
- impulsní
- kvazikontinuální.

Kvazikontinuální lasery jsou lasery, které nepracují kontinuálně, ale jejich pulsy jsou delší než 200 ns [23] [30].

Podle výkonu rozlišujeme lasery:

- nízkovýkonné (neinvazivní) s výkonem od 10^{-3} do 1 W
- vysokovýkonné (invazivní) s výkonem nad 1 W [31] [32].

S výkonem laseru souvisí další parametr – hustota výkonu. Je to poměr výkonu laseru a ozařované plochy, jednotkou je $W \cdot cm^{-2}$. Dalším parametrem je hustota energie. Je to poměr násobku výkonu laseru a doby ozařování k ozařované ploše, jednotkou je $J \cdot cm^{-2}$. Znamená to, že čím méně výkonný laser se použije, tím delší dobu se musí dané

místo ozařovat, aby bylo dosaženo stejné hustoty energie jako při použití výkonnějšího laseru [31].

Podle aktivního prostředí dělíme lasery na:

- pevnolátkové
- polovodičové
- plynové
- kapalinové
- plazmové
- s volnými elektrony.

Pevnolátkové lasery

Aktivní prostředí pevnolátkových laserů je tvořeno pevnými krystalickými či amorfními látkami s příměsí vhodných iontů. Iontové příměsi jsou pro činnost laseru rozhodující, neboť k optickému zesilování dochází na jejich elektronových přechodech [25].

Mezi pevnolátkové lasery patří široce užívaný Nd:YAG laser [23]. Aktivní prostředí je tvořeno krystalem yttrito-hlinitého granátu s neodymitými ionty zabudovanými do krystalové mřížky [25], prostředí je kontinuálně buzeno kryptonovou výbojkou. Záření toho laseru se v tkáni málo rozptyluje a penetruje až do hloubky 6 mm. Vyvolává koagulační nekrózu, čehož se může využít při léčbě vaskulárních névů.

Další pevnolátkové lasery jsou např. Ho:YAG s ionty holmia, Er:YAG s ionty erbia [23] nebo alexandritový laser, jehož aktivní prostředí tvoří krystal minerálu chrysoberylu s chromitými ionty.

Úplně první sestrojený laser byl laser rubínový. Aktivní prostředí je tvořeno krystalem rubínu, chemicky se jedná o oxid hlinitý s příměsí chromitých iontů [26]. Tento laser pracuje v impulsním režimu při buzení xenonovou výbojkou [25].

Polovodičové lasery

Aktivní prostředí těchto laserů je tvořeno polovodičem. Inverze populace v aktivním prostředí je dosaženo převodem elektronů z valenčního pásu do vodivostního, využívá se k tomu injektování elektrického proudu přes přechod P-N příměsového polovodiče [23] [25]. Patří k nejpoužívanějším laserům [23].

Plynové lasery

Plynové lasery mají aktivní prostředí tvořené plynnou fází. Inverze populace je vytvářena mezi energetickými hladinami některé ze složek plynu. Onou složkou mohou být atomy, ionty nebo molekuly; plynové lasery se podle toho dělí na atomární, iontové a molekulární. K buzení plynových laserů se používá elektrický výboj, chemická reakce, fotodisociace, rychlá expanze plynu nebo rezonanční optické buzení laserovým zářením.

Mezi plynové atomární lasery patří helium-neonový laser, měděný laser a jodový laser.

Příkladem iontového laseru je laser argonový, jehož aktivní prostředí je tvořeno ionty argonu [26]. Buzení je realizováno silnoproudým elektrickým výbojem, při němž dochází k nepružným srážkám elektronů s ionty argonu. Argonový laser se často využívá v oftalmologii a dermatologii [23].

Mezi zástupce molekulárních laserů patří např. CO₂-laser, CO-laser, vodíkový laser, dusíkový laser nebo excimerové lasery. Inverze populace v molekulárních laserech je možné dosáhnout díky přítomnosti různých energetických hladin v molekulách. U CO₂-laseru a CO-laseru se využívá přechodů mezi vibračně-rotacími hladinami.

Aktivním prostředím excimerových laserů jsou excimery – nestabilní molekuly složené z atomu v excitovaném stavu a atomu v základním stavu. Mezi excimery používané jako aktivní prostředí laserů patří např. Ar₂, ArF, KrF, XeO apod. [26]. Využívají se např. v oftalmologii [23].

Kapalinové lasery

V kapalinových laserech funguje jako aktivní prostředí roztok organického barviva, používají se např. barviva polymethinová, xanthenová nebo kumarinová [23]. Buzení je umožněno přítomností vibračních hladin ve složitých molekulách barviv [25]. Jako zdroj budící energie slouží speciální výbojky nebo jiné lasery, např. argonový či dusíkový. Kapalinové lasery mohou pracovat v kontinuálním i pulsním režimu [23].

Plazmové lasery

V plazmovém laseru dochází k vytvoření inverze populace v chladnoucím plazmatu [26]. Plazma vzniká z plynného skupenství ionizací molekul plynu, vedle sebe v něm

existují ionty, molekuly, atomy i volné elektrony [23]. K vytvoření plazmatu se může použít např. elektrický výboj, chemická reakce nebo laserové záření. Plazmové lasery jsou zdrojem rentgenového laserového záření [26].

Lasery s volnými elektrony

Aktivní prostředí těchto laserů je tvořeno svazkem urychlených elektronů pohybujících se v magnetickém poli, které je navozené soustavou magnetů střídavé polarity. Elektrony nejsou vázány na atomy a urychlením získávají velkou energii. Magnetické pole ovlivňuje jejich dráhu tak, že se pohybují po sinusoidě a přitom generují záření. V závislosti na energii elektronů a intenzitě magnetického pole mohou tyto lasery emitovat záření od ultrafialového po infračervené [25] [23].

2.5.2. Interakce laserového záření a kůže

Proces působení laserového záření na kůži můžeme rozdělit na tři fáze:

- optická fáze
- fotochemická a fototermická fáze
- biologické účinky záření [31].

2.5.2.1. Optická fáze

Po dopadu záření na kůži se část záření odrazí a část projde do tkáně. O tom, v jaké míře dojde k odrazu a prostupu záření rozhoduje vlnová délka a intenzita záření a dále typ tkáně. Po vstupu záření do tkáně dochází k jeho rozptylu, zpětnému odrazu a absorpci [31].

Odras záření

Odras je jev, ke kterému dochází na rozhraní dvou různých prostředí, je to odrazení záření od povrchu a jeho návrat do původního prostředí [33]. V případě interakce laserového záření a kůže jsou těmito prostředími vzduch a *stratum corneum* [31]. Pro odras záření platí jednoduchý zákon odrasu: úhel odrasu se rovná úhlu dopadu, přičemž paprsek zůstává v rovině dopadu [33]. Při dopadu laserového záření na kůži se odrazí asi 4 – 7 % dopadajícího záření.

Aby záření dosáhlo vitálních tkání, musí projít přes *stratum corneum*, proto je struktura a tloušťka této vrstvy pokožky důležitým modifikujícím faktorem dalšího průchodu záření [31].

Rozptyl záření

Po vstupu záření do tkáně nastává rozptyl záření. Dochází k němu kvůli heterogenní struktuře tkáně, kvůli různým velikostem částic a různým indexům lomu [34]. Rozptyl ovlivňuje distribuci záření v tkáni – omezuje hloubku průniku záření, ale tím, že je paprsek rozptylován, zvětšuje se oblast, na kterou působí. Paprsek je rozptylován do všech směrů, a proto část záření může zpětně dosáhnout povrchu, tento jev se nazývá zpětný odraz.

V kůži se nejvíce uplatňuje rozptyl kolagenními fibrilami [34] [31].

Absorpce záření

Absorpce je konečnou a nejvýznamnější částí optické fáze interakce laserového záření a kůže [31]. Absorbované fotony jsou zodpovědné za účinky laserového záření na tkáň – dodávají aktivační energii pro fotochemické reakce, jež vedou k biologické odpovědi organismu na záření.

Míra absorpce závisí na vlnové délce. Složky tkáně, které záření absorbují, se nazývají chromofory. V kůži jako chromofory fungují voda, melanin, hemoglobin nebo tetovací inkousty [34] [31].

2.5.2.2. Fotochemická a fototermická fáze

Druhá fáze interakce záření a kůže závisí především na energii fotonů a tedy i na vlnové délce záření. Pro krátkovlnné záření do vlnové délky 400 nm je typický vznik fotochemických reakcí, pro dlouhovlnné záření nad 700 nm vlnové délky je převažující vznik tepla.

Absorpcí fotonů tkáň získá energii pro fotochemické reakce vedoucí ke změnám na intracelulární i extracelulární úrovni. Byl prokázán vliv laserového záření na intracelulární metabolismus, kdy došlo ke zvýšení syntézy ATP v mitochondriích, modifikovány byly některé dehydrogenasové reakce NADH, zvýšila se syntéza bílkovin

mitochondriemi, došlo k alkalizaci cytoplazmy a lokálnímu zvýšení parciálního tlaku kyslíku [31], dále byla aktivována Na^+/K^+ ATPasa.

Záření a následný vznik tepla mohou být použity k léčbě kožních lézí bez tepelného poškození okolních tkání, využívá se k tomu tzv. selektivní fototermolýza. Té se docílí použitím záření o vlnové délce, která je přednostně absorbována chromofory v lézi. Dále je důležité, aby trvání pulsu laserového paprsku bylo kratší, než tepelný relaxační čas (čas, za který chromofor dosáhne poloviční teploty, než jakou měl po ozáření) [34].

2.5.2.3. Biologické účinky laserového záření

Analgetický efekt

Bolest je nepříjemná sensorická a emocionální zkušenost spojená s akutním nebo potenciálním poškozením tkání, vždy je subjektivní. Vnímání bolesti začíná na nociceptorech – volných nervových zakončeních aferentních nervových vláken. Chemické, mechanické nebo tepelné podráždění nociceptorů vede ke změnám permeability jejich membrány pro sodné ionty, nastává depolarizace membrány a vzniká vzruch vyvolávající vjem bolesti. Existují látky, které buď přímo aktivují chemosenzitivní nociceptory, nebo snižují termický a mechanický práh bolesti. Patří sem např. bradykinin, substance P, prostaglandiny, leukotrieny, vodíkové a draselné kationty a další.

Podle charakteru bolesti jsou bolestivé impulsy vedeny do míchy buď nemyelinizovanými vlákny C, nebo slabě myelinizovanými vlákny A δ . Vlákna C vedou impulsy tupé špatně lokalizovatelné bolesti, vlákna A δ vedou impulsy dobře lokalizovatelné ostré bolesti. Míšní struktury, ve kterých tato vlákna končí, se nazývají Rexedovy vrstvy. Bolest je pak vedena do supraspinálních center – talamu, retikulární formace a amygdaly [11].

Přesný mechanismus, kterým laserové záření přináší úlevu od bolesti, není plně znám, závěry studií však nabízejí několik možných vysvětlujících mechanismů. Je to např. inhibice vedení nervového vzruchu vlákny A δ a C, které zprostředkovávají nociceptivní stimulaci [35]. K analgetickému efektu přispívá protizánětlivé působení laserového záření a pravděpodobně i jeho schopnost snižovat oxidační stres [36] [37]. Bolest je snižována zlepšením mikrocirkulace a zrychlením odtoku lymfy z postižené

oblasti. Dále bylo dokázáno zvýšení hladiny β -endorfinů, endogenních opiátů, které vede k analgetickému účinku [31].

Protizánětlivý efekt

Zánět je reakce, kterou se organismus brání proti různým škodlivinám. Patří mezi ně mikroorganismy a další cizorodé látky jako např. cizorodé bílkoviny, pyl, krystalky azbestu apod. Zánětlivou reakci může vyvolat i mechanické či chemické poškození tkáně, dále pak fyzikální vlivy – chlad, žár, ozáření. Zánět dokáže vyvolat i některé tělu vlastní struktury – rozpadající se nádorové buňky, extravaskulární krev nebo látky, které vykrystalizují z tělních tekutin – kyselina močová, cholesterol [38]. Cílem zánětlivých procesů je škodliviny nebo poškození od okolní tkáně alespoň ohraničit, v lepším případě je eliminovat.

Při zánětu dochází ke kooperaci endotelových buněk, makrofágů, mikrofágů a žírných buněk a uvolňují se mediátory zánětu histamin, serotonin, bradykinin a další. Je aktivována fosfolipasa A_2 , enzym uvolňující kyselinu arachidonovou z buněčné membrány. Kyselina arachidonová je výchozí látka pro další mediátory zánětu – prostaglandiny E_2 a I_2 (vznikají pomocí enzymu cyklooxygenasa) a leukotrieny (vznikají pomocí enzymu lipoxygenasa) [11] [38].

Při poškození tkáně a podráždění endotelu dochází k aktivaci žírných buněk a uvolňování mediátorů zánětu – histaminu, NCF (chemotaktický faktor neutrofilů) aj. Je aktivována fosfolipasa A_2 , vznikají tedy prostaglandiny a leukotrieny. Membrána žírných buněk uvolňuje PAF (faktor aktivující destičky), tím jsou aktivovány i hemostatické děje. Mimo to je aktivován také komplement, složitý systém řetězovitě aktivovaných bílkovin schopných opsonisovat cizorodý materiál a neutralizovat viry. Důležitá je cytolytická schopnost komplementu, kdy jeho složky dokáží zničit cizorodou buňku. Působením mediátorů zánětů dochází k vasodilataci, zvyšuje se permeabilita cévní stěny a jsou aktivovány adhezivní molekuly, díky nimž jsou leukocyty přitahovány k endotelu. Leukocyty se pak k endotelu přichytí a kvůli větší propustnosti endotelu vystupují z cévy do extravaskulárního prostoru, kromě leukocytů tam proniká i zánětlivý exsudát. Neutrofilní granulocyty a makrofágy fagocytují původce zánětu, makrofágy pak ještě produkují další důležité mediátory: $TNF\alpha$ (tumor nekrotizující faktor alfa) nebo IL-1 (interleukin 1), které dále regulují probíhající zánět např. tím, že chemotaktický lákají monocyty a další neutrofilní granulocyty.

Klasické příznaky zánětu jsou zarudnutí a lokální zvýšení teploty způsobené větším prokrvením poškozené tkáně. Dále se objevuje otok způsobený větší permeabilitou cév, která vede k výstupu tekutiny do tkáně. Čtvrtým příznakem je bolest vznikající jako následek působení prostaglandinů E_2 a I_2 na nociceptory, další příčinou bolesti je zvýšený tlak ve tkáni a hromadění vodíkových kationtů (kyselé prostředí aktivuje nociceptory). Při zánětu je většinou porušená funkce poškozeného místa [11] [38].

K protizánětlivému účinku laserového záření přispívá několik faktorů. Studie prováděné jak na buněčných, tak na zvířecích modelech dokazují pokles zánětlivých mediátorů, konkrétně PGE_2 (prostaglandin E_2) [39] [40] [41]. Dále byla zjištěna inhibice uvolňování $TNF-\alpha$ [42] [43] [44] a $IL-1\beta$ [41]. Na zvířecím modelu byl dokázán pokles exprese genu $COX-2$ (cyklooxygenasa 2) [39], což koresponduje s poklesem hladiny PGE_2 .

Na zvířecím modelu byl v místě zánětu zjištěn pokles počtu neutrofilů, které prostoupily do extravaskulárního prostoru [44] [45]. V dalších studiích na zvířatech byla zjištěna redukce nekroticky postižené oblasti po injekci hadího jedu [46] [47]. Dále bylo prokázáno zmenšení otoku po zranění měkkých tkání [48] [49] [50].

Biostimulační efekt

Biostimulační efekt laserového záření byl prokázán v řadě studií. Působením monochromatického záření se dosáhlo stimulace (případně inhibice) rychlosti dělení HeLa buněk. Zrychlení nebo zpomalení mitózy bylo závislé na použité vlnové délce záření [31]. HeLa buněčná kultura vznikla z buněk rakoviny děložního hrdla odebraných Henriette Lacksové v roce 1951, tyto buňky jsou schopné neomezeného dělení [51].

Laserové záření po aplikaci na tkáň aktivuje enzymy dýchacího řetězce. Důležitým úkolem dýchacího řetězce je tvorba ATP (adenosintrifosfátu) [31], energeticky bohaté molekuly, jež je schopná energii uvolnit pro potřeby buňky [52]. Po ozáření bylo v kultuře HeLa buněk zjištěno zvýšení hladiny ATP až o 170 % v průběhu 30 minut. Dalším ukazatelem zrychleného metabolismu v ozářené tkáni je pak zvýšená spotřeba kyslíku a glukosy.

Výsledkem těchto dějů je urychlená epitelizace poškozené tkáně a také stimulace tvorby kolagenu [31].

2.5.3. Využití laserů v medicíně

Lasery se začaly v medicíně využívat koncem roku 1961. Prvním oborem, ve kterém našly uplatnění, byla oftalmologie. Rubínový laser se používal ke koagulaci sítnice. Dalším oborem, kam lasery začátkem šedesátých let pronikly, byla dermatologie. Rubínový laser se používal ke koagulaci cévních pletení kůže.

V šedesátých letech byl též objeven helium-neonový laser, argonový laser, Nd:YAG a CO₂ laser. Argonový a CO₂ laser byly stejně jako rubínový laser použity v klinické praxi poprvé v šedesátých letech. K prvnímu klinickému využití Nd:YAG laseru pak došlo v letech sedmdesátých. Na konci osmdesátých let bylo dalším pokrokem využití polovodičových laserů, které mají velký rozsah výkonu a vlnové délky paprsku. Nové využití laserů umožňuje jejich spojování s endoskopy, operačními mikroskopy a elektrokoagulátory.

Invazivní laser byl poprvé použit v roce 1961 při oftalmologických operacích, v dalších letech se začaly používat i lasery neinvazivní.

Laserové záření se dnes používá v oftalmologii, dermatologii, gynekologii, otorhinolaryngologii, stomatologii a dalších oborech. Laserové záření se využívá i k chirurgickým výkonům [31].

2.5.3.1. Využití neinvazivního laseru

Neinvazivní laser v terapii bolesti

Pro úspěch terapie (a to nejen bolestivých stavů) je zásadní správná indikace k použití laseru a volba správné vlnové délky a výkonu. Vlnová délka rozhoduje o hloubce průniku paprsku do tkáně, proto je třeba ji zvolit s ohledem na lokalizaci cílové struktury. Záření o vlnové délce červeného světla je z větší části absorbováno již v prvních 3 mm kůže, záření o vlnové délce infračerveného světla vykazuje klinický účinek až do hloubky přibližně 7 cm.

Použití neinvazivního laseru je vhodné u kontuzí, distorzí a jiných tupých poranění, které provází akutní bolest. Dále se terapie laserem uplatňuje při vertebrogenních bolestech a lokálních myogelozách [31], na pohmat citlivých uzlovitých zatvrdlinách ve svalu [53].

Při terapii bolesti se uplatňuje i antiflogistický účinek laserového záření, proto jsou zvláště vhodnou indikací pro terapii laserem stavy, kde se zánět podílí na vzniku bolesti. Patří sem zejména revmatická onemocnění pohybového aparátu, entezopatie a dekompenzované artrotické stavy. Dalšími vhodnými indikacemi jsou např. ostruha patní kosti, syndrom karpálního tunelu, bolest ramenního kloubu, artrotická postižení kloubů a další [31].

Neinvazivní laser v dermatologii

V dermatologii se s výhodou používají vedle klasických laserů i laserové scannery, které umožňují ozařování větších ploch a zajišťují rovnoměrné ozáření ošetřované plochy.

Vhodnou dermatologickou indikací jsou pooperační jizvy, kdy se s terapií začíná co nejdříve po operaci. Využívá se infračerveného záření díky jeho hlubšímu průniku do tkáně, pro pozdější aplikace se může použít záření v červeném spektru. Dále se laserové záření používá u hypertrofických jizev, keloidů a strií. Laserové záření se aplikuje i při terapii dekubitů a bércových vředů, tyto defekty je před aplikací laserového záření třeba řádně vyčistit.

Laser se uplatňuje také u infekčních onemocnění. Jedná se o akutní mykotické infekce spojené se vznikem ragád a erozí. Dále se aplikuje při oparech způsobených virem *Herpes simplex* a při pásovém oparu způsobeném virem *Herpes zoster*, kdy nejenže urychluje hojení, ale také snižuje bolestivost.

Dalšími indikacemi jsou lehčí popáleniny, periorální dermatitida, ekzémy, lichen, tromboflebitida, akné, rosacea a další [31].

Neinvazivní laser ve stomatologii

Laserové záření má ve stomatologii široké uplatnění, využívá se především jeho analgetického a protizánětlivého účinku.

K ošetření laserem jsou vhodné recidivující afty, při terapii laserem se zkracuje doba jejich hojení, snižuje se bolestivost a prodlužuje se období remise. Vhodnou indikací jsou také infekční ústní koutky. Vznikají kvůli maceraci plochy koutků a následné kontaminaci infekčním agens, nejčastěji *Candidou albicans*. Aplikace laseru se kombinuje s klasickou terapií.

Dalšími indikacemi jsou papilitidy, gingivitidy, stomatitidy a parodontitidy, zánětlivá onemocnění struktur v ústní dutině.

Laserovým zářením se dá korigovat také hypersensitivita dentinu projevující se nepříjemnou bolestivostí na mechanické či termické podněty. Po jedné až třech aplikacích dochází k vymizení bolesti, případně k jejímu snížení.

Laserové záření se využívá i při postižení tvrdých tkání v dutině ústní, patří sem zubní kaz, zánět zubní dřeně, zánět zubního lůžka a další. U zubního kazu se využívá hlavně snížení bolestivosti po aplikaci laseru. Záření se aplikuje před preparací kazivých tkání, u povrchnějších lézí snižuje bolest do té míry, že nemusí být použito anestesie před zákrokem [31].

Neinvazivní laser v otorhinolaryngologii

Terapeutický laser se používá také v otorhinolaryngologii. Vhodné indikace jsou akutní, recidivující i chronické sinusitidy, chronické tonsilitidy a recidivující tonsilofaryngitidy. Laserové záření také zkracuje dobu hojení po tonsilektomiích, přínosné je zde i jeho analgetické působení. Terapii laserem je dále možné použít např. u glosodynii (bolestivost jazyka), tinitu (ušní šelest) nebo při perforaci bubínku [31].

Neinvazivní laser v gynekologii

Vhodné gynekologické indikace jsou zánětlivé stavy zevních rodidel, např. akutní a chronické vulvovaginitidy, dále pak nezápětlivé stavy jakou jsou kontaktní alergické dermatitidy, esenciální vulvodynie a další. Laser je přínosné použít i při infekci virem *Herpes simplex* v genitální oblasti, dále k rychlejšímu hojení pooperačních ran a při stavech po ošetření děložního čípku [31].

2.5.3.2. Využití invazivního laseru

Tkáň, která absorbuje laserové záření, se zahřívá, čímž dochází k ablaci (vaporizaci a řezání) a koagulaci [31]. K ablaci dochází při rychlém zahřívání, kdy tkáň absorbuje dostatek energie způsobující odpařování tkáňové vody – vaporizaci [34]. Hustota výkonu laseru, při které k vaporizaci dochází, se označuje jako kritická hustota výkonu. Kombinace ablace a koagulace je základem laserové chirurgie.

Mezi běžně užívané invazivní lasery patří CO₂ laser, argonový a Nd:YAG laser a dále lasery excimerové. Předností laserové chirurgie je možnost vést bezdotykový a ostře ohraničený řez, dále redukce krevních ztrát, menší pooperační edémy a menší bolestivost.

Invazivní lasery jsou hojně užívány v oftalmologii. Při diabetické retinopatii se nejčastěji používá argonový laser. Podstatou zákroku je interakce mezi laserovým zářením a pigmentem retiny vedoucí ke koagulaci tepelnou nekrózou [31]. Koagulace vede k uzavření prosakujících mikroaneurysmat, příznivě ovlivňuje makulární edém a neovaskularizaci [54]. Další oftalmologickou indikací je zelený zákal. Zelený zákal je charakterizován zvýšeným nitroočním tlakem, který vede k dalším změnám oka. Podstatou zákroku je zvýšení odtoku nitrooční tekutiny episklerálními cévami. Toho se dosáhne mikroperforacemi v trámčině komorového úhlu laserovým paprskem, zákrok se označuje zkratkou ALT (argonová laserová trabekuloplastika) [31]. Novější metodou je SLT (selektivní laserová trabekuloplastika), při které dochází pouze k ovlivnění pigmentových buněk trámčiny bez tepelného poškození ostatních jejích struktur [54]. K léčbě šedého zákalu se používá Nd:YAG laser, jímž se odstraňuje poškozená čočka, která je následně nahrazena.

Laser se může použít i k vyhlazení kůže a odstranění vrásek, k tomuto účelu se využívá CO₂ laser. CO₂ laser se v dermatologii dále uplatňuje při odstraňování jizev, lézí kůže benigního charakteru nebo tetování.

V chirurgii jsou lasery přínosem při operacích gastrointestinálního traktu, kdy laser umožňuje zástavu krvácení u krvácejících defektů. Další předností oproti klasické chirurgii je bezkontaktnost laserového skalpelu, to je výhoda u onkologických operací, jelikož se zmenšuje riziko diseminace nádorových buněk. Laseru je využíváno i v kardiovaskulární chirurgii při operacích mitrálních stenóz, při koronárních rekonstrukcích, implantací kardiostimulátorů aj. [31].

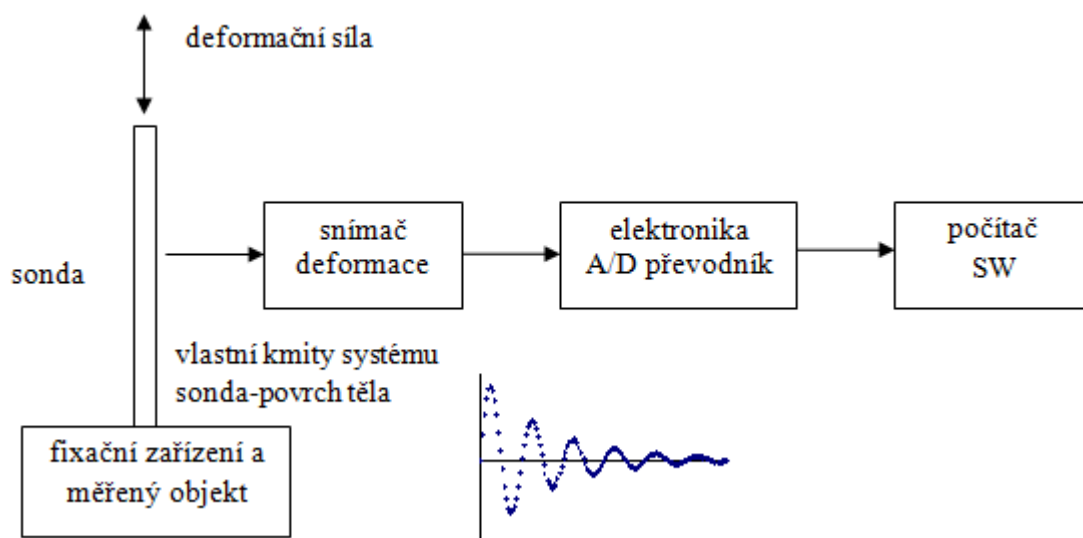
3. PRAKTICKÁ ČÁST

3.1. Použitá technika

3.1.1. Měřicí aparatura

Pro měření byla použita aparatura vyvinutá na katedře biofyziky a fyzikální chemie Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové. Jedná se o variabilní zařízení, které umožňuje stanovit mechanické vlastnosti biologických materiálů jako je kůže, kosti nebo stěny cév. Měření mechanických parametrů lidské kůže je prováděno *in vivo*, měření dalších tkání a biologických materiálů je prováděno *in vitro*. Zařízení umožňuje měřit i mechanické vlastnosti jiných materiálů např. plastů nebo gum [17].

Aparatura se skládá z panelu, na kterém je připevněna měřicí sonda, dále z fixačního zařízení pro upevnění měřeného objektu, zařízení pro aplikaci deformační síly, A/D převodníku a počítače. Schéma aparatury je znázorněno na obr. 12, na obr. 13 je detail měřicí sondy. Tato sonda působí na měřený objekt fixovaný v definované poloze, je tvořena skleněnou tyčinkou o hmotnosti 12,63 g. Snímač je tvořen elektromechanickým čidlem induktivního typu a elektronickým obvodem pro zpracování signálu ze snímače. Výsledný průběh je převáděn A/D převodníkem do digitální formy a přiváděn do počítače [15].



Obr. 12: Schéma aparatury pro měření impulsní charakteristiky lidské kůže [55]



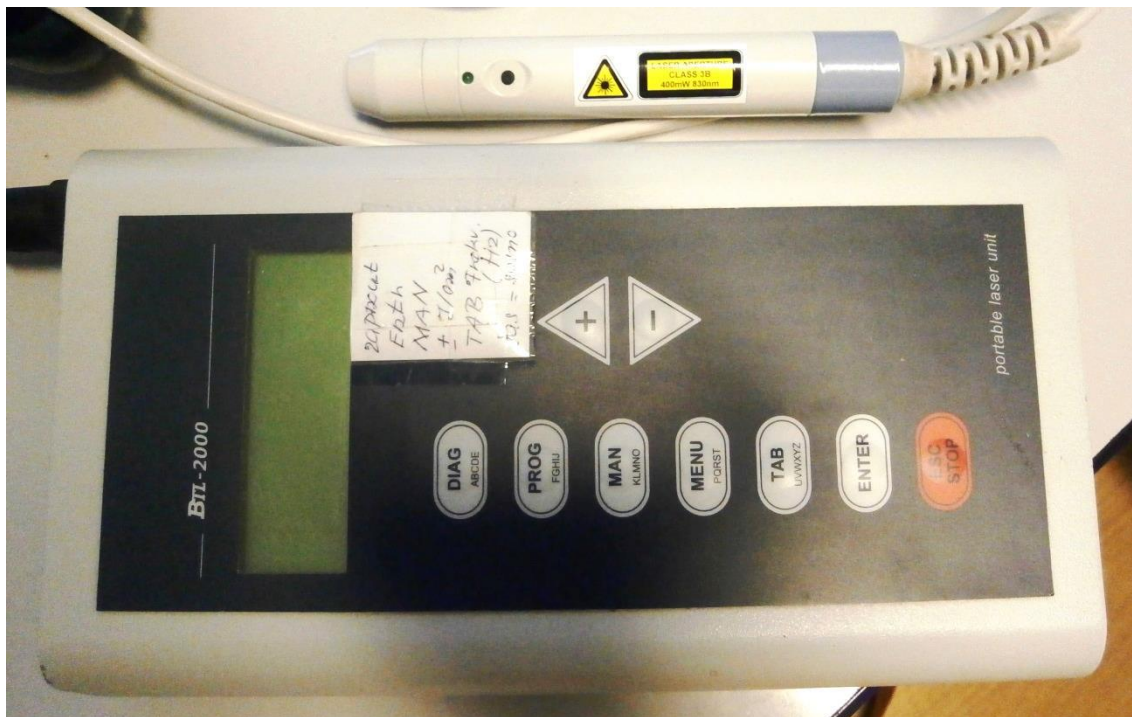
Obr. 13: Detail měřicí sondy

3.1.2. Laser

Při experimentu byl použit terapeutický nízkovýkonný laser BTL 2000 (obr. 14). K ozáření byla použita sonda s vlnovou délkou 830 nm, udávaný maximální výkon této sestavy je 400 mW. Laser BTL 2000 umožňuje plynulou změnu frekvence, hustoty energie, výkonu, ozařované plochy a času. Vzhledem k tomu, že spolu jednotlivé parametry souvisí, přístroj při změně některého z parametrů automaticky přepočítá ty zbývající (např. v případě změny hustoty energie při daném výkonu a při dané ploše určí automaticky potřebný čas ozařování). Je možné použít jak pulsní, tak kontinuální režim. Laser také automaticky testuje výkon sondy a upravuje ho tak, aby bylo dosaženo optimálních výstupů (např. sníží výkon sondy a určí delší čas ozařování).

Laser BTL 2000 umožňuje zvolit různé oblasti použití, např. rehabilitace, zubní lékařství, gynekologie, dermatologie a další. Z těchto oblastí je možné vybrat diagnózy,

které mají předem definované vhodné parametry záření. Pro experiment bylo ale využito manuálního nastavení parametrů.



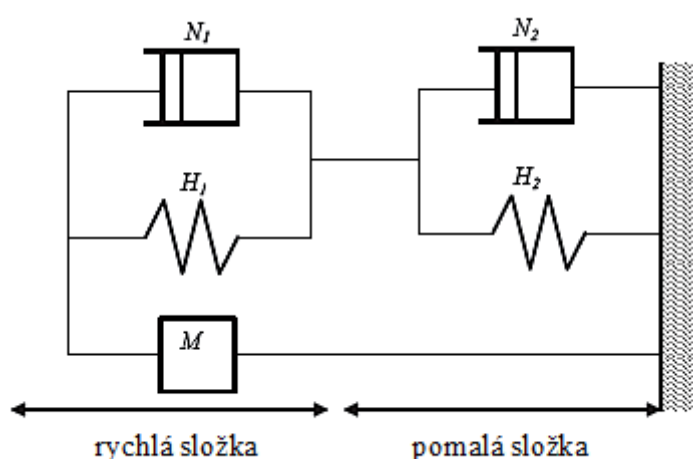
Obr. 14: Laser BTL 2000

3.2. Metodika a pracovní postup

3.2.1. Impulsní charakteristiky

Pro zjišťování mechanických parametrů lidské kůže bylo provedeno měření impulsních charakteristik. Jak již bylo uvedeno, impulsní charakteristiky jsou odezvy výstupní veličiny (deformace) na vstup trvající velmi krátkou dobu (deformující síla). Systém se impulsem uvede rychle do pohybu, po skončení impulsu se deformace systému dále mění, přičemž dynamika této deformace je závislá pouze na parametrech systému.

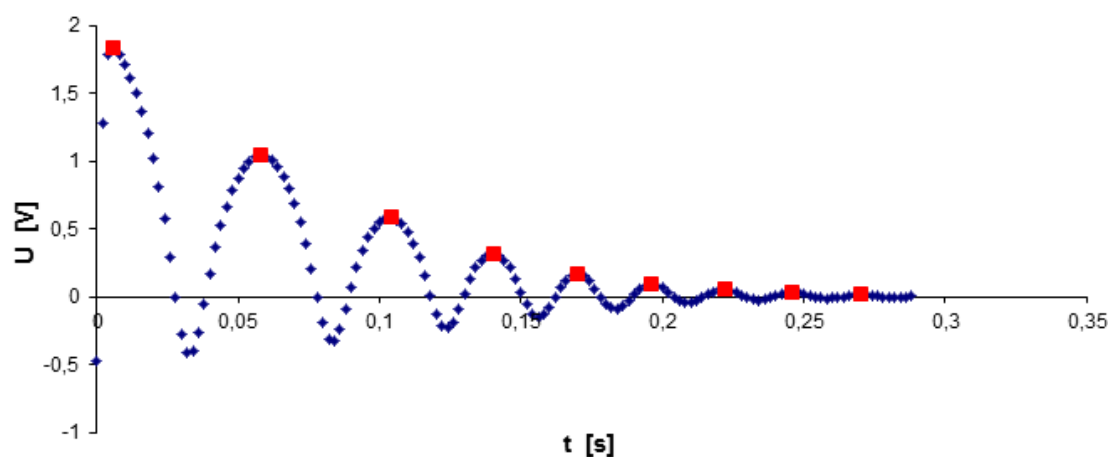
Impulsní charakteristika se získá spuštěním sondy se setrvačným členem ze zvolené výšky a měří se průběh pohybu sondy – sonda volně odskakuje a kmitá [17]. Odezva na impuls má v tomto případě dvě složky (rychlou a pomalou). Reologický model popisující mechanické chování kůže je znázorněn na obr. 15. Bylo zjištěno, že při dynamickém měření má pomalá složka odpovědi malý podíl v odezvě na impuls síly a lze ji zanedbat. Reologický model tedy odpovídá Voigtovu modelu se setrvačným členem [56], z čehož vychází zpracování informace o pohybu sondy. Sonda se při odskoku, kdy není v kontaktu s povrchem, pohybuje balistickou drahou se zanedbatelným tlumením pohybu. V intervalech, kdy je sonda v kontaktu s povrchem, kmitá jako Voigtův model se setrvačným členem [17].



Obr. 15: Reologický model chování kůže [56]

3.2.2. Zpracování dat

Data jsou zpracovávána pomocí softwaru vyvinutého na katedře biofyziky a fyzikální chemie Farmaceutické fakulty UK. Software odečítá od reálného průběhu intervaly, po které probíhá balistický pohyb, a rekonstruuje průběh (frekvenci a tlumení kmitů), který odpovídá situaci, kdy je sonda v kontaktu s objektem. Průběh tlumených kmitů při měření impulsních charakteristik je znázorněn na obr. 16. Ze získaných dat je pak vypočítán Hookeův a Newtonův koeficient povrchu. Hookeův koeficient vypovídá o tuhosti materiálu jako celku, Newtonův koeficient pak charakterizuje jeho viskozitu. [17].



Obr. 16: Průběh tlumených kmitů při měření impulsní charakteristiky kůže

Platí tyto vztahy:

Pro mechanické chování Voigtova modelu se setrvačným členem platí rovnice:

$$F(t) = M \frac{d^2L}{dt^2} + N \frac{dL}{dt} + H \cdot L \quad (7)$$

kde F je působící síla, M je hmotnost pohyblivé části systému, L je absolutní deformace, N je Newtonův koeficient, H je Hookeův koeficient.

Poměr Newtonova a Hookeova koeficientu je časová konstanta Voigtova tělesa, udává čas, za který se materiál navrátí po deformaci do původního stavu:

$$\tau = \frac{N}{H} \quad (8)$$

Impulsní charakteristika Voigtova modelu se setrvačným členem má tvar:

$$L_I(t) = L_0 e^{-a \cdot t} \cdot \sin(\omega \cdot t) \quad (9)$$

kde a je tlumení kmitů a ω je úhlová frekvence kmitů, pro které platí:

$$a = \frac{N}{2M} \quad (10)$$

$$\omega = \frac{\sqrt{4MH - N^2}}{2M} \quad (11)$$

3.2.3. Pracovní postup

Dobrovolníci

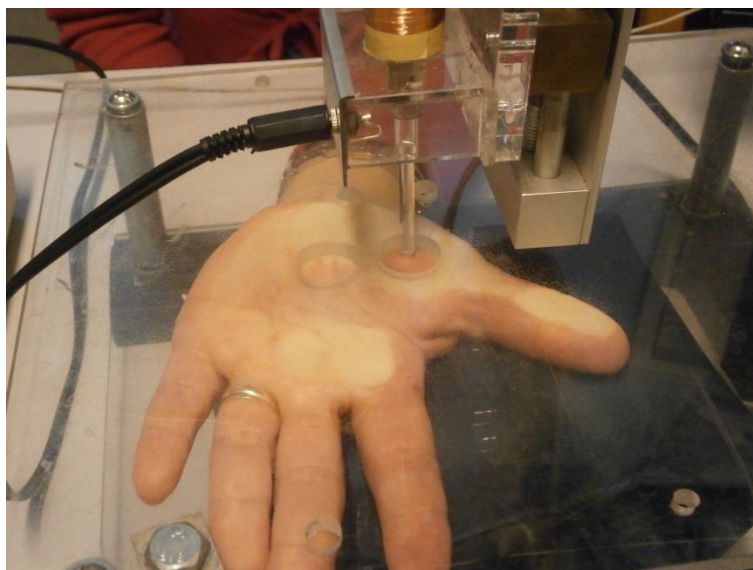
Experimentu se zúčastnilo deset dobrovolnic ve věku od 20 do 39 let.

Podmínky měření

Mechanické vlastnosti lidské kůže byly měřeny *in vivo*. Měřenou oblastí byla kůže palcového valu pravé ruky, kde byly zvoleny body pro dopad sondy a následně byly označeny lihovým fixem. Pro srovnávací měření byly použity čtyři body, pro aplikaci laserového záření a měření po ozáření tři body.

Vlastní měření

1. Před měřením byla kůže palcového valu ošetřena lihobenzínem.
2. Dobrovolník byl usazen na židli a jeho ruka byla pneumaticky fixována k aparatuře, použitý tlak byl 120 mm Hg (obr. 17).



Obr. 17: Ruka fixovaná k aparatuře

3. Bylo provedeno srovnávací měření. Sonda byla pětkrát spuštěna na kůži a pro každé měření byl vypočten Hookeův a Newtonův koeficient. Takto byl proměřen první bod. Následovala pětiminutová pauza pro zachování fyziologických podmínek. Tímto způsobem byly proměřeny další tři body.
4. Byla provedena aplikace laserového záření laserem BTL 2000. Na vybraný bod bylo působeno laserovým zářením. Sonda laseru byla přiložena kolmo, co nejbližše povrchu kůže a to tak, aby se ho nedotýkala.
5. Bezprostředně po aplikaci záření byly proměřeny mechanické vlastnosti a byl vypočítán Hookeův a Newtonův koeficient. Během pětiminutové pauzy byl ozářen další bod a poté byl proměřen. Stejně se postupovalo u třetího bodu. V dalších sériích měření byla k ozáření použita větší hustota energie laserového záření. Parametry nastavení laseru v jednotlivých sériích znázorňuje tab. 1. Použit byl kontinuální režim.

Tab. 1: Parametry nastavení laseru pro jednotlivé série měření

	hustota energie	výkon	plocha	čas
1. série	$30 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$	188 mW	$0,5 \text{ cm}^2$	1,19 s
2. série	$50 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$	188 mW	$0,5 \text{ cm}^2$	2,12 s
3. série	$70 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$	188 mW	$0,5 \text{ cm}^2$	3,06 s
4. série	$90 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$	188 mW	$0,5 \text{ cm}^2$	3,59 s

3.3. Výsledky

3.3.1. Hookeův koeficient

U každého dobrovolníka byly vypočteny průměrné hodnoty Hookeova koeficientu (H) u srovnávacího měření (E_0) a po aplikaci jednotlivých hustot energie ($E_{30} - E_{90}$). Z těchto hodnot byly vypočteny změny H při $E_{30} - E_{90}$ oproti hodnotám H při E_0 . Tyto hodnoty uvádí tab. 2. Tab. 3 představuje výběr těchto změn vyjádřených procentuálně, průměrné hodnoty těchto procentuálních změn jsou graficky vyjádřeny v grafu 1.

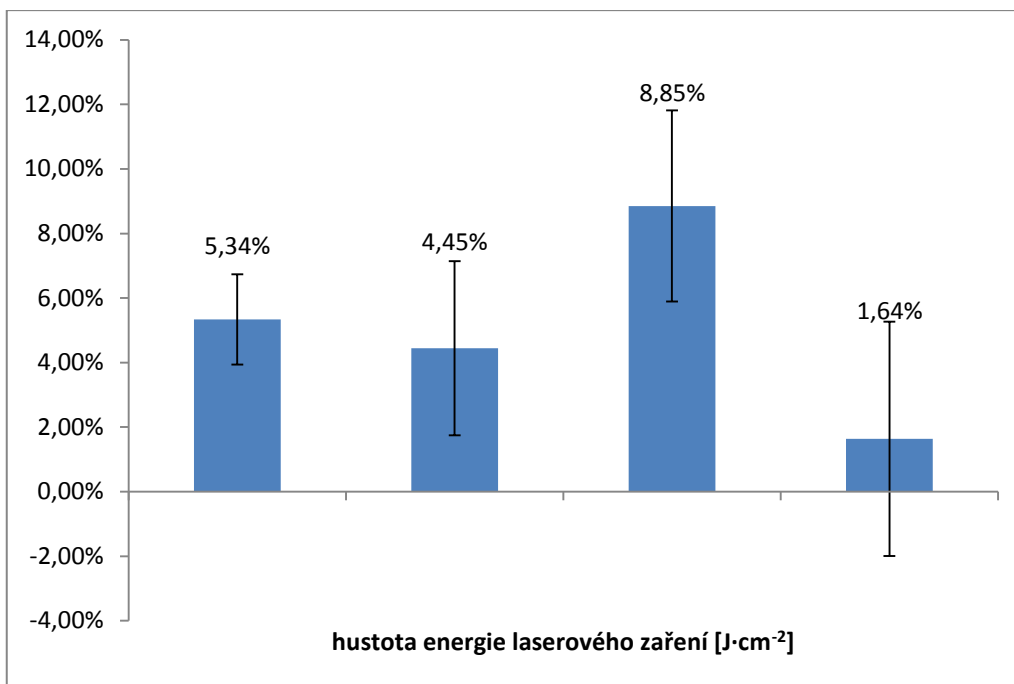
Tab. 2: Průměrné hodnoty H při $E_0 - E_{90}$ a změny H při $E_{30} - E_{90}$ oproti hodnotám H při E_0

		E_0	E_{30}	E_{50}	E_{70}	E_{90}
1	H [$N \cdot m^{-1}$]	5,06E+02	5,36E+02	4,45E+02	6,05E+02	5,21E+02
	s. odchylka [$N \cdot m^{-1}$]	6,65E+01	4,96E+01	4,45E+01	3,49E+01	3,69E+01
	změna oproti H při E_0		3,03E+01	-6,12E+01	9,92E+01	1,53E+01
	změna v % oproti H při E_0		6,00%	-12,10%	19,61%	3,02%
2	H [$N \cdot m^{-1}$]	5,15E+02	5,47E+02	6,21E+02	6,32E+02	6,82E+02
	s. odchylka [$N \cdot m^{-1}$]	5,44E+01	1,17E+02	5,46E+01	6,41E+01	8,43E+01
	změna oproti H při E_0		3,16E+01	1,05E+02	1,16E+02	1,67E+02
	změna v % oproti H při E_0		6,13%	20,43%	22,56%	32,43%
3	H [$N \cdot m^{-1}$]	9,39E+02	1,00E+03	9,95E+02	9,60E+02	9,72E+02
	s. odchylka [$N \cdot m^{-1}$]	3,47E+01	3,46E+01	8,60E+01	2,51E+01	2,12E+01
	změna oproti H při E_0		6,03E+01	5,53E+01	2,09E+01	3,22E+01
	změna v % oproti H při E_0		6,42%	5,89%	2,22%	3,43%
4	H [$N \cdot m^{-1}$]	8,22E+02	8,76E+02	8,93E+02	9,47E+02	7,99E+02
	s. odchylka [$N \cdot m^{-1}$]	3,65E+01	5,92E+01	9,70E+01	7,34E+01	5,60E+01
	změna oproti H při E_0	0,00E+00	5,36E+01	7,14E+01	1,25E+02	-2,29E+01
	změna v % oproti H při E_0	0,00%	6,52%	8,69%	15,19%	-2,79%
5	H [$N \cdot m^{-1}$]	1,09E+03	1,19E+03	1,15E+03	1,20E+03	1,00E+03
	s. odchylka [$N \cdot m^{-1}$]	8,70E+01	2,30E+01	4,96E+01	8,38E+01	1,05E+02
	změna oproti H při E_0		9,17E+01	5,90E+01	1,02E+02	-8,89E+01
	změna v % oproti H při E_0		8,38%	5,39%	9,34%	-8,13%
6	H [$N \cdot m^{-1}$]	7,56E+02	8,02E+02	8,05E+02	8,06E+02	7,71E+02
	s. odchylka [$N \cdot m^{-1}$]	7,24E+01	7,04E+01	4,74E+01	3,82E+01	4,64E+01
	změna oproti H při E_0	0,00E+00	4,64E+01	4,94E+01	5,02E+01	1,57E+01
	změna v % oproti H při E_0	0,00%	6,14%	6,54%	6,64%	2,08%

7	H [N·m ⁻¹]	6,97E+02	7,15E+02	7,11E+02	7,14E+02	6,72E+02
	s. odchylka [N·m ⁻¹]	6,32E+01	5,44E+01	6,45E+01	4,01E+01	2,09E+01
	změna oproti H při E ₀		1,79E+01	1,40E+01	1,71E+01	-2,47E+01
	změna v % oproti H při E ₀		2,56%	2,00%	2,45%	-3,55%
8	H [N·m ⁻¹]	4,48E+02	4,51E+02	4,28E+02	4,28E+02	4,20E+02
	s. odchylka [N·m ⁻¹]	8,16E+01	4,74E+01	3,10E+01	4,47E+01	5,57E+01
	změna oproti H při E ₀		2,44E+00	-2,04E+01	-2,02E+01	-2,87E+01
	změna v % oproti H při E ₀		0,54%	-4,55%	-4,50%	-6,41%
9	H [N·m ⁻¹]	1,68E+03	1,64E+03	1,75E+03	1,65E+03	1,63E+03
	s. odchylka [N·m ⁻¹]	3,63E+02	1,80E+02	2,72E+02	2,84E+02	3,04E+02
	změna oproti H při E ₀		-4,74E+01	6,39E+01	-2,95E+01	-5,46E+01
	změna v % oproti H při E ₀		-2,82%	3,80%	-1,75%	-3,24%
10	H [N·m ⁻¹]	9,84E+02	1,12E+03	1,07E+03	1,15E+03	9,79E+02
	s. odchylka [N·m ⁻¹]	1,71E+02	1,08E+02	7,11E+01	6,99E+01	1,01E+02
	změna oproti H při E ₀		1,33E+02	8,23E+01	1,65E+02	-4,43E+00
	změna v % oproti H při E ₀		13,50%	8,37%	16,76%	-0,45%

Tab. 3: Procentuální změny H při E₃₀ – E₉₀ a průměr těchto změn oproti srovnávacímu měření při E₀

	změny H po aplikaci hustoty E ₃₀₋₉₀				průměr z E ₃₀ – E ₉₀
	E ₃₀	E ₅₀	E ₇₀	E ₉₀	
1	6,00%	-12,10%	19,61%	3,02%	4,13%
2	6,13%	20,43%	22,56%	32,43%	20,39%
3	6,42%	5,89%	2,22%	3,43%	4,49%
4	6,52%	8,69%	15,19%	-2,79%	6,90%
5	8,38%	5,39%	9,34%	-8,13%	3,75%
6	6,14%	6,54%	6,64%	2,08%	5,35%
7	2,56%	2,00%	2,45%	-3,55%	0,87%
8	0,54%	-4,55%	-4,50%	-6,41%	-3,73%
9	-2,82%	3,80%	-1,75%	-3,24%	-1,00%
10	13,50%	8,37%	16,76%	-0,45%	9,55%
průměrná změna oproti E ₀	5,34%	4,45%	8,85%	1,64%	5,07%
s.e.	1,40%	2,70%	2,96%	3,63%	2,09%



Graf 1: Průměrné procentuální změny H při E₃₀ – E₉₀ oproti srovnávacímu měření při E₀

3.3.1.1. Analýza výsledků Hookeova koeficientu

Metodou ANOVA (analýza rozptylu) bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi průměrnými změnami Hookeova koeficientu po aplikaci laserového záření při různých hustotách energie, P-value je větší než hladina významnosti 0,05, viz tab. 4.

Tab. 4: Tabulka analýzy rozptylu (H)

Anova: Single Factor

SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
H (E ₃₀)	10	0,533891	0,053389	0,001971		
H (E ₅₀)	10	0,444678	0,044468	0,007302		
H (E ₇₀)	10	0,885237	0,088524	0,008748		
H (E ₉₀)	10	0,163853	0,016385	0,013202		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,026542	3	0,008847	1,133454	0,34855	2,866266
Within Groups	0,281003	36	0,007806			
Total	0,307545	39				

Dalším testem bylo zjištěno, že průměr z průměrných změn (celková relativní změna) Hookeova koeficientu po ozáření laserovým zářením o hustotě energie 30, 50, 70 nebo 90 J·cm⁻² oproti srovnávacímu měření leží v intervalu 0,34 % – 9,80 % se spolehlivostí 95 %, viz tab. 5.

Tab. 5: Intervalový odhad (H)

Mean	0,05069146
Standard Error	0,02089633
Median	0,04312699
Mode	
Standard Deviation	0,06607998
Sample Variance	0,00436656
Kurtosis	2,88632057
Skewness	1,30327375
Range	0,24113551
Minimum	-0,0372699
Maximum	0,20386565
Sum	0,50691457
Count	10
Confidence Level (95,0 %)	0,04727077
interval	0,34% 9,80%

3.3.2. Newtonův koeficient

Stejným způsobem jako hodnoty Hookeova koeficientu byl vyhodnocen i Newtonův koeficient, viz tab. 6 a 7 a graf 2.

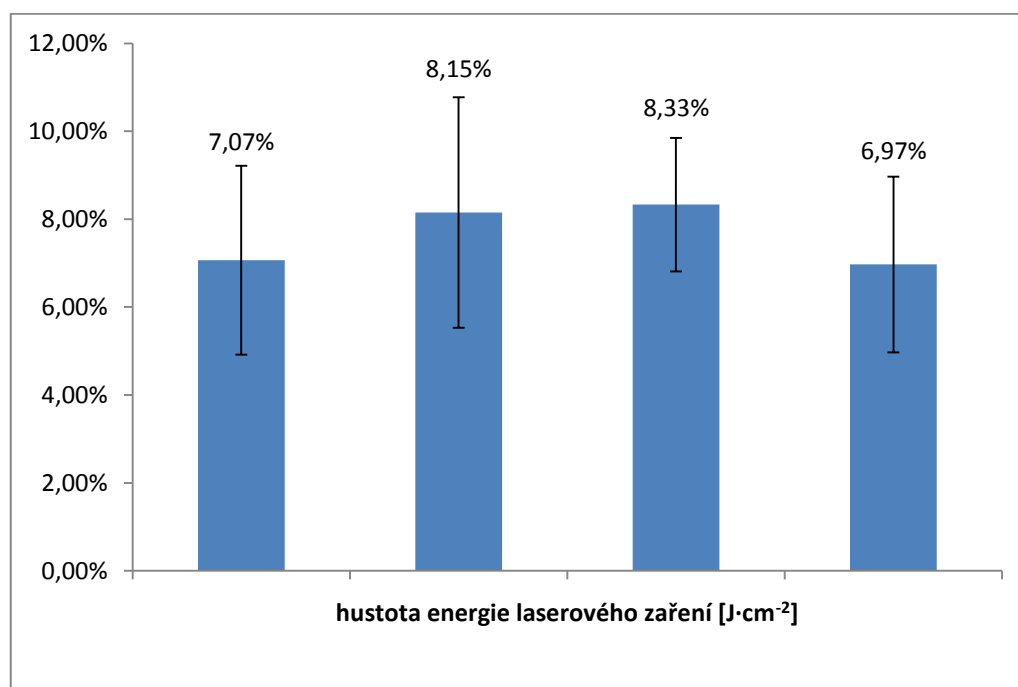
Tab. 6: Průměrné hodnoty N při E₀ – E₉₀ a změny N při E₃₀ – E₉₀ oproti hodnotám N při E₀

		E ₀	E ₃₀	E ₅₀	E ₇₀	E ₉₀
1	N [N·s·m ⁻¹]	1,12E+00	1,10E+00	1,10E+00	1,20E+00	1,15E+00
	s. odchylka [N·s·m ⁻¹]	0,101176	1,55E-01	1,02E-01	8,65E-02	7,54E-02
	změna oproti N při E ₀		-2,16E-02	-2,53E-02	7,37E-02	2,91E-02
	změna v % oproti N při E ₀		-1,92%	-2,25%	6,56%	2,59%

2	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	8,77E-01	1,03E+00	1,11E+00	1,00E+00	1,07E+00
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,070781	5,81E-02	7,75E-02	4,63E-02	1,43E-01
	změna oproti N při E_0		1,49E-01	2,34E-01	1,25E-01	1,98E-01
	změna v % oproti N při E_0		16,98%	26,73%	14,22%	22,59%
3	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	1,02E+00	1,21E+00	1,17E+00	1,14E+00	1,12E+00
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,059587	9,31E-02	4,22E-02	6,10E-02	4,87E-02
	změna oproti N při E_0		1,84E-01	1,47E-01	1,17E-01	1,00E-01
	změna v % oproti N při E_0		17,95%	14,40%	11,45%	9,76%
4	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	1,01E+00	1,10E+00	1,07E+00	1,07E+00	1,01E+00
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,038143	3,68E-02	4,64E-02	4,38E-02	4,30E-02
	změna oproti N při E_0		8,20E-02	5,43E-02	5,59E-02	-4,29E-04
	změna v % oproti N při E_0		8,07%	5,35%	5,51%	-0,04%
5	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	7,57E-01	7,68E-01	7,83E-01	7,95E-01	7,96E-01
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,034409	3,35E-02	2,42E-02	3,97E-02	6,22E-02
	změna oproti N při E_0		1,10E-02	2,60E-02	3,77E-02	3,81E-02
	změna v % oproti N při E_0		1,45%	3,43%	4,98%	5,03%
6	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	1,05E+00	1,12E+00	1,13E+00	1,13E+00	1,10E+00
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,079089	1,01E-01	1,12E-01	5,97E-02	6,63E-02
	změna oproti N při E_0		7,16E-02	8,32E-02	8,24E-02	5,19E-02
	změna v % oproti N při E_0		6,83%	7,95%	7,87%	4,95%
7	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	9,48E-01	9,37E-01	9,67E-01	1,01E+00	9,76E-01
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,049751	4,17E-02	3,08E-02	1,02E-01	8,63E-02
	změna oproti N při E_0		-1,10E-02	1,88E-02	6,13E-02	2,82E-02
	změna v % oproti N při E_0		-1,16%	1,98%	6,47%	2,97%
8	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	8,38E-01	9,21E-01	8,60E-01	8,37E-01	8,86E-01
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,077862	9,27E-02	6,56E-02	5,70E-02	9,87E-02
	změna oproti N při E_0		8,24E-02	2,14E-02	-1,16E-03	4,75E-02
	změna v % oproti N při E_0		9,83%	2,56%	-0,14%	5,66%
9	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	9,69E-01	1,01E+00	1,05E+00	1,07E+00	1,02E+00
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,089377	8,94E-02	4,83E-02	1,14E-01	8,87E-02
	změna oproti N při E_0		4,16E-02	8,04E-02	9,84E-02	5,46E-02
	změna v % oproti N při E_0		4,29%	8,30%	10,16%	5,64%
10	N [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	7,41E-01	8,02E-01	8,38E-01	8,61E-01	8,19E-01
	s. odchylka [$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$]	0,040409	5,16E-02	1,09E-01	7,90E-02	6,54E-02
	změna oproti N při E_0		6,17E-02	9,69E-02	1,20E-01	7,81E-02
	změna v % oproti N při E_0		8,34%	13,08%	16,24%	10,55%

Tab. 7: Procentuální změny N při $E_{30} - E_{90}$ a průměr těchto změn oproti srovnávacímu měření při E_0

	změny N po aplikaci hustoty E_{30-90}				průměr z $E_{30} - E_{90}$
	E_{30}	E_{50}	E_{70}	E_{90}	
1	-1,92%	-2,25%	6,56%	2,59%	1,24%
2	16,98%	26,73%	14,22%	22,59%	20,13%
3	17,95%	14,40%	11,45%	9,76%	13,39%
4	8,07%	5,35%	5,51%	-0,04%	4,72%
5	1,45%	3,43%	4,98%	5,03%	3,72%
6	6,83%	7,95%	7,87%	4,95%	6,90%
7	-1,16%	1,98%	6,47%	2,97%	2,57%
8	9,83%	2,56%	-0,14%	5,66%	4,48%
9	4,29%	8,30%	10,16%	5,64%	7,10%
10	8,34%	13,08%	16,24%	10,55%	12,05%
průměrná změna oproti E_0	7,07%	8,15%	8,33%	6,97%	7,63%
s.e.	2,15%	2,62%	1,52%	2,00%	1,86%



Graf 2: Průměrné procentuální změny N při $E_{30} - E_{90}$ oproti srovnávacímu měření při E_0

3.3.2.1. Analýza výsledků Newtonova koeficientu

Metodou ANOVA bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi průměrnými změnami Newtonova koeficientu po aplikaci laserového záření při různých hustotách energie, P-value je větší než hladina významnosti 0,05, viz tab. 8.

Tab. 8: Tabulka analýzy rozptylu (N)

Anova: Single Factor

SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
N (E ₃₀)	10	0,706676	0,070668	0,004608		
N (E ₅₀)	10	0,815164	0,081516	0,006848		
N (E ₇₀)	10	0,833108	0,083311	0,00231		
H (E ₉₀)	10	0,697068	0,069707	0,004		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,001516	3	0,000505	0,113741	0,951497	2,866266
Within Groups	0,159896	36	0,004442			
Total	0,161412	39				

Celková relativní změna Newtonova koeficientu po ozáření laserovým zářením o hustotě energie 30, 50, 70 nebo 90 J·cm⁻² oproti srovnávacímu měření leží v intervalu 3,43 % – 11,83 % se spolehlivostí 95 %, viz tab. 9.

Tab. 9: Intervalový odhad (N)

Mean	0,0763
Standard Error	0,018553
Median	0,05811
Mode	
Standard Deviation	0,058668
Sample Variance	0,003442
Kurtosis	0,929912
Skewness	1,185285
Range	0,188834
Minimum	0,012446
Maximum	0,201279
Sum	0,763004
Count	10
Confidence Level (95,0 %)	0,041969
interval	3,43% 11,83%

3.3.3. Časová konstanta

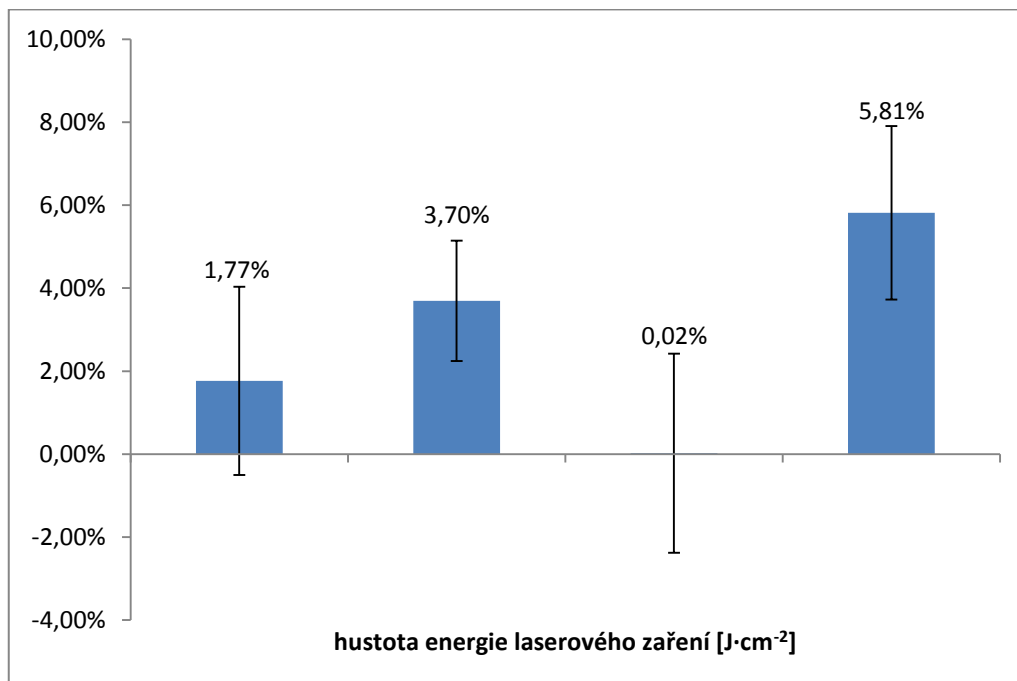
Vyhodnocení získaných hodnot časové konstanty znázorňuje tab. 10 a 11 a graf 3.

Tab. 10: Průměrné hodnoty τ při $E_0 - E_{90}$ a změny τ při $E_{30} - E_{90}$ oproti hodnotám τ při E_0

		E_0	E_{30}	E_{50}	E_{70}	E_{90}
1	τ [s]	2,22E-03	2,05E-03	2,47E-03	1,98E-03	2,21E-03
	změna oproti τ při E_0		-1,66E-04	2,49E-04	-2,42E-04	-9,25E-06
	změna v % oproti τ při E_0		-7,48%	11,20%	-10,91%	-0,42%
2	τ [s]	1,70E-03	1,88E-03	1,79E-03	1,59E-03	1,57E-03
	změna oproti τ při E_0		1,74E-04	8,90E-05	-1,16E-04	-1,26E-04
	změna v % oproti τ při E_0		10,23%	5,23%	-6,81%	-7,43%
3	τ [s]	1,09E-03	1,21E-03	1,18E-03	1,19E-03	1,16E-03
	změna oproti τ při E_0		1,18E-04	8,76E-05	9,84E-05	6,68E-05
	změna v % oproti τ při E_0		10,83%	8,03%	9,03%	6,12%
4	τ [s]	1,23E-03	1,25E-03	1,20E-03	1,13E-03	1,27E-03
	změna oproti τ při E_0		1,80E-05	-3,80E-05	-1,04E-04	3,49E-05
	změna v % oproti τ při E_0		1,46%	-3,08%	-8,41%	2,83%
5	τ [s]	6,93E-04	6,48E-04	6,80E-04	6,65E-04	7,92E-04
	změna oproti τ při E_0		-4,43E-05	-1,29E-05	-2,76E-05	9,92E-05
	změna v % oproti τ při E_0		-6,40%	-1,86%	-3,99%	14,33%
6	τ [s]	1,39E-03	1,40E-03	1,40E-03	1,40E-03	1,43E-03
	změna oproti τ při E_0		9,06E-06	1,84E-05	1,59E-05	3,90E-05
	změna v % oproti τ při E_0		0,65%	1,33%	1,15%	2,81%
7	τ [s]	1,36E-03	1,31E-03	1,36E-03	1,41E-03	1,45E-03
	změna oproti τ při E_0		-4,93E-05	-2,65E-07	5,34E-05	9,20E-05
	změna v % oproti τ při E_0		-3,63%	-0,02%	3,93%	6,76%
8	τ [s]	1,87E-03	2,04E-03	2,01E-03	1,96E-03	2,11E-03
	změna oproti τ při E_0		1,73E-04	1,39E-04	8,54E-05	2,41E-04
	změna v % oproti τ při E_0		9,24%	7,44%	4,57%	12,90%
9	τ [s]	5,75E-04	6,17E-04	6,00E-04	6,45E-04	6,28E-04
	změna oproti τ při E_0		4,21E-05	2,50E-05	6,97E-05	5,28E-05
	změna v % oproti τ při E_0		7,32%	4,34%	12,12%	9,18%
10	τ [s]	7,53E-04	7,19E-04	7,86E-04	7,50E-04	8,36E-04
	změna oproti τ při E_0		-3,43E-05	3,27E-05	-3,37E-06	8,32E-05
	změna v % oproti τ při E_0		-4,55%	4,35%	-0,45%	11,05%

Tab. 11: Procentuální změny τ při $E_{30} - E_{90}$ a průměr těchto změn oproti srovnávacímu měření při E_0

	změny τ po aplikaci hustoty E_{30-90}				průměr z $E_{30} - E_{90}$
	E_{30}	E_{50}	E_{70}	E_{90}	
1	-7,48%	11,20%	-10,91%	-0,42%	-1,90%
2	10,23%	5,23%	-6,81%	-7,43%	0,30%
3	10,83%	8,03%	9,03%	6,12%	8,50%
4	1,46%	-3,08%	-8,41%	2,83%	-1,80%
5	-6,40%	-1,86%	-3,99%	14,33%	0,52%
6	0,65%	1,33%	1,15%	2,81%	1,49%
7	-3,63%	-0,02%	3,93%	6,76%	1,76%
8	9,24%	7,44%	4,57%	12,90%	8,53%
9	7,32%	4,34%	12,12%	9,18%	8,24%
10	-4,55%	4,35%	-0,45%	11,05%	2,60%
průměrná změna oproti E_0	1,77%	3,70%	0,02%	5,81%	2,82%
s.e.	2,27%	1,45%	2,40%	2,09%	1,30%



Graf 3: Průměrné procentuální změny τ při $E_{30} - E_{90}$ oproti srovnávacímu měření při E_0

3.3.3.1. Analýza výsledků časové konstanty

Metodou ANOVA bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi průměrnými změnami časové konstanty po aplikaci laserového záření při různých hustotách energie, P-value je větší než hladina významnosti 0,05, viz tab. 12.

Tab. 12: Tabulka analýzy rozptylu (τ)

Anova: Single Factor

SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
τ (E_{30})	10	0,176689	0,017669	0,005141		
τ (E_{50})	10	0,369529	0,036953	0,002094		
τ (E_{70})	10	0,002319	0,000232	0,005757		
τ (E_{90})	10	0,581333	0,058133	0,004384		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,018657	3	0,006219	1,431693	0,249543	2,866266
Within Groups	0,156379	36	0,004344			
Total	0,175036	39				

Celková relativní změna časové konstanty po ozáření laserovým zářením o hustotě energie 30, 50, 70 nebo 90 J·cm⁻² oproti srovnávacímu měření leží v intervalu -0,12 % až 5,77 % se spolehlivostí 95 %, viz tab. 13.

Tab. 13: Intervalový odhad (τ)

Mean	0,028246747
Standard Error	0,013017641
Median	0,016235949
Mode	
Standard Deviation	0,041165397
Sample Variance	0,00169459
Kurtosis	-1,305984138
Skewness	0,580654409
Range	0,104352083
Minimum	-0,019006458
Maximum	0,085345625
Sum	0,282467465
Count	10
Confidence Level (95,0 %)	0,029447951
interval	-0,12% 5,77%

4. DISKUZE

Srovnávat získané výsledky s jinými podobně zaměřenými pracemi je složité, neboť takových prací existuje jen velmi málo. Dalším důvodem proč nelze srovnat naše výsledky s jinými experimenty je ten, že efekt laserového záření závisí mimo jiné i na vlnové délce použitého záření, v pokusech by tedy musely být voleny podobné vlnové délky. Dále se liší i metody hodnocení mechanických vlastností kůže, většina metod neumožňuje měřit viskózní složku chování. Liší se i testovaný materiál, v jiné práci byly např. použity vzorky vepřové kůže [57].

V našem experimentu bylo provedeno *in vivo* měření impulsních charakteristik ke stanovení parametrů lidské kůže (Hookeova koeficientu, Newtonova koeficientu a časové konstanty). Sledovali jsme vliv laserového záření na tyto parametry, aplikovaná hustota energie laserového záření byla 30, 50, 70 a 90 J·cm⁻².

Zjistili jsme, že hodnoty H a N po aplikaci laserového záření s vlnovou délkou 830 nm při výkonu 188 mW rostou, resp. zjistili jsme, že nastaly statisticky významné změny H a N po aplikaci záření oproti hodnotě H a N bez aplikace záření: celková relativní změna H po aplikaci laserového záření o hustotě energie 30, 50, 70 nebo 90 J·cm⁻² oproti srovnávacímu měření leží v intervalu 0,34 % – 9,80 % se spolehlivostí 95 %. Pro N je tento interval 3,43 % – 11,83 %. Je třeba zmínit, že k nárůstu H a N došlo u většiny dobrovolníků, ale výjimečně došlo i k jejich snížení. Vliv laserového záření na tyto parametry je tedy individuální.

O hodnotách τ nemůžeme konstatovat, že rostou. Naměřené hodnoty naznačují tendenci růstu τ po ozáření, ale naše výsledky nejsou statisticky významné. Celková relativní změna τ leží v intervalu -0,12% až 5,77% se spolehlivostí 95%.

Analýzou rozptylu u jednotlivých parametrů (H, N, τ) nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi průměrnými změnami sledovaných parametrů po aplikaci laserového záření při různých hustotách energie.

Laserové záření s vlnovou délkou 830 nm jakožto infračervené záření proniká hluboko do kůže a klinický účinek vykazuje až do hloubky přibližně 7 cm. Možnosti, jakým laserové záření může ovlivňovat mechanické vlastnosti lidské kůže, jsou např. vznik tepla, stimulační efekt působící na syntézu proteinů (kolagenu) nebo ovlivnění různých enzymových systémů [31].

V provedeném experimentu byl sledován bezprostřední vliv laserového záření na mechanické vlastnosti lidské kůže. Dále by bylo zajímavé sledovat i dlouhodobý vliv laserového záření na mechanické parametry kůže, tj. měřit tyto parametry až určitou dobu po ozáření laserem, aby se mohly projevit veškeré biochemické účinky laserového záření.

5. ZÁVĚR

Tato práce je součástí výzkumu vlivu vnějších faktorů na mechanické vlastnosti biologických materiálů, kterým se zabývá katedra biofyziky a fyzikální chemie Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové. Konkrétně tato práce sleduje změny mechanických charakteristik lidské kůže po aplikaci terapeutického laseru.

V experimentu jsme zjistili, že bezprostředně po aplikaci terapeutického laserového záření o vlnové délce 830 nm, výkonu 188 mW a při hustotě energie laserového záření od 30 do 90 J·cm⁻², došlo k růstu hodnot Hookeova a Newtonova koeficientu. Celková relativní změna Hookeova koeficientu se nacházela v intervalu 0,34 % – 9,80 %, celková relativní změna Newtonova koeficientu se nacházela v intervalu 3,43 % – 11,83 %. Celková relativní změna časové konstanty ležela v intervalu -0,12 % – 5,77 %, a proto nemůže tvrdit, že časová konstanta po aplikaci laserového záření s výše uvedenými parametry rostla. Dále bylo zjištěno, že se změny Hookeova a Newtonova koeficientu a časové konstanty statisticky významně neliší v závislosti na aplikované hustotě laserového záření.

6. SEZNAM LITERATURY

- [1] **HAJNIŠ, K.** *Anatomie člověka pro biology II.* Jinočany : H&H, 1993, s. 58-71.
- [2] **DAUBER, W.** *Feneisův obrazový slovník anatomie.* 3. vyd. Praha : Grada, 2007, s. 470. ISBN 978-80-247-1456-1.
- [3] **ČIHÁK, R.** *Anatomie 3.* 2. vyd. Praha : Grada, 2002, s. 563-571, 212. ISBN 80-716-9140-2.
- [4] **NOVOTNÝ, F. et al.** *Obecná dermatologie.* 1. vyd. Praha : Avicenum, 1989, s. 17-21. ISBN 08-026-89.
- [5] upraveno z: <http://www.unnicares.com/blog/wp-content/uploads/2012/04/epidermis.jpg> [cit.2012-09-21].
- [6] **TROJAN, S. et al.** *Lékařská fyziologie.* 4. přeprac. a dopl. vyd. Praha : Grada, 2003, s. 551, 418-422. ISBN 80-247-0512-5.
- [7] **LEDVINA, M., STOKLASOVÁ, A., CERMAN, J.** *Biochemie pro studující medicíny.* Praha : Nakladatelství Karolinum, 2005, s. 149-152, 246, 484, 502-516, 540, 22. ISBN 80-246-0851-0.
- [8] **MAGIN, T. M. et al.** Structural and regulatory functions of keratins. *Experimental Cell Research.* 2007, roč. 313, č. 10, s. 2021-2032. ISSN 00144827.
- [9] upraveno z: <http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/collagen.gif> [cit.2012-11-25].
- [10] upraveno z: <http://bjr.birjournals.org/content/76/911/777/F1.large.jpg> [cit.2012-11-25].
- [11] **ROKYTA, R. et al.** *Fyziologie pro bakalářská studia v medicíně, ošetrovatelství, přírodovědných, pedagogických a tělovýchovných oborech.* 2. přeprac. vyd. Praha : ISV nakladatelství, 2008, s. 185-188, 337-339, 244, 80. ISBN 80-56642-47-X.
- [12] **KITTNAR, O. et al.** *Lékařská fyziologie.* 1. vyd. Praha : Grada, 2011, s. 476. ISBN 978-80-247-3068-4.
- [13] **SILVER, F.H., FREEMAN, J.W., DEVORE, D.** Viscoelastic properties of human skin and processed dermis. *Skin research and technology.* 2001, roč. 7, č. 1, s. 18-23, ISSN 0909752x.
- [14] **ĎOUBAL, S.** Reologické modely biologických materiálů - identifikace a výpočet parametrů. *Lékař a technika.* 2000, roč.31, č. 2, s. 50-54, ISSN 0301-5491.

- [15] **ĎOUBAL, S., KLEMERA, P.** Aparatura pro měření mechanických parametrů viskoelastických těles. *Plzeňský lékařský sborník*. 2001, č. 67, s. 41-47, ISSN 0551-1038.
- [16] **ĎOUBAL, S., HORÁČKOVÁ, I.** *Vybrané kapitoly z biofyziky pro studijní program zdravotnická bioanalytika*. str. 94-96. Katedra biofyziky a fyzikální chemie, UK, Farmaceutická fakulta v Hradci králové : autor neznámý.
- [17] **ĎOUBAL, S. et al.** *Mechanické chování viskoelastických těles*. 1. vyd. Praha : Karolinum, 2011, s. 11, 26-45, 73, 81, 99. ISBN 978-80-246-2035-0.
- [18] **DELALLEAU, A. et al.** A nonlinear elastic behavior to identify the mechanical parameters of human skin in vivo. *Skin Research and Technology*. 2008, roč. 14, č. 2, s. 152-164. ISSN 1600-0846.
- [19] **KHATYR, F. et al.** Measurement of the mechanical properties of the skin using the suction test. *Skin research and Technology*. 2006, roč. 12, č. 1, str. 24-31. ISSN 1600-0846.
- [20] **FUJIMURA, T. et al.** Development of a novel method to measure the elastic properties of skin including subcutaneous tissue: New age-related parameters and scope of application. *Skin Research and Technology*. 2008, roč. 14, č. 4, s. 504-511. ISSN 1600-0846.
- [21] **PAILLER-MATTEI, C., S. BEC a H. ZAHOUANI.** In vivo measurements of the elastic mechanical properties of human skin by indentation tests. *Medical Engineering*. 2008, roč. 30, č. 5, s. 599-606. ISSN 13504533.
- [22] **VEXLER, A., POLYANSKY, I., GORODETSKY, R.** Evaluation of skin viscoelasticity and anisotropy by measurement of speed of shear wave propagation with viscoelasticity skin analyzer. *The Journal Of Investigative Dermatology*. 1999, roč. 113, č. 5, str. 732-739. ISSN 0022-202X.
- [23] **Kolektiv autorů, editoři: NAVRÁTIL, L., ROSINA, J.** *Lékařská biofyzika*. 1. vyd. Praha : Manus, 2001, s. 140 - 141, 146 - 153. ISBN 80-902318-5-3.
- [24] **TANZI, E. L., LUPTON, J. R, ALSTER, T. S.** Lasers in dermatology: Four decades of progress. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2003, roč. 49, č. 1, s 1-34. ISSN 01909622.
- [25] **ENGST, P., HORÁK, M.** *Aplikace laserů*. 1. vyd. Praha : SNTL, 1989, s. 12-14, 44-45, 71. ISBN 04-006-89.
- [26] **VRBOVÁ, M., JELÍNKOVÁ, H., GAVRILOV, P.** *Úvod do laserové techniky*. 1. vyd. Praha : Vydaatelství ČVUT, 1989, s. 60, 40, 90, 119-128, 144-156. ISBN 80-01-01108-9.
- [27] upraveno z: <http://www.paladix.cz/img.php?ido=10094> [cit.2013-01-03].

- [28] **THOMAS, G., ISAAC, R.** Basic principles of lasers. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 2011, roč. 12, č. 12, s. 574-577. ISSN 14720299.
- [29] **WILLIAMS, D.** Laser basics. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 2008, roč. 9, č. 12, s. 550-552. ISSN 14720299.
- [30] **NAVRÁTIL, L., KUNA, P. et al.** *Neinvazivní laseroterapie*. Praha : Manus, 1997, s. 15. ISBN 80-902318-1-0.
- [31] **Kolektiv autorů, editor NAVRÁTIL, L.** *Moderní fototerapie a laseroterapie*. 1. vyd. Praha : Manus, 2000, s. 183, 56, 33-35, 54, 60, 82-86, 10-14, 94-163, 191-208. 80-902318-3-7.
- [32] **POSTEN, W. et al.** Low-Level Laser Therapy for Wound Healing: Mechanism and Efficacy. *Dermatologic Surgery*. 2005, roč. 31, č. 3, s. 334-340. ISSN 10760512.
- [33] **NIEMZ, M. H.**. *Lasser-tissue interaction: fundamentals and applications*. Berlin : Springer, 2004, s. 10. ISBN 35-404-0553-4.
- [34] **CARROLL L., HUMPHREYS T. R.** LASER-tissue interactions. *Clinics in Dermatology*. 2006, roč. 24, č. 1, s. 2-7. ISSN 0738081X.
- [35] **TSUCHIYA, K. et al.** Laser irradiation abates neuronal responses to nociceptive stimulation of rat-paw skin. *Brain Research Bulletin*. 1994, roč. 34, č. 4. s. 369–374, ISSN 0361-9230 (převzato z: CHOW, R. T. et al., 2009).
- [36] **LEAL JUNIOR, E. C. P. et al.** Effect of 830 nm low-level laser therapy in exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Lasers in Medical Science*. 2009, roč. 24, č. 3, s. 425-431. ISSN 0268-8921 (převzato z: CHOW, R. T. et al. 2009).
- [37] **CHOW, R. T. et al.** Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *The Lancet*. 2009, roč. 374, č. 9705, s. 1897-1908. ISSN 01406736.
- [38] **SILBERNAGL, S., LANG, F.** *Atlas patofyziologie člověka*. 1. české vyd. Praha : Grada, 2001, s. 48. ISBN 80-7169-968-3.
- [39] **SAKURAI, Y., YAMAGUCHI, M., ABIKO, Y.** Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *European Journal of Oral Sciences*. 2000. roč. 108. č. 1, s. 29-34. ISSN 09098836 (převzato z BJORDAL, J. M., et al., 2010).
- [40] **BARBERIS, G. et al.** In Vitro Synthesis of Prostaglandin E2 by Synovial Tissue after Helium–Neon Laser Radiation in Rheumatoid Arthritis. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. 1996, roč. 14, č. 4, s. 175-177, ISSN 15578550 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).
- [41] **SHIMIZU, N. et al.** Inhibition of Prostaglandin E2 and Interleukin 1- β Production by Low-power Laser Irradiation in Stretched Human Periodontal Ligament Cells.

Journal of Dental Research. 1995, roč. 74, č. 7, s. 1382-1388. ISSN 00220345
(převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[42] **AIMBIRE, F. et al.** Low-laser Therapy Induces Dose-Dependent Reduction of TNF α Levels in Acute Inflammation. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2006, roč. 24, č. 4, s.33-37, ISSN 15578550 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[43] **CAMPANA, V. et al.** He-Ne Laser on Microcrystalline Arthropathies. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. 2003, roč. 21, č. 2, s. 99-103, ISSN 10445471 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[44] **AIMBIRE, F. et al.** Effect of LLLT Ga–Al–As (685 nm) on LPS-induced inflammation of the airway and lung in the rat. *Lasers in Medical Science*. 2005, roč. 20, č. 1, s. 11-20, ISSN 1435604X (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[45] **BOSCHI, E. S. et al.** Anti-Inflammatory effects of low-level laser therapy (660 nm) in the early phase in carrageenan-induced pleurisy in rat. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2008, roč. 40, č. 7, s. 500-508, ISSN 0196809 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[46] **BARBOSA, A. M. et al.** Effect of low-level laser therapy in the inflammatory response induced by Bothrops jararacussu snake venom. *Toxicon*. 2008, roč. 51, č. 7, s. 1236-1244, ISSN 00410101 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[47] **BARBOSA, A. M.** Effect of Low-Level Laser Therapy in the Myonecrosis Induced by Bothrops jararacussu Snake Venom. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2009, roč. 27, č. 4, s. 594-597, ISSN 15578550 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[48] **FERREIRA, D. M. et al.** Analgesic Effect of He-Ne (632.8 nm) Low-Level Laser Therapy on Acute Inflammatory Pain. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2005, roč. 23, č. 2, s. 177-181, ISSN 15578550 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[49] **DE MORAIS, R. et al.** Anti-Inflammatory Effect of Low-Level Laser and Light-Emitting Diode in Zymosan-Induced Arthritis. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2010, roč. 28, č. 2, s. 227-232, ISSN 15495418 (převzato z: BJORDAL, J. M., et al., 2010).

[50] **BJORDAL, J. M., et al.** The anti-inflammatory mechanism of low level laser therapy and its relevance for clinical use in physiotherapy. *Physical Therapy Reviews*. 2010, roč. 15, č. 4, s. 286-293. ISSN 10833196.

[51] <http://lekarske.slovníky.cz/pojem/hela> [cit.2013-01-29].

[52] <http://lekarske.slovníky.cz/pojem/atp> [cit.2013-01-29].

[53] <http://lekarske.slovníky.cz/lexikon-pojem/myogeloza-1> [cit.2013-02-26].

[54] **KUCHYNKA, P. a kol.** *Oční lékařství*. 1. vyd. Praha : Grada, 2007, s. 304, 597. ISBN 978-802-4711-638.

[55] upraveno podle: **ČERMÁKOVÁ, V.** Měření mechanických vlastností biologických materiálů in-vivo. Diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2012.

[56] **KUCHAŘOVÁ, M. et al.** Viscoelasticity of Biological Materials - Measurement and Practical Impact on Biomedicine. *Physiological Research*. 2007, roč. 56, dop. 1, s. 33-37, ISSN 0862-8408.

[57] **HUANG, Z. et al.** Biomechanical properties and modeling of skin with laser influence. *Jurnal of Shanghai Jiaotong University (Science)*. 2011, roč. 16, č. 5, s. 610-613. ISSN 1007-1172.