УДК 616-006.81-089.849.19
DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.12–15

Экспериментальное обоснование параметров лазерного излучения в хирургии новообразований пальпебральной и эпибульбарной локализации

И.Н. Дубайси[1], А.Н. Куликов[2], Д.С. Мальцев[2]

[1] *Клиника CORIS Assistance (194044, г. Санкт-Петербург, ул. Чугунная, 46),*
[2] *Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6)*

Глубина и диаметр зоны деструкции при воздействии лазерного излучения с длиной волны 0,81 и 1,06 мкм мощностью 1, 1,5 и 3 Вт при экспозиции 45 и 60 с оценены при патоморфологическом исследовании на моделях пигментированного, слабопигментированного и беспигментного новообразований. С увеличением длины волны лазерного излучения его поглощение в тканях увеличивалось, а зависимость степени поглощения от пигментации снижалась.

Ключевые слова: *лазерная коагуляция, инфракрасное излучение, меланома, пигментация.*

Новообразования (НО) пальпебральной и эпибульбарной локализации имеют значительный удельный вес в структуре глазных заболеваний, нередко приводят к потере трудоспособности, а в ряде случаев представляют реальную угрозу жизни пациента [5]. Среди методов лечения таких состояний предпочтение отдается лазерному излучению [6]. В ряде работ доказана эффективность его инфракрасного диапазона в лечении неопухолевых заболеваний и НО вспомогательных отделов и переднего сегмента глаза [2–4]. Серьезно ограничивает возможности метода относительно малая проникающая способность волны данной длины, и поэтому показанием к применению инфракрасного лазера здесь служат преимущественно плоские (до 1 мм толщиной) НО.

В последние годы значительно повысился интерес к применению лазеров ближнего инфракрасного диапазона, обладающих достаточно высокой проникающей способностью для лечения патологии не только переднего, но и заднего сегментов глаза. Появление новых лазеров, генерирующих излучение в этом диапазоне, повысило интерес к ним при лечении не только плоских, но и объемных образований век. Однако остаются неизученными такие важные характеристики взаимодействия лазерного излучения с тканями, как глубина и объем воздействия, температура в месте воздействия в зависимости от степени пигментации ткани, длительности, мощности и длины волны.

Целью данной работы стал экспериментальный анализ влияния энергетических параметров лазерного излучения с длинами волн 0,81 и 1,06 мкм и степени пигментации НО на глубину и объем деструкции ткани.

Материал и методы

Для моделирования пигментированного НО использовали ткань сосудистой оболочки глаза свиньи, залитую в желатин. После энуклеации глазное яблоко вскрывали по лимбу, затем удаляли стекловидное тело и сетчатку. Сосудистую оболочку с пигментным эпителием извлекали из глазного бокала и измельчали до фрагментов размером 1–2 мм. Материал измельченной сосудистой оболочки, полученный из пяти глаз, смешивали с раствором желатина (3 мл 30 % раствора) до однородной массы, которую заливали в формы для получения кусочков размером 15×15 мм.

Для валидации модели пигментированного НО в качестве стандарта пользовались тканью пигментированных опухолей сосудистой оболочки человека (меланом). Опухоли получали из энуклеированных глаз семи пациентов с меланомой хороидеи, отделяя их от сопутствующих тканей, и использовали не позднее двух часов с момента энуклеации без дополнительной химической фиксации. Средний размер меланом в наибольшем измерении составил 11,5±4,1 мм. До начала эксперимента фрагменты опухолей хранили при температуре 4 °С в сбалансированном солевом растворе.

НО кожи век – папилломы и дерматофибромы, – иссеченные скальпелем в пределах здоровых тканей, применяли для моделирования слабопигментированных и беспигментных опухолей, соответственно, не позднее 4 часов с момента удаления без дополнительной химической фиксации. До начала эксперимента их фрагменты также хранили при температуре 4 °С в сбалансированном солевом растворе.

Источником излучения служил лазер АЛОД-01 с длинами волн 0,81 и 1,06 мкм и диаметром светового пятна 0,6 мм. Доставка излучения осуществлялась с помощью гибкого световода. Работу выполняли при строгом соблюдении и метрологическом контроле параметров воздействия (плотность потока мощности, диаметр пятна, продолжительности воздействия, расстояние от конца световода до мишени). Световод, закрепленный в фиксаторе, устанавливался на расстоянии 3 мм от поверхности мишени, перпендикулярно к ней.

Эксперимент выполняли в 15 повторениях для каждой группы (модель и меланома) и длины волны

Мальцев Дмитрий Сергеевич – врач клиники офтальмологии ВМедА; e-mail: glaz.med@yandex.ru

лазерного излучения (0,81 и 1,06 мкм). Для исследования влияния энергетических параметров лазерного излучения с различными длинами волн от степени пигментации тканей эксперимент также выполняли в 15 повторениях для каждой группы (пигментированного, слабопигментированного и беспигментного НО), с разной длительностью воздействия (45 и 60 с) и мощностью излучения (1, 1,5 и 3 Вт). Динамику температуры ткани в месте воздействия изучали в пяти повторениях для каждой группы (пигментированного, слабопигментированного и беспигментного НО).

Глубину и диаметр зоны деструкции оценивали в ходе патоморфологического исследования. После экспериментального воздействия образцы фиксировали в течение 24 часов в нейтральном забуференном формалине. После заливки в парафин получали гистологические срезы толщиной 6–8 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Морфометрию проводили в ходе световой микроскопии.

Все полученные данные представлены как средние арифметические и их стандартные отклонения. Для оценки статистической значимости различий использовали однофакторный дисперсионный анализ (порог статистической значимости – $p = 0,05$).

Результаты исследования

Не было выявлено статистически значимых различий по глубине деструкции ткани в экспериментальной модели пигментированного НО и в ткани увеальной меланомы (контроль). При длине волны 0,81 мкм глубина воронки, создаваемой лазерным излучением, в экспериментальной модели и контроле составила 4,4±0,2 и 4,1±0,1 мм, при длине волны 1,06 мкм – 6,1±0,3 и 5,9±0,2 мм, соответственно.

Тенденция к увеличению глубины деструкции ткани в моделях слабопигментированного и беспигментного НО носила сходный характер и продемонстрировала статистически значимые отличия от таковой в моделях пигментированных НО при всех мощностях излучения с длиной волны 0,81 мкм. При увеличении экспозиции изменение глубины деструкции ткани носило линейный характер, по крайней мере в течение 60 с (рис. 1).

Тенденция к увеличению глубины деструкции ткани в моделях слабопигментированного и беспигментного новообразований имела сходный характер и статистически значимо отличалась от таковой в моделях пигментированных опухолей при всех исследованных мощностях излучения с длиной волны 1,06 мкм. По мере увеличения мощности и длительности воздействия различия между слабопигментированным и беспигментными НО полностью нивелировались: глубина деструкции ткани 5,9±0,1 и 5,2±0,1 мм, соответственно ($p>0,05$). Максимальные различия в глубине деструкции здесь наблюдались при минимальных экспозиции и мощности лазерного излучения (рис. 2).

Тенденция к увеличению диаметра зоны деструкции имела сходный характер и статистически значимо отличалась от таковой в моделях пигментированных НО при всех исследованных мощностях излучения

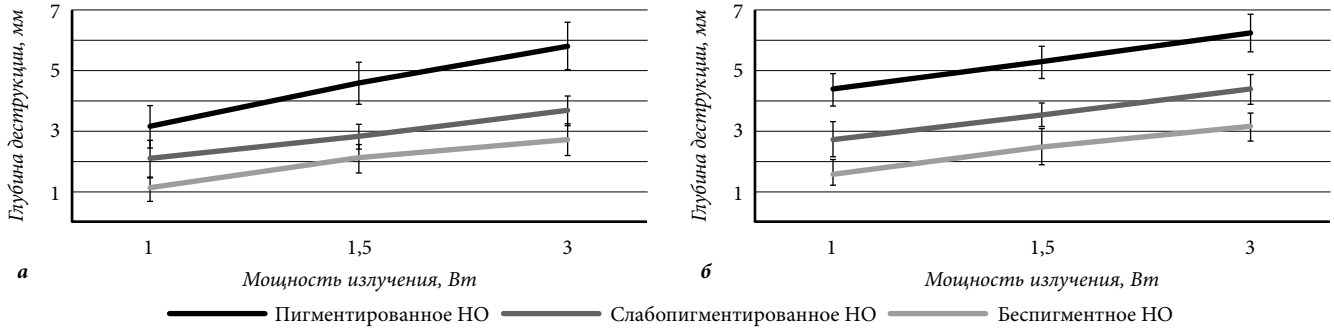


Рис. 1. Зависимость глубины лазерного воздействия в различных моделях новообразования от мощности лазерного излучения с длиной волны 0,81 мкм при экспозиции 45 (а) и 60 с (б).

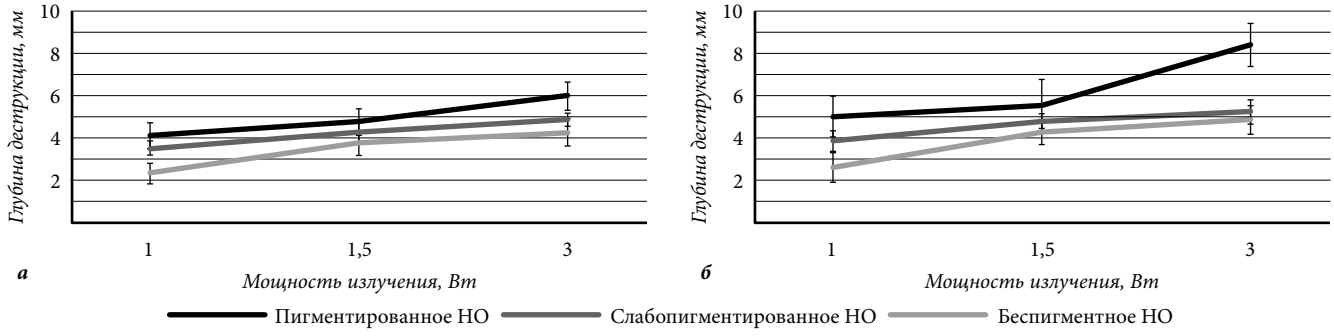


Рис. 2. Зависимость глубины лазерного воздействия в различных моделях новообразования от мощности лазерного излучения с длиной волны 1,06 мкм при экспозиции 45 (а) и 60 с (б).

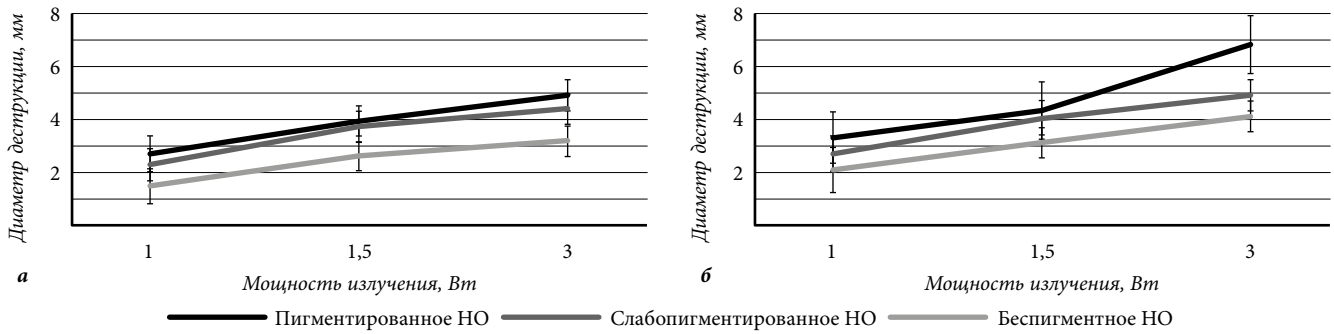


Рис. 3. Зависимость диаметра зоны лазерного воздействия в различных моделях новообразования от мощности лазерного излучения с диной волны 0,81 мкм при экспозиции 45 (а) и 60 с (б).

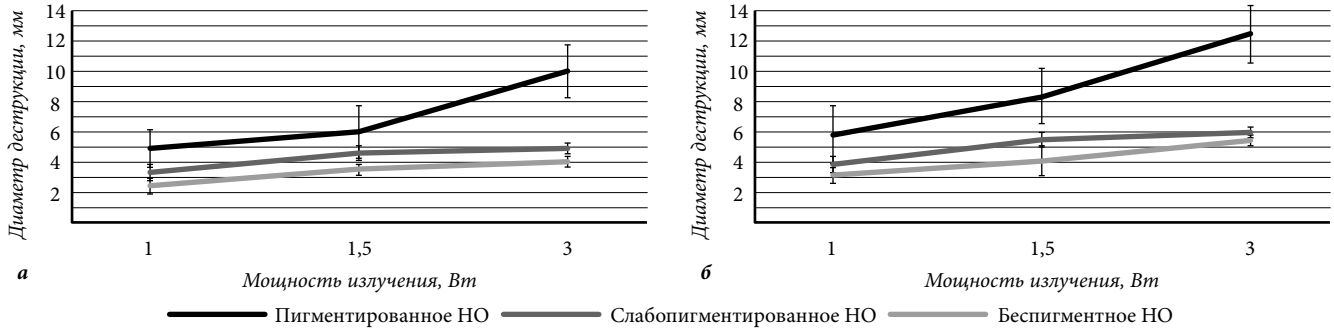


Рис. 4. Зависимость диаметра зоны лазерного воздействия в различных моделях новообразования от мощности лазерного излучения с длиной волны 1,06 мкм при экспозиции 45 (а) и 60 с (б).

с длиной волны 0,81 мкм. При увеличении экспозиции расширение зоны деструкции носило линейный характер, по крайней мере в течение 60 с (рис. 3).

Увеличение диаметра зоны деструкции ткани в моделях слабопигментированного и беспигментного НО имело сходный характер и статистически значимо отличалось от такового в моделях пигментированных опухолей при всех мощностях излучения с длиной волны 1,06 мкм. С усилением мощности и длительности воздействия различия между слабопигментированным и беспигментными НО полностью нивелировались: диаметр зоны деструкции равнялся 5,2±0,1 и 4,9±0,1 мм, соответственно ($p>0,05$). Максимальные различия в размерах зоны деструкции ткани в моделях слабопигментированных и беспигментных моделей наблюдались при минимальных экспозиции и мощности излучения (рис. 4).

Динамика изменения температуры ткани в месте воздействия в моделях слабопигментированного и беспигментного НО носила сходный характер без статистически значимых различий при экспозиции от 26 до 84 с. Значимые различия в температуре тканей пигментированного НО по сравнению со слабопигментированными и беспигментными появлялись позднее 26 с. При максимальной экспозиции температура ткани в месте воздействия лазерного излучения в модели пигментированного НО скачкообразно повышалась и достигала 167,1±5,2 °С, статистически значимо превосходя максимальную температуру в моделях слабопигментированного и беспигментного НО: 153,9±4,8 и 142,8±9,1 °С, соответственно.

Обсуждение полученных данных

Применение лазерного излучения при лечении поверхностных НО кожи сводится к трем методическим приемам: 1) разрушение НО умеренно расфокусированным лучом (коагуляция, испарение, карбонизация); 2) бескровное иссечение опухолей фокусированным лучом лазера (эффект абляции); 3) комбинация двух первых приемов, в том числе с использованием фотодинамического эффекта. В данной работе исследованы закономерности взаимодействия лазерного излучения с моделями опухолей различной степени пигментации для достижения эффектов первой группы.

Несмотря на многообразие явлений, наблюдаемых при действии лазерного излучения на биологическую ткань, конечный эффект облучения (повреждение и гибель опухолевых клеток) удовлетворительно описывается двумя доминирующими факторами – тепловым и кинетическим. Пространственно-временные характеристики теплового источника, действующего в опухоли при облучении, зависят как от спектральных оптических характеристик облучаемой среды (ее отражательной, поглощающей способностей и рассеивающих свойств), так и от длины волны и характера генерации лазерной установки. Если лазер генерирует излучение в непрерывном режиме, то воздействие на опухоль определяется главным образом тепловым компонентом. Импульсный режим генерации по мере уменьшения длительности импульса сопровождается увеличением вклада кинетического фактора, проявляющегося в виде механических повреждений вследствие

больших градиентов давления, обусловленных фазовыми переходами (испарением и фотоабляцией) [1].

Мы использовали статические показатели характера генерации и средств доставки излучения. Таким образом, результат взаимодействия излучения с тканью (степень ее деструкции) определялся только волновыми и энергетическими (мощность и время воздействия) параметрами, а также характеристиками самой ткани (в данной работе – только степенью пигментации).

В связи с тем, что при терапии клинически доброкачественных опухолей и опухолеподобных состояний пальпебральной и эпибульбарной локализации всегда сохраняется вероятность их злокачественности, подтверждаемой при патоморфологическом исследовании, к любым методам хирургического лечения предъявляется требование абластичности и «избыточности» [5]. Хирург при использовании лазерного метода должен быть уверен в том, что воздействие излучения распространилось за пределы патологических тканей, что зависит от указанных выше параметров: длины волны, мощности и времени воздействия, а также степени пигментации ткани.

Все образования пальпебральной и эпибульбарной локализации можно разделить на три группы: пигментированные, слабопигментированные и беспигментные. Пигментированные НО данной локализации встречаются относительно редко, поэтому для набора, необходимого для адекватной статистической оценки материала, и потребовалась экспериментальная модель. Модель пигментированного НО, предложенная в данной работе, в высокой степени соответствует меланоме в отношении взаимодействия с лазерным излучением с длинами волн 0,81 и 1,06 мкм. Таким образом, равноэнергетическое воздействие на поверхность модели и пигментированного НО проявляется их сходной термодеструкцией. Данная модель может использоваться для изучения взаимодействия пигментированных тканей с лазерным излучением различных волновых и энергетических характеристик.

Исходя из описанной зависимости температуры тканей НО с различной степенью пигментации в месте воздействия от его длительности, биологический эффект термотерапии может быть достигнут при лазерном излучении (с длиной волны 0,81 мкм при мощности 3 Вт в непрерывном режиме) продолжительностью от 20 до 40 с. При этом температура в зоне воздействия составит от 40 до 60 °С, что достаточно для девитализации клеток опухоли. Кроме того, данная работа показала, что глубина деструкции слабопигментированной и пигментированной ткани при воздействии лазерного излучения с длиной волны 0,81 мкм в непрерывном режиме составляет не более 4 и 3 мм, а глубина деструкции этих тканей при длине волны 1,06 мкм – не более 8 и 5 мм, соответственно. Закономерности взаимодействия лазерного излучения с разными длинами волн в моделях слабопигментированного и беспигментного НО носят сходный характер, что позволяет пренебречь имеющимися между ними различиями при выборе подхода к лечению особенно при лазерном излучении с длиной волны 1,06 мкм.

В целом объем ткани, подверженный лазерному воздействию, зависит от энергетических и волновых параметров излучения (так же как и глубина воздействия), и является производным от глубины и диаметра зоны лазерного воздействия. Таким образом при использовании излучения с длиной волны 1,06 мкм объем вовлеченных тканей увеличивается.

Преимущество длины волны 1,06 мкм (в сравнении с 0,81 мкм) связано с оптическими свойствами тканей, позволяющими осуществлять более объемный нагрев и коагуляцию. С удлинением волны в пределах ближнего инфракрасного диапазона поглощение излучения увеличивается (согласно спектру поглощения воды), а роль пигментации снижается, и это может быть использовано при выборе параметров излучения для лечения опухолей глаза отдельных локализаций.

Литература

1. Балашевич Л.И., Березин Ю.Д., Бойко Э.В., Гацу А.Ф. Лазерные технологии в клинической офтальмологии: учебное пособие. СПб.: СПбГМУ, 1998. 30 с.
2. Бойко Э.В. Лазеры в офтальмохирургии: теоретические и практические основы. СПб.: ВМедА, 2003. 39 с.
3. Волков В.В., Балашевич Л.И., Гацу А.Ф. [и др.]. Лазеры с различными параметрами излучения в офтальмоонкологии // Вестн. офтальмологии. 1987. № 4. С. 33–37.
4. Гацу А.Г. Инфракрасные лазеры (1–3 мкм) в хирургии наружных отделов глаза (клинико-функциональное исследование): автореф. дис. … д-ра мед. наук. СПб., 1995. 34 с.
5. Kersten R.C., Ewing-Chow D., Kulwin D.R., Gallon M. Accuracy of clinical diagnosis of cutaneous eyelid lesions // Ophthalmology. 1997. Vol. 104, No. 3. P. 479–484.
6. Yates B., Que S.K., D'Souza L. [et al.]. Laser treatment of periocular skin conditions // Clin. Dermatol. 2015. Vol. 33, No. 2. P. 197–206.

Поступила в редакцию 28.09.2016.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF LASER RADIATION PARAMETERS IN SURGERY OF NEOPLASMS OF PALPEBRAL AND EPIBULBAR LOCALIZATION

I.N. Dubaysi[1], A.N. Kulikov[2], D.S. Maltsev[2]

[1] *Clinic CORIS Assistance (46 Chugunnaya St. St. Petersburg 194044 Russian Federation),* [2] *S.M. Kirov Miltary and Medical Academy (6 Akademika Lebedeva St. St. Petersburg 194044 Russian Federation)*

Objective. The objective of this study is the analysis of the effect of the laser radiation energy parameters with the waves of 0.81 and 1.06 μm and pigmentation levels on the depth and volume of the tumor destruction.

Methods. The depth and the diameter of a destruction zoneunder the influence of the laser radiation 1, 1.5, and 3 W with the exposition of 45 and 60 sec. were assessed under pathomorphological analysis on the pigmented, lightly pigmented and non-pigmented samples of a tumor.

Results. The destruction depth of the lightly pigmented and pigmented tissue with the wave of 0.81 μm is no more than 4 and 3 mm, and with the wave of 1.06 – no more than 8 and 5 mm, respectively. The destruction depth of the lightly pigmented and non-pigmented tissue under the influence of the laser radiation with the wave of 0.81 and 1.06 μm has the similar features.

Conclusions. With the rise of the wave-length of the laser radiation from 0.81 to 1.06 μm, its absorption increases, and the reliance of absorption level on the pigmentation decreases.

Keywords: *laser coagulation, infrared rays, melanoma, pigmentation.*

Pacific Medical Journal, 2017, No. 2, p. 12–15.