

Экспериментальная сравнительная оценка эффективности режимов абляции различной длительности импульсами CO₂ лазеров на кожных покровах мини-свиней для целей лазерной дермабразии

Н.Е. Горбатова¹, С.А. Золотов¹, Я.О. Симановский², С.М. Никифоров²,
С.В. Голубев², С.С. Алимпиев³, А.В. Гейниц⁴, В.И. Елисеенко⁴,
Н.В. Станкова⁵

¹ – НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения города Москвы, Москва

² – ООО «Энергомаштехника», Москва

³ – ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

⁴ – ФГУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», Москва

⁵ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская Область

Контактная информация: д.м.н. Горбатова Наталья Евгеньевна natashgorbatov@yandex.ru

Абляция биоткани излучением CO₂ лазера в настоящее время наиболее эффективный и перспективный физический механизм для устранения патологических изменений, включая рубцовую деформацию, кожных покровов.

В экспериментальной работе *in vivo* на кожных покровах мини-свиней светлогорской популяции на основании анализа сравнительного гистологического исследования было определено, что эффективность и прецизионность абляции значительно выше для импульсно-периодического CO₂ лазера с длительностью импульса 20 мкс и мощностью в импульсе более 2 кВт, при этом обеспечивается максимальное сохранение жизнеспособности тканей по периферии и прогрессивная динамика регенерации абляционных ран, а излучение непрерывного CO₂ лазера с мощностью 50 Вт и длительностью импульса 500 мкс и даже 200 мкс вызывает значительно большее термическое повреждение тканей, окружающих зону воздействия.

Таким образом, данная экспериментальная работа на тканевом уровне подтвердила уникальность и эффективность лазерной абляции кожных покровов излучением импульсно-периодического CO₂ лазера с длительностью импульса 20 мкс и перспективу применения реализуемой им лазерной дермабразии в клинической практике для устранения патологических изменений кожных покровов, включая рубцовую деформацию.

Ключевые слова: импульсно-периодический CO₂ лазер, лазерная абляция, кожные покровы, гистологические исследования.

Введение

В настоящее время лазерная дермабразии, реализуемая физическим механизмом абляции биоткани излучением

CO₂ лазера, является наиболее эффективным и перспективным методом, применяемым в кожно-пластической реконструктивно-восстановительной

хирургии для устранения патологических изменений, в том числе рубцовой деформации, кожных покровов, там где предпочтительнее прецизионное, послойное и параллельное поверхности удаление дефектных тканей, при минимальном термическом повреждении по периферии. [2, 6, 13, 15, 17, 18].

Под лазерной абляцией принято понимать комплекс процессов при воздействии лазерного излучения на биологическую ткань, приводящих к резкому, взрывному, выбросу вещества из зоны воздействия излучения. Для медицинских приложений интересен режим, при котором удаление вещества из зоны воздействия происходит так быстро, что окружающие лазерный кратер ткани не успевают нагреться за счет передачи тепла, для этого длительность импульса CO₂ лазера не должна превышать 100 мкс, а дальнейшее его укорочение должно обеспечить сокращение зоны теплового повреждения и положительный эффект. [1, 11, 16, 19, 20].

Рядом исследователей установлено, что для лазерной дермабразии оптимальный режим абляции биологических тканей, обеспечивающий удаление их в строго ограниченном слое при минимальном термическом повреждении вокруг зоны воздействия, может быть реализован излучением импульсно-периодического CO₂ лазера с поперечным разрядом с эксклюзивно короткой длительностью импульса 20 мкс для CO₂ лазеров. [3, 4, 5, 8].

Для применения метода лазерной дермабразии в клинической практике кожно-пластической реконструктивно-восстановительной хирургии в ООО «Энергомаштехника» на основе импульсно-периодического CO₂ лазера с попе-

речным разрядом создается лазерный медицинский Аппарат. [3, 4, 5, 8, 9, 10].

Общий вид опытного образца лазерного медицинского Аппарата приведен на рис. 1.



Рис. 1. Общий вид опытного образца лазерного медицинского Аппарата.

Выполненные ранее экспериментальные исследования *in vitro* на модельных биологических тканях (листья растений и образцы охлажденной кожи свиньи) определили ряд позитивных особенностей воздействия излучения импульсно-периодического CO₂ лазера, с длительностью импульса 20 мкс и энергией в импульсе 20-40 мДж. [3, 4, 5, 8].

Эти исследования обозначили возможность применения импульсно-периодического CO₂ лазера в клинической практике кожно-пластической реконструктивно-восстановительной хирургии для целей прецизионного, послойного и параллельного поверхности удаления патологических тканевых

структур, без значительного термического повреждения тканей на периферии зоны абляции.[3, 4, 5, 8].

В экспериментальной работе *in vivo* на коже лабораторных животных для определения преимуществ и возможностей абляции биоткани излучением импульсно-периодического CO₂ лазера с длительностью импульса 20 мкс, были выполнены морфологические гистологические исследования и изучен характер изменений кожи и ее регенерация после воздействия импульсов данного лазера, а также проведено сравнение с результатами при использовании длинных (200 и 500 мкс) модулированных импульсов, генерируемых непрерывным CO₂ лазерным хирургическим аппаратом «Ланцет-2».[12].

Экспериментальные исследования

В эксперименте, в зависимости от поставленной конкретной задачи исследования режимов абляции, использовали определенные рабочие характеристики сравниваемых CO₂ лазеров, а именно,

энергию в импульсе, длительность импульса, количество импульсов в одну точку за время равное 1 секунде.

Результат абляции оценивали на основании изучения гистологических препаратов, образцов кожи модельных биообъектов после воздействия в режиме абляции импульсов сравниваемых CO₂ лазеров. Сравнивались форма абляционного кратера - дефекта, размер и выраженность зоны термического периферического повреждения, а также характер и сроки заживления абляционных ран.

Экспериментальное оборудование, материалы и методы

В экспериментальной работе использовали опытный образец лазерного медицинского Аппарата на основе импульсно-периодического CO₂ лазера с поперечным разрядом и серийный лазерный хирургический аппарат «Ланцет-2», на основе непрерывного CO₂ лазера с радиочастотной накачкой. Параметры CO₂ лазеров приведены в табл. 1.

Таблица 1

Параметры CO₂ лазеров

Параметры сравниваемых CO ₂ лазеров	Импульсно-периодический CO ₂ лазер	Модулированный непрерывный CO ₂ лазер - аппарат «Ланцет-2»
Длительность импульса по уровню 0.1	20 мкс	200мкс 500 мкс
Энергия в импульсе	20, 30, 40 мДж	10 мДж (200мкс) 25 мДж (500 мкс)
Длина волны излучения	10.6 мкм	10.6 мкм
Импульсная мощность	Более 2000 Вт.	50 Вт
Количество импульсов в одну точку, однократно за 1 секунду	1, 5, 10, 25, 50	10
Режим непрерывного излучения	нет	есть
Диаметр пятна излучения на поверхности по уровню 0.5	0.8 - 1	0.8 - 1

При проведении сравнительных экспериментов соблюдали воспроизведение заданных параметров излучения на обрабатываемой поверхности. Для сохранения размеров пятна окончную часть лазерного манипулятора фиксировали на кронштейне, что позволяло сохранять постоянным расстояние, составляющее 100-102 мм от фокусирующей линзы до поверхности кожи.

Для измерения энергии импульсов использовали цифровой лазерный измеритель мощности Gentec Solo PE.

Эксперименты проводились следующим образом. Оконечное устройство фиксировалось в штативе на заданном расстоянии от поверхности кожи и проводилось последовательное воздействие заданным количеством лазерных импульсов на одну и ту же точку на коже животного. Количество импульсов в серии изменялось от 1 до 50 при использовании импульсно – периодического CO₂ лазера и от 1 до 10 при использовании лазера «Ланцет 2».

Результаты каждого режима абляции оценивали на основании морфологического гистологического исследования трех соответствующих образцов кожи, с лазерными абляционными точечными ранами. Забор образцов кожи осуществляли сразу после воздействия лазерного излучения (0 срок) и в отдаленные сроки, включая 3-и, 4-е, 7-е, 14-е, 21-ые и 30-е сутки, а также через 6 месяцев после операции. Для морфологического гистологического исследования образцы кожи фиксировали в 10% водном растворе формалина и затем готовили по установленной технологии с окраской гематоксилином - эозином.

Гистологические препараты исследуемых образцов кожи изучали при

помощи лабораторного микроскопа с цветной цифровой фотокамерой в проходящем свете. Морфометрические исследования глубины повреждения тканей при воздействии лазерного излучения выполняли с использованием окулярмикрометра МОВ-1-15 X. При анализе гистологического материала, было использовано увеличение: X 80; X 100, X 120, X 180, (объектив 3, 5, 7, 10; окуляр – 10).

В исследованиях было использовано 6 особей мини-свиней светлогорской породы. В возрастном аспекте все лабораторные животные были одного помета в возрасте 6 месяцев, с кожей розового цвета, толщина которой соответствует средней толщине кожных покровов человека 14 - 25 летнего возраста. Так как розовые кожные покровы мини свиней имеют наибольшее сходство с кожей человека по анатомическому строению, элементам и содержанию воды, они являются оптимальным объектом для исследования процессов абляции и заживления абляционных ран [7, 14].

Фотография лабораторного животного перед проведением эксперимента приведена на рис. 2.

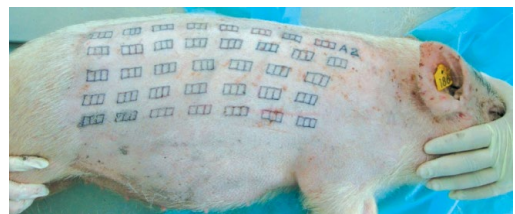


Рис. 2. Мини свинья с отмеченными татуировкой зонами для лазерной абляции.

Предварительно на коже мини-свиней была произведена методом татуировки разметка планируемых зон лазерного воздействия.

Эксперимент выполняли на базе ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», в условиях экспериментальной операционной с соблюдением всех хирургических принципов при работе с лабораторными животными.

Все инвазивные вмешательства на лабораторных животных, мини-свиньях, были выполнены под общей анестезией препаратом Золетил, внутримышечно, в установленных весовых дозировках, из расчета 15-25 мг/кг веса животного.

Экспериментальное формирование лазерных абляционных ран, проводили не ранее чем через 2 недели после стихания воспалительного процесса в местах нанесения татуировки. Для каждого абляционного режима воздействия выполняли 6 точечных ран.

Образцы для исследования забирали хирургическим иссечением в форме «лодочки» (рис. 3). После взятия образцов кожи, операционные раны ушивали, швы снимали в общепринятые сроки; все раны зажили первичным натяжением.



Рис. 3. Образец кожи мини-свиньи для морфологического исследования.

Морфологическое гистологическое исследование режимов абляции кожи излучением импульсно-периодического CO₂ лазера с длительностью импульса 20 мкс

В этой серии морфологических гистологических исследований на тканевом уровне были изучены и уточнены характерные особенности термических изменений и процесса регенерации в зонах воздействия излучения импульсно-периодического CO₂ лазера с длительностью импульса 20 мкс.

Абляция проводилась при энергии импульса 20, 30 и 40 мДж. Количество импульсов изменялось от 1 до 50 при общем времени воздействия (длительности серии) 1 секунда.

В работе были изучены особенности термических изменений на поверхности и стенках лазерного кратера-дефекта, его форма, а также характер регенерации абляционных точечных ран.

На основании исследования гистопрепаратов образцов кожи мини-свиней, взятых сразу после воздействия импульсно-периодического CO₂ лазера, была отмечена отчетливая реализация эффекта абляции, при всех используемых режимах излучения, а также определены характерные изменения тканей присущие абляции коротким импульсом 20 мкс. Примеры соответствующих гистологических препаратов приведены на рис. 4-9.

На всех гистопрепаратах при энергии в импульсе 20 мДж и 30 мДж и количестве импульсов в серии от 1 до 10, была отмечена близкая по характеру изменений гистологическая картина. Глубина термических повреждений стенок абляционного кратера не превышала 10-

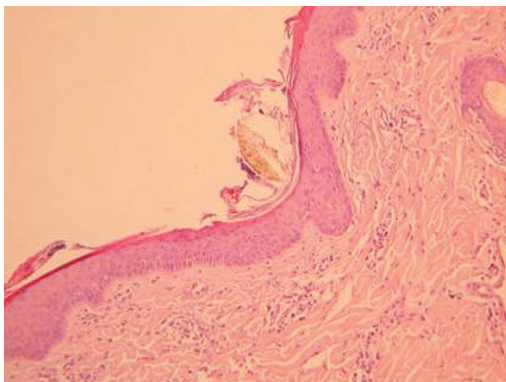


Рис. 4. Режим абляции: 20 мДж, 10 импульсов. Дефект эпидермиса дугообразного профиля. Эпидермис истончен, но его структура не изменена. Над его поверхностью и в просвете дефекта фрагменты коагулированного рогового слоя эпидермиса. Стенки дефекта выполнены тонким слоем оксифильного коагуляционного некроза толщиной не более 5 - 10 мкм. Дерма не изменена. Элементов карбонизации нет. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 80.

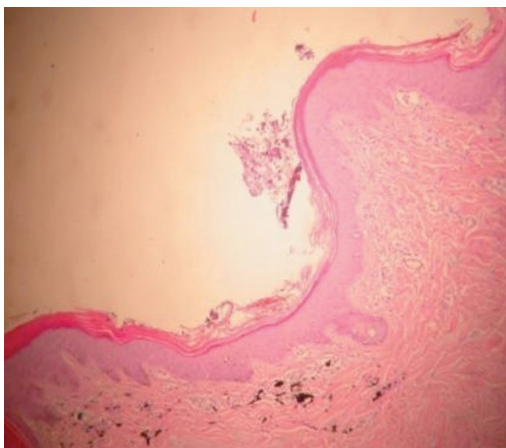


Рис. 5. Режим абляции: 30 мДж, 10 импульсов. Область воздействия имеет вид втянутого в дерму дефекта, относительно глубокого до 2,5 мм и широкого с уплощенным дном. Его ложе и стенки выполнены компактным тонким слоем оксифильного коагуляционного некроза толщиной не более 20 - 30 мкм. В просвете дефекта - фрагменты коагулированного рогового слоя эпидермиса. Элементы карбонизации не определяются. Сохранившийся эпидермис и дерма без патологических изменений. В дерме отмечается артефакт - пигмент от татуировки. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X80.

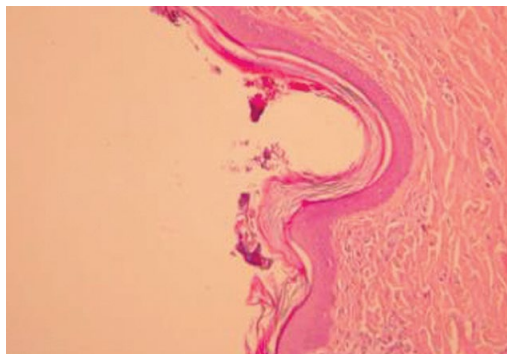


Рис. 6. Режим абляции: 30 мДж, 25 импульсов. Дефект эпидермиса овальной формы с уплощенным дном. Эпидермис стенок дефекта истончен, но его структура не изменена. На поверхности стенок дефекта рыхлый, слоистый термический струп в виде оксифильного коагуляционного некроза, толщиной от 30 до 50 мкм, почти не связанный с сохранившимся эпидермисом. Между струпом и эпидермисом четкая граница в виде светлой полосы. Элементы карбонизации не определяются. Дерма без особенностей. Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение X 100.

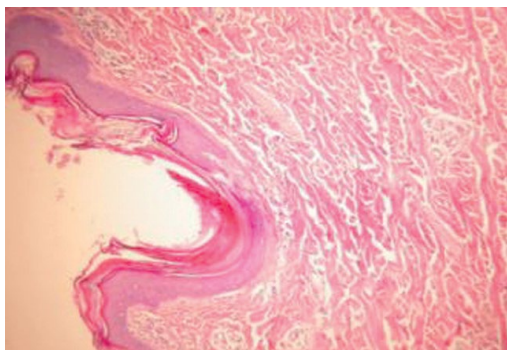


Рис. 7. Режим абляции: 30 мДж, 50 импульсов. Область воздействия представляет относительно глубокий дефект эпидермиса, с втяжением в дерму до 3,5 мм. Форма дефекта овально-цилиндрическая. На поверхности дефекта и в просвете - термический струп, представленный оксифильным коагуляционным некрозом глубиной от 50 – до 150 мкм, рыхло связанный с подлежащими тканями. Стенки и дно дефекта гладкие, выполнены тонким слоем коагуляционного некроза, слегка утолщенным в области дна, но не более 10-20 мкм. Более глубокие слои эпидермиса и дерма без изменений. Элементы карбонизации не определяются. Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение X 120.

30 мкм, что обеспечивало сохранение неповрежденными подлежащие слои эпидермиса, включая его ростковые базальные структуры (рис. 4, 5).

Режимы абляции с энергией в импульсе 20 мДж и 30 мДж и при количестве импульсов 25 и 50, приводили к более глубокому термическому повреждению тканей и, соответственно, образованию на поверхности дефекта компактного струпа большей ширины, в среднем от 50 до 150 мкм (рис. 6, 7).

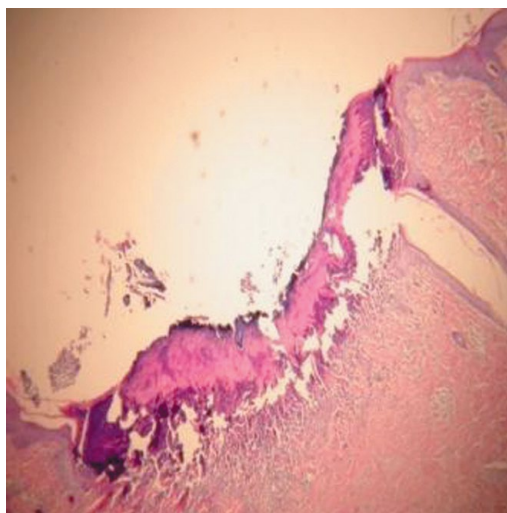


Рис. 8. Режим абляции: 40 мДж, 25 импульсов. Зона воздействия представлена дефектом кожи, глубиной до 4 мм, широкой дугообразной формы. Дефект кожи заполнен компактным термическим оксифильным некрозом эпидермиса и подлежащей дермы. Толщина коагуляционного струпа составляет от 130 до 300 мкм. На поверхности струпа не резко выраженные элементы карбонизации. Близлежащие поверхностные тканевые структуры по краям дефекта не изменены. Струп рыхло связан с подлежащими тканями дермы и отделен от нее широкой светлой зоной отека. Поверхностный слой подлежащей дермы представлен ее фрагментированными коагулированными тканями с толщиной зоны термического повреждения до 80 мкм. Более глубокие слои дермы и придатки кожи не изменены. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение X 120.

Увеличение энергии в импульсе до 40 мДж, при количестве импульсов 25 и особенно при 50-ти, вызывали еще значительно более выраженные термические изменения и образование широкой зоны от 150 до 300 мкм компактного коагуляционного некроза, струпа, на поверхности дефекта глубиной не менее 5 мм (рис. 8, 9).

Термический струп оксифильного компактного коагуляционного некроза, образующийся сверху стенок, дна и краев

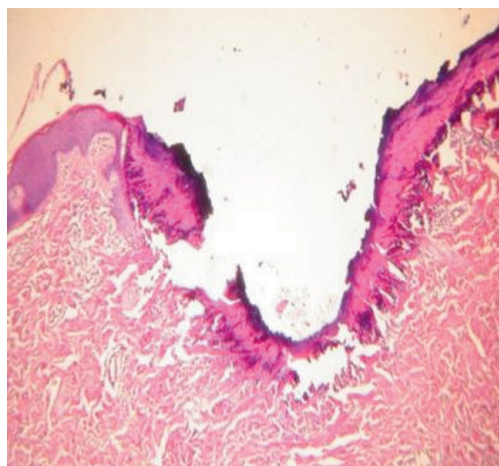


Рис. 9. Режим абляции: 40 мДж, 50 импульсов. Глубокий и широкий полуовальный дефект кожи (эпидермиса и дермы) очагового характера диаметром до 5 мм, с термическим струпом, толщиной от 100 до 300 мкм, в виде компактного коагуляционного некроза всех слоев эпидермиса и подлежащего сосочкового слоя дермы. Резкая граница термических изменений на поверхности краев дефекта, близлежащие ткани не изменены. Некротический струп отделен от подлежащей дермы зоной отека в виде участков просветления. Поверхностный слой подлежащей дермы в области стенок и дна дефекта представлен фрагментированными коагулированными тканями с толщиной термического повреждения от 30 до 80 мкм. В верхнем слое термического струпа определяется поверхностное фрагментарное обугливание. Более глубокие слои дермы и придатки кожи не изменены. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 120.

абляционного дефекта, при всех используемых режимах абляции, определялся в виде отграниченной зоны термического повреждения, рыхло связанной с подлежащими относительно неизмененными тканевыми структурами.

При всех исследуемых режимах абляции, формировался относительно широкий абляционный дефект - кратер, с плавными овально-дугообразными контурами и уплощенным дном, стремящийся к цилиндрической форме (рис. 4-9).

Анализ результатов данных гистологических исследований, показал, что при всех исследуемых режимах излучения импульсно-периодического CO₂ лазера, отчетливо реализуется эффект лазерной абляции кожи, который при увеличении энергии импульсов и их количестве, частоты следования, становится более выраженным, то есть непосредственно связан со средней мощностью излучения.

При этом отмечается увеличение глубины лазерного дефекта от 0,1 мм до 5 мм и соответственно ширины зоны компактного коагуляционного некроза, струпа от 10 мкм до 300 мкм. Однако во всех случаях сохраняется отчетливое разграничение этой некротической зоны от подлежащих не удаленных тканевых структур стенок и дна абляционного дефекта, толщина термических поверхностных изменений которых составляет в среднем от 10 до 80 мкм и практически не зависит от показателей режимов абляции.

Исследования позволили, предположить, что для клинического использования предпочтительными режимами точечной абляции излучения импульсно-периодического CO₂ лазера, можно рассматривать импульсную энергию 20 мДж и 30 мДж, при однократном воздей-

ствии в одну точку не более 10 импульсов в секунду. Данные режимы абляции являются одновременно эффективными и термически щадящими, обеспечивая испарение тканевых структур с сохранение неизмененными росткового слоя эпидермиса, а также полное отсутствие карбонизации. Режимы абляции энергетически более емкие, при клинической необходимости, могут быть использованы для более глубокой абляции кожных покровов.

Особенности репаративных процессов абляционных лазерных ран, после воздействия излучения импульсно-периодического CO₂ лазера, были определены на основании результата исследования гистопрепаратов образцов кожи, взятых в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде, включая 6 месяцев. Примеры соответствующих гистологических препаратов приведены на рис. 10-15.

Начало формирования грануляционной ткани уже было отмечено на третьи послеоперационные сутки (рис. 10).

Признаки реэпителизации лазерных кратеров, при энергии в импульсе 20 мДж и 30 мДж и количестве импульсов не более 10, определялись с 7-х послеоперационных суток, а при импульсной энергии 30 мДж и увеличении количества импульсов до 25-ти и 50-ти начало эпителизации было отмечено на 14-е сутки (рис. 11, 12).

При большей энергии в импульсе 40 мДж, и количестве импульсов не более 10-ти, эпителизация появлялась, также на 14-тые послеоперационные сутки, а при этой же энергии и увеличении количества импульсов до 25-ти и 50-ти она начиналась с 21-х послеоперационных суток (рис. 13).

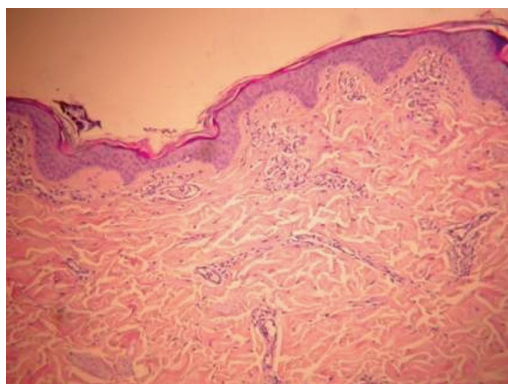


Рис. 10. Режим абляции: 40 мДж, 10 импульсов, 3-и сутки. В области лазерного воздействия в виде слоев фрагменты гомогенного оксифильного термического струпа. Эпидермис неравномерно истончен и его поверхность в этих местах с втяжениями в виде складок. Структура сохранившихся слоев эпидермиса не нарушена. В дерме элементы грануляционной ткани в виде новообразованных капилляров. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 100.

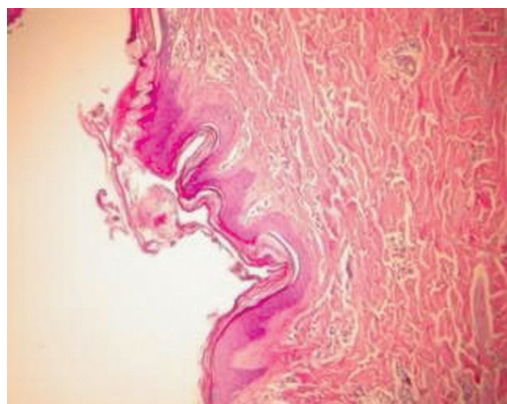


Рис. 11. Режим абляции: 30 мДж, 10 импульсов, 7-е сутки. В просвете широкого с уплощенным дном дефекта, над поверхностью эпидермиса слоистый некротический струп из рогового слоя эпидермиса. Под ним неповрежденные все слои эпидермиса. В сосочковом слое дермы отмечаются новообразованные капилляры грануляционной ткани очагового характера. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 120.

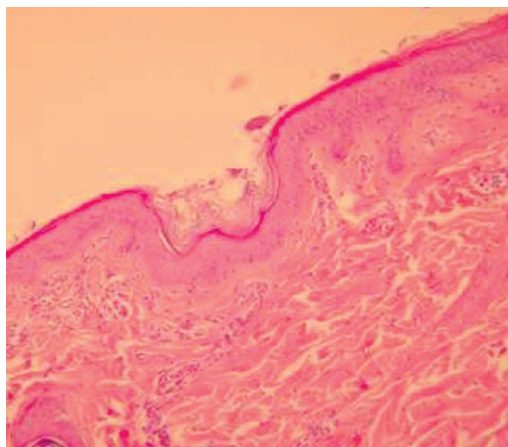


Рис. 12. Режим абляции: 30 мДж, 50 импульсов, 14-и сутки. Очаговое углубление эпидермиса в месте воздействия лазера. На поверхности эпидермиса фрагменты струпа в виде тонких слоистых роговых масс, почти не связанных с подлежащим эпидермисом. Определяются все слои эпидермиса, включая роговой слой, типичный акантоз. Грануляционная ткань располагается субэпидермально и островками в акантотических тяжах эпидермиса. Дерма не изменена. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 80.

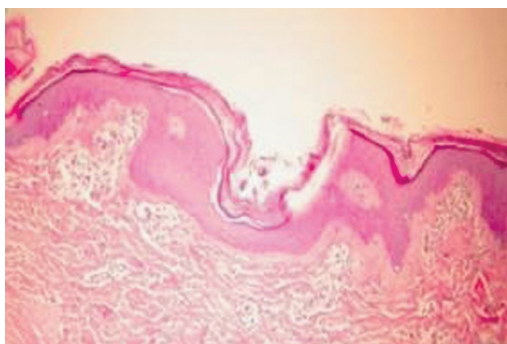


Рис. 13. Режим абляции: 40 мДж, 50 импульсов, 21-е сутки. Фрагменты отторгающегося термического струпа в области лазерного воздействия, имеющего вид втяжения дугообразного характера с уплощенным дном. В дне втяжения отмечается истончение эпидермиса, роговой слой прослеживается, блестящий и зернистый слой не изменены. Над поверхностью втянутого эпидермиса определяется тонкая пленка коагуляционно-гомогенного термического некроза. В дерме определяются элементы формирующейся грануляционной ткани с большим количеством новообразованных капилляров. Воспалительных проявлений на термическое повреждение нет. Присутствует артефакт – пигмент тату. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 80.

Полное восстановление структуры кожного покрова, без следов фиброзной деформации, не зависимо от энергетики режима абляции, имело место к 30-м послеоперационным суткам (рис. 14).

На гистологических препаратах образцов кожи, взятых через 6 месяцев после воздействия режимов абляции излучения импульсно-периодического CO₂ лазера был отмечен хороший положительный результат, без патологических изменений тканей кожных покровов (рис. 15).

На основании результатов гистологического исследования процессов репарации абляционных ран, после воздействия режимов абляции излучения импульсно-периодического CO₂ лазера, было отмечено ускорение процесса регенерации, опережающее физиологические сроки, в связи с сокращением экссудативной фазы асептического характера воспаления, более ранним отторжением некротического струпа и развитием грануляционной ткани с новообразованными капиллярами, а также возможностью сохранения ростковых структур эпидермиса. Все это обеспечивало активную, быструю, без фиброзной трансформации грануляционной ткани, реэпителизацию раневых дефектов.

Таким образом, на основании данной серии гистологических исследований было установлено, что используемые режимы абляции импульсно-периодического CO₂ лазера эффективно и прецизионно реализуют абляцию кожи, при этом максимально сохраняя жизнеспособность остающихся тканей, а также определено, что наиболее оптимальными режимами абляции для дальнейшего клинического применения можно рассматривать энергию в импульсе 20

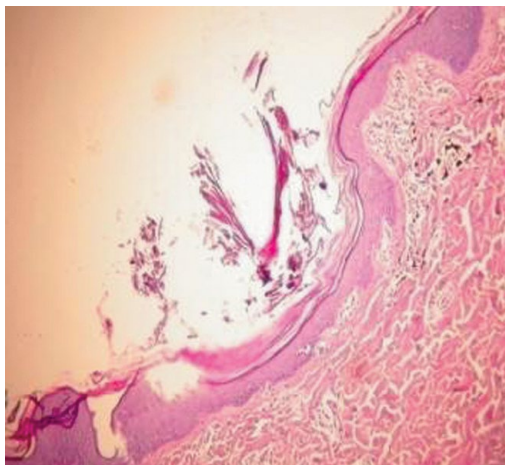


Рис. 14. Режим абляции: 40 мДж, 50 импульсов, 30-е сутки. В месте лазерного воздействия, в самом центре его сохраняется небольшой втянутый дефект с незначительным истончением эпидермиса, все слои последнего полностью восстановлены, включая поверхностный роговой слой. Структура дермы не изменена, в ней субэпидермально, расположены сливные очажки грануляционной ткани. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 80.

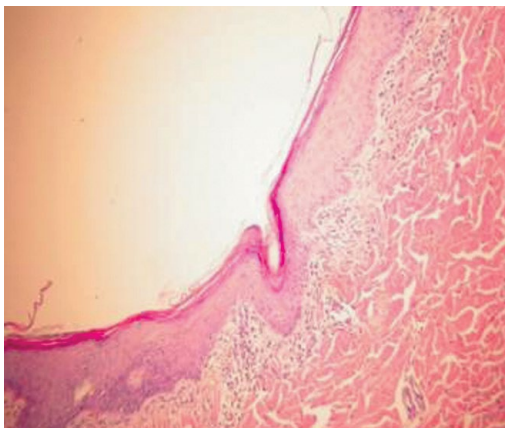


Рис. 15. Режим абляции: 40 мДж, 50 импульсов, через 6-ть месяцев. В области воздействия выявляется очаговый поверхностный плоский дефект эпидермиса, с небольшим истончением его толщины. Все слои эпидермиса полностью восстановлены. Дерма не изменена. Характерно наличие периваскулярных лимфоидно-гистиоцитарных инфильтратов в дерме, морфологических манифестантов активации неспецифического иммунитета. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение X 80.

мДж и 30 мДж, при однократном воздействии в течение одной секунды не более 10 в одну точку. Данные режимы абляции, обеспечивая испарение тканевых структур с сохранением росткового слоя эпидермиса, позволят в дальнейшем выполнять эффективную и термически щадящую лазерную дермабразию в клинических условиях. Режимы абляции энергетически более емкие могут быть использованы для более глубокой абляции кожных покровов, при наличии соответствующих клинических показаний.

Морфологическое гистологическое исследование режимов абляции модулированными импульсами непрерывного CO₂ лазера с длительностью импульсов 500 и 200 мкс.

Для сравнения и уточнения отличительных особенностей режимов абляции излучения импульсно-периодического CO₂ лазера с длительностью импульса 20 мкс были проведены морфологические гистологические исследования образцов кожи мини-свиней с точечными зонами воздействия режимов абляции модулированными импульсами излучения непрерывного CO₂ лазера с длительностью импульсов 500 и 200 мкс.

В качестве источника импульсов длительностью 500 и 200 мкс использовался лазерный хирургический аппарат «Ланцет-2», непрерывный CO₂ лазер с возможностью модуляции выходного излучения. В импульсном режиме с длительностью импульса 500 и 200 мкс выходная импульсная мощность лазера постоянная и составляла 50 Вт, поэтому энергия импульсов составляла соответственно 25 и 10 мДж. Таким образом, сравнение CO₂ лазеров прово-

дили при одинаковой энергии импульса, с режимами абляции модулированным импульсом длительностью 500 мкс, а с длительностью 200 мкс, соответственно, при меньшей импульсной энергии.

Точечную абляцию кожи излучением непрерывного CO₂ лазера, выполняли за время равное 1 секунде воздействуя в одну точку сериями от 1 до 10 импульсов. Это соответствует полной энергии в серии импульсов 100 и 250 мДж соответственно.

В процессе анализа гистологических препаратов полученных из образцов кожи мини-свиней после воздействия излучением сравниваемых CO₂ лазеров изучали различия и особенности формы лазерных кратеров, выраженность термических изменений на стенках и дне лазерного дефекта, а также регенерацию абляционных точечных ран.

Примеры гистологических препаратов, полученных из образцов кожи мини-свиней после воздействия излучения лазерного хирургического аппарата «Ланцет-2», с длительностью импульса 500 мкс и 200 мкс приведены на рис. 16-21.

Излучение непрерывного CO₂ лазера с длительностью импульса 500 мкс, при последовательном воздействии 10 импульсов с импульсной энергией 25 мДж, слабо реализует эффект абляции, что подтверждает испарение только поверхностного, преимущественно рогового слоя эпидермиса (рис. 16).

В зоне воздействия хорошо наблюдаются выраженные термические повреждения, определяющиеся относительно широким, без четких границ на поверхности, толстым термическим струпом, переходящим в глубокие некротические изменения коагулированных подлежащих тканей всех слоев эпидермиса и верхнего слоя дермы (рис. 16, 17).

Формирование очагов грануляционной ткани отчетливо начинает определяться только на 7 сутки после воздействия, а фиброзная трансформация грануляционной ткани завершается к 30-м суткам (рис. 18, 20).

Отторжение некротического струпа и подлежащих ему коагулированных тканей начинает отчетливо определяться на 14 послеоперационные сутки и сохраняется почти до 30 суток (рис. 19, 20).

Восстановление структуры кожи и почти полное заживление абляционных

ран имеет место только к 30-м послеоперационным суткам (рис. 20).

Импульсное модулированное излучения непрерывного CO₂ лазера с более короткой длительностью импульса 200 мкс, с энергией в импульсе 10 мДж, реализует аналогичный предыдущему режиму, с длительностью импульса 500 мкс, слабо выраженный эффект абляции, сопровождающийся сходными, но с несколько менее выраженными термическими изменениями, при этом процессы регенерации не имеют особых временных различий (рис. 21).

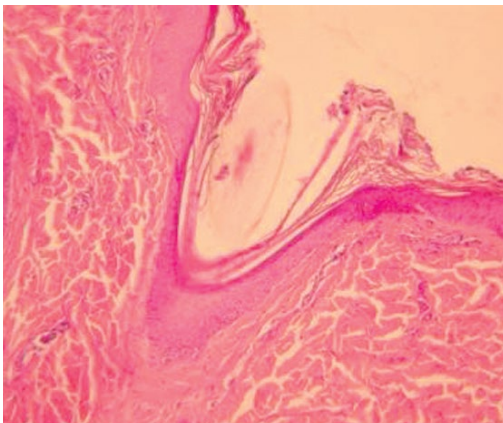


Рис. 16. Режим абляции: 25 мДж, 500 мкс, 10 импульсов, 0 сутки. Очаг повреждения отчетливой узко-клиновидной формы, относительно глубокий не менее 5 мм. Глубина повреждения всех слоев эпидермиса и распространяется на сосочковый и сетчатый слои дермы. В просвете элементы компактного коагуляционного некроза. Термический струп с коагуляционным гомогенным некрозом эпидермиса и дермы выполняет края, стенки и дно дефекта. Его толщина от 50 мкм до 150 мкм и более в области дна дефекта. Образующие ткани кратер, эпидермис и подлежащая дерма, особенно в области дна дефекта уплотнены, разрушены, частично гомогенизированы. На поверхности краев дефекта определяется коагуляционный некроз, переходящий на близлежащие ткани. Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 100.

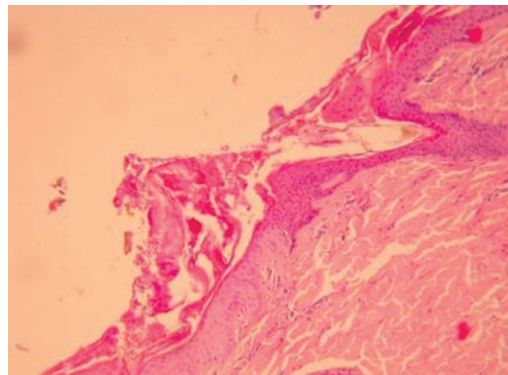


Рис. 17. Режим абляции: 25 мДж, 500 мкс, 10 импульсов, 3-и сутки. Глубокий, очагового характера в форме относительно узкого клина, дефект кожи, эпидермиса и дермы. Ширина дефекта на поверхности не менее 5 мм, глубина не менее 3 мм. Термических повреждений на поверхности, диаметром не менее 5 мм, без четких границ, представлены выраженным термическим струпом, местами свободно лежащим, частично в виде компактного коагуляционного некроза, частично из фрагментов коагулированного эпидермиса. Поверхностный слой стенок и дна дефекта выполнен компактным коагуляционным некрозом, толщиной от 20 мкм до 50 мкм. Остальные более глубокие слои дефекта, эпидермис и прилежащий сосочковый слой дермы значительно уплотнены, разрушены и гомогенизированы, и представляют массив коагуляционного некроза, толщиной не менее 150 мкм. В дерме отмечается субэпидермальный отек. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение 100.

На основании данного гистологического исследования было определено, что воздействие длинным импульсным модулированным излучением длительностью 500 и 200 мкс непрерывного CO_2 лазерного хирургического аппарата «Ланцет-2» приводит к выраженному и глубокому термическому коагуляционному поражению подлежащих тканей, окружающих зону воздействия, что определяет длительное их отторжение и, как следствие, увеличение времени заживления послеоперационных ран.

С физической точки зрения этот результат объясняется длительностью диф-

фузии тепла из зоны воздействия лазерного импульса. При лазерном импульсе длительностью 200-500 мкс происходит довольно медленный нагрев ткани и потери тепла вне области воздействия, как следствие снижение эффективности абляции и более значительное термическое поражение близлежащих окружающих тканей. Известно, что длина диффузии тепла пропорциональна корню квадратному из длительности импульса. Поэтому для уменьшения глубины термического поражения в 3 раза длительность импульса должна быть уменьшена в 10 раз, то есть до 20 - 50 мкс. Именно

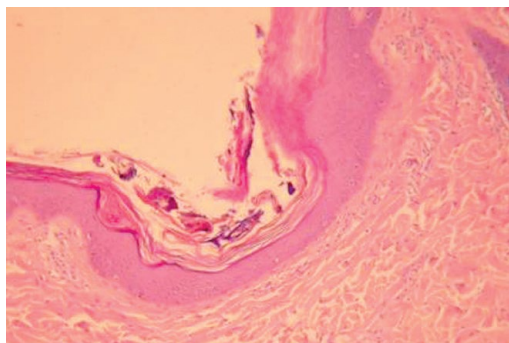


Рис. 18. Режим абляции: 25 мДж, 500 мкс, 10 импульсов, 7-е сутки. Отмечается глубокое термическое воздействие с повреждением эпидермиса и подлежащей дермы. Сформирован дефект с уплощенным широким дном и суженной апертурой. На дне дефекта истончение эпидермиса. В просвете многочисленные свободно лежащие фрагменты некротического струпа с мелкими элементами обугливания. Ткани стенок и дна дефекта выполнены коагуляционным термическим некрозом, эпидермиса и близлежащей дермы, уплотнены, деструктурированы и гомогенизированы, особенно справа. На поверхности краев дефекта коагулированные ткани эпидермиса, без определенных границ по периферии. Общая толщина коагуляционного термического некроза местами в пределах дермы не менее 500 мкм. В неизмененных, ниже слоя некроза, тканях дермы отек и новообразование капилляров в формирующейся грануляционной ткани. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение 100.

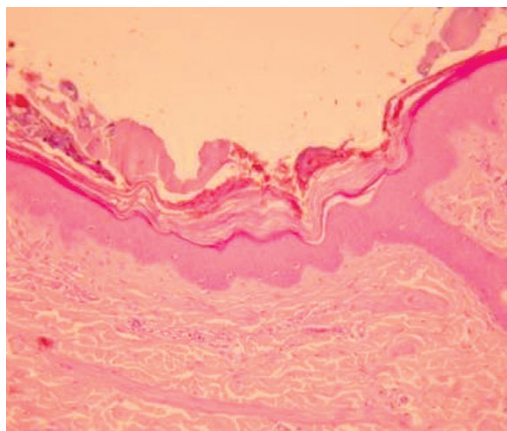


Рис. 19. Режим абляции: 25 мДж, 500 мкс, 10 импульсов, 21-е сутки. В области воздействия имеется широкого дугообразного профиля дефект, относительно небольшой глубины, с мелкими очаговыми углублениями эпидермиса в эпицентре воздействия. Толщина и структура эпидермиса в области дефекта почти не изменены. В просвете дефекта и по его краям над поверхностью эпидермиса многочисленные плотные фрагменты термического струпа и слоистые роговые массы, толщиной до 300 мкм. Границы зоны воздействия на поверхности краев дефекта не определяются. В струпе присутствуют элементы карбонизации. Сосочковый слой дермы несколько уплотнен. В дерме очаги грануляционной ткани. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение 80.

такой длительностью импульса обладает используемый в данной работе импульсно-периодический CO₂ лазер, опытного образца лазерного медицинского Аппарата, что подтверждает полученные результаты выполненного исследования [3, 4, 5, 8].

Таким образом, на основании сравнительного анализа результатов исследования гистопрепаратов из образцов кожи, после воздействия режимов абляции излучения сравниваемых CO₂ лазеров, было определено, что эффект абляции значительно более выражен при использовании короткого импульса 20 мкс импульсно-периодического CO₂ лазера и регенерация таких абляционных ран, происходит значительно активнее и в более короткие сроки по сравнению

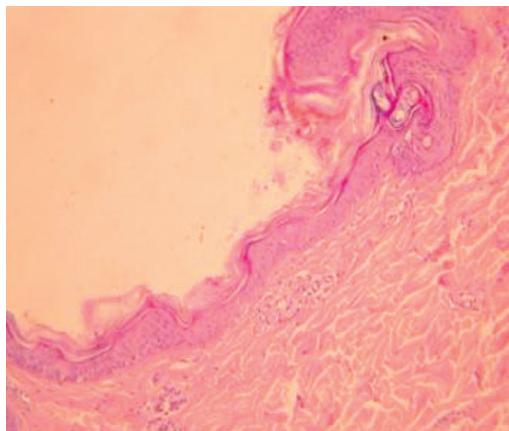


Рис. 20. Режим абляции: 10 мДж, 500 мкс, 10 импульсов, 30-е сутки. Зона воздействия представляет относительно плоский дефект с небольшим узким, неопределенной формы, втяжением эпидермиса. Структура и толщина эпидермиса восстановлены полностью, кроме зоны втяжения, где на дне и в просвете определяются небольшие фрагменты оксифильного коагуляционного некроза. Над поверхностью эпидермиса мелкие фрагменты остатков термического струпа и слоистые роговые массы. Структура дермы не изменена, в ней островки грануляционной ткани. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение 100.

с импульсами 500 мкс и 200 мкс непрерывного CO₂ лазера.

Это обусловлено значительно меньшей глубиной термического повреждения не испаренных тканей, сокращением экссудативной фазы при асептическом воспалении, более ранним отторжением некротического струпа и развитием грануляционной ткани с новообразованными

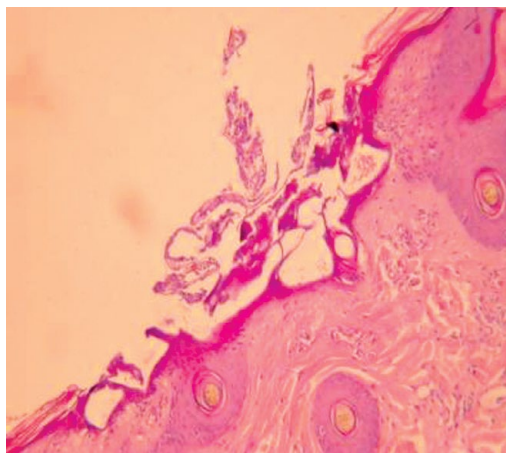


Рис. 21. Режим абляции: 10 мДж, 200 мкс, 10 импульсов, 0 сутки. Формирование обширного по площади и глубине, до 3 мм, очага повреждения, с неровной поверхностью из небольших клиновидных дефектов. Общий профиль повреждения ближе к клиновидной форме. Отмечается коагуляционный термический некроз на всю толщу эпидермиса и подлежащего сосочкового слоя верхней трети дермы. В просвете дефекта большое количество фрагментов плотных коагулированных тканей эпидермиса и дермы, единичные не выраженные элементы карбонизации. Стенки, дно и края дефекта выполнены компактным относительно широким слоем оксифильного коагуляционного некроза толщиной от 30 мкм до 100 мкм. На поверхности краев дефекта также определяется зона коагуляционного некроза, без разграничения с близлежащими поверхностными тканями эпидермиса. Подлежащие дну дефекта ткани дермы, не менее чем на глубину до 100 мкм - 150 мкм уплотнены, деструктурированы и гомогенизированы. Более глубокие слои дермы и ее придатки не изменены. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение 120.

ми капиллярами, а также возможностью сохранения ростковых структур эпидермиса, обеспечивающих ускорение реэпителизации раневых дефектов.

Выводы

1. Исследуемые режимы абляции импульсно-периодического CO₂ лазера с длительностью импульса 20 мкс и мощностью более 2 кВт эффективно и прецизионно реализуют абляцию кожи, при этом максимально сохраняя жизнеспособность окружающих зону воздействия не удаленных тканей и формируя относительно широкий лазерный кратер – дефект по форме близкий цилиндру, с плавным дугообразным профилем уплощенного дна.

2. Исследуемые режимы абляции импульсно-периодического CO₂ лазера обеспечивают активную динамику регенерации и ускорение реэпителизации абляционных ран, что определено уменьшением экссудативной фазы, ранним отторжением некротического струпа и более ранним развитием грануляционной ткани, а также значительно меньшей глубиной теплового повреждения окружающих тканей и сохранением ростковых структур эпидермиса по сравнению с излучением CO₂ лазера с длительностью импульса 200 и 500 мкс и мощностью 50 Вт.

3. Для целей лазерной дермабразии кожных покровов оптимальными режимами абляции излучением импульсно-периодического CO₂ лазера является энергия в импульсе 20 мДж и 30 мДж, при частоте следования импульсов 10 Гц и количестве импульсов не более 10 в одну точку. Такой режим позволяет эффективно и прецизионно реализовывать абляцию кожи с максимальным сохранением не удаляемых ее тканей.

4. Увеличение частоты следования импульсов импульсно – периодического

лазера более 10 Гц при количестве импульсов более 10 в одну точку формирует абляционный кратер, значительно большей глубины с более выраженными термическими изменениями в виде отграниченной широкой зоны компактного коагуляционного некроза, которая сохраняет рыхлую связь с подлежащими относительно неизмененными тканевыми структурами. Такие режимы абляции могут быть использованы для более глубокой абляции кожных покровов, при наличии соответствующих клинических показаний, требующих большей глубины испарения тканей.

Заключение

Выполненные гистологические исследования позволили на тканевом уровне показать несомненное преимущество режимов абляции короткими импульсами (20 мкс импульсная мощность более 2 кВт) излучения импульсно-периодического CO₂ лазера, по сравнению с длинными импульсами (500 мкс и 200 мкс, импульсная мощность 50 Вт) модулированного излучения непрерывного CO₂ лазера, для целей лазерной дермабразии кожных покровов и подтвердить перспективу применения его в практике кожно-пластической реконструктивно-восстановительной хирургии для эффективного, прецизионного удаления патологических кожных структур, что должно обеспечить достижение оптимально возможного лечебного и эстетического результата.

**Работа выполнена в рамках
Государственного контракта
№ 16.522.11.2011 от 27 июня 2012 г.
ФЦП «Исследования и разработки
по приоритетным направлениям
развития научно-технического
комплекса России на 2007-2013 годы».**

Список литературы

1. Алимпиев С.С., Конов В.И., Никифоров С.М. Масс-спектрометрическое исследование приповерхностного оптического пробоя Крат, сообщения по физике. ФИАН. 1987. С. 17-19.
2. Гончарова А., Толстомятов А.М., Фисталь Н.Н. Косметическая коррекция посттравматических и послеоперационных рубцов методом лазерной дермабразии // Центр лазерной косметологии и пластической хирургии «Lege Artis», Институт неотложной и восстановительной хирургии АМН Украины. Донецк. Украина Травма. 2001. Т.2. № 2. С. 216-218.
3. Горбатова Н.Е., Золотов С.А., Симановский Я.О. и др. Абляция биоткани излучением CO₂-лазеров с импульсами различной длительности // Научно-прикладной журнал «Биомедицинская радиоэлектроника». 2012. № 8. С. 37-45.
4. Горбатова Н.Е., Золотов С.А., Симановский Я.О. и др. Биомедицинское моделирование абляции биологических тканей излучением импульсно-периодического CO₂ лазера с поперечным разрядом для целей кожно-пластической реконструктивно-восстановительной хирургии // Научно-практический журнал «Московский хирургический журнал». – 2012. № 5 (27).- С. 17-24.
5. Горбатова Н.Е., Золотов С.А., Симановский Я.О. и др. Моделирование абляции биологических тканей излучением импульсно-периодического CO₂ - лазера для целей лазерной дермабразии рубцовых деформаций кожных покровов // Научный журнал ФМБА РФ «БИОМЕДИЦИНА». 2013. №1. С. 22-35.
6. Доронин В.А. «Дермабразия CO₂ лазером эпидермально-дермальных дефектов кожи в амбулаторных условиях» // Дис. канд. мед. наук. М. 2004. 116 с.
7. Капанадзе Г.Д., Ашуев Ж.А. Светлогорская популяция мини свиней // Биомедицина. 2007. № 6. С. 71-81.
8. Никифоров С.М., Алимпиев С.С., Симановский Я.О. и др. Импульсно-периодический CO₂-лазер с поперечным разрядом для хирургических применений // Научно-прикладной журнал «Биомедицинская радиоэлектроника». 2012. № 8. С. 72-76.
9. Патент РФ 2118025 Импульсно-периодический газовый лазер, Никифоров С.М., Алимпиев С.С., Симановский Я.О., Горбатова Н.Е., 1998.
10. Патент РФ 2286628 Импульсно-периодический газовый лазер и лазерная хирургическая установка, Никифоров С.М., Алимпиев С.С., Симановский Я.О., Горбатова Н.Е., 2005.
11. Самохин А.А. Фазовые переходы первого рода при действии лазерного излучения на поглощающие конденсированные среды // Действие лазерного излучения на поглощающие конденсированные среды (Труды ИОФАН, т.13). М.: Наука. 1990. С. 1-98.
12. Скобелкин О.К., Козлов В.И., Гейниц А.В. и др. «Применение лазерных хирургических аппаратов «ЛАНЦЕТ» в медицинской практике» // Пособие для врачей. М. 2000. 94 с.
13. Смирнов Д.В. «Лазерная дермабразия в комплексном лечении послеожоговых рубцов эстетически важных зон кожного покрова у детей» // Дис. канд. мед. Наук. М. 2003. 128 с.

14. Швецова Е.В., Роговая О.С., Киселев И.В.и др. Модели для исследования кожи. Свиная кожа как адекватная модель исследования восстановительных процессов в коже человека // Клиническая дерматология и венерология. 2006. № 4. С. 47-50.
15. Alster Tina S., MD Ivy J Groover MD «Laser Revision of Scars» Last Updated: June 25. 2001. © Copyright 2002, eMedicine.com, Inc.
16. Vogel A., Venugopalan V. *Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues* // Chem. Rev. 2003. V. 103 (2). P. 577–644.
17. Nanni C.A., Alster T.S. of carbon dioxide laser resurfacing. An evaluation of 500 patients // Dermatol Surg. 1998; V. 24. P. 315-320.
18. Ross E.V., Barnaette D.J., Glatte Rd., et al. *Effects of overlap and pass number in CO₂ laser skin resurfacing: A study of residual thermal damage, cell death and wound healing* // Lasers Surg Med. 1999. V. 24. P. 103-112.
19. Shim .E, Tse Y., Velazquez E., et al. Short-pulse carbon dioxide laser resurfacing in the treatment of rhytides and scars. A clinical and histopathological study // Dermatol Surg. 1998.V. 24. P. 113-119.
20. Walsh J.T., Flotte T.J., Anderson R.R., Deutsch T.F. Pulsed CO₂ laser tissue ablation: effect of tissue type and pulse duration on thermal damage // Lasers Surg. Med. 1988. V. 8. P. 108-118.

Experimental assessment of efficiency of modes of an ablation impulses of CO₂ lasers of various duration of integuments of mini-pigs for a laser dermabrazija

N.E.Gorbatova, S.A. Zolotov, Ya.O. Simanovsky, S.M. Nikiforov,
S.V. Golubev, S.S. Alimpiyev, A.V. Geynits, V.I.Eliseenko, N.V. Stankova

Ablation of biofabric the radiation of CO₂ laser now the most effective and perspective physical mechanism for elimination of pathological changes, including cicatricial deformation, integuments.

In experimental work of in vivo on integuments of mini-pigs of Svetlogorsk population on the basis of the analysis of comparative histologic research it was defined that efficiency and a pretzionnost of an ablation is much higher for pulse and periodic CO₂ laser lasting impulse of 20 microsec and capacity in an impulse more than 2 kW, the maximum preservation of viability of fabrics on the periphery and progressive dynamics of regeneration of ablative wounds, and radiation of continuous CO₂ laser with a power of 50 W and lasting impulse of 500 microsec is thus provided and even 200 microsec cause bigger thermal damage of the fabrics surrounding a zone of influence is considerable.

Thus, this experimental work at fabric level confirmed uniqueness and efficiency of a laser ablation of integuments with the radiation of pulse and periodic CO₂ of the laser lasting impulse of 20 microsec and prospect of application of a laser dermabrazija realized by it in clinical practice for elimination of pathological changes of integuments, including cicatricial deformation.

Key words: pulse and periodic CO₂ laser, laser ablation, integuments, histologic researches.