

РАЗРАБОТКА НАНОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО МОДУЛЯ, ВСТРАИВАЕМОГО В РОБОТИЗИРОВАННЫЙ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ХИРУРГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ МАЛОИНВАЗИВНОЙ ТЕРАПИИ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ, И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПЛАЗМУ КРОВИ

DOI: 10.17691/stm2016.8.4.04

УДК 616.31–089.81–78:621.38

Поступила 22.02.2016 г.



А.А. Чунихин, к.м.н., доцент кафедры хирургии полости рта¹;
М.Ю. Саакян, к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии и ортодонтии; главный врач центра дентальной имплантологии²;
С.И. Гажва, д.м.н., профессор, зав кафедрой стоматологии ФПКВ²;
Э.А. Базикян, д.м.н., профессор, зав кафедрой хирургии полости рта¹

¹Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, 127473, ул. Делегатская, 20/1;

²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — оценка эффективности возбуждения синглетного кислорода в плазме крови *in vitro* с использованием инфракрасного лазерного излучения с длиной волны 1260 ± 4 нм, генерируемого лазерным импульсным модулем, который предназначен для встраивания в робототехническую хирургическую установку для малоинвазивной хирургии челюстно-лицевой области.

Материалы и методы. В исследовании использовали модель разработанного наносекундного лазера (длина волны 1260 ± 4 нм) с генерированием импульсного сигнала с продолжительностью импульса 400 нс и частотой следования импульсов 500 кГц, диаметр световода — 500 мкм. Для получения плазмы крови применяли пробирки с гепарином натрия с различным временем центрифугирования. Использовали три образца плазмы крови, полученные при различных режимах центрифугирования. Фотохимические измерения проводили в разбавленной нейтральным (рН=7,6) фосфатным буфером плазме крови. Контроль за реакцией выделения синглетного кислорода осуществляли с помощью спектрофотометра по выцветанию при лазерном облучении основной полосы поглощения ловушек.

Результаты. Уменьшение оптической плотности при длине волны спектрофотометра 414 нм достоверно отмечалось во всех трех образцах плазмы крови, эффект составил около $0,04\pm 0,01$ за 30 мин облучения. При облучении разбавленной буфером плазмы крови исследуемым инфракрасным лазером в течение 1,5 ч во всех образцах наблюдался достоверный эффект выцветания ловушки. Лазерное излучение в наносекундном импульсном режиме показало результат по выцветанию буфера в 10 раз больший, чем в случае применения лазера, работающего в непрерывном режиме.

Заключение. Проведенные эксперименты выявили эффективную генерацию синглетного кислорода при использовании разработанного лазерного наносекундного импульсного модуля. Небольшие размеры и уникальные характеристики позволяют встраивать его в робототехнический хирургический комплекс.

Ключевые слова: робот-ассистированная хирургия; наносекундные импульсные лазеры; фотодинамический эффект; синглетный кислород.

Как цитировать: Chunikhin A.A., Sahakyan M.Y., Gzhva S.I., Bazikyan E.A. Development of nanosecond laser module built in the robotic multifunctional surgical complex for minimally invasive therapy of maxillofacial area pathology and estimation of its effects on blood plasma. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2016; 8(4): 30–35, <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.4.04>

Для контактов: Чунихин Андрей Анатольевич, e-mail: docca74@yandex.ru

English

Development of Nanosecond Laser Module Built in the Robotic Multifunctional Surgical Complex for Minimally Invasive Therapy of Maxillofacial Area Pathology and Estimation of Its Effects on Blood Plasma

A.A. Chunikhin, MD, PhD, Associate Professor, Department of Oral Surgery¹;

M.Y. Sahakyan, MD, PhD, Associate Professor, Department of Orthopedic Stomatology and Orthodontics; Chief Doctor of the Dental Implantology Center²;

S.I. Gazhva, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Dentistry, Faculty of Doctors' Advanced Training²;

E.A. Bazikyan, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Oral Surgery¹

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, 20/1 Delegatskaya St., Moscow, 127473, Russian Federation;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation

The aim of the investigation was to assess the efficiency of singlet oxygen excitation in blood plasma *in vitro* using infrared laser radiation with 1260 ± 4 nm wavelength generated by a pulsed laser module, which was designed to be built in the robotic surgical device for minimally invasive maxillofacial surgery.

Materials and Methods. The model of the developed nanosecond laser ($1,260 \pm 4$ nm wavelength) generating pulse signal with 400 ns pulse duration, 500 kHz pulse repetition frequency, and 500 μ m optic fiber diameter was used in the investigation. Test tubes with heparin sodium having various centrifuging time served for obtaining blood plasma. Three blood plasma specimens obtained in different centrifuging modes were used in the study. Photochemical measurements were performed in blood plasma diluted with a neutral (pH 7.6) phosphate buffer. The reaction of releasing singlet oxygen was controlled by discoloration with the help of a spectrophotometer under laser radiation of the main band of the trap.

Results. The reduction of optical density at 414 nm spectrophotometer wavelength was significantly noted in all three specimens, the effect amounted to 0.04 ± 0.01 over 30 min of radiation. When buffer diluted blood plasma was exposed to the tested infrared laser during 1.5 h, the significant effect of the trap discoloration was observed in all specimens. Laser radiation in the nanosecond pulse mode provided discoloration 10 times greater than that of the laser working in the continuous mode.

Conclusion. The experiments performed showed that the application of the original nanosecond pulsed laser module provided effective generation of singlet oxygen. Small dimensions and unique characteristics allow the module to be built in the robotic surgical complex.

Key words: robot-assisted surgery; nanosecond pulsed lasers; photodynamic effect; singlet oxygen.

Современная медицина немыслима без применения лазерных технологий. Лазерное излучение обладает уникальными свойствами по отношению к биологическим тканям. Параллельный пучок светового потока, генерируемый лазерным излучением, дает возможность фокусироваться на объекте в пятно минимального диаметра с различными параметрами воздействия — длиной волны, длительностью, интенсивностью, что позволяет воздействовать на биологический объект с возбуждением различной реакции в тканях [1].

Последнее десятилетие характеризуется активным развитием робототехнических технологий в медицине. Конструирование и внедрение робота *da Vinci* дало возможность проведения тонких хирургических вмешательств в урологии, гинекологии, абдоминальной хирургии [2]. Роботизированные хирургические системы на основе лазеров используются в офтальмологии.

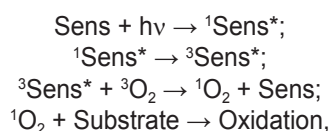
Достигнутые результаты убедительно показывают преимущества роботизированной хирургии, такие как минимальная инвазивность, высокая точность, быстрая реабилитация.

Перспективной представляется разработка робототехнического комплекса для лечения сложной патологии челюстно-лицевой области с возможностью интеграции лазерного модуля в манипуляторы робота-хирурга, доставляющие световые потоки лазерного излучения в глубокие анатомические структуры головы и шеи. Наличие множества тончайших анатомических структур в челюстно-лицевой области — мышц, сосудов и нервов, воздухоносных синусов — обуславливает сложности при проведении хирургических вмешательств и не позволяет добиться точности манипуляций врача-хирурга [3]. Множественность патологии челюстно-лицевой области, необходимость применения различных методов терапии, заместительной и реконструктивной хирургии тканей и органов головы и шеи требуют математического расчета условий выполнения процедур с подключением искусственного интеллекта [4].

Одним из этапов конструирования такого multifunctional комплекса является разработка и создание лазерного модуля с уникальными характеристиками лазерного излучения и возможностью

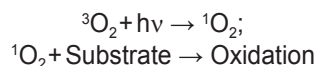
комбинированного воздействия низкоинтенсивным и высокоинтенсивным излучением для получения терапевтического и хирургического эффектов в тканях одновременно.

Воздействие лазерного излучения на кислород является одним из важных факторов, обуславливающих комплексность биохимических реакций в тканях. Фотохимические реакции, возбуждаемые в клетках под действием лазерного излучения, запускают различные молекулярные механизмы, связанные в том числе с переходом растворенного в тканях молекулярного кислорода в синглетное состояние. На фотохимических реакциях основан метод фотодинамической терапии, которая представляет собой взаимодействие трех компонентов — фотосенсибилизатора, лазерного излучения и кислорода. Кислород фотосенсибилизатора, накопившегося в тканях под действием лазерного излучения, переходит в возбужденное триплетное состояние, энергия которого в свою очередь переходит на внутриклеточные молекулы кислорода в тканях с образованием молекулярного синглетного кислорода в соответствии со следующей схемой:



где синглетное и триплетное возбужденное состояния фотосенсибилизаторов представлены как ${}^1\text{Sens}^*$ и ${}^3\text{Sens}^*$, синглетный кислород — ${}^1\text{O}_2$.

Синглетный кислород является сильнейшим окислителем ароматических аминокислот и при вступлении в химические реакции с клеточными элементами разрушает мембранные структуры, запуская реакцию перекисного окисления липидов в клетке или околоклеточном пространстве. Деструкция биологических субстратов приводит также к образованию свободных радикалов, обладающих вторичным повреждающим действием на клетки. Известно большое количество соединений, способных выступать в качестве фотосенсибилизаторов, которые могут поглощать излучение всей видимой области спектра, но интенсивность реакции многократно усиливается при облучении светом с длиной волны, соответствующей пику поглощения — узкому диапазону, специфичному для каждого конкретного соединения. Возможность проведения фотодинамических реакций в тканях без использования фотосенсибилизаторов с помощью прямой генерации синглетного кислорода по следующей схеме:



видится наиболее перспективной для дальнейшего применения в медицинской практике. Такие реакции возникают при воздействии лазерным излучением с длиной волны, близкой к максимальному поглощению кислорода в тканях — 1265 ± 5 нм [5]. Использование ультракоротких лазерных импульсов (фемтосекунд-

ных, пикосекундных, наносекундных) позволяет проникать световому потоку глубже в ткани без их существенного нагрева. За счет малого времени жизни и высокой мощности лазерных импульсов за время электронного перехода в молекуле кислорода с определенной вероятностью происходит суммирование энергии двух и даже трех лазерных фотонов, приводящее к заселению тканей кислородом в синглетном состоянии [6].

Лазерные излучатели, способные генерировать ультракороткие волны с определенной частотой, имеют высокую цену и большие размеры [7]. Исследовательской группой кафедры хирургии полости рта МГМСУ им. А.И. Евдокимова разработана модель диодного лазерного генератора с уникальными параметрами. Генератор выполнен в виде модуля, сконструирован на основе полупроводниковых кристаллов, имеет компактные размеры и способен к генерации наносекундных импульсов высокой мощности с продолжительностью импульса 400 нс и частотой следования 500 кГц. Такие характеристики обеспечивают более глубокое проникновение в ткани и суммирование энергии лазерных фотонов для усиления фотодинамических эффектов без применения экзогенных фотосенсибилизаторов (заявка на изобретение №2016129331 от 19.07.2016 г.).

Данный излучатель может использоваться как самостоятельный лазерный аппарат для применения в каждодневной практике врача-стоматолога при проведении различных хирургических вмешательств в челюстно-лицевой области, а также в терапии одонтогенных воспалительных заболеваний и патологии слизистой оболочки полости рта. Кроме того, компактные размеры и наличие гибких тонких световодов позволяют использовать разработанный модуль в робототехнической медицинской лазерной установке для малоинвазивной челюстно-лицевой хирургии.

Для внедрения в клиническую практику нового прибора и подтверждения его уникальных характеристик требуется проведение лабораторных испытаний по оценке различных факторов воздействия лазера на биологические ткани и, в частности, на элементы крови. Одним из важных аспектов является изучение фотохимических эффектов в плазме крови при воздействии лазерного излучения с определенными параметрами.

Цель исследования — оценка эффективности возбуждения синглетного кислорода в плазме крови *in vitro* с использованием инфракрасного лазерного излучения с длиной волны 1260 ± 4 нм, генерируемого лазерным импульсным модулем, который предназначен для встраивания в робототехническую хирургическую установку для малоинвазивной хирургии челюстно-лицевой области.

Материалы и методы. В работе использовали модель разработанного наносекундного лазера с сенсорным дисплеем управления на полупроводниковых кристаллах, имеющую основной инфракрасный (ИК)

излучатель с длиной волны, примерно соответствующей максимуму поглощения кислорода (1256–1264 нм), с генерированием импульсного сигнала с продолжительностью импульса 400 нс и частотой следования импульсов 500 кГц. Излучение фокусировалось в оптическом световоде диаметром 500 мкм.

Лазерный генератор сконструирован таким образом, что имеется возможность внедрения до трех дополнительных излучателей различных длин с использованием в одном световоде. Данная схема имеет преимущество перед существующими аналогами, так как применение нескольких различных длин волн разнонаправленного действия в одном световоде позволит проводить манипуляции одновременно с различными эффектами воздействия на ткани, что в свою очередь будет способствовать повышению терапевтического эффекта.

Для выделения плазмы из крови использовали пробирку с гепарином натрия и олефиновым гелем. Гепарин — это кислый мукополисахарид с молекулярной массой от 3000 до 40 000 Да. Он является натуральным антикоагулянтом, активирующим создание комплексных соединений между антитромбином III и такими факторами свертывания крови, как тромбин, факторы XIIa, XIa, Xa, IXa и VIIa. В таком комплексе факторы свертывания инактивируются необратимо. Натриевая соль гепарина в пропорции к забираемой в пробирку крови 15–20 МЕ/1 мл служит гарантией полной инактивации факторов свертывания крови и не искажает параметры жидкости. Олефиновый гель представляет собой тиксотропный кополимер, который тяжелее плазмы, но легче форменных клеток крови, поэтому после центрифугирования он в виде тонкой полоски занимает промежуточное положение и служит разделительным барьером.

Фотохимические измерения проводили в разбавленной нейтральным (рН=7,6) фосфатным буфером (1,3-дифенилизобензофуран — ДФИБФ) плазме крови. Для опытов использовали три образца плазмы крови, полученные при различных режимах центрифугирования: образец 1 — 10 мин при 3600 об./мин и 20 мин при 6000 об./мин; образец 2 — 10 мин при 4500 об./мин и 15 мин при 3600 об./мин; образец 3 — 15 мин при 6000 об./мин. В каждом случае для обеспечения возможности надежного измерения оптической плотности в диапазоне длин волн 380–500 нм спектрофотометра необходимо было разбавить плазму буфером в 2 раза, поскольку она содержала заметное количество гемоглобина.

В работе использовали квадратные кварцевые флуоресцентные кюветы с длиной оптического пути

1 см. Объем проб в кюветах всегда составлял 0,75 мл, а концентрация в них ДФИБФ подбиралась так, чтобы оптическая плотность в максимуме поглощения входила в интервал значений от 0,9 до 1,1. Головку световода размещали вплотную к кювете с раствором ловушки. Продолжительность сеанса облучения пробы была подобрана так, чтобы эффект выцветания ДФИБФ был достоверно измеримым, но не слишком сильным. Оптическую плотность растворов (при длине волны 414 нм) измеряли до и после облучения, используя однолучевой спектрофотометр СФ-56 («Солар», Россия).

Контроль за реакцией выделения синглетного кислорода осуществляли с помощью спектрофотометра по выцветанию при лазерном облучении основной полосы поглощения ловушек при 414 нм. Для точности определения ответственности синглетного кислорода за убыль субстрата в раствор добавляли специальные химические агенты — тушители синглетного кислорода. Кроме того, путем барботирования растворов азотом добивались освобождения их от растворенного кислорода.

Для оценки эффективности генерации синглетного кислорода при использовании разработанного модуля полученные данные сравнивали с таковыми при применении генератора лазерного излучения с длиной волны 1270 нм в непрерывном режиме излучения.

Результаты и обсуждение. При облучении растворов ДФИБФ исследуемым ИК-лазером в разбавленной плазме крови из всех образцов в течение 1,5 ч наблюдался достоверный эффект выцветания ловушки (рис. 1–3).

Уменьшение оптической плотности при 414 нм достоверно отмечалось во всех трех образцах плазмы крови, эффект составил около $0,04 \pm 0,01$ за 30 мин облучения. Высокие скорости центрифугирования при получении плазмы крови влияют на повышенное разрушение кровяных клеток (эритроцитов, лей-

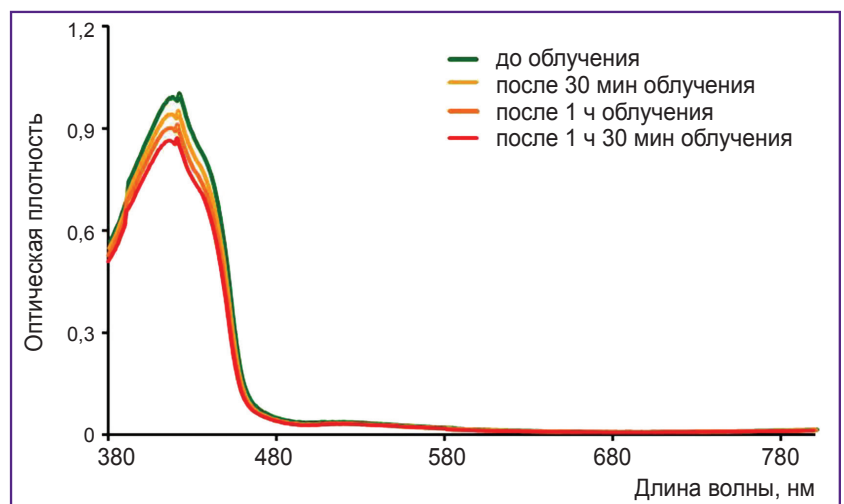


Рис. 1. Серия спектров поглощения химической ловушки в разбавленной плазме крови (образец 1) при действии исследуемого лазера

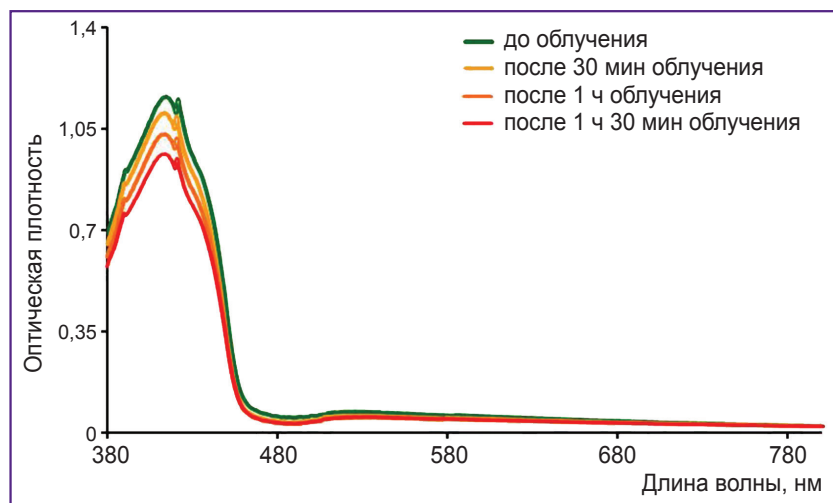


Рис. 2. Серия спектров поглощения химической ловушки в разбавленной плазме крови (образец 2) при действии исследуемого лазера

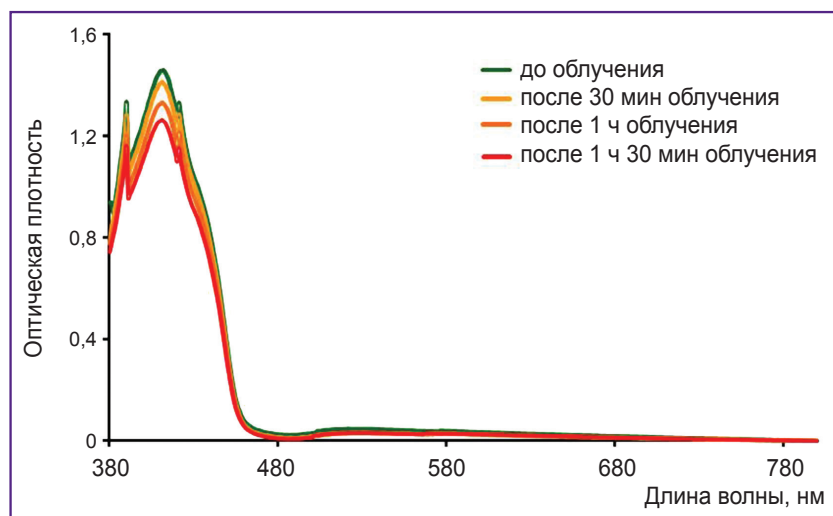


Рис. 3. Серия спектров поглощения химической ловушки в разбавленной плазме крови (образец 3) при действии исследуемого лазера

Сравнение эффективности фотодеструкции ловушки синглетного кислорода при действии двух инфракрасных лазеров с различным режимом излучения

Среда (плазма крови человека)	Скорость выцветания ДФИБФ (отн. ед.), нормированная на мощность лазерного излучения	
	Наносекундное импульсное лазерное излучение	Непрерывное лазерное излучение
Образец 1	0,042	0,003
Образец 2	0,041	0,006
Образец 3	0,038	0,004

коцитов), что обуславливает большое количество антиоксидантных веществ в полученных образцах. Несмотря на наличие высокого уровня антиоксидантов, чем обусловлена высокая степень тушения син-

ДФИБФ значительно выше при действии импульсного лазерного излучения по сравнению с непрерывным излучением с одинаковой длиной волны, близкой к максимуму поглощения кислорода.

глетного кислорода, было зарегистрировано достоверное убывание плотности химической ловушки.

При сравнении значений оценки эффективности генерации синглетного кислорода разработанным лазерным модулем, генерирующим наносекундные ультракороткие импульсы, и лазерным излучателем, работающим в непрерывном режиме и генерирующим длину волны, близкую к максимуму поглощения кислорода (≈ 1270 нм), были получены следующие результаты (см. таблицу).

Значения относительных скоростей выцветания ловушки в плазме крови при действии двух ИК-лазеров соответствуют скорости падения оптической плотности ловушки, нормированной на мощность 1 Вт за 30 мин лазерного облучения. Каждое число является средним значением для трех независимых измерений (статистическая погрешность $\pm 5\%$).

Из таблицы видно, что выцветание ДФИБФ при использовании лазера с наносекундным импульсным излучением практически в 10 раз больше, чем при использовании лазера, работающего в непрерывном режиме. Полученный результат можно объяснить тем, что лазерные ультракороткие импульсы высокой мощности способствуют увеличению времени релаксации кислорода в тканях и вероятному суммированию энергии лазерных фотонов и тем самым — заселению тканей синглетным кислородом.

Таким образом, поскольку молекулы ДФИБФ (химической ловушки) имеют максимум поглощения только в УФ- и видимой области спектра и не поглощают ИК-излучение лазера, эффект обусловлен прямым лазерным возбуждением растворенного кислорода, полоса поглощения которого соответствует спектральной области лазерного излучения. Сравнение действия импульсного наносекундного лазера и лазера, генерирующего непрерывное ИК-излучение, показывает, что эффективность выцветания

Заключение. Полученные результаты оценки эффективности возбуждения синглетного кислорода в плазме крови *in vitro* свидетельствуют о больших возможностях разработанной модели лазера, генерирующего импульсное наносекундное излучение. Размеры и уникальные характеристики лазера позволяют использовать его в виде модуля в робототехнической установке для челюстно-лицевой хирургии.

Финансирование исследования. Субсидия по государственному заданию Министерства здравоохранения РФ 056-00139-16

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

1. Lehnert M.W. Lasers in medicine and dentistry. *Northwest Dent* 1996; 75(1): 17–22.
2. Goonewardene S.S., Persad R. Robotic radical prostatectomy, day-case surgery and cardiac health: an opposing paradigm? *J Robot Surg* 2015, 9(4): 355, <https://doi.org/10.1007/s11701-015-0537-9>.
3. Пропедевтическая стоматология. Под ред. Базикяна Э.А. М: ГЭОТАР-Медиа, 2008; 768 с. *Propedevticheskaya stomatologiya* [Propaedeutic dentistry]. Pod red. Bazikyana E.A. [Bazikyana E.A. (editor)]. Moscow: GEOTAR-Media, 2008; 768 p.
4. Борисенко Г.Г., Лукина Г.И., Базикян Э.А., Ковалева А.М. Оценка морфологических изменений слизистой оболочки полости рта при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. *Клиническая медицина* 2009; 87(6): 36–38. Borisenko G.G., Lukina G.I., Bazikyana E.A., Kovaleva A.M. Assessment of morphological changes in oral mucosa in patients with gastrointestinal pathology. *Klinicheskaya meditsina* 2009; 87(6): 36–38.
5. Krasnovsky A.A. Jr., Drozdova N.N., Roubal Ya.V., Ivanov A.V., Ambartzumian R.V. Biophotonics of molecular oxygen: activation efficiencies upon direct and photosensitized excitation. *Chin Opt Lett* 2005; 3: S1–S4.
6. He G.S., Lin T.-C., Dai J., Prasad P.N., Kannan R., Dombroskie A.G., Vaia R.A., Tan L.-S. Degenerate two-photon-absorption spectral studies of highly two-photon active organic chromophores. *J Chem Phys* 2004; 120(11): 5275, <https://doi.org/10.1063/1.1647537>.
7. Chunikhin A.A., Bazikyana E.A., Krasnovsky A.A., Syrnikova N.V., Chobanyan A.G. The prospects for the improvement of the minimally invasive laser technologies for the photodynamic treatment of dental pathologies. *Rossiiskaya stomatologiya* 2015; 8(2): 70–74, <https://doi.org/10.17116/rosstomat20158271-74>.