

Володин П.Л., Иванова Е.В.

Компьютерное моделирование лазерного воздействия в режиме единичного микроимпульса и реакции белков хориоретинального комплекса для селективного и эффективного воздействия на клетки ретинального пигментного эпителия

Volodin P.L., Ivanova E.V.

Computer simulation of laser action in the regime of single micropulse and reactions of proteins chorioretinal complex for selective and effective action on the retinal pigment epithelium cells

ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, г. Москва

Цель исследования. Провести компьютерное моделирование единичного лазерного микроимпульса и оценить реакцию белков хориоретинального комплекса для определения селективного и эффективного воздействия на клетки РПЭ. **Методы исследования.** Компьютерное моделирование воздействия единичного лазерного микроимпульса на РПЭ выполнялось из расчета прозрачных оптических сред и средней степени пигментации глазного дна. **Параметры:** длина волны – 577 нм, диаметр пятна – 100 мкм, мощность – 0,5–10 Вт, длительность импульса – 5–1000 мкс. **Результаты.** Определены понятия эффективности (отношение объема денатурированного белка внутри слоя РПЭ ко всему объему слоя РПЭ) и селективности (отношение денатурированного белка внутри слоя РПЭ ко всему денатурированному белку) для оценки степени воздействия на РПЭ. Оптимальное значение F-меры для единичного импульса реализуется при длительности импульса 25 мкс и мощности около 4 Вт, а для 50 мкс – при 1,9 Вт. Отклонения от оптимальной зоны приведут к недостаточной эффективности без достижения клинического результата или к высокой эффективности с потерей селективности и повреждением прилежащих тканей. **Заключение.** Селективное и эффективное воздействие на РПЭ при различной длительности микроимпульса реализуется в ограниченном диапазоне мощности. При лечении патологии сетчатки необходим учет технических особенностей лазерной установки, индивидуальной прозрачности оптических сред и степени пигментации глазного дна пациента. **Ключевые слова:** микроимпульсное селективное лазерное воздействие, ретинальный пигментный эпителий.

Purpose. To conduct computer simulation of a single laser micropulse and to evaluate the reaction of proteins of the chorioretinal complex to determine the selective and effective effect on RPE cells. **Materials and methods.** Computer simulations of the effects of a single laser micropulse on RPE with the transparent optical media and the average degree of fundus pigmentation were conducted. **Parameters:** the wavelength was 577 nm, spot diameter 100 μ m, power – 0,5–10 W, pulse duration – 5–1000 μ s. **Results.** The degree of impact on the RPE were defined the concepts of efficiency (the ratio of denatured protein within the RPE layer to the entire volume of the layer of RPE) and selectivity (the ratio of denatured protein within the layer of RPE to all denatured protein). The optimal value of F-measure for a single pulse is realized with a pulse duration of 25 μ s and a power of about 4 W, and for 50 μ s at 1.9 W. Deviations from the optimum can lead to a lack of effectiveness without achieving a clinical result or high efficiency with loss of selectivity and damage to the adjacent tissues. **Conclusion.** The selective and effective effect on RPE at different times duration of the micropulse is realized in a limited power range. In the treatment of retinal pathology it is necessary to consider the technical features of the laser installation transparency of optical media and the degree of pigmentation of the patient's eye fundus. **Keywords:** selective micropulse laser treatment, retinal pigment epithelium.

Введение

Современная концепция лазерного лечения заболеваний макулярной области сетчатки заключается в попытке достижения максимально избирательного и одновременно эффективного воздействия на ретинальный пигментный эпителий (РПЭ) без нанесения необоснованного повреждения прилежащим тканям и структурам хориоретинального комплекса (ХРК) [6, 9, 11, 12, 15]. Одним из путей снижения степени повреждения прилежащей нейросенсорной сетчатки является уменьшение длительности используемых лазерных импульсов, а следовательно, времени теплового воздействия на ткани. Для этого используются диапазоны от нескольких десятков наносекунд до одной миллисекунды. При этом механизмы лазерного воздействия на РПЭ имеют существенные различия. Серийные лазеры, применяемые в настоящее время в офтальмологии, позволяют реализовывать режимы в области десятков и сотен микросекунд. В диапазоне от 1 мкс при соответствующих уровнях мощности лазерного излучения основным повреждающим механизмом РПЭ является термоденатурация протеинов [3, 4].

Для используемых в клинической практике лазерных установок, имеющих ограничения в технических характеристиках (по длительности микроимпульса и интервала между ними, а также мощности воздействия), одновременно эффективный и селективный микроимпульсный режим может быть реализован только в узком окне параметров [5]. С одной стороны, он ограничен наличием реального физического и терапевтического эффекта на клетки РПЭ, с другой – отсутствием такого эффекта на прилегающие ткани. Поэтому селективный микроимпульсный режим является компромиссным балансом между первым и вторым условием [1, 2, 8]. Для этого необходимо проведение специальных расчетов по определению оптимальных энергетических параметров лазерного излучения, а также диапазона селективного (воздействующего исключительно на пигментный эпителий сетчатки) и эффективного (обладающего необходимым лечебным эффектом) воздействия.

Цель – провести компьютерное моделирование единичного лазерного микроимпульса и оценить реакцию белков хориоретинального комплекса для определения селективного и эффективного воздействия на клетки ретинального пигментного эпителия.

Материалы и методы

Проведено компьютерное моделирование воздействия единичного импульса на ткани хориоретинального комплекса. Параметры модели: длина волны – 577 нм, диаметр пятна – 100 мкм, мощность – 0,5–10 Вт, длительность импульса – от 5 мкс до 1000 мкс. Коэффициент пропускания на отрезке роговица – сетчатка рассчитан для длины волны 577 нм. Оптическое пропускание структур переднего отрезка для лазерного излучения данной длины волны (часть энергии излучения, достигающая глазного дна), отражение от структур глазного дна и рассеивание определены с учетом прозрачных оптических сред. Коэффициент поглощения рассчитывался для средней степени пигментации глазного дна.

Модель включает описание следующих процессов:

- последовательное изменение свойств (характеристик) лазерного пучка по мере его распространения через структуры переднего отрезка глаза (фокусировка, оптические аберрации) и ткани хориоретинального комплекса (поглощение, рассеяние);
- формирование и эволюция температурных полей;
- моделирование физико-химических процессов денатурации;
- локализацию деструктивных изменений интраокулярных структур в результате воздействия лазерного излучения.

Результаты исследования и обсуждение

Для расчета процессов нагревания, остывания и распространения тепла можно воспользоваться различными способами. Один из подходов продемонстрирован в статье J. Roeder с соавт. [16]. В этой работе проведено вычислительное моделирование процессов нагревания от множества гранул РПЭ. При длительности импульса меньше 5 мкс необходимо учитывать гранулированность РПЭ, а также процессы, не связанные с тепловой денатурацией. При длительности импульса более 5 мкс происходит процесс перераспределения тепла между гранулами. В модели, описанной J. Roeder и R. Birngruber, при длительности импульса от 5 до 1000 мкс профиль температуры сглаживается, что позволяет перейти к модели тонкого остывающего мелано-протеинового диска. Область применения уравнения теплопроводности в одномерном пространстве возможна при диаметре пятна 100 мкм, длине волны 577 нм, при длительности импульса от 5 до 1000 мкс. Так как диаметр пятна воздействия значительно больше толщины слоя пигментного эпителия и расстояния, на которое распространится тепло, пограничные эффекты практически не влияют на основную часть пятна [14, 16]. Модель распространения тепла в одномерном стержне описывается уравнением теплопроводности в частных производных:

$$C_p dT / dt = K d^2T / dx^2 + F(x, t), \quad (1)$$

где C – теплоемкость, 3100–4200 Дж/кг·°С; ρ – плотность, 1170 кг/м³; K – теплопроводность, 0,63 Вт/м·°С; $F(x, t)$ – объемная плотность источника энергии.

Для определения объемной плотности источника энергии используются следующие значения: коэффициент пропускания $\eta = 75\%$, коэффициент поглощения

в слое пигментного эпителия – 500 см⁻¹, толщина слоя РПЭ – 12 мкм, при условии гомогенной плотности распределения гранул, диаметр пятна – 100 мкм, мощность лазера в разном диапазоне значений – от 0,1 до 15 Вт.

Данное уравнение решалось численно с помощью специальной компьютерной программы. В действительности использовали более сложную функцию распределения источников тепла $F(x, t)$, соответствующую реальному ослаблению потока, проходящего через РПЭ. Профиль температуры остывания 1 импульса при длительности импульса 50 мкс, мощности 2 Вт, диаметре пятна 100 мкм, длине волны 577 нм при расчетном времени 50 мкс и 10 000 мкс представлен на рис. 1–3.

После получения полей температуры во времени необходимо рассчитать распределение концентрации денатурированного белка. Для этого провели моделирование процессов необратимой денатурации белков хориоретинального комплекса глаза.

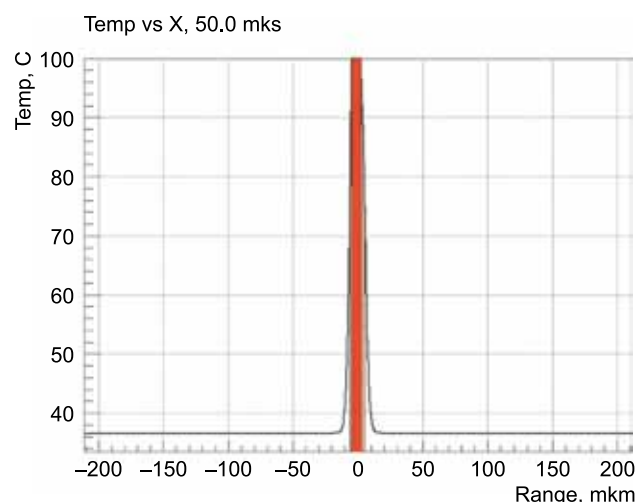


Рис. 1. Профиль температуры сразу после окончания действия единичного импульса (длительность – 50 мкс, мощность – 2,0 Вт). Расчетное время – 50 мкс

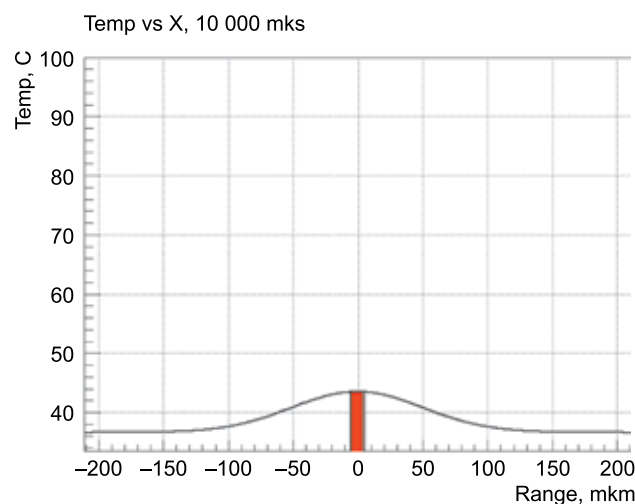


Рис. 2. Профиль температуры через 10 000 мкс после воздействия единичного импульса (длительность – 50 мкс, мощность – 2,0 Вт). Расчетное время – 10 000 мкс

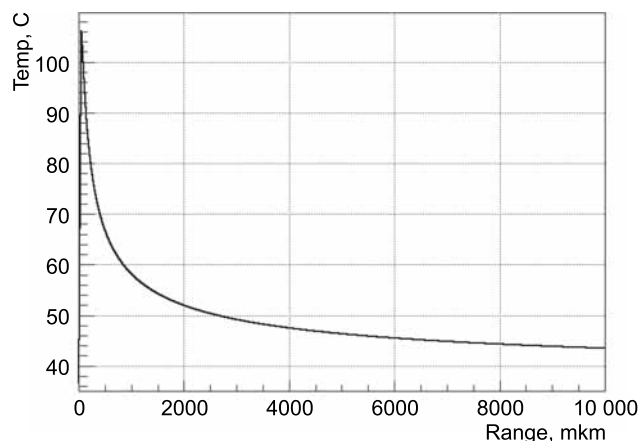
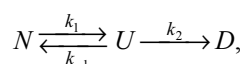


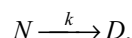
Рис. 3. Зависимость температуры в центре слоя клеток РПЭ от начала действия единичного импульса (длительность – 50 мкс, мощность – 2,0 Вт). Расчетное время – 10 000 мкс

Большинство исследователей для описания процессов необратимой денатурации используют модель Ламри–Эйринга, включающую последовательно протекающие обратимую и необратимые стадии.



где N, U и D – нативное, частично развернутое и денатурированное состояния белка; k_1 , k_{-1} и k_2 – константы скорости соответствующих реакций.

Если скорость второй стадии велика, модель Ламри–Эйринга может быть сведена к одностадийной необратимой модели:



Как показано в работе А.Е. Любарева и Б.И. Курганова [10], данная одностадийная модель применима для описания денатурации многих белков. Тогда, согласно физической химии, кинетическое уравнение данной реакции будет выглядеть следующим образом:

$$k \cdot C = -\frac{dC}{dt}, \quad (2)$$

где k – константа скорости реакции; C – концентрация нативного белка.

Зависимость концентрация нативного белка от времени будет выглядеть как

$$C = C_0 e^{-kt}.$$

Для расчета коэффициента k воспользуемся теорией абсолютных реакций на основе модели активированного комплекса, согласно которой константа скорости реакции равняется

$$k_c = \varpi \frac{k_B T}{h} K^* = \varpi \frac{k_B T}{h} \exp(-\Delta G^* / RT), \quad (3)$$

где k – постоянная Больцмана; h – постоянная Планка; T – абсолютная температура [K°]; R – универсальная газовая постоянная; ΔG – изменение свободной энергии Гиббса, которое в предположении о постоянстве давления определяется выражением:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S,$$

где ΔH – изменение энтальпии (Дж/моль), ΔS – изменение энтропии (Дж/моль·K°) [7].

ϖ – определение параметра выходит за рамки теории абсолютных скоростей. Однако для сложных реакций считается равным 1, что не противоречит экспериментальным данным [7]. $\Delta H = 360\,000$ Дж/моль, $\Delta S = 890$ Дж/моль·град. Показатели ΔH и ΔS для комплекса белков и других органических структур РПЭ были определены *in vivo* в серии лазерных экспериментов на приматах (rhesus macaque) [3, 4] и в дальнейшем уточнены по результатам применения методов моделирования в офтальмохирургии [1, 5, 13].

Например, при нахождении белковых структур РПЭ при температуре 75 °C коэффициент скорости реакции, полученный из уравнения 3, $k \approx 2,05 \cdot 10^5$, тогда необходимое время для получения уменьшения концентрации нативного белка в e раз $t = 1/k = 4,88 \cdot 10^{-6}$ с.

То есть в модели одностадийной необратимой денатурации за время приблизительно в 5 мкс концентрация нативных белков снизится в e раз и составит около 37% от исходной. Такой уровень разрушения белков формально обычно принимается за факт термического повреждения тканей. Данные расчеты согласуются с другими работами [14, 16]. Расчет поля денатурации (концентрации нативной формы) белка в тканях хориоретинального комплекса представлен на рис. 4.

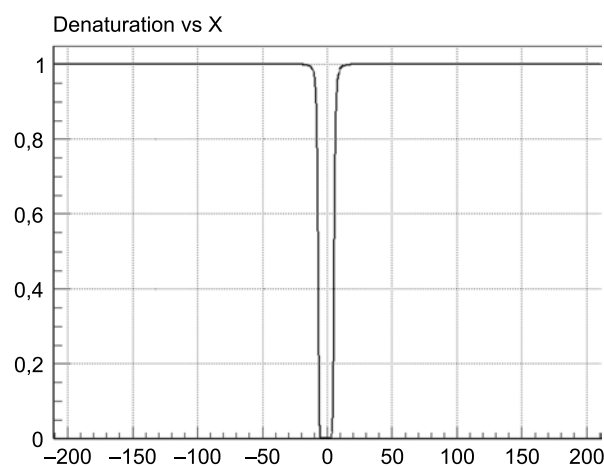


Рис. 4. Распределение профиля доли концентрации нативного (неразрушенного) белка в тканях хориоретинального комплекса при воздействии единичного импульса (длительность – 50 мкс, мощность – 2 Вт). Расчетное время – 10 000 мкс

Для оценки степени воздействия на РПЭ введем понятия эффективности и селективности. Эффективность – отношение количества денатурированного белка внутри слоя РПЭ ко всему количеству белка внутри слоя РПЭ. Селективность – отношение количества денатурированного белка внутри слоя РПЭ ко всему количеству денатурированного белка.

Для объединения двух показателей в один необходимо ввести некоторую единую величину, усредняющую эффективность и селективность. Арифметическое среднее в данном случае не подходит. Так как, например, при селективности, равной 0, и эффективности 100% (коагуляция тканей ХРК) среднее будет 50%.

Поэтому введем величину – среднее гармоническое, которая лишена этого недостатка. В приведенном примере ее значение будет равно 0. Назовем данную величину F-мера.

F-мера (F-measure) вычисляется по формуле:

$$F = 2ES/(E + S),$$

где F – F-measure, E – эффективность, S – селективность.

На рис. 5–7 представлены результаты компьютерного моделирования в виде графиков эффективности, селективности и F-меры для одного импульса с различной длительностью: 25, 50 и 100 мкс, при мощности от 0,5 до 5 Вт. Время, учитываемое в моделировании, составляет

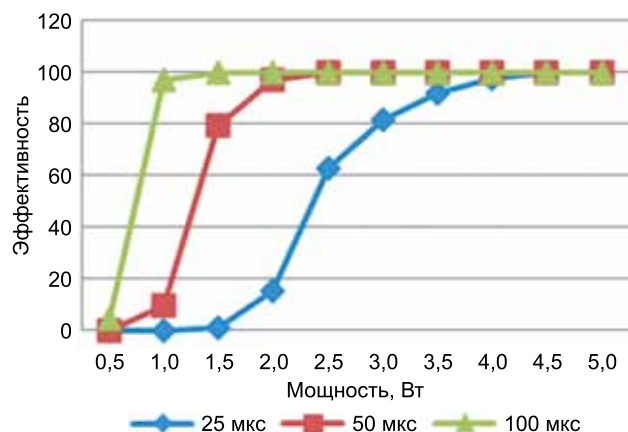


Рис. 5. Зависимость эффективности от мощности для единичного импульса длительностью 25, 50 и 100 мкс

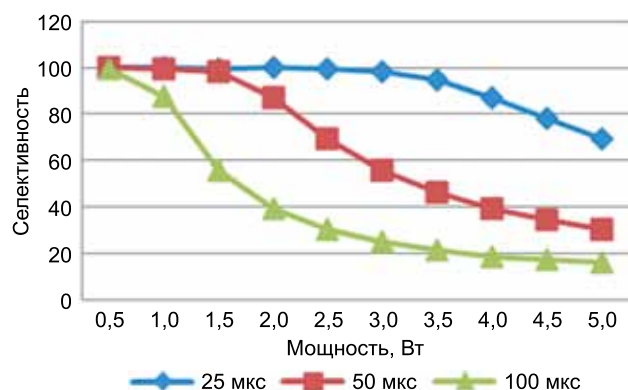


Рис. 6. Зависимость селективности от мощности для единичного импульса с длительностью 25, 50 и 100 мкс

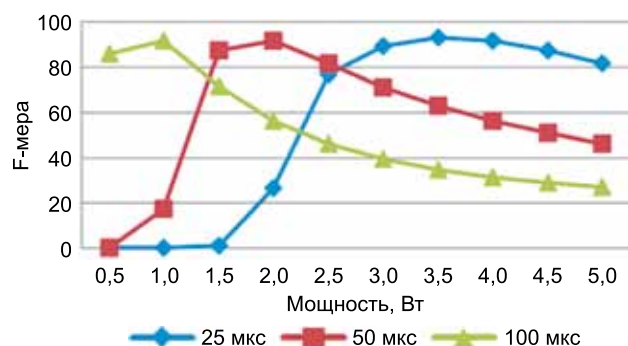


Рис. 7. Зависимость F-меры от мощности для единичного импульса длительностью 25, 50 и 100 мкс

10 000 мкс. Из рассмотренных режимов максимально эффективное и селективное воздействие на клетки РПЭ одним импульсом реализуется при длительности импульса 25 мкс и мощности около 4 Вт.

Однако технические характеристики большинства современных серийных лазерных установок не позволяют обеспечить требуемое сочетание энергетических параметров (длительности импульса и мощности). При длительности импульса 50 мкс максимально эффективное и селективное воздействие на клетки РПЭ одним импульсом реализуется при мощности, равной 1,9 Вт. Данные режимы уже доступны на лазерных установках, применяемых в клинической практике.

Исходя из данных, представленных на рис. 7, селективный и эффективный микроимпульсный режим для каждой длительности импульса реализуется в ограниченном диапазоне параметров. При этом следует учитывать, что у каждого пациента в зависимости от возраста имеется различная прозрачность оптических сред, а также индивидуальная степень пигментации глазного дна. Также отклонения модели могут наблюдаться при использовании различных лазерных систем с отличающимися настройками и техническими характеристиками лазерного пучка (дисперсия свойств лазерного пучка).

В силу вышеуказанных причин при лечении конкретного пациента на определенной лазерной установке возможны значительные отклонения от оптимальной зоны, что может привести либо к недостаточной эффективности, либо к потере селективности при высокой эффективности. В первом случае клинический эффект не будет достигнут. Во втором случае неизбежно необоснованное повреждение нейросенсорной сетчатки и подлежащей хориоидеи.

Важно отметить, что чем длиннее импульс, тем сложнее оказаться в оптимальной области с помощью подбора мощности. Поэтому для индивидуального подхода и персонализированного лечения каждого пациента, особенно при локализации патологического процесса в наиболее функциональной значимой области сетчатки – фовеальной аваскулярной зоне, необходимо проведение предварительного тестирования различных режимов на тканях хориоретинального комплекса с различными значениями эффективности и селективности.

В будущих научных исследованиях представляется интересным сопоставить полученные в модели данные с клинической практикой. Для этого необходимо оценить степень воздействия лазерного излучения в различных режимах на структуры хориоретинального комплекса с помощью современных методов диагностических исследований и компьютерной обработки полученных данных.

Выводы

Разработанная компьютерная модель позволяет определять необходимые энергетические параметры единичного лазерного микроимпульса для достижения одновременного эффективного и селективного воздействия на клетки пигментного эпителия сетчатки.

С помощью представленной компьютерной модели возможен расчет оптимального диапазона энергетиче-

ских параметров микроимпульсного воздействия для достижения необходимого клинического эффекта. Данные расчеты могут быть положены в основу технического обоснования при проектировании и создании новых серийных лазерных установок для офтальмологии.

Литература

1. Володин П.Л., Желтов Г.И., Иванова Е.В., Соломин В.А. Калибровка параметров микроимпульсного режима лазера IRIDEX IQ 577 с помощью компьютерного моделирования и методов диагностики глазного дна // Современные технологии в офтальмологии. – 2017. – № 1. – С. 52–54.
2. Володин П.Л., Иванова Е.В., Соломин В.А., Письменская В.А., Хрисанфова Е.С. Первый опыт применения селективного микроимпульсного лазерного воздействия (577 нм) с индивидуальным подбором параметров у пациентов с острой центральной серозной хориоретинопатией // Практическая медицина. – 2017. – Т. 2. – № 9 (110). – С. 55–59.
3. Гапеева Т.А., Глазков В.Н., Подольцев А.С., Желтов Г.И., Мешков Г.Г. Лазерный метод определения температурной зависимости константы скорости реакции фотокоагуляции *in vivo* // Весці АН БССР. Серія фізика-матэматычных навук. – 1986. – № 3. – С. 81–85.
4. Желтов Г.И. Воздействие интенсивного оптического излучения на ткани глаз: исследования и приложения: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Минск, 1996. – 92 с.
5. Желтов Г.И., Глазков В.Н., Иванова Е.В. Селективное действие лазерных импульсов на ретинальный пигментный эпителий. Физические основы // ARS-MEDICA. – 2012. – № 3 (58). – С. 78–85.
6. Иванова Е.В. Влияние лазерного лечения на структурно-функциональные нарушения центральной зоны сетчатки, выявленные после микроинвазивной эндовитреальной хирургии отслойки сетчатки: Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2010. – 153 с.
7. Картель Н.Т., Лобанов В.В. Теория активированного комплекса. Книга 1. Физика поверхности. – Киев: Институт химии поверхности НАН Украины; Интерсервис, 2015. – Т. 1. Глава 9. – С. 363–389.
8. Качалина Г.Ф., Желтов Г.И., Иванова Е.В. Оптимизация режимов лазера IRIS Medical IQ 577 для избирательного воздействия на пигментный эпителий сетчатки // Офтальмология. Восточная Европа. – 2015. – № 4 (27). – С. 69–77.
9. Качалина Г.Ф., Желтов Г.И., Иванова Е.В. Современные подходы применения микроимпульсного режима при лечении заболеваний центральной зоны сетчатки // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15. – № 3-3. – С. 225–227.
10. Любарев А.Е., Курганов Б.И. Изучение необратимой тепловой денатурации белков методом дифференциальной сканирующей калориметрии // Успехи биологической химии. – 2000. – Т. 40. – С. 43–84.
11. Тахчиди Х.П., Качалина Г.Ф., Желтов Г.И., Иванова Е.В. Новая технология восстановления зрительных функций, основанная на избирательном воздействии коротких импульсов лазерного излучения на пигментный эпителий сетчатки // Офтальмология в Беларуси. – 2010. – № 4 (07). – С. 79–83.
12. Тахчиди Х.П., Качалина Г.Ф., Желтов Г.И., Касмынина Т.А., Горшков И.М., Иванова Е.В. Эффективность новой лазерной технологии микроимпульсного воздействия в лечении структурно-функциональных нарушений после эндовитреальной хирургии отслойки сетчатки // Офтальмохирургия. – 2010. – № 2. – С. 35–41.
13. Федоров С.Н., Ивашина А.И., Антонова Е.Г., Корицунова Н.К., Божков Н.А., Карпов В.М., Безрук Г.А. Математическое моделирование термохимических процессов при термокоагуляции // Офтальмохирургия. – 1992. – № 3. – С. 8–13.
14. Hayes J.R., Wolbarsh M.L. Thermal model for retinal damage induced by pulsed laser // Aerospace Medicine. – 1968. – Vol. 39. – № 5. – P. 474–480.
15. Ivanova E.V., Volodin P.L., Zheltov G.I. New technique of treatment acute central serous chorioretinopathy based on selective influence of short laser pulses on retinal pigment epithelium // European Journal of Ophthalmology. – 2017. – Vol. 27. – Issue 2. – Mar-Apr 2017. – P. 67e.
16. Roeder J., Hillenkamp F., Flotte T.J., Birngruber R. Microphotocoagulation: selective effects of repetitive short laser pulses // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1993. – Vol. 90. – P. 8643–8647.

Поступила в редакцию 27.12.17 г.

Для контактов: Володин Павел Львович
E-mail: volodinpl@mntk.ru