

УДК 616.5.617-7

DOI: 10.37895/2071-8004-2020-24-2-3-95-103

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СЕЛЕКТИВНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ «ЗЕЛЕННОГО» ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОДЕРЖАЩИЕ ГЕМОГЛОБИН ТКАНИ

Н.Е. Горбатова^{1,2}, Д.А. Сафин¹, Э.Н. Гасанова¹, С.А. Золотов¹, А.А. Сироткин³, Г.П. Кузьмин³, А.С. Тертычный⁴, Н.В. Станкова⁵, М.В. Ременникова⁶, О.В. Тихоневич³

¹ ГБУЗ НИИ Неотложной детской хирургии и травматологии ДЗ г. Москвы, г. Москва, Россия

² ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, г. Москва, Россия

³ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия

⁵ Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России, Московская область, г. Красногорск, Россия

⁶ Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН, ПАО «Пермская научно-производственная приборостроительная компания» Лаборатория агробиофотоники, г. Пермь, Россия

Резюме

На сегодняшний день сохраняется проблема лечения патологических субэпителиальных капиллярных структур, в частности капиллярной ангиодисплазии кожи. Одним из перспективных методов ее устранения рассматривают фототермолиз лазерным излучением желто-зеленого спектрального диапазона на основе селективного поглощения пигментом, гемоглобином, крови в сосудах, в дальнейшем их склерозировании и регрессии. *Цель* – провести сравнительное экспериментальное исследование *in vitro* на модельных объектах для подтверждения селективности «зеленого» лазерного излучения содержащими гемоглобин тканями, в частности, субэпителиальных сосудистых структур. *Материал и методы*. В работе использовали экспериментальный образец твердотельного лазерного аппарата на основе полупроводниковых диодов, генерирующего лазерное излучение зеленого спектрального диапазона с длиной волны 525 нм, вблизи пика поглощения гемоглобина и оксигемоглобина. Модельными объектами служили охлажденные образцы печени, кожи и комбинированный из них препарат лабораторных животных мини-свиней светлогорской популяции. В исследовании проведено сравнение результатов воздействия указанного «зеленого» лазерного излучения на данные объекты на основании морфологических, макроскопических и гистологических исследований зон повреждения. *Результаты*. В результате исследования были определены характерные различия зон повреждения на модельных объектах, печени и кожи. На печени отмечены локально более выраженные изменения, наличие минусовой деструкции в виде узкого клиновидного кратера с относительно неширокими зонами компактного и ячеистого некроза, с четкими границами между собой и неизменными окружающими тканями. На коже присутствует объем минусовой деструкции значительно меньшего размера с зоной периферической коагуляции в 3–5 раз шире и без компактных и ячеистых слоев, а также без четких границ с неизменными тканями. В случае комбинированного образца «зеленое» лазерное излучение, меньше поглощаемое кожей, проходит через нее, что обеспечивает воздействие на подлежащую печень, где образуются по сравнению с кожей более выраженные термические изменения. *Заключение*. Подтверждена селективность воздействия «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм на содержащие гемоглобин ткани. Данный факт перспективен для селективного фототермолиза патологических субэпителиальных капиллярных структур, что позволит обеспечить прецизионность лечения при минимальном повреждении тканей кожи.

Ключевые слова: лазерное излучение «зеленого» спектра, селективная фотодеструкция, капиллярная ангиодисплазия кожи, модельные объекты печени и кожи мини-свиней, морфологическое исследование.

Для цитирования: Горбатова Н.Е., Сафин Д.А., Гасанова Э.Н., Золотов С.А., Сироткин А.А., Кузьмин Г.П., Тертычный А.С., Станкова Н.В., Ременникова М.В., Тихоневич О.В. Экспериментальное подтверждение селективности воздействия «зеленого» лазерного излучения на гемоглобин содержащие ткани // Лазерная медицина. – 2020. – Т. 24. – № 2–3. – С. 95–103.

Контактная информация: Горбатова Н.Е., e-mail: natashgorbatov@yandex.ru

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE SELECTIVITY EFFECT OF «GREEN» LASER LIGHT AT HEMOGLOBIN-CONTAINING TISSUES

Gorbatova N.E.^{1,2}, Safin D.A.¹, Gasanova E.N.¹, Zolotov S.A.¹, Sirotkin A.A.³, Kuzmin G.P.³, Tertychny A.S.⁴, Stankova N.V.⁵, Remennicova M.V.⁶, Tikhonovich O.V.³

¹ Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Moscow, Russia

² National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russia

³ Prokhorov General Physics Institute, Moscow, Russia

⁴ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁵ Research Center of Biomedical Technologies, Krasnogorsk, Moscow region, Russia

⁶ Perm Federal Research Center, PAO Perm Scientific and Instrument-Making Company, laboratory of agrobiophotonics, Perm, Russia

Abstract

Currently, medical specialists still face problems while treating pathological subepithelial capillary structures, in particular, capillary angiodyplasias of the skin. One of the promising techniques for their removal is photothermolysis by laser light of yellow-green spectral range which is selectively absorbed by pigments, hemoglobin, blood in the vessels with further vessel hardening and regression. *Purpose*. To make a comparative trial *in vitro* at experimental models so as to confirm the effect of selectivity of «green» laser light at hemoglobin-containing tissues, in particular, at subepithelial vascular structures. *Material and methods*: An experimental solid-state semiconductor laser, generating green light with wavelength

525 nm which is near the absorption peak of hemoglobin and oxyhemoglobin, was used. Experimental models were cooled samples of the liver, skin and a preparation combined of them as well as laboratory minipigs of Svetlogorsk population. In the trial, the researchers compared changes developed after the irradiation of abovementioned objects with «green» laser light. To make comparison, morphological, macroscopic and histological findings from irradiated zones were analyzed. *Results.* Specific differences in the damaged zones of experimental models as well as in the liver and skin were found. While examining the liver, one can see locally more pronounced changes and a minus destruction looking like a narrow sphenoid-shaped crater with relatively narrow zones of compact and cellular necrosis, clear boundaries between them as well as unchanged adjacent tissues. On the skin, one can see a minus destruction of much smaller size with zone of peripheral coagulation 3–5 times wider and without compact and cellular layers; there are also no clear boundaries with unchanged tissues. In the combined sample, green laser light – which is less absorbed by the skin – penetrates through it, thus affecting the underlying liver where one can see more pronounced thermal changes, if to compare with the skin. *Conclusion.* The selectivity effect of «green» laser light with wavelength 525 nm at hemoglobin-containing tissues has been confirmed. This conclusion is a promising finding for applying the selective photothermolysis in pathological subepithelial capillary structures which will ensure precise treatment with minimal damage to skin tissues.

Key words: *laser light of «green» spectral range, selective photodestruction, capillary angiodysplasia of skin, model objects of minipig liver and skin, morphological examination.*

For citations: Gorbatoва N.E., Safin D.A., Gasanova E.N., Zolotov S.A., Sirotkin A.A., Kuzmin G.P., Tertychny A.S., Stankova N.V., Remennicova M.V., Tikhonovich O.V. Experimental substantiation of the selectivity effect of «green» laser light at hemoglobin-containing tissues. *Lazernaya medicina.* 2020; 24 (2–3): 95–103. [In Russ.]

Contacts: Gorbatoва Natalia, e-mail: natashgorbatov@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день сохраняется проблема лечения капиллярной ангиодисплазии кожи у взрослых и детей [1–3].

Несмотря на хорошие результаты лечения различными видами лазерного излучения специалисты отмечают неудовлетворительный клинический и эстетический результат лечения, обусловленный фотодеструкцией не только содержащих гемоглобин капиллярных структур, но и не прогнозируемым термическим повреждением кожи [4, 5]. Все это отрицательно сказывается на результатах лечения и может служить причиной развития рубцовой деформации кожных покровов, гиперпигментации и других негативных последствий в зоне воздействия [6]. Данный факт диктует выбор такого лазерного излучения, которое обеспечит селективное воздействие на субэпителиальные сосудистые структуры при минимальном термическом повреждении кожи, включая зону ее роста [6].

В настоящее время одним из перспективных и результативных методов устранения капиллярной ангиодисплазии кожи рассматривают фотодеструкцию лазерным излучением желто-зеленого спектрального диапазона на основе избирательного поглощения лазерного излучения пигментом, гемоглобином, крови в сосудах, в дальнейшем их склерозировании и регрессии.

Известно, что результат воздействия света на биологическую ткань определяют три основных фактора: длина волны излучения, длительность воздействия и плотность поглощенной энергии. Наиболее важный параметр лазерного излучения – это длина его волны, которая определяет глубину его проникновения в биоткань и селективность поглощения различными ее элементами, хромофорами [3].

Лазерное излучение желто-зеленого спектрального диапазона имеет кривую поглощения гемоглобином с двумя локальными максимумами, зеленое около 520–540 и желтое 570–580 нм, в меньшей степени оно поглощается меланином и незначительно водой [6].

Однако именно зеленая длина волны 520–540 нм почти в равной степени оказывает избирательное воздействие на гемоглобин и оксигемоглобин, что представляет наибольший интерес для цели селективного фототермолиза субэпителиальных капиллярных структур, преимущественно содержащих кровь смешанного характера.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сравнительное экспериментальное исследование *in vitro* на образцах печени и кожи мини-свиней светлогорской популяции было выполнено для подтверждения селективности «зеленого» лазерного излучения содержащими гемоглобин тканями, что необходимо для эффективной фотодеструкции субэпителиальных капиллярных структур кожи.

Объектами исследования были выбраны охлажденные образцы печени и кожи биологических моделей, лабораторных животных мини-свиней (*Sus salvanus*) светлогорской популяции, предоставленных ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России». Мини-свиньи (*Sus salvanus*) имеют наибольшее сходство по анатомическому строению и физиологии с человеком. Ткань печени с относительно однородной структурой и значительным содержанием гемоглобина можно считать оптимальным объектом для изучения селективности «зеленого» лазерного излучения гемоглобином, а кожу – со значительно меньшим его содержанием, объектом сравнения [7].

Лабораторные животные, мини-свиньи были использованы в количестве 3 особей в возрасте 8 месяцев. Забор экспериментального материала, печени и светлой кожи из области живота мини-свиней для исследования осуществляли в момент забивки свиных, далее сразу образцы помещали в охлажденный до 5 градусов по Цельсию физиологический раствор. Не более чем через два часа охлажденные образцы тканей мини-свиней были задействованы в экспериментальных исследованиях.

В работе использовали экспериментальный образец твердотельного лазерного аппарата на основе полупроводниковых диодов, генерирующих излучение в зеленом спектральном диапазоне с длиной волны 525 нм, вблизи пика поглощения гемоглобина и оксигемоглобина, специально разработанный для целей медицины в Институте общей физики им. А.М. Прохорова РАН [8].

Использовали «зеленое» лазерное излучение с длиной волны 525 нм с постоянными параметрами частоты следования импульсов 10 Гц и диаметром лазерного пятна на поверхности 0,8 мм. В работе меняли следующие параметры: четыре режима средней мощности: первый – 0,5 Вт, второй – 1 Вт, третий – 2 Вт и четвертый – 3 Вт; длительность импульса – 2, 5 и 10 мс и экспозицию воздействия – 5, 10 и 30 секунд, а также их различные сочетания.

В работе было выполнено три серии исследования для сравнительного изучения результатов воздействия «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм на охлажденные образцы печени, кожи и комбинированный препарат, состоящий из кожи и под ней печени. В первой серии эксперимента лазерным излучением с разными режимами осуществляли воздействие на образцы кусочков печени через ее капсулу. Во второй серии для сравнения действовали на образцы кожи с использованием режимов предыдущей серии. В третьей серии на образцы комбинированного препарата через кожу на печень осуществляли воздействие лазерным излучением с такими же режимами. Во всех случаях на поверхности объектов исследования формировали зоны воздействия точечно контактно неподвижным пятном лазерного излучения с применением различных сочетаний его параметров.

Непосредственно при выполнении эксперимента изучали визуально определяемые макроскопические изменения в зоне воздействия на поверхности образца: выраженность термических изменений, размер и форму минусового дефекта, кратера, ширину и характер зоны периферического коагуляционного повреждения. В дальнейшем выполняли гистоморфологическое исследование соответствующих препаратов с морфометрической оценкой. На основании сравнительного анализа результатов макроскопического и гистологического исследования зон повреждения модельных объектов оценивали эффективность «зеленого» лазерного излучения (525 нм) для цели селективной фотодеструкции содержащих гемоглобин тканей, в частности, субэпителиальных сосудистых структур.

Образцы тканей с зонами лазерного воздействия для гистологического исследования фиксировали в 10% нейтральном формалине. Дальнейшую обработку осуществляли в автоматическом режиме в аппарате для гистологической проводки фирмы Excelsior («Termo Scientific», Великобритания) и заливали в парафин на аппарате EC350 («Microm», Германия). С парафиновых блоков получали срезы

толщиной 2–3 мкм на микротоме HM 355S с системой переноса срезов STS («Termo Scientific», Великобритания). Полученные гистологические препараты депарафинировали, затем окрашивали гематоксилином и эозином. Готовые окрашенные гистологические препараты под покровным стеклом просматривали в микроскопе CX41 («Olympus», Япония). Для получения микрофотографий гистологические препараты были отсканированы на микроскопе Panoramic Midi («3DHISTECH», Венгрия) с программной обработкой изображения, для оценки морфометрических параметров термического повреждения тканей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В первой серии экспериментального исследования на образцах кусочков печени был уточнен характер термического воздействия и определен диапазон режимов «зеленого» лазерного излучения (525 нм), необходимый для эффективной фотодеструкции содержащей гемоглобин ткани.

Результаты исследования показали, что изменения на печени начинают хорошо определяться при использовании лазерного излучения с максимально энергоемкими параметрами первого режима (мощность – 0,5 Вт, длительность импульса – 10 мс и экспозиция – 30 с).

Эффект термической фотодеструкции усиливается в соответствии с увеличением мощности, а также большей длительности импульса и экспозиции параметров второго, третьего и максимально выражен при четвертом режиме (мощность – 3,0 Вт, длительность импульса – 10 мс и экспозиция – 30 с).

Во всех случаях определяемые характерные изменения в зонах воздействия на печени сохраняются, присутствуют участки, представленные относительно широким и глубоким кратером с окаймляющей выраженной зоной коагуляции его стенок.

На соответствующих гистологических препаратах отмечается минусовая деструкция в виде кратера, поверхность стенок которого местами выполнена тонким слоем компактного коагуляционного некроза, далее под ним слой более широкого ячеистого некроза, под которым расположен относительно узкий участок гомогенно коагулированных тканей с четкими границами перехода в неизмененные тканевые структуры.

На основании анализа макроскопических и гистоморфологических исследований первой экспериментальной серии было определено, что «зеленое» лазерное излучение (525 нм) при всех использованных в эксперименте параметрах со второго по четвертый режим гарантировано обеспечивает эффект фотодеструкции содержащей гемоглобин ткани печени. Примеры представлены на рис. 1–4.

Во второй серии эксперимента было отмечено, что на кокетермические изменения начинают хорошо определяться только при использовании наиболее агрессивных по энергетике параметров второго режима (1 Вт, 10 мс, 30 с).

С увеличением энергетической активности воздействия при третьем и четвертом режиме проявления фотодеструкции нарастают и становятся хорошо определяемые визуально и на гистологических препаратах. Минусовая деструкция тканей с образованием кратера отмечается только при самых агрессивных энергетических параметрах четвертого режима (3 Вт, 10 мс, 30 с).

Во всех случаях в участках воздействия на коже присутствовала относительно широкая и глубоко

распространенная зона коагуляционных изменений без четких границ с окружающими тканевыми структурами. Примеры представлены на рис. 5 и 6.

Сравнительный анализ результатов первой и второй серии экспериментального исследования



Рис. 1. Макропрепарат печени, режим 2 (1 Вт, 10 мс, 30 с). Глубокие дефекты, кратеры диаметром до 1,5 мм, по краю коричнево-желтого цвета коагуляционный венчик, общий диаметр повреждения до 3,0 мм

Fig. 1. Liver macropreparation, mode 2 (1 W, 10 ms, 30 s). Deep defects, craters up to 1.5 mm in diameter; coagulation rim along brown-yellow edges; total damage diameter up to 3.0 mm

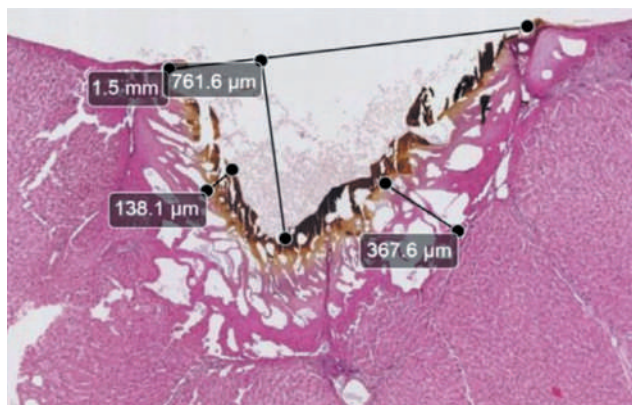


Рис. 2. Гистологический препарат печени, режим 2 (1 Вт, 10 мс, 30 с). В зоне воздействия определяется глубокий дефект треугольной формы, диаметром на поверхности 1,5 мм, и проникающий на глубину на 761,6 мкм. На поверхности краев стенок дефекта узкий до 138,1 мкм коричневого цвета слой компактного некроза, под ним широкий до 367,6 мкм участок с выраженной вакуолизацией ткани. Балочная структура местами сохранена. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Fig. 2. Histological preparation of the liver, mode 2 (1 W, 10 ms, 30 s). In the irradiated zone, a deep triangular defect with diameter 1.5 mm on the surface which penetrates up to 761.6 μm deep. On the surface of edges of defect walls, there is a narrow layer of compact necrosis up to 138.1 μm of brown color; under it, there is a wide area up to 367.6 μm with marked tissue vacuolization. Hepatic cords are in place. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$



Рис. 3. Макропрепарат печени, режим 4 (3 Вт, 10 мс, 30 с). Выраженная деструкция ткани в виде воронки с широким до 2,0 мм кратером в центре, края коричнево-желтого цвета шириной до 1,5 мм, общая зона термического повреждения в диаметре до 5,0 мм

Fig. 3. Macropreparation of the liver, mode 4 (3 W, 10 ms, 30 s). Expressed tissue destruction looks like a funnel with a wide crater up to 2.0 mm in the center; edges are of brown-yellow color up to 1.5 mm wide; total zone of thermal damage is up to 5.0 mm

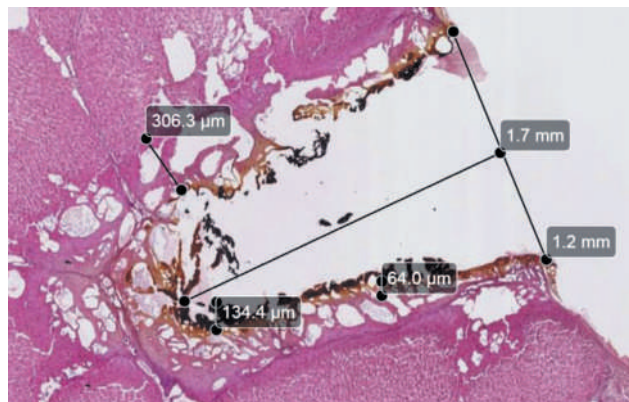


Рис. 4. Гистологический препарат печени, режим 4 (3 Вт, 10 мс, 30 с). В зоне воздействия глубокий дефект заостренной треугольной формы, занимающий участок на поверхности диаметром до 1,2 мм и проникающий на глубину 1,7 мм. По краям стенок дефекта темно-коричневого цвета узкая зона компактного коагуляционного некроза, максимальной толщины от 64 мкм до 134,4 мкм, под ней участок с выраженной вакуолизацией ткани, ячеистого некроза, толщиной до 306,3 мкм. Балочная структура местами хорошо сохранена. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Fig. 4. Histological preparation of the liver, mode 4 (3 W; 10 ms; 30 s). In the affected zone, there is a deep defect of a pointed triangular shape which covers the surface area with diameter of up to 1.2 mm and penetrates as deep as 1.7 mm. Along the defect wall edges, there is a dark brown strip of compact coagulation necrosis with maximal thickness from 64 μm to 134.4 μm ; under it, there is an area with pronounced tissue vacuolization, cellular necrosis, up to 306.3 μm thick. Hepatic cords are well in place. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$

показал, что при одинаковых параметрах воздействия «зеленого» лазерного излучения (525 нм) было отмечено значительно меньшее минусовое фотодеструктивное воздействие на кожу по сравнению с печенью и определены характерные особенности их повреждений.

На печени определено более локально выраженное воздействие, что соответственно обуславливает формирование большей минусовой деструкции с образованием кратера и четко определяемых границ слоев коагуляции (рис. 1–4).

На коже отмечено наличие менее выраженных минусовых деструктивных повреждений, но образование более распространенной, в 3–5 раз большей ширины и почти гомогенного характера зоны коагуляционных

изменений, без отчетливой границы с неповрежденными тканями (рис. 5, 6).

В третьей серии экспериментального исследования, в случае комбинированного образца, были изучены особенности воздействия «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм на печень через кожу. Отчетливый эффект термических изменений на печени под минимально поврежденной кожей был отмечен только начиная с максимальных энергетических параметров второго режима (1 Вт, 10 мс, 30 с), что представлено на рис. 7–9.



Рис. 5. Макропрепарат кожи, режим 3 (2 Вт, 10 мс, 30 с). Кожа в зоне воздействия приподнята в виде ареолы диаметром до 3,0 мм, в центре слегка желтоватого цвета углубление без кратера

Fig. 5. Macropreparation of the skin, mode 3 (2 W, 10 ms, 30 s). Skin in the irradiated area is raised in the form of areola up to 3.0 mm in diameter; in the center, there is a depression without a crater of slightly yellowish color

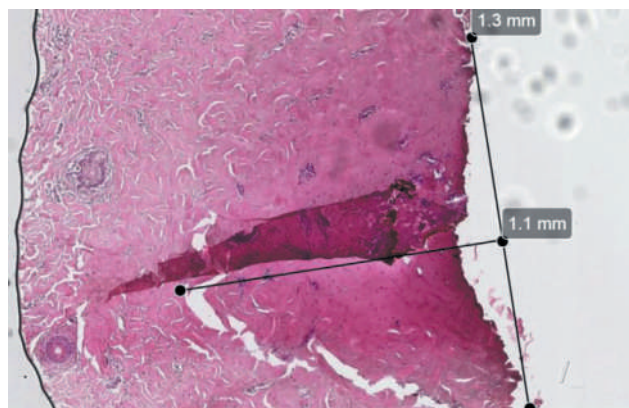


Рис. 6. Гистологический препарат кожи, режим 3 (2 Вт, 10 мс, 30 с). В зоне воздействия плоское углубление с равномерными коагуляционными изменениями дермы шириной 1,3 мм и на глубину до 1,1 мм, что придает зоне поражения закругленный вид. Четкие границы перехода коагуляционных изменений в неизмененные ткани не визуализируются. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Fig. 6. Histological preparation of the skin, mode 3 (2 W, 10 ms, 30 s). In the treated area, there is a flat depression with uniform coagulation changes in the dermis 1.3 mm wide and up to 1.1 mm deep which shapes the treated area round. One cannot see clear boundaries of transition of coagulation changes into unchanged tissues. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$

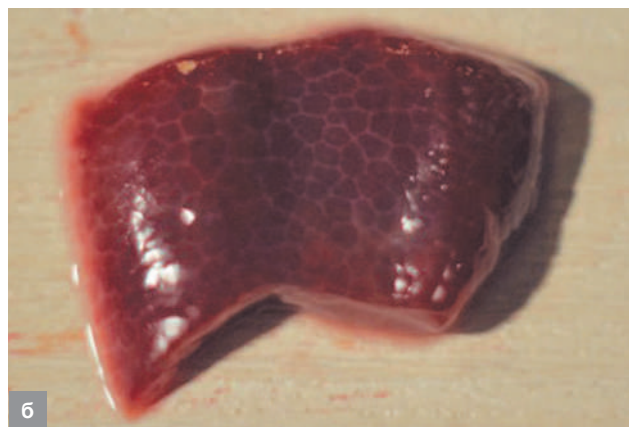
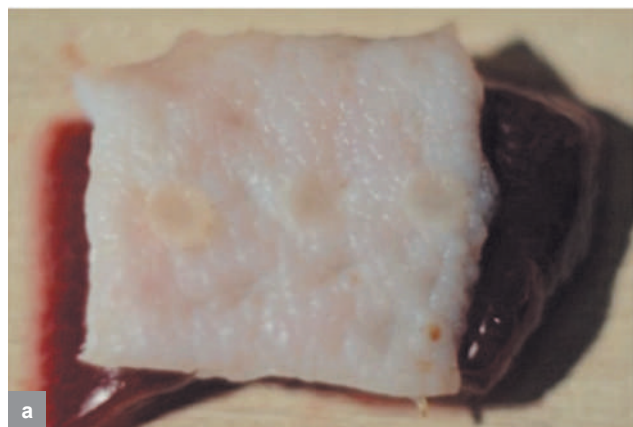


Рис. 7. Макропрепарат комбинированного образца, кожа и печень, режим 2 (1,0 Вт, 10 мс, 30 с): **а** – на коже изменения в виде незначительной элевации и легкого пожелтения в зонах воздействия; **б** – на печени, под кожей, тоже определяются зоны термического повреждения в виде небольших углублений с беловатой и подсушенной поверхностью

Fig. 7. Macropreparation of the combined sample (skin and liver), mode 2 (1.0 W, 10 ms, 30 s): **a** – changes on the skin look like insignificant elevations with light yellow coloring in treated areas; **b** – on the liver and under the skin, there are also zones of thermal damage looking like small depressions with whitish and dried surface

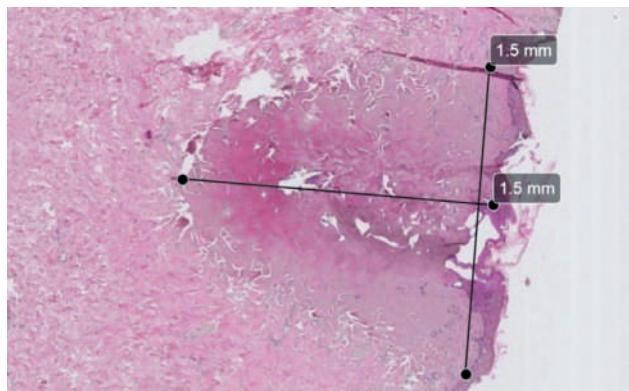


Рис. 8. Гистологический препарат кожи, комбинированный образец, режим 2 (1,0 Вт, 10 мс, 30 с). Зона воздействия имеет правильную треугольную форму с закругленным внизу контуром размерами 1500 на 1500 мкм, представлена уплотненными гомогенизированными тканями коагуляционного некроза, только в центральной части участок небольшого дефекта ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Fig. 8. Histological skin preparation, combined sample, mode 2 (1.0 W, 10 ms, 30 s). The irradiated area has a regular triangular shape with rounded contour at the bottom and size 1500 and 1500 μm ; the area consists of compacted homogenized tissues of coagulation necrosis; a small tissue defect is only in the central part. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$

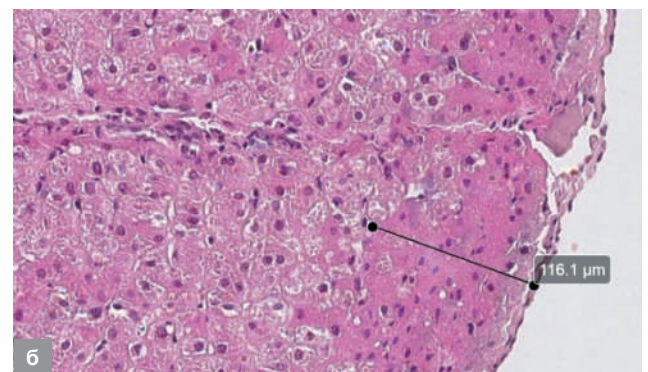
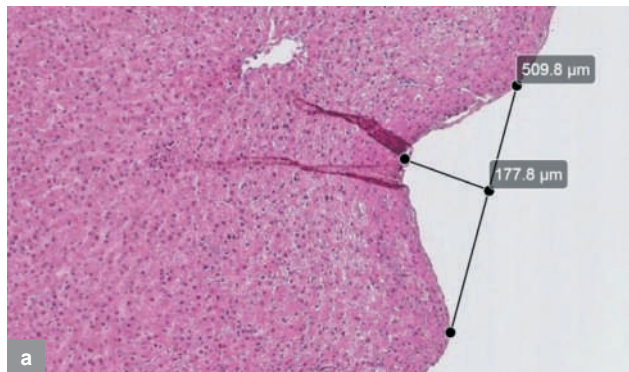


Рис. 9. Гистологический препарат печени, комбинированный образец, режим 2 (1,0 Вт, 10 мс, 30 с). **а** – зона воздействия имеет треугольную форму с пологими краями и расположена на протяжении 509,8 мкм с максимальной глубиной 177,8 мкм. Непосредственно под зоной воздействия расположена тонкая полоска ткани печени с признаками мягкой коагуляции, уплотнение ткани, нарушение балочной структуры, ядра гепатоцитов сохранены. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$. **б** – фрагмент предыдущего препарата при большем увеличении, демонстрирующий зону мягкой коагуляции толщиной 116 мкм, с компактным расположением гепатоцитов с сохранившимися ядрами и не на всем протяжении прослеживающимися границами цитоплазматической мембраны гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$

Fig. 9. Histological preparation of the liver, combined sample, mode 2 (1.0 W, 10 ms, 30 s). **a** – irradiated area has a triangular shape with gently sloping edges; it spreads over 509.8 μm with maximum depth 177.8 μm . Directly under the irradiated zone, there is a thin strip of liver tissue with signs of soft coagulation, tissue consolidation, impaired cord structure; hepatocytic nuclei are preserved. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$. **b** – a fragment of previous preparation at higher magnification. There is a zone of soft coagulation, 116 μm thick; compact arrangement of hepatocytes with preserved nuclei; cytoplasmic membrane of hepatocytes is not observed along all boundaries. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$



Рис. 10. Макропрепарат комбинированного образца, кожа и печень, режим 3 (2 Вт, 10 мс, 30 с). **а** – в зоне воздействия кожа приподнята ареолой диаметром до 2,0 мм, в центре желтоватого цвета углубление до 0,5 мм в диаметре, без видимого кратера; **б** – глубокие и широкие до 1,5 мм кратеры, стенки темно-коричневого цвета, вокруг светло-коричневый коагуляционный ободок, диаметр общего повреждения до 3,0 мм

Fig. 10. Macropreparation of combined sample, skin and liver, mode 3 (2 W, 10 ms, 30 s). **a** – in the irradiated zone, skin is raised and has a shape of areola up to 2.0 mm in diameter; in the center of the yellowish spot there is a depression up to 0.5 mm in diameter without any visible crater; **b** – deep and wide craters up to 1.5 mm, walls are dark brown, light brown coagulation rim; total damage diameter is up to 3.0 mm

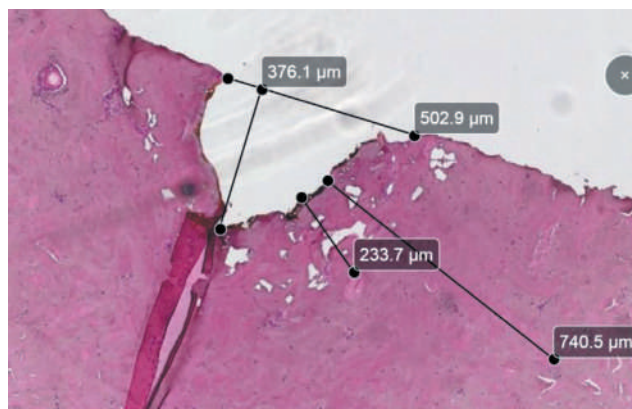


Рис. 11. Гистологический препарат кожи, комбинированный образец, режим 3 (2 Вт, 10 мс, 30 с). В зоне воздействия определяется шириной до 502,9 мкм и глубиной до 376,1 мкм дефект дермы неправильной формы с заостренным дном. Края дефекта с широкой зоной коагуляционных изменений дермы до 740,5 мкм. В ней на участке шириной до 233,7 мкм присутствуют неправильной формы крупные полости. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Fig. 11. Skin histological specimen, combined sample, mode 3 (2 W, 10 ms, 30 s). In the irradiated area, there is a dermis defect of irregular shape with a pointed bottom of 502.9 microns wide and up to 376.1 microns deep. Defect edges with a wide strip of coagulation changes in the dermis up to 740.5 microns. It has large cavities of irregular shape up to 233.7 μm wide. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$

Выраженность характерных проявлений термического повреждения кожи и под ней соответствующего участка печени увеличивалась при большей энергетической активности второго, третьего и особенно четвертого режима данного лазерного излучения. Во всех случаях на коже присутствовала значительно меньшая минусовая деструкция с небольшим кратером, но относительно широкими термическими зонами, на печени более выражена минусовая деструкция в виде относительно глубокого и узкого кратера с наличием на его стенках определенных коагуляционных участков термического повреждения. Примеры представлены на рис. 10–12.

На основании результатов третьей серии исследования были подтверждены различия характера термических деструктивных изменений кожи и печени, а также было определено, что кожа обеспечивает достаточное прохождение «зеленого» лазерного излучения (525 нм) для фотодеструкции подлежащей печени с более выраженными термическими изменениями по сравнению с кожей над ней.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На печени формирование более локальных с выраженным минусовым характером деструктивных изменений в виде клиновидного дефекта – кратера, и с образованием на стенках не широких участков компактного и ячеистого некроза с отчетливыми границами между собой и с окружающими тканями связано

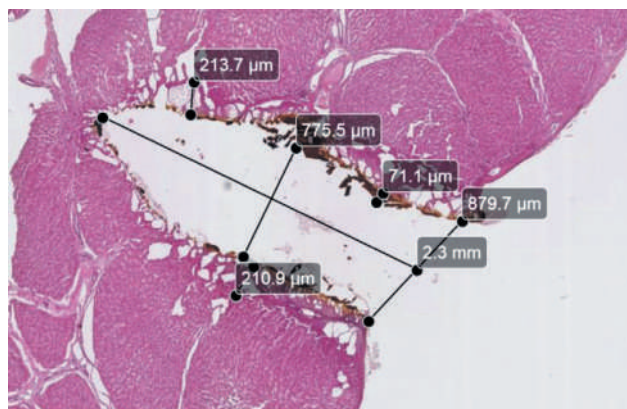


Рис. 12. Гистологический препарат печени, комбинированный образец, режим 3 (2 Вт, 10 мс, 30 с). В зоне воздействия определяется глубокий до 2300 мкм и шириной до 879,7 мкм клиновидной формы дефект. Края дефекта с участками коагуляционных изменений, тонким до 71 мкм слоем компактного некроза и под ним участком шириной до 213,7 мкм ячеистого некроза с выраженной вакуолизацией ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Fig. 12. Liver histological specimen, combined sample, mode 3 (2 W, 10 ms, 30 s). In the irradiated zone, there is a sphenoid-shaped defect up to 2 300 microns deep and up to 879.7 microns wide. Defect edges demonstrate coagulation changes, thin layer of compact necrosis up to 71 μm , and under it, a zone of cellular necrosis up to 213.7 μm wide with marked signs of tissue vacuolization. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$

с относительно большим поглощением рассматриваемого лазерного излучения гемоглобином в образцах печени.

На коже наличие значительно меньших минусовых деструктивных изменений с более широкой зоной периферической коагуляции без образования участков компактного и ячеистого некроза и отсутствием четких границ с окружающими тканями свидетельствует о незначительном поглощении данного излучения тканями кожи.

В случае комбинированного образца эффект прохождения лазерного излучения через ткань кожи при меньшем ее повреждении и более выраженной фотодеструкцией подлежащей печени также подтверждает селективность «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм содержащим гемоглобин тканям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментального исследования подтвердили селективность воздействия «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм на содержащие гемоглобин ткани печени по сравнению с кожей.

Характер и объем термических коагуляционных и минусовых деструктивных изменений на печени и коже определен селективностью воздействия «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм и прогрессивно зависит от используемого его энергетического режима.

Лазерное излучение с длиной волны 525 нм зеленого спектрального диапазона вблизи пиков поглощения гемоглобина и оксигемоглобина, в пределах определенных энергетических параметров может быть перспективным для целей селективного фототермолизапатологических субэпителиальных капиллярных структур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Юшина Т.Е., Горбатова Н.Е., Саруханян О.О. Проблема лечения капиллярной ангиодисплазии кожи у детей // Детская хирургия. – 2019. – Т. 2. – № 19. – С. 72–78.
2. Бельшева Т.С., Алиев М.Д. Эффективность лазерного лечения капиллярных ангиодисплазий у детей // Онкопедиатрия. – 2016. – Т. 3. – № 3. – С. 200–206. DOI: 10.15690/onco.v3i3.1598
3. Benjamin C.G., Jerome M.G., David J.G. Light-based devices in the treatment of cutaneous vascular lesions: An updated review. *J. Cosmet. Dermatol.* 2017; 1–7. DOI: 10.1111/jocd.12370.
4. Solveig L.H. et al. Quality of life in adults with facial port-wine stains. *J. A Acad. Dermatol.* 2016; 1–8.
5. Srinivas C.R., Kumaresan M. Lasers for vascular lesions: Standard guidelines of care. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology.* 2011; 77 (3): 349–368.
6. Van Raath M.I., van Amesfoort J.E., Hermann M. et al. Site-specific pharmaco-laser therapy: A novel treatment modality for refractory port wine stains. *J Clin Transl Res.* 2019; 5 (1): 1–24.
7. Капанадзе Г.Д. Использование миниатюрных свиней в биомедицинских экспериментах // Биомедицина. – 2006. – № 2. – С. 40–51.
8. Сироткин А.А., Кузьмин Г.П., Горбатова Н.Е., Золотов С.А. Твердотельная лазерная установка с диодной накачкой для лечения сосудистых образований кожи и подкожной клетчатки. Патент РФ № 2644690 от 13 февраля 2018 г.

REFERENCES

1. Yushina T.E., Gorbatova N.E., Sarukhanyan O.O. The problem of treating skin capillary angiodysplasia in children. *Det-skaya khirurgiya.* 2019; 2 (19): 72–78. [In Russ.]
2. Belysheva T.S., Aliev M.D. The effectiveness of laser treatment of capillary angiodysplasias in children. *Onkopediatriya.* 2016; 3 (3): 200–206. DOI: 10.15690 / onco.v3i3.1598. [In Russ.]
3. Benjamin C.G., Jerome M.G., David J.G. Light-based devices in the treatment of cutaneous vascular lesions: An updated review. *J. Cosmet. Dermatol.* 2017; 1–7. DOI: 10.1111/jocd.12370.
4. Solveig L.H. et al. Quality of life in adults with facial port-wine stains. *J. A Acad. Dermatol.* 2016; 1–8.
5. Srinivas C.R., Kumaresan M. Lasers for vascular lesions: Standard guidelines of care. *Indian J. of Dermatol., Venereol., and Leprol.* 2011; 77 (3): 349–368.
6. Van Raath M.I., van Amesfoort J.E., Hermann M. et al. Site-specific pharmaco-laser therapy: A novel treatment modality for refractory port wine stains. *J. Clin. Transl. Res.* 2019; 5 (1): 1–24.
7. Kapanadze G.D. Miniature pigs in biomedical experiments. *Biomeditsina.* 2006; 2: 40–51. [In Russ.]
8. Sirotkin A.A., Kuzmin G.P., Gorbatova N.E., Zolotov S.A. Diode-pumped solid-state laser system for treating vascular lesions of skin and subcutaneous tissue. *Patent of Russian Federation No 2644690*, dated February 13, 2018. [In Russ.]

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе.

Compliance with ethical principles

The Authors confirm that respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary and the rules of treatment of animals when they are used in the study.

Информация об авторах

Горбатова Наталья Евгеньевна – доктор медицинских наук, академик АМТН РФ, ведущий научный сотрудник, врач детский хирург ГБУЗ НИИ НДХИТ ДЗМ, зам. руководителя Центра детской лазерной хирургии НИИ НДХИТ ДЗМ; старший научный сотрудник НМИЦЗД МЗ РФ, Москва, Россия; e-mail: natashgorbatov@yandex.ru (в РИНЦ); SPIN-код: 6016-6891, Author ID: 300655; ORCID: 0000-0003-4949-7655.

Сафин Динар Адхамович – врач детский хирург, аспирант ГБУЗ «НИИ неотложной детской хирургии и травматологии» ДЗ г. Москвы, Москва, Россия; ORCID: 0000-0001-9436-3352.

Гасанова Элла Низамиевна – врач детский хирург, научный сотрудник ГБУЗ «НИИ неотложной детской хирургии и травматологии» ДЗ г. Москвы, Москва, Россия; ORCID: 0000-0001-7481-8874.

Золотов Сергей Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ГБУЗ «НИИ Неотложной детской хирургии и травматологии» ДЗ г. Москвы, Москва, Россия; ORCID: 0000-0002-9964-7810.

Сироткин Анатолий Андреевич – доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физики роста кристаллов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН), Москва, Россия; ORCID: 0000-0003-0805-6001.

Кузьмин Геннадий Петрович – доктор физико-математических наук, профессор, зав. лабораторией резонансных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН), Москва, Россия; ORCID: 0000-0003-1802-824X.

Тертычный Александр Семенович – доктор медицинских наук, профессор, врач-патологоанатом, зав. лабораторией электронной микроскопии и иммуногистохимии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Россия; ORCID: 0000-0001-5635-6100.

Станкова Наталья Владимировна – кандидат биологических наук, зав. лабораторией спортивной медицины и экстремальных состояний ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН НЦБМТ ФМБА России), пос. Светлые горы, Московская область; ORCID: 0000-0002-7207-6413.

Ременникова Мария Владимировна – начальник лаборатории медицинских лазеров, младший научный сотрудник, Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН, ПАО «Пермская научно-производственная приборостроительная компания» Лаборатория агробиофотоники, Пермь, Россия; ORCID: 0000-0001-6761-6561.

Тихонович Олег Владимирович – инженер-физик, научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (ИОФ РАН), Москва, Россия; ORCID: 0000-0003-1321-3235.

Information about authors

Gorbatova Natalya – MD, Dr.Sc. (med), academician of Academy of Medico-Technical Sciences of Russia, leading researcher, pediatric surgeon at Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma (CRIEPT), deputy head of Center for Pediatric Laser Surgery; senior researcher at National Center of Children's Health (NCZD), Moscow, Russia; e-mail: natashgorbatov@yandex.ru (in RSCI); SPIN code: 6016-6891, Author ID: 300655; ORCID: 0000-0003-4949-7655.

Safin Dinar – MD, pediatric surgeon, postgraduate student at Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma (CRIEPST) (Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-9436-3352).

Hasanova Ella – MD, pediatric surgeon, researcher at Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma (CRIEPST), Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-7481-8874.

Zolotov Sergey – MD, Cand. Sc. (med), senior researcher at Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma (CRIEPST), Moscow, Russia; ORCID: 0000-0002-9964-7810.

Sirotkin Anatoly – Doctor of Physics and Mathematics, leading researcher at laboratory of physics of crystal growth in Prokhorov General Physics Institute, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0003-0805-6001.

Kuzmin Gennady – Doctor of Physics and Mathematics, professor, head of laboratory of resonant interactions in Prokhorov General Physics Institute, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0003-1802-824X.

Tertychny Alexander – MD, Dr.Sc. (med), professor, pathologist, head of laboratory of electron microscopy and immunohistochemistry in Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-5635-6100.

Stankova Natalia – Cand. Sc. (biology), head of laboratory of sports medicine and extreme states in Center for Biomedical Technologies (FMBA Russia), Svetlye Gory, Moscow Region Russia; ORCID: 0000-0002-7207-6413.

Remennikova Maria – head of laboratory of medical lasers, junior researcher in Perm Scientific and Production Instrument Making Company, laboratory of agrobiophotonics, Perm, Russia; ORCID: 0000-0001-6761-6561.

Tikhonovich Oleg – engineer-physicist, researcher in Prokhorov General Physics Institute, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0003-1321-3235.