

УДК 616.5.617-7

DOI: 10.37895/2071-8004-2020-24-4-43-53

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ «ЗЕЛЕНОГО» ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОЙ ФОТОДЕСТРУКЦИИ КАПИЛЛЯРНОЙ АНГИОДИСПЛАЗИИ КОЖИ

**Н.Е. Горбатова^{1,2}, Д.А. Сафин¹, Э.Н. Гасанова¹, А.А. Сироткин³, Г.П. Кузьмин³,
А.С. Тертычный⁴, О.В. Тихоневич³, М.В. Ременникова⁵, С.А. Золотов¹**

¹ НИИ неотложной детской хирургии и травматологии ДЗ, г. Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей МЗ РФ, 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 Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН, ПАО «Пермская научно-производственная приборостроительная компания» Лаборатория агробиофотоники, г. Пермь, Россия

Резюме

Существующие методы лечения капиллярной ангиодисплазии кожи, включая «лазерную» фотодеструкцию, недостаточно эффективны и нередко приводят к нежелательным термическим повреждениям и осложнениям в виде рубцовой деформации кожного покрова. В связи с этим проблема коррекционного устранения этой сосудистой патологии продолжает оставаться актуальной и требует дальнейшего решения. Цель. Изучить характер термических повреждений и раневой регенеративный процесс после воздействия «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм для целей селективной фотодеструкции субэпителиальных патологических сосудистых структур, включая ангиодисплазию капилляров кожи. Материал и методы. Исследование *in vivo* выполнено на гребешках белых живых кур как биологической модели сосудистых структур с использованием экспериментального образца твердотельного лазерного аппарата, генерирующего «зеленое» лазерное излучение с длиной волны 525 нм, имеющее близкие пики коэффициента поглощения гемоглобином и оксигемоглобином, содержащихся в капиллярах кожи. На основании морфологических макроскопических и гистологических исследований была изучена особенность повреждения и динамики процесса регенерации в зоне воздействия этого излучения на модели сосудистых структур. Результаты. На основании экспериментального исследования была отмечена избирательная фотодеструкция субэпителиальных сосудистых структур гребешков и минимальное повреждение эпителия, включая зону его роста. В участках воздействия отмечено побеление и выравнивание поверхности за счет закрытия просветов сосудов в субэпителиальной зоне и образования там слоя коллагеноза, а также наличие эпителизации раневой поверхности в физиологические сроки без образования рубцовой деформации кожных покровов. Заключение. Подтверждена селективность воздействия «зеленого» лазерного излучения 525 нм на субэпителиальные сосудистые структуры при минимальном повреждении кожи. Это определило перспективу его использования для целей селективной фотодеструкции капиллярной ангиодисплазии кожи и достижение хорошего клинического и эстетического результата лечения.

Ключевые слова: лазерное излучение зеленого спектрального диапазона, селективная фотодеструкция, ангиодисплазия кожи, морфологическое исследование.

Для цитирования: Горбатова Н.Е., Сафин Д.А., Гасанова Э.Н. и др. Экспериментальное обоснование применения «зеленого» лазерного излучения для селективной фотодеструкции капиллярной ангиодисплазии кожи // Лазерная медицина. – 2020. – Т. 24. – № 4. – С. 43–53.

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

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF «GREEN» LASER LIGHT APPLICATION FOR SELECTIVE PHOTODESTRUCTION OF CAPILLARY ANGIODYSPLASIA OF THE SKIN

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

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 Perm Federal Research Center, PAO Perm Scientific and Instrument-Making Company, Perm, Russia

Abstract

Rationale. The existing techniques for treating skin capillary angiodyplasias, including «laser» photodestruction, are not effective enough and often cause undesirable thermal damage and cicatricial deformities of the skin. Thus, the effective removal of this vascular pathology is still relevant and requires further solution. **Purpose.** To study the nature of thermal injuries and wound regenerative processes after «green» laser irradiation with wavelength 525 nm so as to find out if it may be used for selective photodestruction of subepithelial pathological vascular structures, including angiodyplasias of skin capillaries. **Material and Methods.** Scallops of alive white chickens were taken as a biological model of vascular structures for *in vivo* studies. An experimental solid-state laser generating «green» light with wavelength 525 nm was used. This laser

light has similar peaks of the absorption coefficient of hemoglobin and oxyhemoglobin which are found in skin capillaries. Features of damage and dynamics of regenerative process in the irradiated area were studied at the model of vascular structures using findings of morphological macroscopic and histological examinations. **Results.** Findings of the present experimental trial have inspired that selective photodestruction of subepithelial vascular structures of scallops is possible with minimal damage to the epithelium, including growth zones. In irradiated areas, one could see whitening and smoothing of the surface due to closure of vessel lumens in the subepithelial zone and formation of collagenosis layer there, as well as epithelialization of wound surface in physiological terms without any formation of cicatricial deformation of the skin. **Conclusion.** The selective effect of 525 nm «green» laser light at subepithelial vascular structures with minimal skin damage has been confirmed. It opens a way to apply this light for selective photodestruction of capillary angiomas of the skin with good clinical and esthetic outcomes.

Key words: *laser light of green spectral range, selective photodestruction, skin angioma, morphological studies.*

For citations: Gorbatova N.E., Safin D.A., Gasanova E.N. et al. Experimental substantiation of «green» laser light application for selective photodestruction of capillary angioma of the skin. *Lazernaya medicina*. 2020; 24 (4): 43–53. [In Russ.].

Contacts: Gorbatova N.E., e-mail: natashgorbatov@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Капиллярная ангиодисплазия кожи – это патологически расширенные капилляры, расположенные под базальной зоной роста эпидермиса, локализуется в 60–80% случаев в области лица, шеи и верхних отделах туловища, реже – на конечностях. У новорожденных встречается в 0,3–0,5% случаев, а у детей старшего возраста в среднем в 2,6% [1–4]. Данная сосудистая патология может привести к развитию комплекса неполноценности у ребенка, снизить качество жизни не только самого ребенка, но и всей семьи [5]. В связи с этим лечение капиллярной ангиодисплазии представляет значительную социальную и медицинскую проблему, что обуславливает необходимость ее своевременного и эффективного лечения.

В настоящее время фотодеструкцию лазерным излучением считают наиболее эффективным и перспективным методом лечения капиллярной ангиодисплазии кожи [6–8]. Однако и при этом методе не исключается неконтролируемое термическое повреждение всех тканевых структур кожи, в последующем развитие рубцовой деформации кожного покрова, гиперпигментации и других нежелательных последствий в зоне воздействия [2, 4, 9, 10].

Таким образом, на сегодняшний день ни один из вышепредставленных общих и местных методов не может гарантировать хороший клинический и эстетический результат лечения капиллярной ангиодисплазии кожи.

В связи с этим проблема лечения данной патологии остается недостаточно решенной, что определяет необходимость дальнейшего исследования по созданию нового способа фотодеструкции, обеспечивающего прецизионное и одновременно щадящее устранение данных субэпителиальных патологических сосудистых структур. Этот способ должен быть основан на принципе правильного выбора параметров лазерного излучения, обеспечивающих селективность воздействия на патологические субэпителиальные сосудистые структуры кожи при минимальном повреждении эпителиальных тканей.

Одним из основных факторов, определяющих глубину проникновения лазерного излучения в биоткань и селективный характер его поглощения различными

элементами биоткани, является длина его волны [6, 11].

На современном этапе лазерное излучение желто-зеленого спектрального диапазона рассматривают в качестве наиболее перспективного и оптимально результативного для устранения различных патологических сосудистых образований кожи, включая ее капиллярную ангиодисплазию. Селективный фототермолиз основан на избирательном поглощении лазерного излучения желто-зеленого спектрального диапазона пигментом гемоглобином с последующей коагуляцией содержащей гемоглобин ткани сосудистых образований, в дальнейшем их склерозировании и регрессии с минимальным травматическим компонентом кожных структур, включая зону роста [2, 4].

На основании спектров поглощения света хромофорами кожи можно отметить, что «зеленое» лазерное излучение с длиной волны 525 нм имеет близкие пики коэффициента поглощения для гемоглобина и оксигемоглобина. В связи с этим оно может быть наиболее перспективным для воздействия на субэпителиальные сосудистые структуры, включая ангиодисплазию капилляров кожи, с различным характером крови.

Выполненное ранее экспериментальное исследование в условиях *in vitro* на модельных биологических объектах (охлажденные образцы кожи и печени мини-свиней (*Sus scrofa*) светлогорской популяции) подтвердили селективность поглощения «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм тканями печени, содержащей значительно большее количество гемоглобина по сравнению с кожей. Результаты этого исследования *in vitro* определили возможность использования «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм для целей селективного фототермолиза патологических субэпителиальных капиллярных структур [12].

Цель данной работы – провести экспериментальное исследование *in vivo* на гребешках белых живых кур для уточнения характера термических повреждений и изучения раневого регенеративного процесса после воздействия «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм для целей селективной фотодеструкции субэпителиальных патологических сосудистых структур, включая ангиодисплазию капилляров кожи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом экспериментального исследования были выбраны красные гребешки биологических моделей, живых белых кур, Кросс Хайсекс Вайт. Гребешки птиц Кросс Хайсекс Вайт относительно больших размеров, не содержат пигмент меланин, имеют подкожную сосудистую сеть, состоящую в основном из расширенных капилляров. Эта особенность строения сосудов в подкожной зоне гребешков послужила основанием к выбору их в качестве наиболее близкой модели субэпителиальных сосудистых образований, включая капиллярную ангиодисплазию кожи.

Микрофотография гистологического препарата гребешка кур, подтверждающая наличие расширенных капилляров в строме подкожной зоны, представлена на рис. 1.

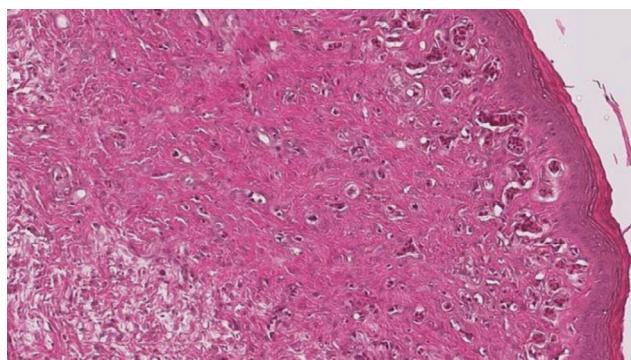


Рис. 1. Микрофотография гистологического препарата неизмененной ткани гребешка. Присутствуют клетки многослойного плоского эпителия и большое количество полноценных с расширенным просветом капилляров в подлежащей строме. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 1. A microphotography of a histological specimen of unchanged scallop tissue. One can see cells of stratified squamous epithelium and a large number of full-blood capillaries with expanded lumens in the underlying stroma. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

В работе использовали экспериментальный образец твердотельного лазерного аппарата на основе полупроводниковых диодов, работающих на длине волны излучения 525 нм зеленого спектрального диапазона, вблизи пика поглощения гемоглобина и оксигемоглобина. Экспериментальный образец разработан для целей медицины в Институте общей физики им. А.М. Прохорова РАН [13]. В эксперименте использовали реализуемое данным аппаратом «зеленое» лазерное излучение с постоянными параметрами: длина волны – 525 нм, средняя мощность – 3 Вт, частота следования импульсов – 10 Гц и диаметр лазерного пятна на поверхности – 0,8 мм.

В исследовании меняли следующие параметры лазерного излучения: длительность импульса – 2, 5 и 10 мс, экспозицию воздействия – 5 и 10 с. Параметры режимов, использованных в экспериментальном исследовании, представлены в табл.

Таблица
Параметры режимов,
использованные в эксперименте
*Table
Mode parameters used in the experiment*

Режим № Mode No	Длительность импульса, мс Pulse duration, ms	Экспозиция, с Exposure, s
1	2	5
2	2	10
3	5	5
4	10	10

В работе воздействовали на поверхность объекта двумя способами: точечным с неподвижным пятном и с перемещением пятна ручным сканированием по поверхности, при этом использовали соответствующие одинаковые параметры лазерного излучения.

В эксперименте в качестве биологической модели с объектом исследования большим красным гребешком было задействовано 42 особи кур в возрасте 7–8 месяцев, каждая из которых была маркирована специальным пластиковым кольцом на лапе. Экспериментальное исследование на данных биологических моделях проводили с применением анестезиологического пособия, общего обезболивания препаратом Золетил, разведенного по инструкции для внутримышечного введения из расчета 0,01 мл на 100 мг веса живой птицы.

На гребешки кур почти единовременно, в течение нескольких часов, были нанесены зоны воздействия «зеленым» лазерным излучением с длиной волны 525 нм, с параметрами режимов, приведенных в таблице. Зоны повреждения точечно и сканированием формировали только на одной стороне гребешка каждой курицы, используя по два режима параметров излучения на каждый гребешок, а именно 1-й и 2-й на один гребешок и на другой – 3-й и 4-й режим. Сначала для каждого режима на гребешке контактно формировали по 3 точечные зоны, расположенные для режима с меньшей интенсивностью ближе к клюву, для второго, с большей агрессивностью, ближе к затылку. Затем под ними, на расстоянии 1–2 мм, наносили сканированием со скоростью примерно 1 см/с полоску шириной 1,0–2,0 мм, длиной до 10,0 мм, используя при этом соответствующий точечному энергетический режим. Для каждой пары используемых способов воздействия было задействовано по 3 биологические модели, то есть по три гребешка кур. Схематический порядок формирования зон лазерного воздействия на гребешках биологических моделей представлен на рис. 2.

Забор экспериментального материала осуществляли в следующем порядке после воздействия лазерного излучения: сразу – нулевой срок, на 4-е, 7-е, 12-е, 21-е и 30-е сутки, а также через 3 месяца. В указанные сроки под общим обезболиванием препаратом Золетил проводили забор биологического материала

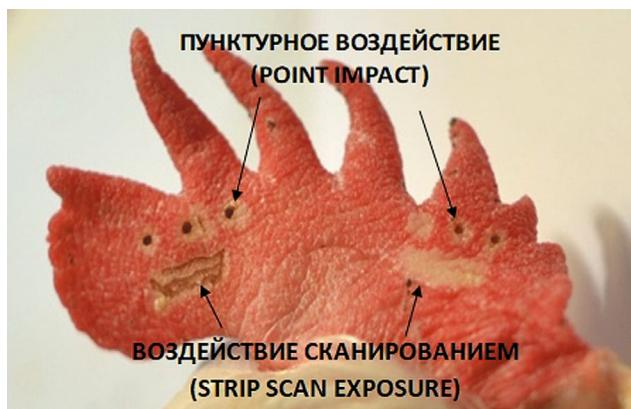


Рис. 2. Порядок формирования зон лазерного воздействия

Fig. 2. Formation of zones after laser irradiation

гребешков методом хирургического иссечения, затем ушивали операционную рану.

Образец взятого биологического материала, на котором присутствуют сверху точечные зоны воздействия и под ними соответствующие зоны режима сканирования, представлены на рис. 3.

Непосредственно при выполнении эксперимента изучали визуально определяемые макроскопические изменения на гребешках живых кур и сразу после их отсечения на макропрепаратах. Далее из макропрепаратов гребешков готовили образцы с зонами воздействия для последующего гистологического исследования. В течение всего периода наблюдения за биологическими моделями на основании результатов морфологического макроскопического и гистологического исследования изучали состояние тканей и особенность течения регенеративного раневого процесса в зонах воздействия.

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 HM355S с системой переноса срезов STS (Termo Scientific, Великобритания). Полученные гистологические препараты депарафинировали в последовательных сменах растворов ксилола и спирта, а затем окрашивали гематоксилином и эозином. Готовые окрашенные гистологические препараты заключали под покровное стекло и просматривали в микроскопе CX41 (Olympus, Япония). Для получения микрофотографий гистологические препараты были отсканированы на сканирующем микроскопе Pannoramic Midi (3DHISTECH, Венгрия). Принцип сканирования позволил создать полноценное изображение, которое можно было многократно увеличивать, просматривая отдельные фрагменты в высоком качестве. Программная обработка изображения позволяла проводить измерения и количественный анализ препарата, поэтому гистологическое исследование зон лазерного воздействия проводили с оценкой их морфометрических параметров и замером участков поврежденных тканей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании результатов морфологического макроскопического исследования зон воздействия лазерного излучения (525 нм) были отмечены принципиальные особенности изменений в тканях в течение всего периода наблюдений за биологическими моделями. Примеры результатов в различные сроки после воздействия лазерного излучения с параметрами режимов с 1-го по 4-й на образцы гребешков кур представлены на рис. 4–11.

На основании морфологического макроскопического исследования зон воздействия лазерного излучения



Рис. 3. Образец макропрепарата гребешка. Сверху точечные зоны воздействия лазерного излучения (525 нм) с большими энергетическими параметрами (3-й и 4-й режим), под ними соответствующие зоны сканированием

Fig. 3. Scallop macropreparation. Up are points after laser irradiation (525 nm) with high energy parameters (modes 3 and 4); under are corresponding zones treated with scanning mode



Рис. 4. Гребешок, 0-й срок, режим 1–2. Зоны воздействия лазерного излучения (525 нм) при использовании режимов 1 и 2 с меньшей энергетикой при точечном нанесении и в режиме сканирования представлены беловатого цвета участками ровного кожного покрова

Fig. 4. Scallop, term 0, mode 1–2. Zones of exposure to laser light (525 nm) treated with modes 1 and 2 and less energy in dotty and scanning modes look like whitish areas with smooth skin layer



Рис. 5. Гребешок, 0-й срок, режим 3–4. Зоны воздействия лазерного излучения (525 нм) при точечном нанесении с большими энергетическими параметрами режимов 3 и 4 представлены небольшими коричневого цвета кратерами в диаметре не более 1,5 мм, с узким, не более 1,0 мм, желтоватым ободком. В случае сканирования при 3-м режиме на коже определяются участки бело-желтого цвета, при 4-м режиме местами светло-коричневые корочки, поверхность участков ровная

Fig. 5. Term 0, mode 3–4. Zones of exposure to laser light (525 nm) irradiated in dotty mode and high energy of modes 3 and 4 look like small brown craters no more than 1.5 mm in diameter and narrow, not more than 1.0 mm, yellowish rim. After scanning in mode 3, zones of white-yellow color are seen on the skin; after scanning in mode 4, there are zones with light brown crusts; surface of zones is smooth



Рис. 6. Гребешок, 12-е сутки, режим 1–2. Все зоны воздействия лазерного излучения (525 нм) имеют беловатую ровную поверхность кожного покрова, в окружающих тканях признаков воспаления нет

Fig. 6. Scallop, 12 days later, mode 1–2. All zones of exposure to laser light (525 nm) have whitish smooth surface; no signs of inflammation in adjacent tissues



Рис. 7. Гребешок, 12-е сутки, режим 3–4. Зоны воздействия лазерного излучения (525 нм) белого цвета с ровной поверхностью; незначительное снижение поверхности кожи, воспалительные проявления в окружающих тканях отсутствуют (единичные глубокие дефекты – результат повреждения другой особью)

Fig. 7. Scallop, 12 days later, mode 3–4. Zones of exposure to laser light (525 nm) are of white color with smooth surface; slightly depressed skin surface; no signs of inflammation in adjacent tissues (single deep defects are results of injury made by other animals)

с длиной волны 525 нм были определены характерные особенности термического повреждения и процесса раневой регенерации.

Сразу после нанесения зон воздействия при всех использованных параметрах режимов излучения отмечены сходные по характеру изменения, выраженность которых несколько увеличивается при большей энергетической активности.

При точечном нанесении наблюдали формирование неглубоких дефектов – кратеров и относительно быстрое, к 12-м суткам, восстановление в виде



Рис. 8. Гребешок, 30-е сутки, режим 1–2. Во всех зонах воздействия лазерного излучения (525 нм) сохраняется относительно ровная, беловатого цвета поверхность, деформация кожного покрова и воспалительные проявления не определяются

Fig. 8. Scallop, 30 days later, mode 1–2. In all zones of exposure to laser light (525 nm), relatively smooth, whitish surface; no skin deformation and inflammation

беловатых точек участков поврежденного кожного покрова.

Поверхность кожного покрова при сканировании сразу приобретала беловатый цвет и становилась более ровной по сравнению с окружающей кожей, что сохранялось в течение всего срока наблюдения, включая 30-е и контрольные 90-е сутки.

Таким образом, во всех случаях независимо от используемого режима и способа нанесения лазерного излучения к 12-м суткам было отмечено восстановление поверхности кожного покрова с наличием



Рис. 9. Гребешок и макропрепарат гребешка, 30-е сутки, режим 3–4: **а** – все зоны воздействия лазерного излучения (525 нм) сохраняют беловатый цвет с ровной поверхностью, деформации кожного покрова и воспалительных изменений нет; **б** – данные изменения сохраняются и лучше определяются на ровной поверхности макропрепарата гребешка

Fig. 9. Scallop and scallop macropreparation, day 30, mode 3–4: **a** – all zones of exposure to laser light (525 nm) are still in whitish color with smooth surface, there are no skin deformations and inflammatory changes; **b** – the abovementioned changes persist and are better seen on smooth micropreparation surface

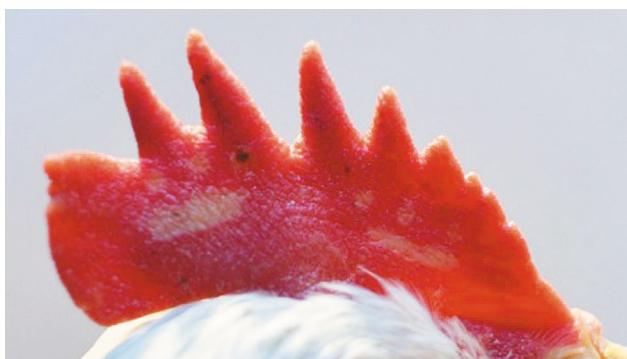


Рис. 10. Гребешок, 90-е сутки, режим 1–2. В зонах воздействия лазерного излучения (525 нм) отмечается стойкий эффект белого цвета и выравнивания поверхности, деформации кожных покровов и воспалительных проявлений нет

Fig. 10. Scallop, 90 days later, mode 1–2. In the areas of exposure to laser light (525 nm), there is persistent white color and smooth surface; no skin deformations and no inflammations



Рис. 11. Гребешок и макропрепарат гребешка, 90-е сутки, режим 3–4: **а** – во всех зонах воздействия лазерного излучения (525 нм) сохраняется эффект белого цвета в участках легкого западения поверхности кожи, деформирующих изменений и воспалительных проявлений нет; **б** – на макропрепаратуре гребешка в зонах воздействия отчетливо определяются участки белого цвета с ровной поверхностью

Fig. 11. Scallop and scallop macropreparation, day 90, mode 3–4: **a** – in all zones of laser irradiation (525 nm), effect of white coloring persists at the areas of slight depression on skin surface; there are neither deformations nor inflammations; **b** – white areas with smooth surface are clearly seen at the treated zones on scallop macropreparation

беловатого цвета в зонах воздействия, а также при всех сроках наблюдения отсутствовали перифокальные воспалительные изменения.

Особенности характера изменений и регенеративного процесса в зонах воздействия лазерного излучения 525 нм были уточнены на основании результатов

гистоморфологического исследования макропрепарата гребешков.

Примеры микрофотографий гистологических препаратов с зонами сканирования лазерным излучением с наиболее энергетически агрессивными параметрами 4-го режима представлены на рис. 12–19.

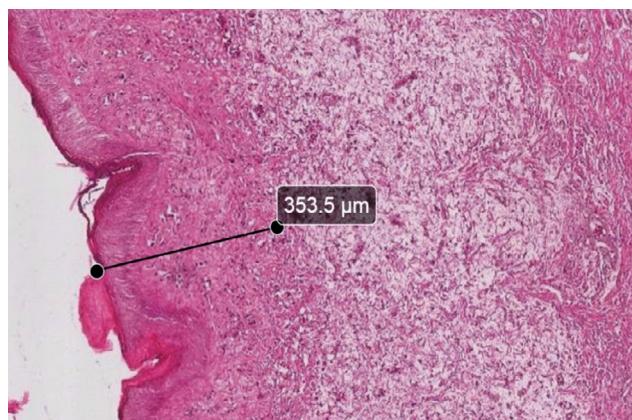


Рис. 12. Микрофотография препарата гребешка, 0-й срок. В зоне воздействия лазерного излучения (525 нм) отмечается сохранение роговых масс на поверхности и мягкая коагуляция многослойного плоского эпителия в виде стирания границ клеток с отсутствием ядер при сохранении базальной мембраны. В подлежащей строме закрытие просветов капилляров, слияние и гомогенизация коллагеновых волокон. Глубина определяемых изменений составляет около 350 мкм. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Fig. 12. Microphotography of scallop preparation, term 0. At the exposure zone to laser light (525 nm), there are horny masses on the surface and soft coagulation of stratified squamous epithelium looking like erased cell borders with no nuclei but with preserved basal membrane. In the underlying stroma, capillary lumens are closed, collagen fibers fused and homogenized. The depth of changes is about 350 microns. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$

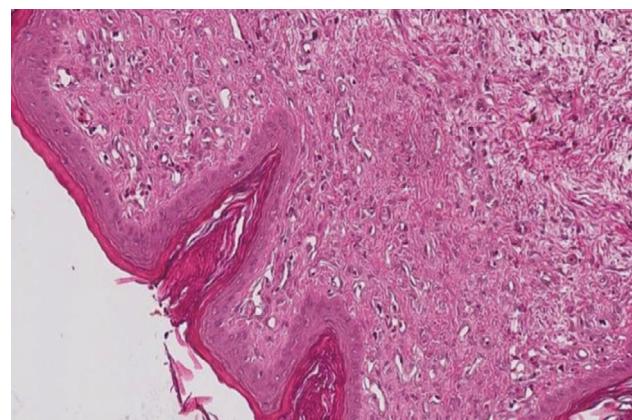


Рис. 13. Для сравнения микрофотография фрагмента предыдущего препарата с участком неизмененной ткани гребешка. Неизмененная ткань гребешка с хорошо определяемыми клетками многослойного плоского эпителия и большим количеством в подлежащей строме полнокровных капилляров с расширенным просветом. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 13. For comparison, microphotography of a fragment from previous preparation with an area of unchanged scallop tissue. Unchanged scallop tissue with well-defined cells of stratified squamous epithelium and a large number of full-blood capillaries with an expanded lumen in the underlying stroma. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

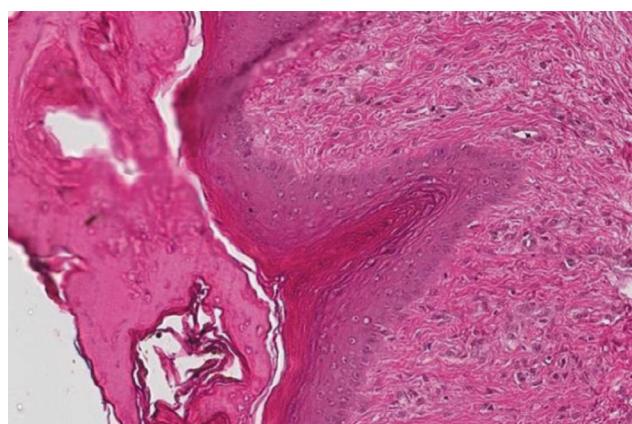


Рис. 14. Микрофотография препарата гребешка, 7-е сутки. Небольшое углубление на поверхности выполнено некротическими массами из рогового слоя. Базальные клеточные структуры эпителия сохранены, над ними определяются дифференцированные клеточные структуры эпителия. В субэпителиальных отделах сохраняются спавшиеся просветы капилляров, незначительный отек стромы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 14. Microphotography of scallop preparation, 7 days. A small depression on the surface caused by necrotic masses from the stratum corneum. Basal cellular structures of the epithelium are preserved; differentiated cellular structures of the epithelium are seen above them. Collapsed capillary lumens and slight stromal edema persist in subepithelial regions. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

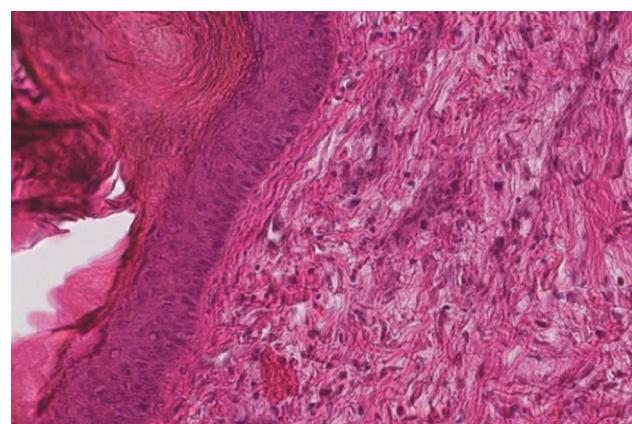


Рис. 15. Микрофотография препарата гребешка, 21-е сутки. Эпителий с выраженным гиперкератозом, базальные и клеточные структуры его дифференцированы. В субэпителиальных отделах сохраняются спавшиеся просветы капилляров, там же определяется зона с компактным расположением крупных коллагеновых волокон, за которой следует зона рыхлой соединительной ткани с отеком и тонкими волокнами коллагена. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 15. Microphotography of scallop preparation, 21 days. Epithelium with marked hyperkeratosis; its basal and cellular structures are differentiated. In subepithelial zones, there are collapsed capillary lumens; there is also a zone with compactly arranged large collagen fibers followed by loose connective tissue with edema and thin collagen fibers. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

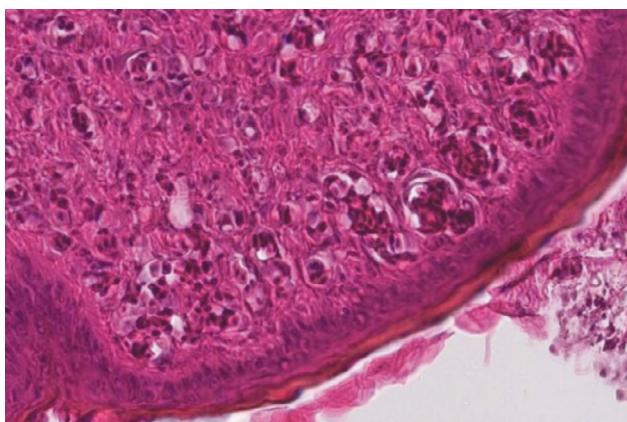


Рис. 16. Для сравнения микрофотография фрагмента предыдущего препарата с участком неизмененной ткани гребешка. Неизмененная ткань гребешка с многослойным плоским эпителием и большим количеством полнокровных капилляров с широким просветом в субэпителиальной зоне. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 16. For comparison, a microphotography of a fragment of previous preparation with unchanged scallop tissue. Unchanged scallop tissue with stratified squamous epithelium and a large number of full-blood capillaries with wide lumens in the subepithelial zone. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

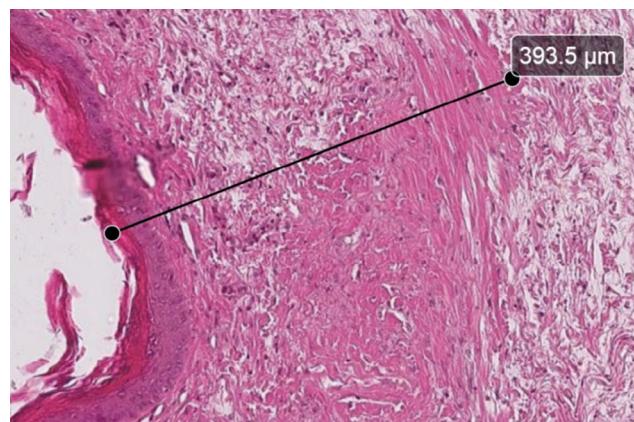


Рис. 17. Микрофотография препарата гребешка, 30-е сутки. Небольшой гиперкератоз эпителия, отчетливая клеточная дифференциация эпителия, включая базальный слой. В субэпителиальных отделах просветы капилляров спавшиеся. Под эпителием зона с компактным расположением крупных коллагеновых волокон, за ней участок рыхлой соединительной ткани с небольшим отеком и далее слой более тонких коллагеновых волокон, изменения отмечаются до глубины 390 мкм. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 17. Microphotography of scallop preparation, 30 days. Slight hyperkeratosis of the epithelium, clear differentiation of epithelium, including basal layer. In the subepithelial parts, capillary lumens are collapsed. Under the epithelium, there is a zone with compactly arranged large collagen fibers; behind – a zone of loose connective tissue with slight edema; further, there is a layer of thinner collagen fibers. Changes were observed up to the depth of 390 microns. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

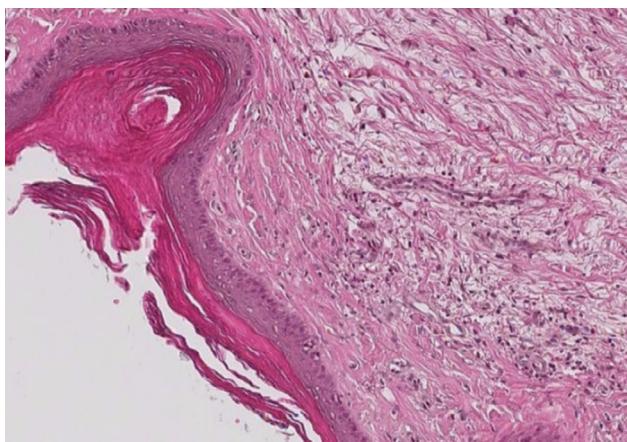


Рис. 18. Микрофотография препарата гребешка, 90-е сутки. Эпителий с типичным гиперкератозом, его клеточные структуры, включая базальные, определяются отчетливо. В субэпителиальных отделах просветы почти всех капилляров спавшиеся. В субэпителиальной зоне относительно широкая и выраженная структурно зона коллагенизации с компактным расположением, параллельных эпителию, крупных коллагеновых волокон. За этой зоной следует участок рыхлой соединительной ткани с отеком и тонкими, хаотично направленными коллагеновыми волокнами. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 18. Microphotography of scallop preparation, day 90. Epithelium with typical hyperkeratosis; its cellular structures, including basal ones, are clearly defined. In the subepithelial regions, lumens of almost all capillaries are collapsed. In the subepithelial zone, there is a relatively wide and structurally marked collagenized zone with compactly arranged large collagen fibers parallel to the epithelium. This area is followed by an area of loose connective tissue with edema and thin, chaotically directed collagen fibers. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

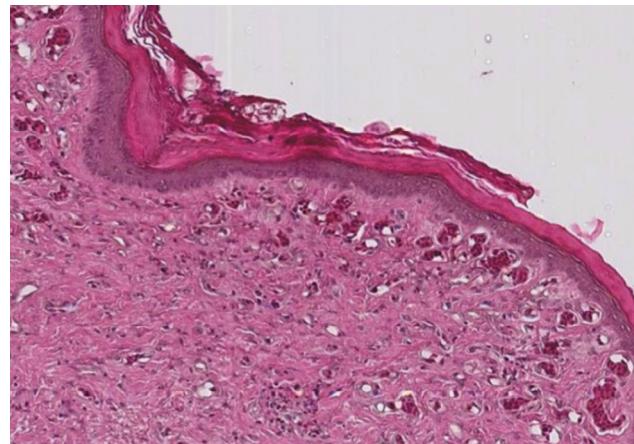


Рис. 19. Для сравнения микрофотография фрагмента предыдущего препарата с участком неизмененной ткани гребешка. Участок неизмененной ткани гребешка с большим количеством полнокровных с широким просветом капилляров в строме, подлежащей многослойному плоскому эпителию. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 19. To compare, microphoto of a fragment of previous preparation with an area of unchanged scallop tissue. An area of unchanged scallop tissue with a large number of full-blood capillaries having wide lumens in the stroma and underlying to the stratified squamous epithelium. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 200$

На основании анализа результатов гистологического исследования на тканевом уровне были отмечены и уточнены характерные изменения и особенности процесса регенерации тканей при всех задействованных в исследовании режимах лазерного излучения с длиной волны 525 нм. Основные результаты использования наиболее энергетически агрессивных параметров 4-го режима обозначены ниже.

Во всех случаях отмечено минимальное повреждение базальных клеточных структур зоны роста эпителия, которые, сохраняя свою жизнеспособность, обеспечивают возможность центральной эпителизации с 7-х суток до полного восстановления дифференциации клеточных структур эпителия к 21-м суткам.

На всех анализируемых сроках наблюдения в субэпителиальной зоне присутствует эффект закрытия полнокровных с широким просветом капилляров.

В субэпителиальной зоне к 21-м суткам определяется формирование участка компактно расположенных крупных коллагеновых волокон, организация которых продолжается до 30 суток и полностью завершается к 90-м суткам.

Все описанные изменения в отдаленные сроки, к 30-м и особенно к 90-м суткам, не только сохраняются, но отмечается еще большее восстановление эпителиальных и субэпителиальных тканевых структур: эпителий равномерной толщины, просветы сосудистых структур закрыты, присутствует слой коллагеноза из компактно расположенных и параллельных коже крупных волокон.

Выраженность термических деструктивных изменений в зоне воздействия при одной и той же мощности излучения – 3 Вт нарастает с увеличением энергетической активности, зависящей от длительности импульса и экспозиции лазерного излучения. Характер термических повреждений при этом почти не изменяется – эпителий повреждается минимально, участок фотодеструкции субэпителиальных тканевых структур имеет относительно четкую границу с подлежащими, неизмененными тканями на глубине 350–390 мкм.

Таким образом, результаты морфологического макроскопического и гистологического исследований определили, что эффективная фотодеструкция субэпителиальных сосудистых структур биологической модели обеспечивает мощность лазерного излучения – 3 Вт с диапазоном длительности импульса от 2 до 10 мс и экспозицией от 5 до 10 с при скорости сканирования примерно 1,0 см/с.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Особенность воздействия лазерного излучения с длиной волны 525 нм заключается в преимущественном повреждении субэпителиальных сосудистых структур гребешков при минимальном обратимом повреждении эпителия, включая зону его роста.

Это обеспечивает стойкое побеление и выравнивание поверхности кожи в зонах воздействия за счет закрытия полнокровных с широким просветом сосудов в субэпителиальной зоне, в дальнейшем образование там параллельно организованной поверхности слоя коллагеноза, а также сохранение зоны роста эпителия и эпителизацию раневой поверхности в физиологические сроки без образования рубцовой деформации кожных покровов.

Данный эффект воздействия основан на селективном поглощении используемого «зеленого» лазерного излучения с длиной волны 525 нм преимущественно хромофорами крови (гемоглобином, оксигемоглобином) субэпителиальных сосудов, далее их запустевания и коллагенизации, а также минимальным поглощением другими хромофорами тканей кожи.

Результаты экспериментального исследования подтвердили целесообразность использования лазерного излучения с длиной волны 525 нм для целей селективной фотодеструкции субэпителиальных патологических сосудистых структур, включая ангиодисплазию капилляров кожи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально обосновано, что «зеленое» лазерное излучение с длиной волны 525 нм обеспечивает селективную фотодеструкцию субэпителиальных сосудистых структур при минимальном обратимом повреждении кожных покровов без образования деформирующих рубцов.

Для эффективной фотодеструкции субэпителиальных сосудистых структур достаточно использование мощности лазерного излучения – 3 Вт с диапазоном длительности импульса от 2 до 10 мс, экспозицией от 5 до 10 с и со скоростью сканирования примерно 1,0 см/с.

Селективная фотодеструкция лазерным излучением с длиной волны 525 нм, сочетая прецизионность воздействия на гемоглобин содержащие субэпителиальные патологические сосудистые структуры с минимальным травматическим компонентом эпителия, перспективна для лечения капиллярной ангиодисплазии кожи, и применение ее должно обеспечить достижение оптимально возможного клинического и эстетического результата, что требует подтверждения дальнейшими клиническими исследованиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Patrick D.C., Michael L.S., Moise L.L. Laser Treatment of Pediatric Vascular Lesions.
2. Seminars in Plastics surgery. 2007; 21 (3): 159–166.
3. 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.
4. Yu W. et al. Why do port-wine stains (PWS) on the lateral face respond better to pulsed dye laser (PDL) than those located on the central face? J. Am. Acad. Dermatol. 2016; 74 (3): 527–535.

5. Бельшева Т.С., Алиев М.Д. Эффективность лазерного лечения капиллярных ангиодисплазий у детей // Онкодиатрия. 2016. – Т. 3. – № 3. – С. 200–206. doi:10.15690/onco.v3i3.1598
6. Solveig L.H. et al. Quality of life in adults with facial port-wine stains. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2016; 1–8.
7. 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.
8. Yu W. et al. Shorter Treatment Intervals of East Asians with Port-Wine Stain with Pulsed Dye Laser Are Safe and Effective–A Prospective Side-by-Side Comparison. *Photomed Laser Surg.* 2018; 36 (1): 37–43.
9. Chen J.K., Ghasri P., Aguilar G. et al. An overview of clinical and experimental treatment modalities for port wine stains. *J. Am Acad. Dermatol.* 2012; 67 (2): 289–304.
10. Jeremy A.B., Joshua A.F., Leonard J.B. et al. Pulsed Dye Laser at Subpurpuric Settings for the Treatment of Pulsed Dye Laser-Induced Ecchymoses in Patients With Port-Wine Stains. *Dermatol Surg.* 2017; 0: 1–7. doi:10.1097/DSS.0000000000001255
11. Choi B., Tan W., Jia W. et al. The Role of Laser Speckle Imaging in Port-Wine Stain Research: Recent Advances and Opportunities. *IEEE J Sel Top Quantum Electron.* 2016; 2016 (3).
12. Шпольский Э.В. Спектроскопия в биологии // Успехи физических наук. 1946. – Т. 29. – № 7. – С. 221–249.
13. Горбатова Н.Е., Золотов С.А., Кузьмин Г.П. и др. Лазеры для селективной фотодеструкции сосудистых образований кожи и подкожной клетчатки // Лазерная медицина. – Т. 20. – № 3. – С. 111.
14. Сироткин А.А., Кузьмин Г.П., Горбатова Н.Е., Золотов С.А. Твердотельная лазерная установка с диоднойнакачкой для лечения сосудистых образований кожи и подкожной клетчатки. Патент РФ № 2644690 от 13 февраля 2018 г.

REFERENCES

1. Patrick D.C., Michael L.S., Moise L.L. Laser Treatment of Pediatric Vascular Lesions.
2. Seminars in Plastics surgery. 2007; 21 (3): 159–166.
3. Yushina T.E., Gorbatova N.E., Sarukhanyan O.O. Problems of treating capillary angiodyplasias on the skin in children. *Detskaya khirurgiya.* 2019; 2 (19): 72–78. [In Russ.].
4. Yu W. et al. Why do port-wine stains (PWS) on the lateral face respond better to pulsed dye laser (PDL) than those located on the central face? *J. Am. Acad. Dermatol.* 2016; 74 (3): 527–535.
5. Belysheva T.S., Aliev M.D. The effectiveness of laser treatment of capillary angiodyplasias in children. *Oncopediatrics.* 2016; 3 (3): 200–206. [In Russ.]. doi:10.15690/onco.v3i3.1598
6. Solveig L.H. et al. Quality of life in adults with facial port-wine stains. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2016; 1–8.
7. 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.
8. Yu W. et al. Shorter Treatment Intervals of East Asians with Port-Wine Stain with Pulsed Dye Laser Are Safe and Effective–A Prospective Side-by-Side Comparison. *Photomed Laser Surg.* 2018; 36 (1): 37–43.
9. Chen J.K., Ghasri P., Aguilar G. et al. An overview of clinical and experimental treatment modalities for port wine stains. *J. Am Acad. Dermatol.* 2012; 67 (2): 289–304.
10. Jeremy A.B., Joshua A.F., Leonard J.B. et al. Pulsed Dye Laser at Subpurpuric Settings for the Treatment of Pulsed Dye Laser-Induced Ecchymoses in Patients With Port-Wine Stains. *Dermatol Surg.* 2017; 0: 1–7. doi:10.1097/DSS.0000000000001255
11. Choi B., Tan W., Jia W. et al. The Role of Laser Speckle Imaging in Port-Wine Stain Research: Recent Advances and Opportunities. *IEEE J Sel Top Quantum Electron.* 2016; 2016 (3).
12. Shpol'skiy E.V. Spectroscopy in biology. *Uspekhi fizicheskikh nauk.* 1946, vol. 29, No 7, pp. 221–249. [In Russ.].
13. Gorbatova N.E., Zolotov S.A., Kuzmin G.P. et al. Lasers for selective photodestruction of vascular formations of the skin and subcutaneous tissue. *Lasernaya Medicina.* 2016; 20 (3): 111. [In Russ.].
14. Sirotkin A.A., Kuzmin G.P., Gorbatova N.E., Zolotov S.A. Diode-pumped solid-state laser system for the treatment of vascular lesions on skin and subcutaneous tissues. Patent No. 2644690 of Russian Federation 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 соблюдаены 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 АМНРФ, ведущий научный сотрудник, врач детский хирург ГБУЗ «НИИ НДХиТ» ДЗМ, зам. руководителя Центра детской лазерной хирургии «НИИ НДХиТ» ДЗМ, старший научный сотрудник НМИЦ ЗД МЗ РФ, Москва Россия; e-mail: natashgorbatov@yandex.ru; 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

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

Тихоневич 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

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

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

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 (CRIEPST), 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; 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

Sirotkin Anatoly – Doctor of Physics and Mathematics, leading researcher at laboratory of crystal growth physics 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

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

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

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