

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАЗЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ПРОИЗВОДСТВЕ КАРДИОВАСКУЛЯРНЫХ БИОПРОТЕЗОВ

Леонид Семенович БАРБАРАШ¹, Татьяна Владимировна ГЛУШКОВА¹, Александр Петрович МАЙОРОВ²,
Андрей Юрьевич БУРАГО¹, Владимир Михайлович ТАРАСОВ², Анатолий Михайлович ГОНЧАРЕНКО²,
Ирина Юрьевна ЖУРАВЛЕВА¹

¹НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН
650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

²Институт лазерной физики СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 13/3

Цель настоящего исследования – изучение возможности применения лазерных технологий для раскроя биоматериала при создании кардиоваскулярных биопротезов.

Материал и методы. В исследовании использовали перикард крупного рогатого скота, консервированный диглицидиловым эфиром этиленгликоля по стандартной методике. Раскрой ксеноперикарда осуществляли с помощью Nd:YAG, Er:YAG, CO₂ лазеров, а также ножниц, скальпеля и вырубной матрицы. Оценку структуры ксеноперикарда до и после раскроя выполняли методом световой микроскопии.

Результаты. В краевой зоне ксеноперикарда выявили разволокнение коллагена, достигающее 40 мкм при раскрое ножницами и скальпелем, и 5 мкм – при раскрое вырубной матрицей. При воздействии Nd:YAG лазера со средней мощностью 7 Вт глубина разреза не превышала ½ толщины ткани. В зоне до 60 мкм от линии среза наблюдали деструктивные изменения в виде гомогенизации и разволокнения коллагена, а также разрушения фиброцитов. Увеличение средней мощности излучения до 12 Вт позволило разрезать ксеноперикард по всей толщине, однако привело к увеличению зоны деструктивных изменений до 80 мкм. Исследование зоны среза при использовании Er:YAG и CO₂ лазеров показало, что излучение данных лазеров при рассечении ткани не вызывает деструктивных изменений ксеноперикарда в зоне, прилегающей к срезу.

Заключение. Излучение Er:YAG и CO₂ лазеров является оптимальным для раскроя эпоксиобработанного ксеноперикарда, не оказывая механического и высокотемпературного воздействия на ткани, прилегающие к срезу.

Ключевые слова: ксеноперикард, кардиоваскулярные биопротезы, Nd:YAG, Er:YAG, CO₂ лазеры.

Изделия из ксеноперикарда получили широкое распространение в сердечно-сосудистой хирургии. До настоящего времени раскрой ксеноперикарда при изготовлении продукции для сердечно-сосудистой хирургии осуществляется ножницами, скальпелем и вырубными матрицами. Однако все эти способы весьма трудоемки и не обеспечивают высокой точности раскроя.

Одним из высокоточных способов раскроя небиологических материалов является лазерный раскрой. Лазерное излучение при правильном подборе параметров, а также в сочетании с высокоточными станками повышает технологичность процесса раскроя [1–4].

Способность лазерного излучения рассекать ткани получила широкое применение и в медицине в

виде лазерного скальпеля. Лазерный скальпель отличается постоянством режущих свойств, рассекает ткань на расстоянии, не оказывая на нее никакого механического воздействия, действует строго локально в точке фокусировки, при этом повреждение прилегающих участков ткани значительно меньше, чем при использовании механического скальпеля [5, 6].

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности применения лазерных технологий для раскроя биоматериала при создании кардиоваскулярных биопротезов.

Материал и методы

В работе использовали перикард крупного рогатого скота (КРС), консервированный 5% раствором диглицидилового эфира этиленгликоля (ДЭЭ) [7]. Перед изучением воздействия различных инстру-

Барбараш Л.С. – д.м.н., директор, академик РАМН, e-mail: bio@cardio.kem.ru

Глушкова Т.В. – н.с. лаборатории новых биоматериалов, e-mail: bio.tv@gmail.ru

Майоров А.П. – зав. лабораторией лазерных медицинских технологий, e-mail: mayorov@laser.nsc.ru

Бураго А.Ю. – к.м.н., вед.н.с. лаборатории ультраструктурных исследований, e-mail: bio.tv@gmail.ru

Тарасов В.М. – вед. инженер-технолог, e-mail: mayorov@laser.nsc.ru

Гончаренко А.М. – вед. инженер-программист, e-mail: mayorov@laser.nsc.ru

Журавлева И.Ю. – д.м.н., проф., руководитель отдела экспериментальной и клинической кардиологии, e-mail: lab@cardio.kem.ru

ментов на структуру консервированного ксеноперикарда его исследовали с помощью световой микроскопии на наличие деструктивных изменений — таких, как разволокнение и фрагментация коллагенового волокна, лимфоцитарная инфильтрация. В исследовании использовали перикард без деструктивных изменений. Подготовку гистологических препаратов осуществляли по стандартной методике, с окраской препаратов гематоксилин-эозином и пикрофуксином по Ван Гизону. Окраску гематоксилин-эозином использовали для анализа клеточных элементов, а пикрофуксином — для оценки структуры коллагеновых волокон. Анализ гистологических препаратов выполняли с помощью микроскопа МИКМЕД-2 («ЛОМО», Санкт-Петербург), при увеличении $\times 400$.

Раскрой ксеноперикарда производили с помощью лазерных установок с различными параметрами излучения, стандартными хирургическими инструментами, применяемыми при раскрое биоматериала — ножницами и скальпелем, а также вырубной матрицей. Использовали импульсные лазерные излучатели, работающие в режиме свободной генерации с длительностью импульса $(200–400) \times 10^{-6}$ с. Активные элементы этих излучателей — кристаллы алюмоиттриевого граната (YAG), легированного неодимом (Nd:YAG) и эрбием (Er:YAG), генерирующие излучение на длинах волн 1,06 и 2,9 мкм соответственно. Применяли также газовый углекислотный лазер (CO₂ лазер) с длиной волны генерации 10,6 мкм. Излучение CO₂ лазера использовали в непрерывном режиме со средней мощностью не более 50 Вт, кристаллических лазеров — в режиме со средней мощностью 3–12 Вт.

Характер воздействия инструментов на структуру ксеноперикарда исследовали методом световой микроскопии, уделяя особое внимание области среза. Было исследовано по 5 образцов, раскроенных ножницами, скальпелем, вырубной матрицей, Er:YAG и CO₂ лазерами, Nd:YAG лазер использова-

ли в трех режимах с изменением средней мощности (всего — 40 образцов).

Результаты

В ходе исследования были выявлены деструктивные изменения ксеноперикарда при раскрое ножницами, скальпелем и вырубной матрицей, идентифицируемые методом световой микроскопии как разволокнение коллагена. При рассечении ксеноперикарда ножницами и скальпелем разволокнение в области среза достигало 40 мкм (рис. 1а, 1б), вырубная матрица позволяла уменьшить зону деструкции до 5 мкм (рис. 1с).

Средней мощности излучения Nd:YAG лазера в интервале 7–9 Вт оказалось недостаточно для рассечения ксеноперикарда по всей толщине. При этом было отмечено, что глубина разреза обратно пропорциональна степени влажности ксеноперикарда и не превышает $\frac{1}{2}$ толщины ткани (рис. 2а), а зона деструктивных изменений достигает 60 мкм от границы разреза. Было выявлено разрушение фиброцитов и гомогенизация коллагеновых волокон, связанные, вероятно, с коагуляцией белковых структур под воздействием высокой температуры. За пределами зоны гомогенизированных волокон отмечали разволокнение коллагена (рис. 2а).

Увеличение средней мощности излучения до 12 Вт за счет увеличения энергии импульса позволило разрезать ксеноперикард по всей толщине лоскута, однако привело к увеличению зоны деструктивных изменений до 80 мкм (рис. 2б).

В отличие от Nd:YAG лазера, Er:YAG лазеру для рассечения ксеноперикарда по всей толщине оказалось достаточно средней мощности 3 Вт. Результаты гистологического исследования образцов, раскроенных Er:YAG лазером, показали, что данное излучение не оказывает негативного воздействия на биологическую ткань в области среза. Деструктивных изменений в виде разрушения фиброцитов, разволокнения и гомогенизации волокон за границей среза не наблюдали. По краю среза выявили кромку из

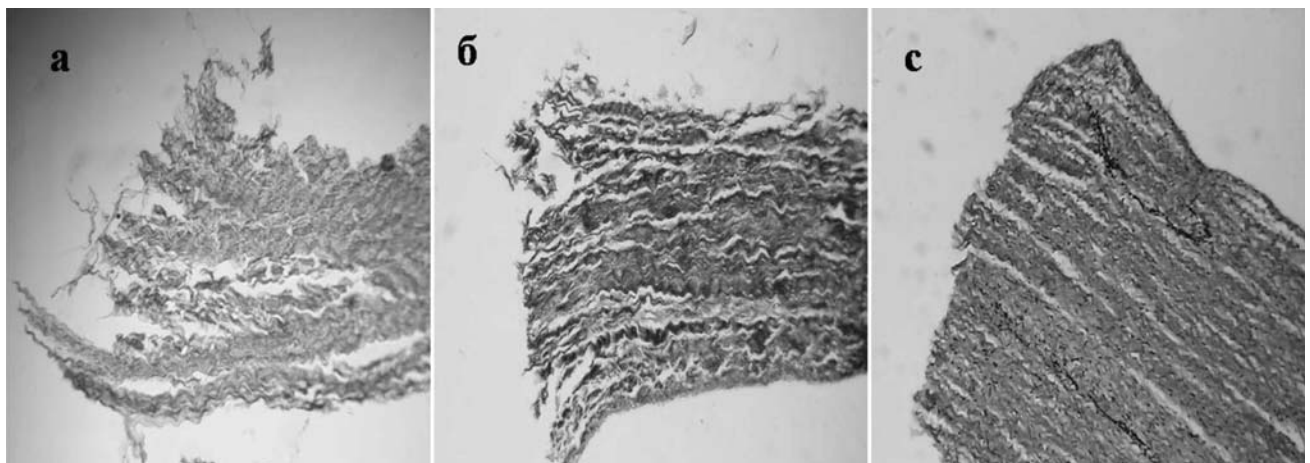


Рис. 1. Ксеноперикард, зона среза: а — раскрой ножницами; б — раскрой скальпелем; с — раскрой вырубной матрицей. Окраска по Ван Гизону, ув. $\times 200$

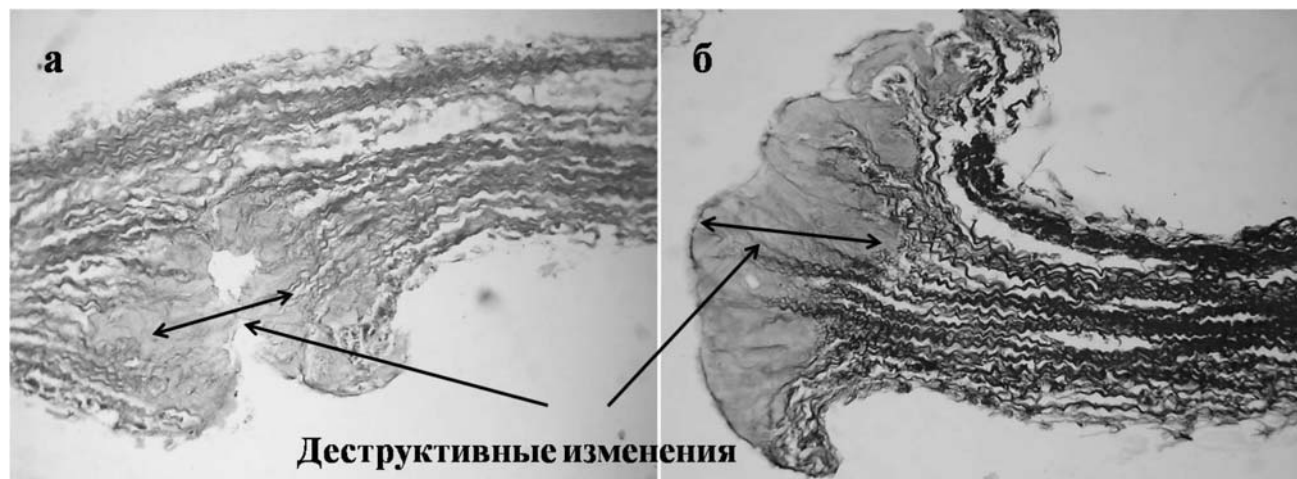


Рис. 2. Ксеноперикард, зона воздействия излучения Nd:YAG лазера: а – воздействие излучения средней мощностью 7–9 Вт; б – воздействие излучения средней мощностью 12 Вт. Окраска препарата по Ван Гизону, ув. $\times 200$

слипшихся волокон коллагена, свидетельствующую о процессе карбонизации под действием температуры свыше 100°C (рис. 3). Однако размер кромки не превышал $0,9\text{ мкм}$, при этом коллагеновые волокна краевой зоны оставались эозинофильными (рис. 4а).

Излучение CO_2 лазера так же, как и излучение Er:YAG лазера, при рассечении перикарда по всей толщине не вызывало деструктивных изменений за зоной среза. Кромка из слипшихся волокон коллагена по краю среза не превышала $1,2\text{ мкм}$, коллагеновые волокна краевой зоны также оставались эозинофильными (рис. 4б).

Обсуждение

Результаты, полученные в настоящем исследовании, доказали возможность использования лазерного излучения для раскрытия биоматериала при изготовлении биопротезов. При взаимодействии с биологической тканью лазерное излучение способно отражаться, рассеивается, проходить насквозь или поглощаться. Пропорции этих взаимодействий и степень воздействия на ткань зависят от свойств лазерного излучения: длины волны, энергии, длительности облучения и свойств самой биологической ткани, таких, как коэффициент поглощения, коэффициент рассеивания, плотность, а также оптические и термические свойства. Известно, что отраженное и прошедшее насквозь излучение не оказывает воздействия на ткань [6, 8–10].

Излучение Nd:YAG лазера вызывает более выраженные деструктивные изменения ксеноперикарда в зоне среза, чем ножницы и скальпель, в связи с чем можно считать Nd:YAG лазер непригодным для раскрытия биоматериала. Деструктивные изменения биоматериала под действием излучения Nd:YAG лазера связаны, скорее всего, с повышением температуры, вызывающей денатурацию коллагена. При достаточно низком коэффициенте поглощения (4 см^{-1}), излучение Nd:YAG лазера способно проникать в биоматериал на глубину до $1,5\text{ мм}$ [5]. С учетом средней толщины перикардального лоскута в 1 мм , можно

предположить, что часть излучения проходит ткань насквозь, не оказывая на нее воздействия, часть рассеивается в ткани и только часть излучения поглощается в пятне фокусировки. Однако поглощенной энергии недостаточно для достижения температуры испарения ткани в пятне фокусировки излучения, но достаточно для повышения температуры в зоне воздействия. Основными хромофорами биологической ткани для излучения Nd:YAG лазера являются органические вещества, повышение температуры вызывает денатурацию коллагеновых волокон, прилегающих к зоне разреза. Для достижения испарения необходимо увеличение энергии излучения или времени воздействия его на биоматериал.

В отличие от Nd:YAG лазера, основным хромофором биоткани для излучения Er:YAG и CO_2 лазера является вода. Коэффициент поглощения биоткани составляет 2700 см^{-1} для излучения Er:YAG лазера и 600 см^{-1} для излучения CO_2 лазера. С такими показателями коэффициента поглощения излучение Er:YAG и CO_2 лазеров способно проникать в ткань на глубину $4\text{--}17\text{ мкм}$ соответственно. При взаимодействии биоткани с

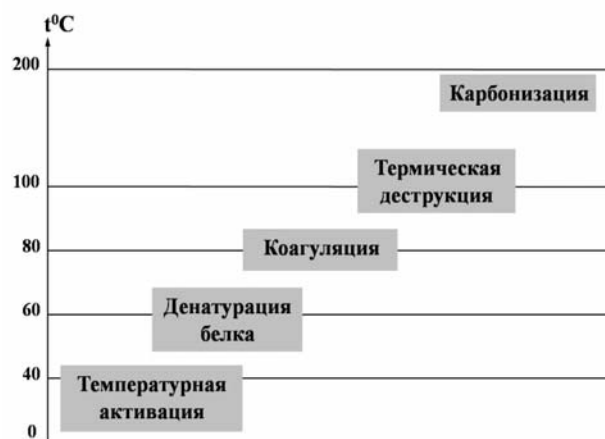


Рис. 3. Тепловые пределы биологических реакций

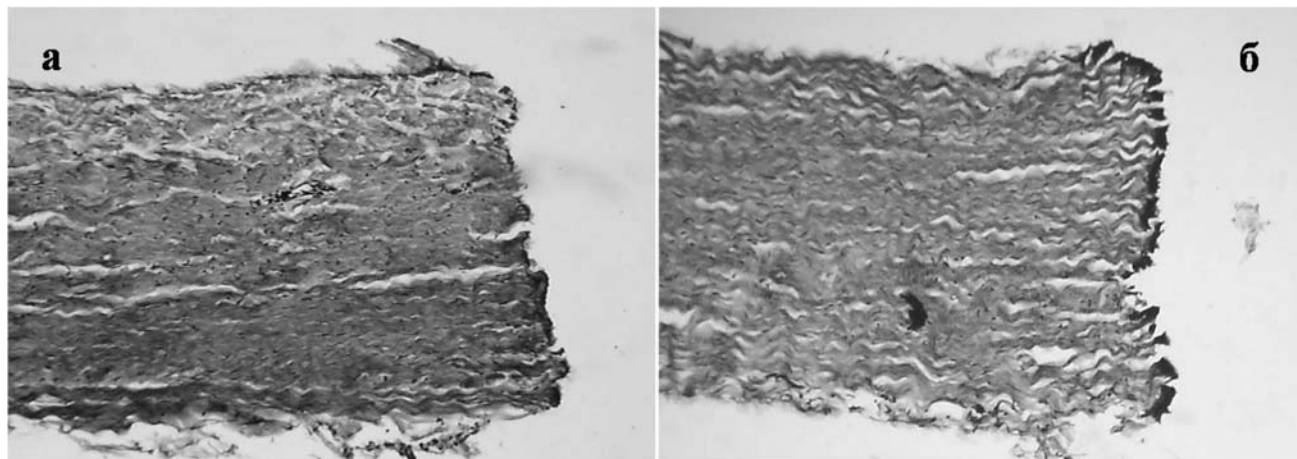


Рис. 4. Ксеноперикард, зона воздействия излучения: а – Er:YAG лазера средней мощностью 3 Вт; б – CO₂ лазера средней мощностью 40 Вт. Окраска по Ван Гизону, ув. × 200

излучением будет доминировать поглощение [5]. Поглощенная энергия излучения преобразуется в тепло, в доли секунд достигающее температуры более 200 °С, вследствие чего происходит выпаривание ткани: как жидкой, так и твердой ее фазы [6, 10]. Это позволяет послойно рассекать ткани, при этом длительность воздействия на ткань настолько мала, что ткани, прилегающие к зоне воздействия, не успевают нагреваться, и зона термонекроза остается минимальной. Таким образом, применение Er:YAG и CO₂ лазеров оказалось оптимальным для раскроя биоматериала при изготовлении ксеноперикардальных биопротезов для сердечно-сосудистой хирургии.

Заключение

Er:YAG и CO₂ лазеры могут быть использованы в раскрое эпоксиобработанного ксеноперикарда при создании кардиоваскулярных биопротезов. Излучение Er:YAG и CO₂ лазеров не оказывает механического и высокотемпературного воздействия на прилегающие к срезу ткани.

Список литературы

1. Вейко В.П., Алгаер В.В., Смирнов В.Н. Лазерная резка металлических стентов // Научно-технический вестник СПбГУ ИТМО. 2001. (4). 108–112.
Veiko V.P., Algaer V.V., Smirnov V.N. Laser cutting of the metal stents// Nauchno-tekhnicheskii vestnik SPBU ITMO. 2001. (4). 108–112.
2. Kathuria Y.P. Laser precision processing in microtechnology // Proc. 30th Int. CIRP Seminar on Manufacturing Systems – LANE. 1997. 267–272.
3. Сванидзе Э.Н., Харлампович О.Я. Технологические лазеры. Экономичность и границы эффективности. М.: Машиностроение, 1990. 77 с.
Svanidze E.N., Kharlampovich O.Ya. Material-working lasers. Operating economy and the boundaries of efficiency. M.: Mashinostroenie, 1990. 77 p.
4. Валиухин А.Г., Горный С.Г., Григорьев А.М. Исследование газолазерной резки металлов с целью получения деталей с высокими характеристиками

точности и воспроизведения контура. СПб: Изд-во СПб ГТУ, 1999. 35 с.

Valiuchin A.G., Gorniy S.G., Grigor'ev A.M. The study of gas/laser metals cutting for the purpose of getting the components with the specifications of high accuracy and edge reproduction. SPb.: Izd-vo SPB GTU, 1999. 35 p.

5. Берлиена Х.П., Мюллер Г.Й. Прикладная лазерная медицина. М.: Интерэксперт, 1997. 356 с.

Berliena Kh.P., Myuller G.Y. Applied laser medicine. M.: Interexpert, 1997. 356 p.

6. Пушкарева А.Е. Методы математического моделирования в оптике биоткани. Учебное пособие. СПб.: Изд-во СПбГУ ИТМО; 2008. 103 с.

Pushkareva A.E. Mathematic modeling in biological tissue optics. Study guide. SPb.: Izd-vo SPbGU ITMO, 2008. 103p.

7. Пат. 2008767 РФ. Способ консервации биоткани для протезирования клапанов сердца и сосудов / Барбараи Л.С., Новикова С.П., Журавлева И.Ю. и др.; опубл. 15.03.1994.

2008767 Russian Federation Patent. The method of biological tissues preservation for valves and vessels replacement / Barbarash L.S., Novikova S.P., Zhuravleva I.Y. et al., published 15.03.1994.

8. Красников И.В. Температурное воздействие лазерного излучения на многослойную биологическую ткань: Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. Хабаровск, 2007.

Krasnikov I.V. Laser radiation temperature effects on multi-layer biological tissue: Thesis abstract of the PhD in physical and mathematical sciences. Khabarovsk, 2007.

9. Тучин В.В. Взаимодействие лазерного излучения с биологическими тканями // Лазерная физика. Вып. 3. СПб.: Российский центр лазерной физики, 1992. 87–108.

Tuchin V.V. Laser radiation and biological tissues interaction // Laser physics. Issue 3. SPb.: Russian Centre for Laser Physics, 1992. 87–108.

10. Niemz M.H. Laser-tissue interactions: Fundamentals and applications. Berlin, 1996. 305p.

THE POSSIBILITY OF CARDIOVASCULAR BIOPROSTHESES PRODUCTION USING LASER-BASED TECHNOLOGIES

Leonid Semenovich BARBARASH¹, Tatiana Vladimirovna GLUSHKOVA¹, Aleksandr Petrovich MAYOROV², Andrei Yur'evich BURAGO¹, Vladimir Mikhailovich TARASOV², Anatolii Mikhailovich GONCHARENKO², Irina Yur'evna ZHURAVLEVA¹

¹*Institute for Integrated Problems of Cardiovascular Diseases SB RAMS
650002, Kemerovo, Sosnovyi blv., 6*

²*Institute of Laser Physics SB RAS
630090, Novosibirsk, Akademik Lavrent'ev pr., 13/3*

The objective of the present research was to study the possibility of laser-based technologies usage for biomaterial cutting in the cardiovascular bioprotheses production. Resources and methods. The research used a bovine pericardium, preserved routinely with ethylene-glycol diglycidyl ether. Bovine pericardium cutting was performed using Nd:YAG, Er:YAG, CO₂ lasers as well as scissors, a scalpel and a nibble matrix. The pericardiac structure assessment before and after the cutting was done using light microscopy. Results. In the marginal zone of the pericardium there was collagen dissociation up to 40 μm in scissors and scalpel cutting and up to 5 μm in nibble matrix cutting. The cutting depth was not more than ½ of the tissue thickness after Nd:YAG 7 W laser exposure. Destructive changes such as collagen homogenization and dissociation as well as fibrocytes breakdown were observed up to 60 μm from the cutting line. The increase in the mean laser emission power up to 12 W let cut xenopericardium through, however it led to the destructive changes zone enlargement up to 80 μm. The study of the cutting zone using Er:YAG and CO₂ lasers showed that the emission of these lasers while dissecting the tissue didn't cause any destructive changes of the pericardium close to the cutting zone. Conclusion. Er:YAG and CO₂ laser emission is optimum for the epoxy-treated xenopericardium cutting; it doesn't have mechanic or high-temperature impact on the tissues close to the cutting zone.

Key words: bovine pericardium, cardiovascular bioprotheses, Nd:YAG, Er:YAG, CO₂ lasers.

Barbarash L.S. — doctor of medical sciences, director, academician of RAMS, e-mail: bio@cardio.kem.ru

Glushkova T.V. — researcher of the new biomaterials laboratory, e-mail: bio.tv@gmail.ru

Mayorov A.P. — head of the laser medical technologies laboratory, e-mail: mayorov@laser.nsc.ru

Burago A.Y. — candidate of medical sciences, leading researcher of the ultrastructural research laboratory, e-mail: bio.tv@gmail.ru

Tarasov V.M. — the leading technology engineer, e-mail: mayorov@laser.nsc.ru

Goncharenko A.M. — the leading information technologies engineer, e-mail: mayorov@laser.nsc.ru

Zhuravleva I.Y. — doctor of medical sciences, professor, the head of the experimental and clinical cardiology department, e-mail: lab@cardio.kem.ru