

Изменения электропроводности тканей межпозвонковых дисков при импульсно-периодическом лазерном воздействии

А.И.Омельченко, Э.Н.Соболь

Приведены результаты исследования электропроводности хрящевых тканей межпозвонковых дисков при термомеханическом воздействии последовательности импульсов волоконного лазера с длиной волны излучения 1.56 мкм. Измерения проводились на переменном токе с помощью коаксиальных электродов, совмещенных с оптическим волокном, по которому лазерное излучение доставлялось к облучаемой ткани. Полученные временные зависимости проводимости ткани можно объяснить гидравлическими эффектами и термомеханическими изменениями структуры. Установлена корреляция изменений электрических параметров ткани в процессе лазерного воздействия со структурными изменениями, которые регистрировались методом теневой визуализации. Измерение локальной проводимости в объеме ткани на переменном токе может быть использовано при разработке контрольно-диагностической системы для лазерной реконструкции межпозвонковых дисков.

Ключевые слова: электропроводность, биоткани, хрящ, межпозвонковые диски, лазер.

1. Введение

В последнее время разработан ряд медицинских технологий, использующих малоинвазивные физические воздействия на ткани внутренних органов. К таким технологиям относится и лазерная реконструкция межпозвонковых дисков [1–5]. Для обеспечения эффективности и безопасности воздействия целесообразно осуществлять контроль физических характеристик ткани, от которых зависят степень воздействия и момент выключения лазерного излучения [6].

Механические свойства межпозвонковых дисков определяются структурой и физико-химическими свойствами тканей, образующих эти диски: пульпозного ядра, фиброзного кольца и хрящевой пластины, покрывающей поверхности двух смежных дисков. Эти ткани, являясь высокогидратированными заряженными полимерными композитами, обладают ярко выраженными механоэлектрическими свойствами [7–11]. Ранее рассматривалась зависимость электропроводности ткани от заряда, связанного на протеогликановых агрегатах [10], от заряда растворов, входящих в состав внутритканевой жидкости [9], а также от перемещения этих зарядов в матриксе ткани [12]. Предпринимались попытки использовать измерение электрического потенциала для оценки состава и состояния хрящевой ткани [13–15]. Так, в работе [14] с помощью прибора Arthro BST™ (Bio Syntech Canada Inc.), состоящего из 36-электродной матрицы размером 4 × 4, в течение нескольких минут было измерено распределение потенциала, вызванное перемещением внутрисуставной жидкости. Измерения [14, 16] проводились на постоянном токе и были нестабильными вследствие поля-

ризации электродов; кроме того, такой метод трудно совместить с системой доставки лазерного излучения. Электромеханическая спектроскопия хряща [13] позволяет анализировать лишь поверхностную электропроводность ткани. В настоящей работе была рассмотрена задача измерения на переменном токе локальной проводимости в объеме ткани в процессе лазерного воздействия на межпозвонковые диски.

2. Материалы и методы

В качестве образцов тканей межпозвонковых дисков для измерения электропроводности использовались свежие срезы тканей межпозвонкового пространства двух смежных позвонков хвостового отдела коров и овец, полученные на бойне. Образцы хранились в физиологическом растворе не более 48 ч при температуре 2–4 °С. Облучение образцов волоконным Ег-лазером ($\lambda = 1.56$ мкм), работающим в импульсно-периодическом режиме, проводилось посредством волоконного световода диаметром 400 мкм.

Световод был пропущен через пункционную иглу с размещенными на ее конце электродами (см. рис.1). Электроды располагались в непосредственной близости от области лазерного воздействия, размеры которой (~1 мм) определялись глубиной поглощения излучения в ткани. Средняя мощность излучения составляла 0.5–1.5 Вт, а длительность импульсов и частота их следования выбиралась из условия достижения максимального термомеханического эффекта, наблюдаемого визуально по перемещению ткани в поле лазерного излучения. Электропроводность ткани пульпозного ядра межпозвонкового диска животного измерялась на выделенных образцах с помощью специально разработанных электродов, пункционной иглы и компьютерной системы сбора и обработки данных (рис.1). Образцы нанизывались на кончик иглы, при этом электроды полностью погружались в ткань. Измерения проводились на переменном токе с

А.И.Омельченко, Э.Н.Соболь. Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Россия, Московская обл., 142092 Троицк, ул. Пионерская, 2; e-mail: omelch@laser.ru

Поступила в редакцию 18 июня 2008 г., после доработки – 9 сентября 2008 г.

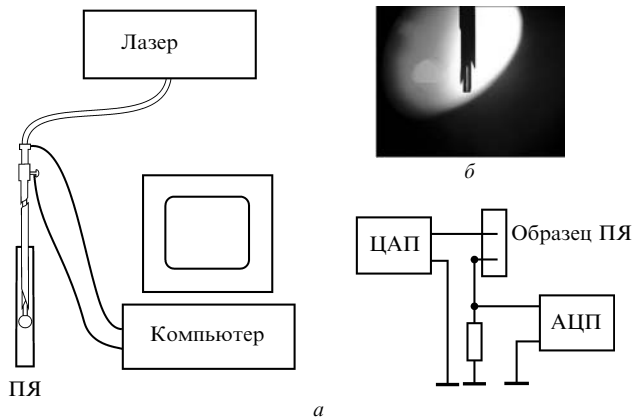


Рис.1. Схема измерения проводимости ткани пульпозного ядра (ПЯ) межпозвонкового диска (а) и внешний вид пункционной иглы с волокном для облучения ткани и встроенными электродами для измерения проводимости (б).

помощью встроенной в компьютер платы МЮ 16Е (National Instrument). Генерация переменного синусоидального напряжения осуществлялась цифро-аналоговым преобразователем (ЦАП), встроенным в плату NI МЮ-16Е. Для измерения токового сигнала, проходящего через образец ткани, использовался аналого-цифровой преобразователь (АЦП). Электрическая схема измерений переменного напряжения, пропорционального току через образец, представлена на рис.1,а. Программирование платы NI ЦАП и создание пользовательского интерфейса проводилось с помощью компилятора С++ в средствах разработки Visual C++ 6.0. Программа работала в одночастотном или многочастотном режиме. Для оптимизации величины сигнала проводимости, зависящего от частоты переменного синусоидального сигнала, измерялись амплитудно-частотные зависимости коэффициента передачи.

При измерении электрической проводимости ткани в процессе лазерного воздействия регистрировались структурные изменения ткани в зоне облучения. Чтобы выявить связь получаемых при регистрации сигналов со структурными изменениями в облучаемых тканях, одновременно с измерением электропроводности осуществлялась съемка изображения ткани цифровой видеокамерой SONY DCR-TRV 40E с интерфейсом IEEE 1394 для установления связи с компьютером. С целью увеличения контраста изображения ткани съемка выполнялась в светонепроницаемом кожухе 10 (рис.2); в качестве источника подсветки использовалось монохроматическое излучение красного светодиода 8. Для синхронизации видеозаписи и электрических измерений светодиод включался на время измерения. Была разработана программа захвата изображения с частотой передачи полноцветного изображения 25 кадров/с при разрешении 768×576 точек на дюйм.

Игла с датчиком проводимости была испытана при измерениях проводимости жидкости, электропроводящего геля и ткани пульпозного ядра межпозвонкового диска телянка *in vitro*. Для оптимизации амплитудно-частотного отклика проводимости ткани измерения проводились в частотном диапазоне от 10 Гц до 100 кГц. Измерения частотной зависимости указанных веществ показали, что импеданс имеет гиперболическую зависимость от частоты и определяется, в основном, емкостью электродов вблизи наконечника.

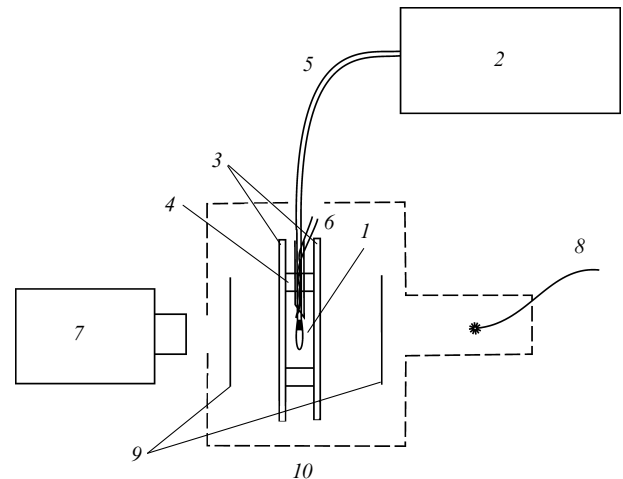


Рис.2. Схема видеозаписи изображения ткани при лазерном воздействии:

1 – образец биоткани; 2 – лазер; 3 – прозрачные стекла; 4 – слайд; 5 – волоконный световод с датчиком сопротивления; 6 – термопара; 7 – цифровая видеокамера; 8 – светодиод; 9 – линзы; 10 – светонепроницаемый кожух.

Была определена частота, при которой достигался максимальный контраст изменения проводимости, вызванного лазерным воздействием, поэтому все измерения кинетики проводимости ткани при импульсно-периодическом лазерном воздействии осуществлялись на частоте переменного тока $f = 100$ Гц. Облучение Er-лазером проводилось в непрерывном, импульсном и импульсно-периодическом режимах с заданным числом импульсов в последовательности и фиксированной паузой. Одновременно измерялся токовый отклик на приложенное синусоидальное напряжение с амплитудой $U = 1$ В и определялась величина проводимости.

Исследовалось влияние непрерывного и импульсного лазерного воздействия на величину сигнала проводимости и структуру ткани вблизи электродного датчика. Одновременно велась запись изображения ткани в области расположения датчика. Кинетика проводимости ткани изучалась в зависимости от длительности и количества импульсов, частоты их следования и времени лазерного воздействия. Длительность лазерных импульсов варьировалась от 100 мс до 2 с, частота следования изменялась от 10 до 0.3 Гц.

Температура в области лазерного воздействия на ткань измерялась с помощью термопары 6, размещенной на конце световода (см. рис.2).

3. Результаты экспериментов

Анализ полученных зависимостей проводимости тканей межпозвонковых дисков от амплитуды и частоты переменного тока показал, что отклик проводимости имеет низкочастотную реактивную составляющую, чувствительную к лазерно-индуцированным изменениям ткани.

При воздействии пяти лазерных импульсов с длительностью 1 с и частотой следования 0.5 Гц проводимость возрастала почти пропорционально числу импульсов излучения (рис.3, кривая 1). Однако спустя 10 с после завершения облучения проводимость возвращалась к своему исходному значению. При повторном облучении ткани в этой точке кривая проводимости вначале повто-

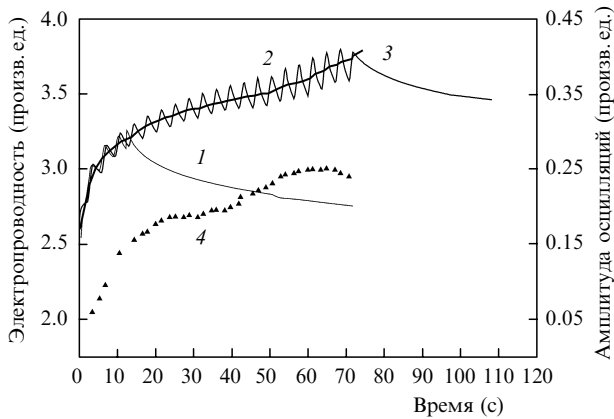


Рис.3. Изменение электропроводности ткани пульпозного ядра при воздействии пяти лазерных импульсов и после выключения лазера (1), а также при продолжительном воздействии лазерных импульсов с длительностью 1 с и частотой следования 0.3 Гц (2) (средняя мощность излучения 1.2 Вт); 3 – среднее значение проводимости ткани; 4 – амплитуда колебаний проводимости.

рляла кривую 1. Через 30 с от начала облучения рост проводимости несколько замедлялся, но спустя 50 с скорость роста снова начинала увеличиваться (рис.3, кривая 2). Амплитуда колебаний импульсов проводимости (кривая 4) нарастала в течение 20 с, а затем стабилизировалась при росте среднего значения (кривая 3). После выключения лазера, проработавшего 75 с, проводимость ткани не возвращалась к своему исходному значению (рис.3, кривая 2). Скорость роста среднего значения проводимости

спустя 10 с от начала лазерного воздействия замедлялась и достигала уровня, составляющего около 30 % от первоначального значения проводимости, а затем, через 50 с, рост ускорялся вплоть до момента выключения лазера. Изменение проводимости при этом составило ~40 % от исходного значения.

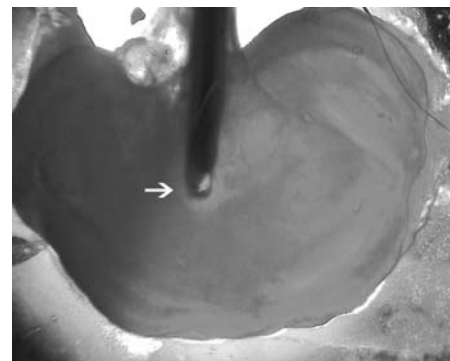
Наблюдаемые изменения проводимости качественно повторяются при измерениях на различных межпозвонковых дисках одного животного (7 дисков). При их трехкратном облучении последовательностью импульсов с длительностью 1 с, частотой 0.5 Гц и средней мощностью 1.5 Вт проводимость увеличивалась на 20 % – 40 %.

Структурные исследования ткани в области лазерного воздействия показали, что ткань периодически, в такт подаваемым импульсам, перемещается из области нагрева. Также периодически происходил рост температуры ткани, максимальное значение которой не превышало ~50–55 °С. В области контакта волокна с тканью формируется полость, заполненная межтканевой жидкостью, – светлая область вокруг конца волокна (рис.4,б).

Плотность и размеры теневой картины увеличиваются с ростом числа воздействующих импульсов вплоть до момента прорыва полости, формируемой в ткани вблизи окончания волокна, когда из отверстия в полости с большей скоростью начинает выходить перегретая тканевая жидкость. При истечении этой жидкости в струе наблюдается большое количество пузырьков (рис.5,б). Измерение скорости их движения с помощью обработки изображений (методом PIV [17]) показало, что скорость потока жидкости составляет ~10 см/с.

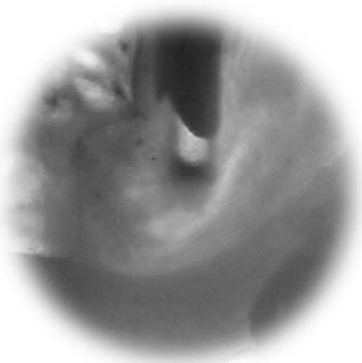


а

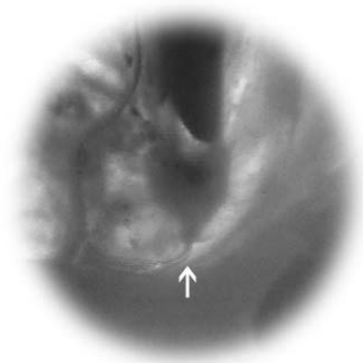


б

Рис.4. Структура ткани пульпозного ядра межпозвонкового диска (стрелка показывает торец волокна) до облучения (а) и после облучения (б). Теневые изображения получены при просвечивании ткани красным светом.



а



б

Рис.5. Изображение полости в ткани пульпозного ядра межпозвонкового диска до прорыва (а) и после прорыва (б). На конце волокна видна струя межтканевой жидкости с пузырьками (место прорыва показано стрелкой).

4. Обсуждение результатов

Измерения проводимости тканей межпозвоночных дисков при воздействии импульсно-периодического лазерного излучения показали, что при различных по длительности режимах облучения могут происходить как обратимые, так и необратимые изменения электропроводности ткани (рис.3, кривые 1 и 2). При кратковременном облучении ткань перемещается из области поглощения излучения в холодную зону. Это перемещение связывается нами с тепловым расширением внутритканевой жидкости в хрящевой матриксе, что в случае ограниченной гидравлической проводимости последнего может привести к значительному повышению внутреннего давления. С выключением лазера давление падает и ткань возвращается к своему первоначальному состоянию. При длительном воздействии лазерных импульсов циклические перемещения ткани с нарастающей амплитудой происходят до тех пор, пока внутреннее давление внутритканевой жидкости не уравнивается силами растяжения матрикса (рис.3, кривая 4). Дальнейший нагрев ткани может привести к денатурации коллагена и последующей коагуляции ткани, что может вызвать образование «коагуляционного мешка» вблизи световода (рис.4,б). Последнее, в свою очередь, может уменьшить гидравлическую проводимость и вызвать рост давления, а также разрыв коагуляционного мешка (рис.5,б).

Анализ динамики структурных изменений показал, что ткань вне области лазерного воздействия уплотняется, а в области воздействия становится менее плотной, о чем свидетельствует изменение оптической плотности ткани в теневой картине (рис.4). Измерения с помощью термодпары показали, что температура ткани вне лазерного пучка не превышает температуры денатурации коллагена. Однако в области лазерного воздействия она значительно выше ее, что, по-видимому, приводит к модификации коллагена – изменению плотности ткани и проницаемости сети волокон. Длительное лазерное воздействие фиксирует это распределение плотности ткани, что вызывает необратимые изменения ее структуры и электрических свойств.

В результате перемещения ткани относительно межэлектродного пространства происходит перераспределение свободных ионов внутритканевой жидкости и увеличение их вклада в проводимость ткани. Кроме того, денатурация ткани может привести к дополнительному вкладу связанных катионов в проводимость ткани. Все это увеличивает проводимость в области лазерного воздействия. Циклические перемещения ткани (колагеновых волокон, имеющих меньшую проводимость) модулируют амплитуду тока проводимости в межэлектродном пространстве, что может использоваться в качестве индикатора механического состояния ткани. Величина модуляции тока отражает амплитуду механических колебаний (рис.3, кривая 4), а среднее значение проводимости – концентрацию ионов проводимости в коагуляционном мешке. Отметим, что нагрев жидкости в коагуляционном мешке – в замкнутой полости вблизи торца волокна – может привести к разрыву ткани и вытеканию разогретой жидкости в свободное пространство. Скорость истечения этой жидкости может быть довольно большой (~10 см/с), что вызывает кавитацию и образование пузырьков. Разрыв полости нежелателен ввиду опасности

теплового воздействия на ткани спинного мозга, в непосредственной близости от которого осуществляется вмешательство. Следовательно, измерение электропроводности позволяет контролировать состояние ткани в области лазерного воздействия.

5. Заключение

Проведенные исследования показали, что электропроводность ткани увеличивается с ростом числа воздействующих лазерных импульсов и осциллирует в такт импульсам облучения. Амплитуда этих осцилляций вначале нарастает, а затем выходит на стационарный уровень; при этом скорость роста среднего значения проводимости ткани резко замедляется. С увеличением времени воздействия стационарное состояние сменяется ускоренным ростом среднего значения проводимости при неизменной амплитуде колебаний. В результате лазерного облучения изменяется структура ткани пульпозного ядра в области воздействия, причем изменения структуры ткани коррелируют с изменениями ее электропроводности. Таким образом, измерение локальной проводимости в объеме ткани на переменном токе может быть использовано при разработке контрольно-диагностической системы для лазерной реконструкции межпозвоночных дисков.

Авторы выражают благодарность В.В.Зосимову за участие в разработке компьютерной программы для обработки данных и плодотворное обсуждение результатов, Ю.С.Заворотному за помощь в наладке электрической схемы, а также РФФИ за финансовую поддержку работы (грант № 07-02-12080 оф).

1. Choy D.S., Case R.B., Fielding W., Hughes J., Liebler W., Ascher P. *New England J. Medicine* Sep., **17**, 317 (12), 771 (1987).
2. Saal J.A., Saal J.S. *Spine*, **25** (20), 2262 (2000).
3. Басков А.В., Шехтер А.Б., Соболь Э.Н. и др. *Лазерная медицина*, **6** (2), 18 (2002).
4. Сандлер Б.И. *Перспективы лечения дискогенных компрессионных форм пояснично-крестцовых радикулитов с помощью пункционных эндоскопических лазерных операций* (Владивосток: Дальнаука, 2004, с. 181).
5. Баграташвили В.Н., Басков А.В., Борщенко И.А., Игнатьева Н.Ю., Овчинников Ю.А., Омельченко А.И., Свиридов А.П., Свиштушкин В.М., Соболь Э.Н., Шехтер А.Б. *Лазерная инженерия хрящей* (М.: Физматлит, 2006, с. 488).
6. Sobol E.N., Milner T.E., Shekhter A.B., Baum O.I., Guller A.E., Ignatieva N.Y., Omelchenko A.I., Zakharkina O.L. *Laser Phys. Lett.*, **4** (7), 488 (2007).
7. Mow V.C., Gu W.Y., Lai W.M. *J. Biomech. Eng.*, **120**, 169 (1998).
8. Frank E.H., Grodzinsky A.J., Phillips S.L., Grimshaw P.E., in *Biomechanics of Diarthrodial Joints*. Ed by V.C.Mow, A.Ratcliff, S.L.-Y.Woo (New York: Springer-Verlag, 1990, p. 420).
9. Maroudas A. *Biophys. J.*, **8**, 575 (1968).
10. Hardingham T.E. *Biochem. Soc. Trans.*, **9** (6), 489 (1981).
11. Maroudas A. *Biorheol.*, **12**, 233 (1975).
12. Gu W.Y., Mao X.G., Rawlins B.A., et al. *J. Biomech.*, **32**, 1183 (1999).
13. Frank E.H., Grodzinsky A.J., Koob J., et al. *J. Orthop. Res.*, **5**, 497 (1987).
14. Buschmann M.D., Legare A. *4th ICRS Symposium Transactions* (Toronto, Canada, p. 126).
15. Sachs J.R., Grodzinsky A.J. *J. Biomechanics*, **28** (8), 963 (1995).
16. Justiz A.M., Cheung H., Gu W.Y. *47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society* (0883 February 25-28, 2001).
17. Jonassen D.R., Settles G.S., Tronosky M.D. *Opt. Las. Eng.*, **44** (3-4), 190 (2006).