

УДК 616.831.484-006:615.849.19:615.832

Морфологическое обоснование применения метода лазерной термодеструкции в нейроонкологии

Розуменко В.Д., Семенова В.М., Носов А.Т., Хоменко А.В.,
Васлович В.В., Тяглый С.В., Отман О.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г. Киев, Украина

На основании анализа экспериментальных исследований установлены оптимальные параметры непрерывного и импульсного режимов лазерного излучения относительно обеспечения эффекта лазерной термодеструкции опухолевой ткани. Выявленные деструктивные изменения обуславливают характерную зональность повреждений с формированием зон коагуляционного некроза, некробиоза и перифокального отека. Усиление необоротных деструктивных изменений в отдаленный период ЛТД отображает отсроченный эффект лазерной термодеструкции.

Ключевые слова: *внутричерепные опухоли, лазерное излучение, термодеструкция.*

Введение. Первичные глиальные опухоли (глиомы) головного мозга составляют наиболее многочисленную группу новообразований ЦНС. В связи с инвазивным характером роста, частым поражением медианных структур, ограниченными возможностями послеоперационной радио- и химиотерапии, что приводит к рецидивированию процесса, прогностически глиомы относят к инкурабельным опухолям мозга.

Применяемый в Институте нейрохирургии метод лазерной термодеструкции (ЛТД) открывает новые возможности в повышении радикальности и снижении травматичности микрохирургического удаления внутричерепных опухолей, распространяющихся в функционально значимые зоны и глубинные отделы мозга. Кроме того, ЛТД является перспективным методом миниинвазивной термодеструкции небольших внутричерепных опухолей с использованием стереотаксической и КТ-управляемой навигационной техники. Метод ЛТД основан на использовании термокоагулирующих свойств высокоэнергетического лазерного излучения и его избирательного контролируемого воздействия на опухоль с учетом ее локализации, особенностей распространения и степени васкуляризации.

Впервые в клинической нейроонкологии при опухолях головного мозга лазерное излучение применили Н. Rosomoff и F. Carroll [8], J.L. Fox [7], P.W. Asher [6]. В Институте нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины лазерные технологии при нейроонкологических операциях используют с 1981 г. Результаты комплексных исследований по этой

проблеме обобщены в первой отечественной монографии Ю.А. Зозули, А.С. Ромоданова, В.Д. Розуменко «Лазерная нейрохирургия» [2].

Воздействие высокоэнергетического лазерного излучения на ткани мозга, обеспечивающее рассечение, коагуляцию и вапоризацию, основано на тепловых эффектах. Характер лазерного воздействия зависит от эмиссионных характеристик излучения — длины волны, режима генерации (непрерывный или импульсный), мощности, плотности мощности, экспозиции, а также оптических и тепловых свойств мозговой и опухолевой тканей как объекта воздействия их абсорбционных характеристик, теплопроводности и удельной теплоемкости.

При коагулирующем режиме лазерного воздействия на опухоль окружающая ткань также претерпевает изменения согласно законам распространения тепла. В связи с этим возникла необходимость решения вопросов строго дозированной управляемой локальной тепловой коагуляции, что в дальнейшем послужило обоснованием для разработки метода интраоперационной лазерной термодеструкции [5].

На первом этапе проведения исследований по применению ЛТД при внутричерепных глиомах первостепенной задачей явилась отработка оптимальных параметров интраоперационной ЛТД, когда визуально при планировании хода операции и определении параметров эмиссионно-тканевого воздействия нами учитывались результаты КТ- или МРТ-исследований. С целью повышения степени радикальности лазерно-хирургических операций крайне актуальным явилась разработка методоло-

гических подходов интраоперационной локальной термодеструкции неудаленных участков опухолей мозга, распространяющихся в медианные структуры и функционально важные зоны мозга.

В процессе разработки метода ЛТД были решены вопросы технического обеспечения интраоперационного применения лазерной деструкции: модифицирован АИГ-неодимовый лазер с генерацией излучения в непрерывном и импульсном режимах, разработаны специальные оптические излучатели со сферической, цилиндрической и конусовидной индикатрисами излучения, проведены специальные исследования по математическому моделированию процессов лазерной термодеструкции опухолей мозга.

Усовершенствованная нами лазерная импульсная установка (АИГ-неодимовый лазер) с генерацией излучения с длиной волны 1,06 мкм обладает возможностью управления энергией импульса и частотой его следования, что в целом обеспечивает выбор оптимальных параметров лазерного излучения [1, 3, 4]. При этом режим управления частотой следования лазерных импульсов и энергией в эксперименте или в ходе операции осуществляется по требуемой программе с пульта управления.

С целью выяснения характера тканевых и внутриклеточных лазер-индуцированных изменений в зоне облучения мозга при различных режимах ЛТД была проведена серия светооптических и электронно-микроскопических исследований интактного мозга (кроликов). Полученные в эксперименте оптимальные параметры непрерывного и импульсного режимов лазерного облучения мозга затем апробированы на модели перевивной злокачественной глиомы крыс (штамм 101.8) для оценки возможности их эффективного применения в клинической практике в ходе нейрохирургических операций у нейроонкологических больных.

Материалы и методы исследований. В 1-й серии экспериментов на интактном мозге кроликов отработаны параметры эффекта лазерной термодеструкции в непрерывном (до 10 Вт) и импульсном (200 мДж) режимах облучения мозга АИГ-неодимовым лазером при различных временных интервалах (30–300 с). В ходе экспериментов регистрировали также показатели индикации температурных полей.

Во 2-й серии опытов отработанные режимы апробированы на модели перевивной злокачественной глиомы (штамм 101.8), которая

по своим гистобиологическим свойствам близка злокачественным глиомам человека, поскольку обладает высокой пролиферативной активностью и выраженной инвазивностью роста. Животных забивали непосредственно после облучения и через 24, 48, 72, 96 ч, 7 сут после проведения опытов. Мозг извлекали из полости черепа и проводили забор облученных участков опухоли для светооптического и электронно-микроскопического исследований общепринятыми методами. Контролем служила интактная ткань опухоли.

Результаты экспериментальных исследований. В наших экспериментах при использовании импульсного режима локального лазерного облучения интактного мозга кроликов с экспозицией до 300 с установлено, что макроскопически окраска облучаемого участка мозга не изменяется. В отличие от этого при непрерывном режиме лазерного облучения кора мозга становится бледной и обезвоживается. Начиная с 60 с лазерного воздействия, сосуды и мозговое вещество коагулируются, а после 120 с начинают обугливаться. При этом температура ткани мозга при 19,1 Вт/см² непрерывного лазерного излучения представляет собой неизменяющееся плато в 60°C на 120–300 с и является оптимальной для термотерапевтического прогрева мозгового вещества. При импульсном режиме генерации лазерного облучения подобный температурный прогрев ткани мозга кроликов формируется на протяжении 15–30 с при 1 кВт/см² лазерного воздействия.

Гистологическое исследование участка облученного мозга кроликов при использовании дефокусированного непрерывного лазерного воздействия показало, что в проекции облучения отчетливо выявляются три зоны изменений: зона некроза, зона некробиоза и зона отека с полусферическим распространением вглубь очага поражения. На поперечных срезах мозга в очаге воздействия луча лазера наблюдается аналогичная картина с циркулярным размещением этих зон. При этом центральная зона очага лазерного облучения оказывается сформированной в результате коагуляционного некроза мозгового вещества по ходу луча на глубину до 4 мм и включает отдельные глыбки обугленных частиц. Вглубь от нее следует зона некробиоза (шириной до 3 мм) полусферической формы, в которой структура нейроцитов заметно нарушена: цитоплазма округлена, гомогенизирована, ядра пикнотичны, гиперхромны, уменьшены в объеме,

смещены к мембране цитоплазмы, рисунок тигроидной субстанции стерт. Встречаются клетки-тени. Некробиотические изменения определяются и в глиоцитах. Далее зона некробиоза переходит в зону отека, в которой ячейки глиального ретикула неравномерно расширены за счет скопления отечной жидкости, а местами сливаются с образованием более крупных полостей. Отчетливо выявляются также признаки периваскулярного и перицеллюлярного отека. В части астроцитов наблюдается гипертрофия цитоплазмы (рис.1, А цветной вкладки).

При электронно-микроскопическом исследовании участков мозга в зоне непрерывного лазерного воздействия в большинстве клеток зоны некроза отмечаются признаки субтотальной деструкции ультраструктурных органелл клеток на фоне разрушения межклеточного ретикула, что подтверждает необратимость изменений в таких клетках.

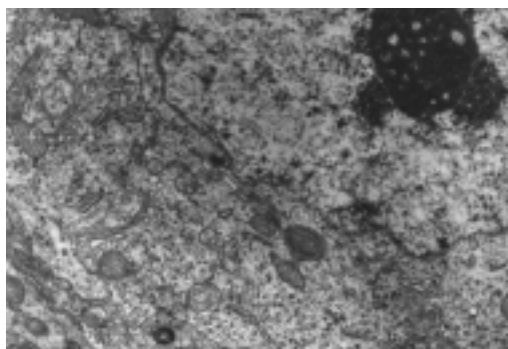
По сравнению с зоной некроза в зоне некробиоза также выявляются нейроны и глиоциты с признаками дезорганизации ультраструктур цитоплазмы, особенно митохондрий, при повышении осмиофилии ядер, что отражает признаки продолжающегося деструктивного процесса в части клеток. Однако в этой зоне уже появляются нейроны с признаками репаративной регенерации в виде конденсации гранул рибонуклеопротеидов по периферии нуклеонемных ядрышек или в центральных отделах ядра, что сочетается с увеличением количества рибосом и полисом в цитоплазме нейронов, гипертрофии эндоплазматической сети и внутреннего сетчатого аппарата (комплекса Гольджи), а также усилением лизосомальной активности в цитоплазме (рис.2, А).

Как и при непрерывном лазерном облучении,

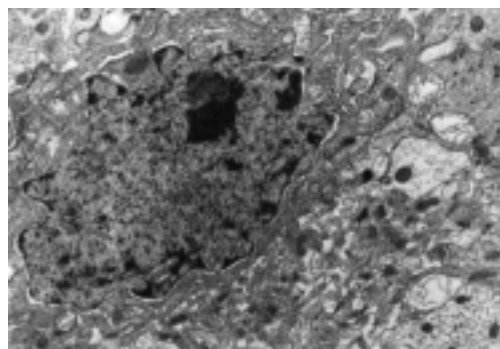
при импульсном режиме облучения мозга кролика ($0,1 \text{ кВт/см}^2$, 30 с) гистологически в мозговом веществе также наблюдается специфическая зональность поражения с формированием зоны коагуляционного некроза (4–5 мм), зоны некробиоза (1–2 мм) и зоны отека (2–3 мм) (рис.1, Б цветной вкладки). Далее следует светооптически сохраняющая структура ткани мозга. При электронно-микроскопическом исследовании этих участков обнаружено, что (по сравнению с непрерывным режимом лазерного воздействия при импульсном облучении) во многих нейронах выявляется лишь более выраженное набухание митохондрий с очагами просветления их матрикса и деструкцией митохондриальных крист (рис.2, Б).

С увеличением экспозиции как непрерывного, так и импульсного режимов генерации лазерного излучения наблюдается пропорциональное нарастание термодеструктивных изменений в очаге облучения мозга.

Таким образом, лазерное воздействие на интактный мозг кролика как в непрерывном, так и в импульсном режимах генерации в проекции облучения индуцирует структурно однотипные, локально ограниченные очаги повреждения нервной ткани, характеризующиеся зональностью топографии с характерной гистологической и ультраструктурной картиной. Апробированные параметры лазерного облучения в непрерывном и импульсном режимах генерации использовали в аналогичных экспериментах на мозге крыс с перивисцеральной злокачественной глиомой (штамм 101.8). Гистологически в контрольных наблюдениях эта опухоль характеризовалась инфильтративным ростом, высокой клеточной плотностью и наличием



А



Б

Рис.2. Электроннограмма очагов непрерывного (А) и импульсного (Б) лазерного облучения в мозге кролика. Ув. 800 (А), ув. 600 (Б). Пояснение в тексте

множественных патологических митозов (рис.3, А цветной вкладки).

По данным светооптических исследований, в остром опыте после непрерывного излучения АИГ-неодимового лазера (30 с) в опухоли появляются ограниченные очаги тотальной термодеструкции, окруженные опухолевыми клетками с признаками некробиоза и распада (рис.3, Б цветной вкладки). В смежных с некрозом зонах опухоли выявляются очажки запустевания, образованные в результате вскипания или выпаривания внутриклеточной жидкости, а в сосудах наблюдаются признаки коагуляции форменных элементов крови с образованием тромбированных масс. В промежутках между очагами термодеструкции опухолевые клетки обнаруживают слабую окрашиваемость, вследствие чего эти участки выглядят более бледными. Однако на расстоянии 5 мм от области облучения опухоль имеет визуально сохранную структуру подобно контролю.

При гистологическом исследовании опухоли через 24 ч после непрерывного лазерного облучения (300 с) установили, что очаг термодеструкции к этому времени расширился до 3–4 мм в диаметре и включал остатки гидропически трансформированных опухолевых клеток с наслоениями обуглившихся глыбок от распавшихся форменных элементов крови (рис.3, В цветной вкладки).

По сравнению с этим при использовании импульсного режима генерации АИГ-неодимового лазера в остром опыте (30 с) выявили в ткани опухоли множественные более мелкие очаги некробиоза и некроза с глыбками обугливания в виде диффузной пылевидной зернистости. В промежутках между очагами деструкции опухолевые клетки обнаруживают смазанность рисунка ядер и цитоплазмы, в результате чего такие участки выглядят более бледными. Цитоплазма многих клеток подвергается гидропической трансформации с образованием пустот, в которых «плавают» пикнотичные или лизированные ядра (рис.4, А цветной вкладки).

При заборе материала через 24 ч после импульсного лазерного облучения очаг термодеструкции опухоли расширяется, как и зона некробиотических изменений, которая содержит фигуры апоптоза и признаки терминальной гибели клеток (рис.4, Б цветной вкладки).

На 2-е–3-и сутки после лазерного воздействия обнаруживаются субтотальная деструк-

ция опухолевых клеток и сливные участки коагуляционного некроза в зоне облучения глиомы. Гистологически через 7 дней после лазерного облучения изменения представляются краевой грануляционной тканью, разрежающейся по направлению к центру. В дальнейшем эти участки замещаются кистообразованием в очаге термодеструкции.

При электронно-микроскопическом исследовании ткани опухоли после непрерывного и импульсного лазерного воздействия установлено, что изменения в очаге лазер-индуцированной термодеструкции носят абсолютно необратимый характер: на фоне разрушения межклеточных контактов выявляются грубо поврежденные опухолевые клетки с разрывами ядерных и цитоплазматических мембран, пикнозом ядер при тотальной деструкции цитоплазматических органелл, что свидетельствует о необратимости лазериндуцированного повреждения опухолевых клеток (рис.5). При этом степень выраженности деструктивных изменений в ткани опухоли нарастает через 24–48 ч после лазерного облучения, обнаруживая отстроченный эффект ЛТД. На отдалении от зоны термического повреждения опухоль сохраняет обычную структуру, митотическую активность и инфильтративный рост.

Таким образом, результаты экспериментальных исследований, проведенных на мозговом веществе (мозг кролика) и на модели злокачественной глиальной опухоли мозга крыс (штамм 101.8) показали, что в очаге лазерного облучения при избранных режимах возникают характерные и однотипные изменения как в гистологической картине мозга кроликов, так и в ткани экспериментальной глиомы, подвергнутых воздействию лазерного излучения. При этом область термодеструкции представлена

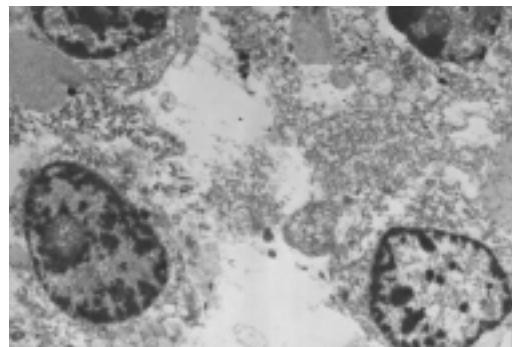


Рис.10. Электроннограмма очага импульсного лазерного облучения ткани мозга кролика. Ув. 3600. Пояснение в тексте

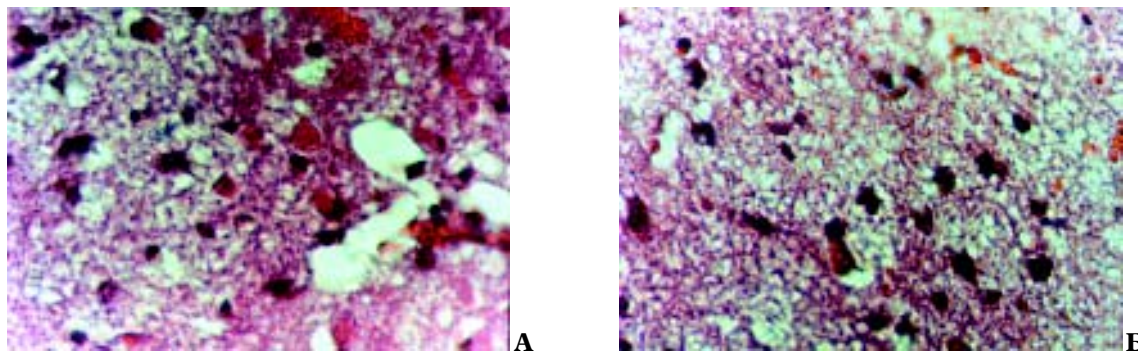


Рис.1. Ткань мозга кролика после непрерывного (А) и импульсного (Б) режимов облучения АИГ-неодимовым лазером. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 600. Пояснение в тексте

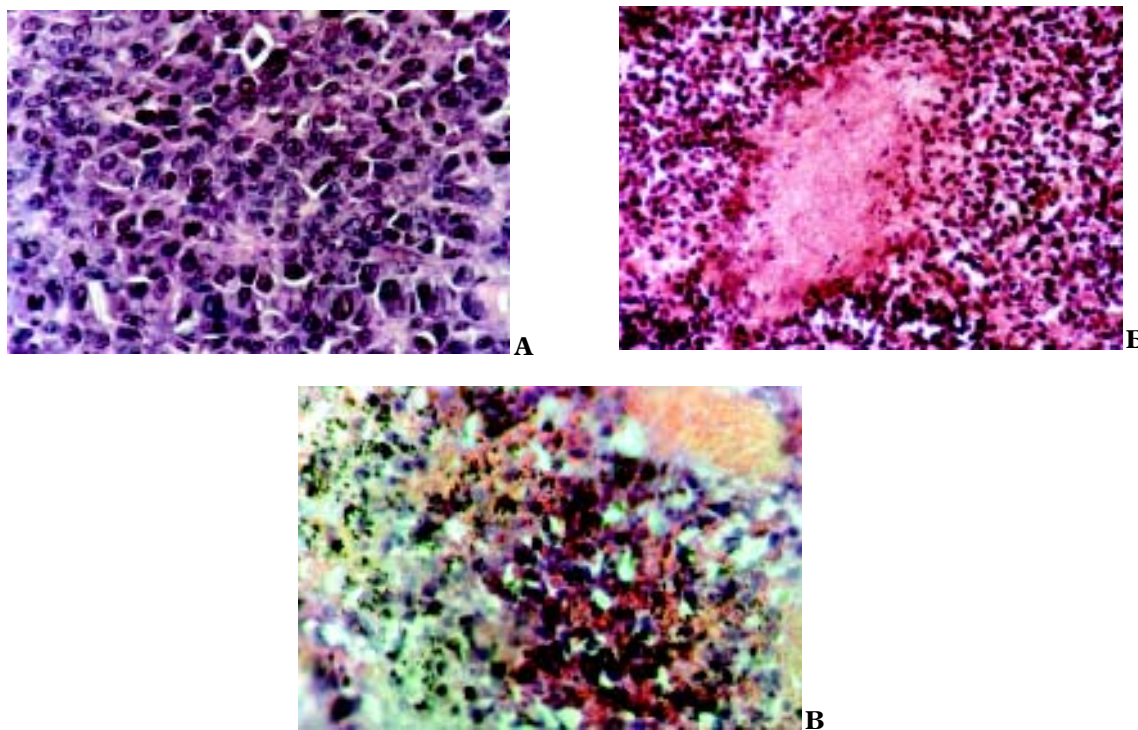


Рис.3. Гистоструктура экспериментальной глиомы (штамм 101.8): А — контроль; Б, В — после непрерывного лазерного облучения, экспозиция 30 с (Б), 24 ч (В). Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 600 (А), ув. 200 (Б), ув. 400 (В). Пояснение в тексте

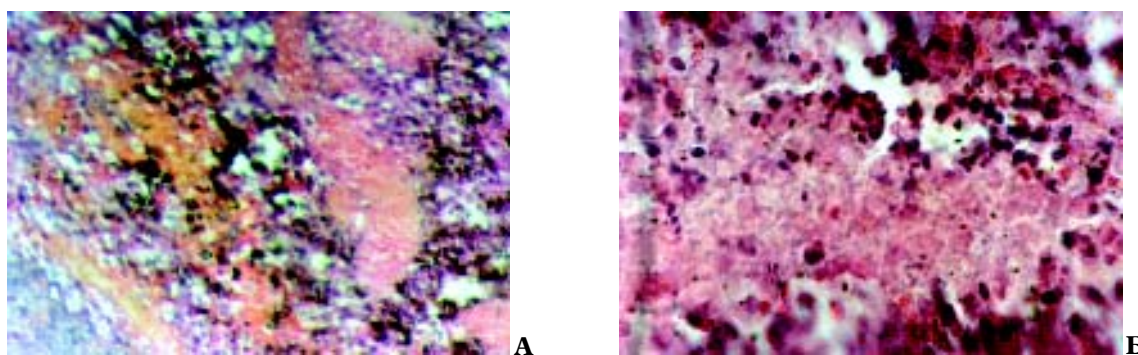


Рис. 4. Гистоструктура глиомы (штамм 101.8) после импульсного лазерного облучения: А — через 30 с; Б — через 24 ч. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200 (А), ув. 400 (Б). Пояснение в тексте

типичным для лазер-тканевого воздействия центральным коагуляционным некрозом с узкой зоной некробиоза и перифокального отека в смежных участках мозга. Важно подчеркнуть, что с увеличением экспозиции лазерного воздействия наблюдается пропорциональное нарастание термодеструктивных необратимых изменений ткани мозга при использовании как непрерывного, так и импульсного режимов генерации.

Электронно-микроскопическое исследование подтверждает необратимость изменений структурных белков цитоплазмы клеток с появлением в ней большого количества пустотелых вакуолей разного размера. При этом выявляются генерализованные повреждения клеточных и внутриклеточных мембран в центральной зоне вокруг области облучения. Клеточные и ядерные мембраны нейронов, глиальных и эндотелиальных клеток также обнаруживают локальные дефекты или фрагментацию. Исследование перифокальной зоны, напротив, не выявило мембранных нарушений и представлено обратимыми изменениями в виде отека-набухания базальных и перикапиллярных мембран.

Полученные результаты светоптического и электронно-микроскопического исследований мозга кроликов и глиомы мозга крыс (штамм 101.8) показали полное воспроизведение эффекта лазерной термодеструкции с формированием в опухоли коагуляционно-некротического очага в центре лазерного воздействия, а также зон некробиотических и отечных изменений окружающей ткани. Результаты светоптического исследования облученной глиомы в динамике наблюдения вполне согласуются с данными электронно-микроскопического изучения, проводимого параллельно. При этом подтверждается необратимость клеточно-тканевых изменений в зонах некроза и некробиоза. Наряду с этим в части клеток зоны отека частично сохраняются признаки регенераторных процессов в ультраструктурных органеллах.

Важно отметить, что выявляемые деструктивные изменения в опухоли усиливаются в отдаленный период после проведения первич-

ных сеансов лазерного облучения, что отражает отсроченный эффект ЛТД.

Выводы. 1. Установленные в эксперименте оптимальные параметры непрерывного и импульсного режимов лазерного облучения интактного мозга кроликов обеспечивают эффект термодеструкции в ткани перевивной злокачественной глиомы крыс.

2. Обнаруженные при светоптическом исследовании в ткани мозга и опухоли очаги лазерной термодеструкции выявляют характерную зональность повреждения с формированием зон коагуляционного некроза, некробиоза и перифокального отека.

3. Необратимость клеточно-тканевых изменений в зоне некроза и некробиоза подтверждается результатами электронно-микроскопического исследования.

Список литературы

1. Бидненко В.Н., Сигал В.Л., Розуменко В.Д. Оценки для интраоперационного выбора и контроля режимов интерстициальной термотерапии опухолей мозга // Доп. НАН України — 2001. — №1. — С.104–110.
2. Зозуля Ю.А., Ромоданов С.А., Розуменко В.Д. Лазерная нейрохирургия. — К.: Здоровья, 1992. — 168 с.
3. Розуменко В.Д. Методологические аспекты лазерной термодеструкции глиальных опухолей полушарий большого мозга // Фотобиология та фотомедицина. — 2001. — Т.4, №1, 2. — С.69–70.
4. Розуменко В.Д., Сигал В.Л., Хоменко О.В. Шляхи підвищення ефективності лазерної інтерстиціальної терапії пухлин мозку: нові розробки та їх реалізація // Укр. нейрохірург. журн. — 2001. — №1. — С.42–50.
5. Технология метода лазерной термодеструкции внутримозговых опухолей / Розуменко В.Д., Семенова В.М., Носов А.Т., Таранов В.В., Хоменко А.В. // Укр. нейрохірург. журн. — 2001. — №2. — С.38.
6. Asher P.W. Ker Cr2 laser in der Neurochirurgie. — Munich: Molden, 1977. — 83 p.
7. Fox J.L., Hayes J.R., Stein M.N., Green R.C. Effects of laser radiation on intracranial structures // Proc. 3rd Int. Congr. Neurol. Surg. — Amsterdam: Excerpta Med. Found, 1966. — P.552–554.
8. Rosomoff H., Carroll F. Reaction of neoplasm and brain to laser // Arch. Neurol. — 1966. — V.14, №2. — P.143–148.

Морфологічне обґрунтування застосування
методу лазерної термодеструкції
в нейроонкології

Розуменко В.Д., Семенова В.М., Носов А.Т.,
Хоменко О.В., Васлович В.В., Тяглый С.В., Отман О.

На підставі аналізу експериментальних досліджень встановлено оптимальні параметри неперервного та імпульсного режимів лазерного випромінювання щодо забезпечення ефекту лазерної термодеструкції пухлинної тканини. Виявлені деструктивні зміни зумовлюють характерну зональність ушкоджень з формуванням зон коагуляційного некрозу, некробіозу та перифокального набряку. Посилення незворотних деструктивних змін у віддалений період ЛТД відображає відстрочений ефект лазерної термодеструкції.

Morphological substantiation of application of
a method laser thermodestruction
in neurooncology

Rozumenko V., Semenova V., Nosov A., Khomenko O.,
Vaslovich V., Tyaglyi S., Otman O.

On the basis of the analysis of experimental researches optimum parameters of continuous and pulse modes of a laser irradiation concerning maintenance of effect laser thermodestruction in a tumoral tissue are established. Determined destructive changes have characteristic value of damages with formation of coagulated tissue zones, necrobiosis and pericellular edema. Amplification of irreversible destruction changes in the remote period of LTK reflects the deferred effect laser thermodestruction.

Коментарий

к статье Розуменко В. Д., Семенова В. М., Носова А. Г., Хоменко А. В., Васлович В. В., Тяглый С. В., Отман О.
« Морфологическое обоснование применения метода лазерной термодеструкции в нейроонкологии ».

Общеизвестно, что глиальные опухоли вследствие своих биологических качеств, из-за инфильтративного характера роста, анатомо-физиологичной труднодоступности и ограниченного радикализма при их удалении часто рецидивируют. Это делает актуальным вопрос их хирургического лечения. Метод лазерной термодеструкции наиболее приемлем при хирургическом лечении глиальных опухолей. Статья посвящена изучению тканевых и внутриклеточных лазериндуцированных изменений в зонах облучения мозга и модели первичной злокачественной глиомы крыс для оценки возможности применения методики ЛТД при лечении нейроонкологических больных.

В результате экспериментальных исследований установлено, что в очаге лазерного воздействия при непрерывном и импульсном его режимах возникают характерные и однотипные изменения как в гистологической картине мозга кроликов, так и в ткани экспериментальной глиомы и обеспечивается эффект лазерной термодеструкции. Выявлена характерная зональность деструкции (зона коагуляционного некроза, некробіоза и перифокального отека). Результатами электронно-микроскопического исследования подтверждена необратимость клеточно-тканевых изменений в зоне некроза и некробіоза, что является основным моментом методики лечения глиом методом лазерной термодеструкции. Дальнейшее изучение проблемы управляемости тканевых изменений в зоне лазерного воздействия, глубины его проникновения, а также подбор более эффективных параметров импульсных режимов будут способствовать широкому внедрению метода лазерной термодеструкции в лечение нейроонкологических заболеваний и прежде всего злокачественных глиом.

Доцент Кардаш А.М.
Зав. курсом нейрохирургии
Донецкого государственного медицинского университета им. М. Горького