

Evaluación de la ablación quirúrgica mediante un láser Nd:YAG en aplicaciones dermatológicas sobre tejido porcino

L. Santamaría-Bustamante, Á. Isla-Calvo, J. L. Arce-Diego, F. Fanjul-Vélez

Grupo de Ingeniería Biomédica, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros 46, 39005 Santander (Cantabria), España

arcedj@unican.es, fanjulf@unican.es

Resumen

Uno de los efectos de la radiación óptica sobre tejidos biológicos con utilidad clínica es la ablación. La capacidad de producir la remoción de una parte del tejido, de forma controlada y sin contacto, constituye un elemento del máximo interés quirúrgico, tanto en procedimiento no invasivos o mínimamente invasivos. Para que este proceso ablativo sea controlado, es preciso conocer la influencia de los parámetros de la fuente, habitualmente láser, particularmente la irradiación, el tiempo de exposición, la tasa de repetición, el tiempo o la energía del pulso, así como la distribución transversal del haz, entre otros. El láser Nd:YAG es uno de los más empleados. En este trabajo se estudia la interacción ablativa de un láser Nd:YAG sobre tejidos biológicos epiteliales porcinos. Para ello se varían los parámetros principales del haz, se aplica sobre diferentes muestras y se evalúan los efectos tanto ablativos como térmicos. Además, se trata de identificar automáticamente el efecto producido mediante algorítmica de clasificación sobre propiedades ópticas medidas. Tanto el estudio de los efectos ablativos y térmicos como la identificación del estado del tejido permiten contribuir a la precisión de las intervenciones de cirugía láser guiada, como por ejemplo la resección tumoral.

1. Introducción

Los láseres permiten aplicaciones biomédicas en las que pueden destruir y manipular tejidos biológicos con una precisión sin precedentes. En particular, aunque los láseres aparecieron en la década de los sesenta, el proceso de ablación no se informó hasta 1970, lo que puede explicarse por una comprensión limitada de los mecanismos que gobiernan la interacción entre la luz y el tejido biológico. Pero, desde entonces, el uso del láser en los campos de la medicina ha experimentado un crecimiento importante gracias a sus aplicaciones tanto de cirugía como de diagnóstico no invasivas.

La ablación de los tejidos biológicos mediante el uso del láser es una técnica muy utilizada en la actualidad debido a que este tipo de luz puede trabajar a prácticamente una sola longitud de onda y, gracias a que tiene una emisión muy concentrada y una gran potencia, puede llegar a atravesar las células y profundizar en el tejido ofreciendo múltiples ventajas, como la precisión, la minimización de cicatrices y un menor tiempo de recuperación [1]. Existen varios tipos de láseres para la aplicación de esta técnica ablativa, pero uno de los más utilizados en cirugía es el Nd:YAG. El uso de estas fuentes de luz en aplicaciones médicas ofrece ventajas respecto a otro tipo de radiación,

o incluso frente a procedimientos de corte mecánico, como por ejemplo la posibilidad de integrar estas fuentes en sistemas no invasivos y realizar cortes en ausencia de contacto.

Pero un aspecto crítico en el uso de estas aplicaciones médicas es el control del volumen ablacionado, debido a que hay que tener en cuenta factores como el tipo de láser utilizado, sus parámetros y por supuesto el tipo de tejido biológico que se está tratando [2]. Este aspecto es de gran importancia en intervenciones que se realizan en zonas donde existe la posibilidad de provocar daño térmico a tejido sano adyacente e incluso existir el riesgo de su perforación. Por lo que, para desarrollar cualquier aplicación médica en la que utilicemos fuentes ópticas se deben conocer las propiedades ópticas de los tejidos biológicos a tratar y los posibles efectos que esta interacción luz-tejido pueda causar para tener así una adecuada planificación quirúrgica y poder estimar el volumen ablacionado. Además, resulta del máximo interés tratar de identificar de manera automática el estado de un tejido biológico, especialmente en el ámbito de las intervenciones de cirugía guiada, en las que han podido producirse efectos de coagulación o térmicos no deseados.

En este trabajo se explicarán, en primer lugar, los mecanismos de interacción luz-tejido biológico, particularmente la ablación inducida por plasma. En segundo lugar, se establece el procedimiento experimental de aplicación de haces ópticos sobre tejidos biológicos epiteliales porcinos. Posteriormente se llevan a cabo procedimientos de ablación experimentales en diferentes muestras y con diferentes parámetros, con el objetivo de determinar y evaluar el volumen ablacionado, así como el estado del tejido automáticamente.

2. Mecanismos de interacción luz-tejido

El tejido biológico es un medio ópticamente no homogéneo y absorbente, y la propagación de la luz dentro de un tejido depende de las propiedades de esparcimiento y absorción de sus componentes, es decir, de las células, las estructuras de células y fibras y los orgánulos celulares. Además, en particular, los parámetros como el tamaño, la forma y densidad de las partículas, las propiedades de la sustancia fundamental alrededor de las partículas que se esparcen y los estados de polarización de la luz incidente juegan un papel muy importante en la propagación de la luz en medios turbios.

Existen múltiples mecanismos que pueden ocurrir al aplicar luz láser en un tejido biológico y se van a diferenciar dependiendo de las características específicas del tejido y de los parámetros del láser [2]. Son de gran importancia en estos tipos de mecanismos, las propiedades ópticas del tejido que determinan la transmisión total del tejido a una determinada longitud de onda, concretamente los coeficientes de reflexión, absorción y esparcimiento. También son determinantes las propiedades térmicas, es decir, la capacidad y conductividad térmicas en el tejido, y los parámetros de la radiación láser, como la longitud de onda, tiempo de exposición, energía aplicada, tamaño del punto focal, densidad de energía y potencia.

Se establecen cinco categorías de tipos de interacción luz-tejido biológico. Las interacciones fotoquímicas, interacciones térmicas, fotoablación, ablación inducida por plasma y fotorruptura. Estos procesos se distinguen y son controlados por la irradiancia y la duración de la exposición láser, pero pueden compartir un valor común en forma de densidad de energía, que varía de 1 J/cm² a 100 J/cm².

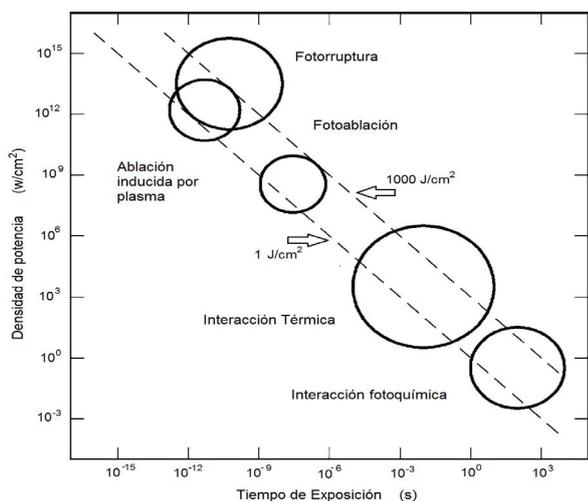


Figura 1. Representación esquemática de los efectos posibles de la interacción luz-tejido biológico en función de la irradiancia y del tiempo de exposición [2].

En la Figura 1 se presenta el esquema de la interacción luz-tejido biológico donde se encuentran representados los cinco mecanismos de interacción. Las dos diagonales representan los flujos de energía constante a 1 J/cm² y a 100 J/cm². En los ejes de abscisas y ordenadas se encuentran expresados el tiempo de exposición (s) y la densidad de potencia aplicada o irradiancia (W/cm²), respectivamente. Se puede dividir en cinco partes dependiendo de la escala temporal, que va a ser el parámetro encargado de diferenciar esos mecanismos, junto con la irradiancia. Las ondas continuas o tiempos de exposición >1s para interacciones fotoquímicas, 1 ms hasta 1 μs para interacciones térmicas, 1 μs hasta 1 ns para fotoablación y <1ns para ablación inducida por plasma y fotorruptura [3], [4].

En este trabajo es de particular interés el mecanismo de la ablación inducida por plasma, así como los efectos térmicos. Mediante el proceso de ablación inducida por

plasma se puede lograr una extracción muy limpia y bien definida del tejido sin evidencia de daño térmico o mecánico, eligiendo los parámetros láser apropiados. Este tipo de ablación es causada principalmente por la propia ionización del plasma, y es el principal efecto buscado en aplicaciones quirúrgica mediante fuentes láser.

La intensidad de campo eléctrico local determina cuándo se logra la ruptura óptica por lo que es el parámetro más importante de este mecanismo. Si este campo eléctrico aplicado fuerza la ionización de moléculas es cuando se produce la ruptura óptica, es decir, cuando el campo eléctrico ha superado un umbral. Se puede relacionar la propia fuerza del campo eléctrico con la densidad de potencia local, I, a través de la ecuación electrodinámica básica, donde para pulsos de picosegundos, la intensidad de umbral típica es de 10¹¹ W/cm², por lo tanto, el campo eléctrico correspondiente es de 10⁷ V/cm, que proporciona la condición necesaria para la ionización del plasma. En unos pocos cientos de picosegundos, se crea una densidad de electrones libres muy grandes con valores típicos de 10¹⁸ cm⁻³ en volumen focal del haz láser. Y esta generación de plasma debido a un intenso campo eléctrico se denomina ruptura dieléctrica.

Este tipo de interacción de la ablación inducida por plasma puede utilizarse tanto en aplicaciones quirúrgicas como para el diagnóstico. Mediante un análisis espectroscópico de la chispa del plasma inducido, la densidad de electrones libres y la temperatura pueden ser evaluados. Además, la información sobre la consistencia química del objetivo puede obtenerse, lo que permite sacar ciertas conclusiones sobre el estado de salud del volumen del tejido investigado [5], [6]. Asimismo, pueden aparecer efectos térmicos no deseados en el tejido biológico ablacionado, así como en tejido sano adyacente como efecto secundario.

3. Procedimiento experimental

Para obtener los diferentes tipos de tejidos se utiliza un modelo porcino. Las muestras de tejido in vitro se obtienen de un proveedor local. La preparación de las muestras se realiza mediante su corte con el uso de un bisturí, obteniendo muestras de tejido epitelial de unos 3 mm de espesor. Estas muestras se colocan en placas y así se delimita el área de acción donde se aplicará la radiación láser en un total de nueve puntos por muestra.

La fuente óptica utilizada en este procedimiento experimental es un láser de tipo Nd:YAG de clase IV, que trabaja a una longitud de onda de 532 nm (radiación en el verde, armónico doblado de la emisión fundamental del Nd:YAG), con duraciones de pulso en el rango de los nanosegundos, en modo Q-conmutado y a una frecuencia de repetición de pulso de 15 Hz. Se utilizan energías de pulso de 50 mJ, 85 mJ y 120 mJ, con tiempos de exposición de 180 seg, 320 seg y 720 seg.

Las muestras se colocan separadas 15 cm de la fuente láser (Figura 2) y se irradian en cada punto delimitado, aumentando tanto la energía como el tiempo de exposición a medida que avanzamos por filas y columnas,

respectivamente, partiendo desde el punto uno hasta el nueve de la Figura 3.

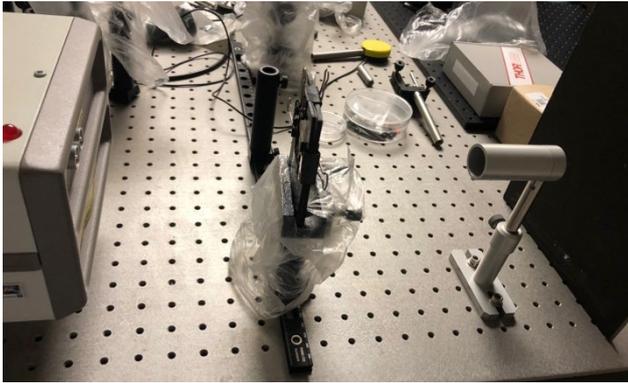


Figura 2. Montaje de irradiación de la muestra mediante láser Nd:YAG.

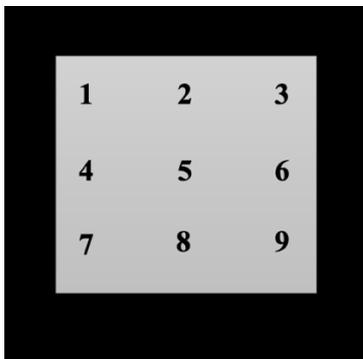


Figura 3. Esquema de irradiación de la muestra.

Además de identificar las profundidades de ablación en función de la energía de los pulsos y tiempo de exposición, se lleva a cabo un análisis de los efectos térmicos no deseados en las muestras tratadas. Así, junto a la zona ablacionada, en caso de que se produzca, existen partes del tejido sano adyacente que sufren o bien una desnaturalización de tipo coagulación, o bien un efecto de carbonización (visible claramente en algunas muestras de la Figura 4). En un procedimiento quirúrgico de ablación láser constituyen efectos en principio no deseados, por cuanto se pretende que el único efecto sea una ablación limpia sin afcción al tejido sano adyacente. Dado que en un entorno de intervención quirúrgica la aparición de estos efectos secundarios puede no ser advertida, es de gran interés tratar de implementar un procedimiento automatizado de identificación de efectos de desnaturalización y carbonización basado en la medida del coeficiente de absorción.

4. Resultados y discusión

Una vez aplicada la radiación láser en los nueve puntos de acción de cada tejido, se observan varios efectos, tanto térmicos como la completa ablación del tejido. La aparición de unos efectos u otros va a depender de la combinación de tiempo de exposición y energía de pulso que se ha utilizado.

Los efectos térmicos más observados en cada uno de los puntos son la coagulación del tejido y su carbonización,

pero en los puntos con los parámetros más altos se puede ver en la Figura 4 cómo se logra la ablación del tejido.



Figura 4. Muestra de tejido epitelial tratado siguiendo el esquema de la Figura 3.

Una vez se han estudiado los efectos causados debido a esta interacción luz-tejido biológico, se procede a medir tanto la profundidad de ablación y efectos térmicos como los diámetros de cada uno de los puntos tratados. En la Figura 5 se puede ver cómo existe una evolución de esta profundidad a medida que aumentamos los parámetros del láser, teniendo en el punto de la derecha solo efectos de coagulación del tejido con una profundidad de 0.7 mm, pasando por el del centro, en el que ya se presenta una ablación junto con la carbonización del tejido con una profundidad de 1.4 mm y 3 mm junto con la coagulación del tejido. Y, por último en el punto de la izquierda se presenta ahora mayor volumen ablacionado que el punto anterior. En este caso, la imagen corresponde a la segunda columna del tejido tratado de la Figura 4, por lo que se ha utilizado un tiempo de exposición de 320 seg y lo que se ha variado es la energía de pulso, partiendo de 50 mJ, 85mJ y 120mJ de derecha a izquierda.

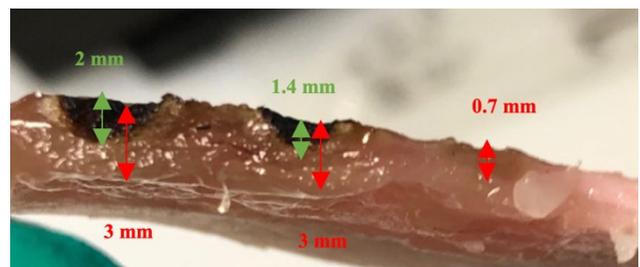


Figura 5. Profundidades de ablación de la segunda columna del tejido epitelial tratado con radiación láser.

Si se representan gráficamente estos valores de profundidad de ablación, conjuntamente para los valores obtenidos de otras muestras de tejido epitelial tratado también con los mismos parámetros láser, se puede observar su evolución y la escasa desviación que presentan cada uno de los resultados en cada punto para valores elevados de energía y tiempo de exposición (Figura 6).

Con estos resultados es posible establecer una primera correlación entre los valores de energía de pulso, tiempo de exposición y profundidad de ablación. Estos resultados son de interés potencial en la planificación quirúrgica.

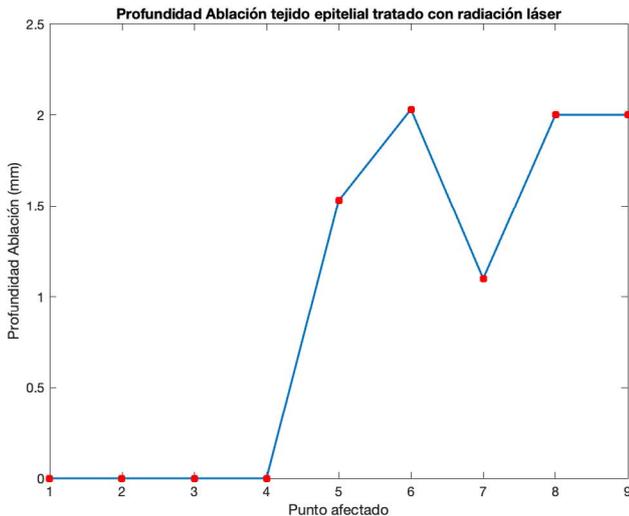


Figura 6. Profundidad de ablación provocada al aplicar radiación láser en el tejido epitelial.

A continuación se realizan medidas del coeficiente de absorción de cada uno de los puntos tratados. Se seleccionan los puntos en los que se aprecia desnaturalización o carbonización, y se establecen grupos de clasificación. Se realiza un análisis de componentes principales (PCA), y se emplean los coeficientes en un sistema de clasificación de tipo Máquina de Soporte Vectorial (SVM). Los resultados aparecen gráficamente en la Figura 7 con solo dos componentes principales para poder representarlo. Los resultados del error de correlación cruzada arrojan un valor de 0.1429, lo que resulta esperanzador para un sistema automático de identificación de estos efectos en tiempo real.

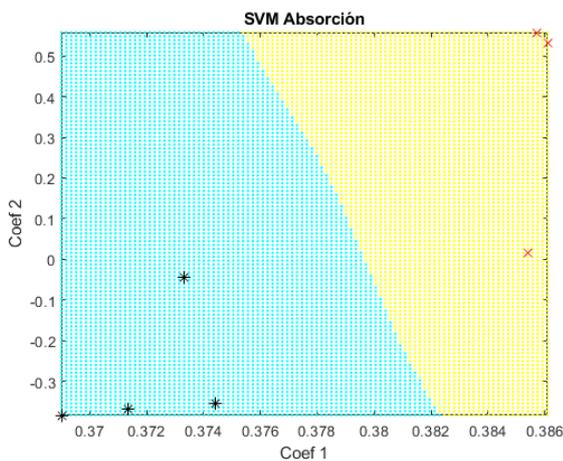


Figura 7. Representación gráfica del resultado del clasificador de tipo SVM aplicado sobre los coeficientes de absorción. Las cruces rojas se corresponden con las muestras desnaturalizadas, mientras que los asteriscos negros indican muestras carbonizadas.

5. Conclusiones

Tras los experimentos realizados, se puede observar que a medida que se incrementan los parámetros de la fuente óptica, en este caso el láser de Nd:YAG, se obtienen volúmenes de ablación mayores y la aparición de efectos térmicos como la coagulación o carbonización del tejido

son cada vez más significativos, como era de esperar. En todo caso, las medidas obtenidas permiten hacer una estimación a priori del efecto resultante en cuanto a profundidad de ablación, clave en las intervenciones quirúrgicas, especialmente epiteliales.

Además, con objeto de identificar automáticamente daños térmicos en los tejidos sanos adyacentes, se han realizado medidas del coeficiente de absorción de los puntos irradiados. Los resultados del algoritmo de clasificación indican una tasa significativa de acierto. Este hecho permitiría realizar valoraciones de la cirugía en tiempo real, de una forma automatizada e incluso estar integrado en el dispositivo quirúrgico que se esté utilizando para avisar al cirujano. Un campo de aplicación clínica sería el de la resección tumoral controlada.

Agradecimientos

Este Trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i “Cribado diagnóstico de microorganismos mediante microscopia avanzada e inteligencia artificial en patologías humanas” (PID2021-127691OB-I00), del Ministerio de Ciencia e Innovación, cofinanciado con fondos FEDER.

Referencias

- [1] Félix Fanjul-Vélez, Irene Salas-García and José Luis Arce-Diego. “Analysis of laser surgery in non-melanoma skin cancer for optimal tissue removal”, *Laser Physics* 25, 025606 (8pp) (2015).
- [2] Markolf H. Niemz. *Laser-Tissue Interactions*. Third, Enlarged Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2004, 2007 (ISBN: 3-540-40553-4).
- [3] F. H. Loesel, M. H. Niemz, J. F. Bille, T. Juhasz, “Laser-Induced Optical Breakdown on Hard and Soft Tissues and Its Dependence on the Pulse Duration: Experiment and Model,” *IEEE Journal of Quantum Electronics* 32, 1717-1722 (1996).
- [4] A. Vogel, V. Venugopalan, “Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues,” *Chem. Rev.* 103, 577-644 (2003).
- [5] American Society for Gastrointestinal Endoscopy, “Mucosal ablation devices,” *Gastrointestinal Endoscopy* 68, 1031-1042 (2008).
- [6] N. Muguruma, K. Okamoto, T. Kimura, K. Kishi, T. Okahisa, S. Okamura, T. Takayama, “Endoscopic ablation therapy for gastrointestinal superficial neoplasia,” *Digestive Endoscopy* 24, 139–149 (2012).