

распространиться по объекту исследования и глубина вскрытия увеличивается с ростом длительности. Затем рост глубины вскрытия замедляется, так как тепло больше распространяется по объекту и изменяет его свойства. Соответственно, есть оптимальное значение длительности импульса, при котором происходит эффективное вскрытие, равное 5...10 мс для разных биологических тканей. Также исследования показали, что с увеличением длительности импульсов растут эффективность лазерной деструкции и уровень травматичности.

Режим работы лазера оказывает сильное влияние на ширину разреза: с ростом частоты следования и длительности импульсов излучения лазера увеличиваются ширина разреза и зона травматичности. Наименьшая зона травматичности наблюдалась при частоте следования импульсов в единицы герц.

Были проведены исследования качества разреза биологических тканей лазерным лучом при относительной скорости движения 3 см/с в непрерывном режиме работы лазера и импульсном режиме с длительностью 5 мс и частотой следования импульсов 30 и 55 Гц (рис. 3).

Из рис. 3 видно, что непрерывный режим работы лазера дает большую глубину и ширину разреза и высокий уровень травматичности. При импульсном режиме работы с частотой следования импульсов 55 Гц наблюдалась меньшая глубина разреза, но уровень травматичности был по-прежнему высоким. Чистый и хороший по качеству разрез был получен при частоте следования импульсов 30 Гц.

Заключение

Таким образом, для обеспечения низкого уровня травматичности здоровых тканей в лазерной хирургии предпочтительно использовать устройства на основе CO₂-лазера, работающие в импульсном режиме, при длительности импульсов несколько миллисекунд и частоте следования импульсов в неподвижном режиме до 10 Гц. При движении лазера частота следования импульсов может быть увеличена до нескольких десятков герц.

Список литературы:

1. *Беликов А.В., Храмов В.Ю.* Перспективы развития инновационных направлений исследований в области лазерных систем и биомедицинских оптических технологий // Научно-технический вестник Санкт-Петербургского государственного университета информационных технологий, механики и оптики. 2010. № 5. С. 110-114.
2. *Щербаков И.А.* Лазерная физика в медицине // Успехи физических наук. 2010. Т. 180. № 6. С. 661-665.
3. *Шахно Е.А.* Физические основы применения лазеров в медицине. – СПб.: НИУ ИТМО, 2012. 129 с.
4. *Елохин В.А., Жданов И.Г.* Методы модуляции излучения CO₂-лазеров // Научное приборостроение. 2003. Т. 13. № 3. С. 46-51.
5. *Марцынюков С.А.* Исследование влияния электромагнитного управления на условия существования разряда в лазере на углекислом газе // Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ». 2013. № 4. С. 13-17.
6. *Шаймарданов Р.* Лазер CO₂: гибкое, надежное и испытанное средство // Фотоника. 2011. Т. 28. № 4. С. 8-12.
7. *Марцынюков С.А., Кострин Д.К.* Моделирование, разработка и исследование электромагнитной системы для управления мощностью лазера на углекислом газе // Известия высших учебных заведений России. Радиоэлектроника. 2014. № 1. С. 50-54.

*Сергей Александрович Марцынюков,
канд. техн. наук, доцент,
Дмитрий Константинович Кострин,
канд. техн. наук, доцент,
Виктор Владимирович Черниговский,
канд. техн. наук, доцент,
Александр Аркадьевич Лисенков,
д-р техн. наук, профессор,
ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный электротехнический университет
«ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)»,
г. С.-Петербург,
e-mail: lisran@yandex.ru*

С.В. Белов, Ю.К. Данилейко, В.В. Осико, А.Б. Егоров, В.А. Салюк

Устройство для активации пролиферации клеток тканей организма методом дозированного радиочастотного воздействия

Аннотация

В статье приведены результаты исследований активации восстановительных процессов в биологических тканях под действием импульсно-модулированного тока радиочастотного (РЧ) диапазона. Показано, что слабое деструктивное воздействие активирует процесс пролиферации здоровых клеток. Описан экспериментальный образец устройства для дозированного энергетического воздействия импульсно-модулированным током РЧ-диапазона с помощью электродов игольчатого типа. Приведены результаты экспериментальных исследований на животных и рандомизированных клинических исследований на больных с помощью специализированного устройства для дозированного воздействия импульсно-модулированным РЧ-током. Показана клиническая эффективность применения дозированной РЧ-стимуляции при лечении гнойных, воспалительных и гнойно-воспалительных процессов.

Введение

В медицинской практике распространены методы и технологии, основанные на дозированном воздействии электромагнитных полей, ультразвука, лазерного излучения и других форм энергетического воздействия на организм человека с лечебной целью. Основным результатом воздействия радиочастотного тока на биологические ткани является выделение тепловой энергии. Диссипация этой энергии приводит к нарушению термодинамического равновесия внутри клеток и вызывает в цитозоле клетки высвобождение ионов кальция по-

вышенной концентрации, которые и запускают кальцийзависимые процессы. В зависимости от дозы воздействия кальцийзависимые процессы могут приводить к развитию вторичных эффектов, представляющих собой комплекс адаптационных и компенсаторных реакций, возникающих в тканях и органах. Среди этих реакций особо выделяются активация метаболизма клеток, повышение их функциональной активности, стимуляция репаративных процессов. Реакции становятся более интенсивными, когда радиочастотная стимуляция пролиферативных и метаболических процессов в ткани дополняется активацией Т-лимфоцитов местной иммунной системы [1]-[5]. Несмотря на

множество исследований взаимодействия физических факторов с биологическими объектами, механизмы взаимодействия остаются до конца не изученными. В частности, это касается процессов, протекающих на клеточном и молекулярном уровнях [http://biofile.ru/bio/6895.html].

Целенаправленные исследования стимуляции репаративных процессов в биологических тканях с помощью дозированного воздействия РЧ-током стали проводиться, начиная с 2000-х годов [5], [6]. Наиболее адекватные экспериментальные исследования активации восстановительных процессов в тканях крыс под действием РЧ-тока с импульсно-периодическим режимом модуляции впервые были проведены в 2008-2010 гг. в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН совместно с Институтом общей физики им. А.М. Прохорова РАН [5]. Результаты исследований показали, что воздействие токов РЧ-диапазона при оптимальной дозе энергетического воздействия вызывает не только деструктивные, но и активные восстановительные процессы в кожной и мышечной тканях крыс. Исследования влияния радиочастотной электростимуляции на заживление хронических ран промежности и крестцово-копчиковой зоны, выполненные в ГНЦ «Колопроктологии» МЗ РФ, также подтвердили эффективность влияния радиочастотной стимуляции на местную иммунную систему при лечении гнойно-воспалительных процессов [7].

Необходимым инструментом для адекватного проведения экспериментов является наличие специализированных аппаратных средств, обеспечивающих дозированное РЧ-воздействие на биологические ткани. В настоящее время подобных специализированных аппаратов как в России, так и за рубежом не имеется. В то же время использование радиочастотной стимуляции принципиально возможно с помощью высокочастотных электрохирургических аппаратов малой и средней мощности, которые должны быть соответствующим об-

разом доработаны. К числу таких аппаратов относятся аппараты Е81М («Фотек», Россия), «КиК-Медимастер-200» (ИОФ-РАН, Россия), «Сургитрон ЕМС» («Elman», США) и ряд других электрохирургических аппаратов.

Материалы, методы и устройство для дозированного воздействия радиочастотным током

С целью экспериментального изучения механизма пролиферации клеток в тканях при локальном воздействии радиочастотного тока был разработан и изготовлен экспериментальный образец устройства для дозированного энергетического воздействия радиочастотным током. Исследования с использованием данного устройства проводились на базе Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН и Государственного научного центра колопроктологии им. А.Н. Рязжих.

Для исследований механизма пролиферации клеток в тканях был изготовлен экспериментальный образец специализированного устройства для дозированного воздействия на биоткань импульсно-модулированным током РЧ-диапазона. Устройство обеспечивало генерацию высокочастотного тока с несущей частотой 2,64 МГц и инициацию низкотемпературного плазменного процесса в электролитной среде при работе в импульсно-периодическом режиме с частотой иницирующих импульсов от 10 до 50 кГц. Возникновение низкотемпературной плазмы на конце игольчатого электрода наблюдалось при повышении напряжения импульсной составляющей высокочастотного тока до 250 В и сопровождалось переходом к серии коротких (10 нс) искровых разрядов [8], [9]. Осциллограмма напряжения иницирующих импульсов представлена на рис. 1.

Максимальная выходная мощность высокочастотного генератора составляла 30 Вт на нагрузке 200 Ом. При этом регулировочная характеристика выходной мощности близка к

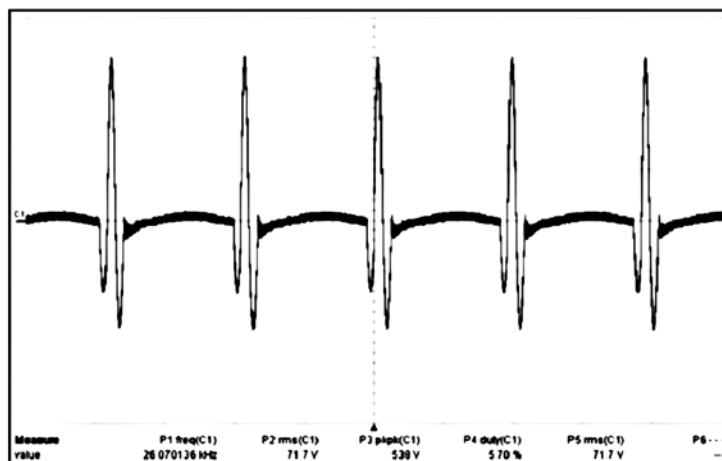


Рис. 1. Осциллограмма напряжения иницирующих импульсов

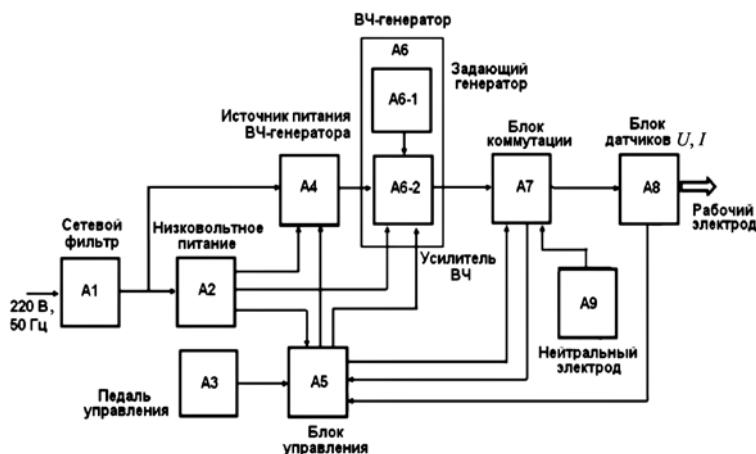


Рис. 2. Функциональная схема экспериментального устройства

линейной. Функциональная схема экспериментального устройства представлена на рис. 2.

Напряжение сетевого питания поступает на входной сетевой фильтр А1, после которого напряжение подается на источник регулируемого напряжения А4. Одновременно от входного фильтра А1 напряжение поступает на источник низковольтного питания А2, с выхода которого постоянное напряжение +24 В обеспечивает:

- питание контроллера регулируемого источника питания А4;
- питание контроллера ВЧ-генератора;
- питание блока управления А5.

С выхода А4 регулируемое напряжение подается на мостовой усилитель выходного каскада А6-2, с помощью которого осуществляется плавная регулировка выходной мощности генератора. Импульсная модуляция происходит за счет фазового сдвига сигналов возбуждения силового мостового каскада ВЧ-генератора. Сигналы возбуждения формируются с помощью задающего генератора А6-2. Далее модулированный высокочастотный сигнал поступает в блок коммутации ВЧ-сигнала А7, который обеспечивает согласование выходного каскада ВЧ-генератора с нагрузкой. Затем через блок датчиков тока и напряжения А8 выходной сигнал поступает на выход для подключения рабочего электрода. Одновременно на блок управления А8 поступают сигналы с датчиков тока и напряжения и с педали управления А3. Нейтральный электрод замыкает цепь пациента через блок коммутации А7.

В качестве рабочих электродов в состав экспериментального образца входит набор игольчатых электродов двух типов: иглы без покрытия и иглы с электроизоляционным оксидным покрытием, имеющие открытую рабочую часть длиной 2, 3 и 5 мм в зоне острия. Диаметр игольчатых электродов составляет 0,3...0,5 мм, общая длина – от 5,0 до 50 мм.

Дозирование энергетического воздействия происходит по следующему алгоритму. После введения игольчатого электрода в ткань измеряется сопротивление нагрузки с помощью датчиков тока и напряжения в выходной цепи устройства. Для измеренной величины сопротивления автоматически устанавливается реальная величина выходной мощности с учетом нагрузочной характеристики ВЧ-генератора. Включение высокочастотного генератора осуществляется с помощью напольной педали управления, при этом длительность воздействия задается таймером.

Исследование механизма пролиферации клеток в тканях при дозированном воздействии радиочастотным током

Действие импульсно-модулированного тока на биологические ткани обусловлено физическими и химическими процессами. Физический процесс состоит в разложении и испарении тканевых структур за счет гетерогенной рекомбинации,

закрывающейся в образовании возбужденного атома или молекулы. Энергия возбуждения может передаваться органическим молекулам ткани, способствуя их разрушению [8], [9]. Механизм химической природы связан с влиянием свободных атомов и молекул пероксида водорода на белки тканей, что также способствует их разрушению. В то же время при определенных параметрах стимуляции эксперименты подтверждают появление активной пролиферации клеток, что свидетельствует о наличии не только деструктивного, но и восстановительного эффекта [8], [9].

Экспериментальное изучение механизма пролиферации клеток в тканях при дозированном воздействии токов РЧ-диапазона в экспериментах на животных проводилось на базе ИБР им. Н.К. Кольцова РАН [5]. Проводились исследования реакции клеток скелетных мышц и кожи крыс на действие токов РЧ-диапазона. Объектом исследования были крысы неинбредной линии Wistar в возрасте 4...6 мес. Для эксперимента были отобраны животные в подопытную и контрольную группы. Экспериментальные животные подвергались воздействию токов радиочастотного диапазона с помощью монополярного игольчатого электрода диаметром 0,3 мм, введенного в ткань на глубину 2...4 мм. Параметры импульсно-периодического режима (амплитуда и частота импульсов) подбирались для условий возникновения холодного плазменного разряда на острие игольчатого электрода и контролировались с помощью осциллографа по характерному смещению тока и напряжения (рис. 3). Исследования проводились в двух диапазонах выходной мощности 1...4 и 5...8 Вт. Время воздействия устанавливалось от 2 до 10 с, что позволяло варьировать энергию воздействия в пределах от 5 до 80 Дж.

Контрольным животным вводили иглу в соответствующую зону (кожи или мышцы) без воздействия радиочастотных токов. Результаты оценивали иммуногистохимическими и гистологическими методами на 1, 3, 7, 14 и 21 сутки после воздействия. Обзорная морфологическая оценка состояния поперечнополосатой мышечной ткани и подкожной клетчатки обеих групп экспериментальных животных показала общие закономерности в соответствии со сроком, прошедшим после воздействия [4], [7].

1. В зависимости от дозы поглощенной энергии РЧ-тока можно выделить три характерные области:

- область терапевтического воздействия, характеризующаяся отсутствием некротических изменений и катаболических процессов на клеточном уровне;
- область пограничного слабодеструктивного воздействия, характеризующегося обратимым воспалительным процессом, приводящим в итоге к активации пролиферативных клеток;
- область необратимого деструктивного воздействия, характеризующаяся термическим некрозом тканей.

2. Основным проявлением действия токов радиочастотного диапазона в области пограничного слабодеструктивного

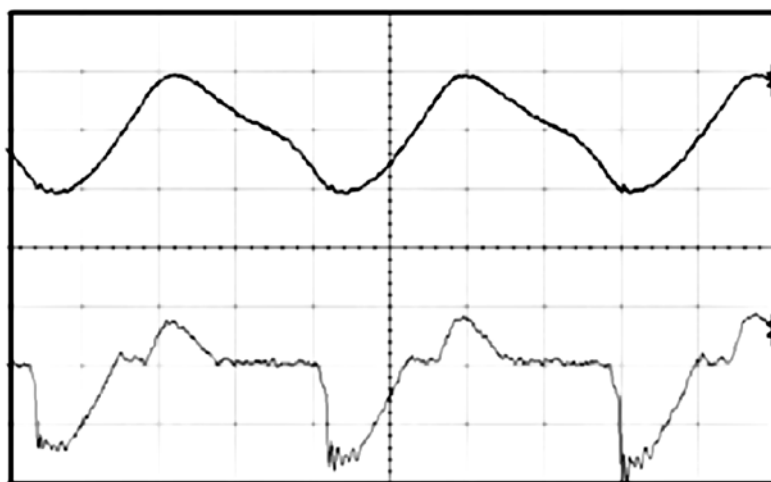


Рис. 3. Осциллограмма напряжения (верхняя кривая) и тока (нижняя кривая) при возникновении плазмы при несущей частоте тока 2,64 МГц

воздействия является активация морфогенеза структурных элементов кожи и мышц, следующая за фазой отека соединительной ткани. При этом происходит усиление клеточной пролиферации как основы восстановительных процессов [5].

3. В результате воздействия токов РЧ-диапазона в области пограничного деструктивного воздействия отмечается активация местной иммунной системы (повышение количества Т-лимфоцитов от первых к третьим суткам). Отсутствие макрофагов и дендритных клеток в зоне повреждения по сравнению с контрольной группой свидетельствовало о ликвидации внедренных с иглой возможных чужеродных агентов [3], [10].

Рандомизированные исследования на пациентах проводились на базе ФГУ ГНЦ колопроктологии при подготовке диссертационных материалов [6] по заживлению обширных гнойных ран перианальной и крестцово-копчиковой областей у больных в результате послеоперационных осложнений [6], [7]. Оценка эффективности стимуляции при заживлении обширных гнойных ран перианальной и крестцово-копчиковой областей проводилась с помощью экспериментального устройства для дозированного воздействия импульсно-модулированным током РЧ-диапазона. Результаты исследований позволили дать следующую оценку эффективности радиочастотной стимуляции при дозированном воздействии импульсно-модулированным током РЧ-диапазона:

1. Слабодеструктивное энергетическое воздействие 20...40 Дж при мощности тока 2...4 Вт вызывает стимуляцию метаболических процессов и местного иммунитета.

2. Планиметрическая оценка показала, что дозированная РЧ-стимуляция позволяет увеличить:

- среднюю скорость заживления с $(0,19 \pm 0,11)$ до $(0,57 \pm 0,15)$ см²/сут.;
- относительную скорость эпителизации на 30 день с $(0,81 \pm 0,63)$ до $(1,83 \pm 0,52)$ %/сут.;
- сократить площадь раны на 30-е сутки с $(24,3 \pm 12,2)$ до $(55,0 \pm 15,7)$ %.

3. При оценке цитологической картины скорость репарации операционной раны выше в группе, получившей электростимуляцию. Результаты микробиологического исследования указывают на то, что электростимуляция способствует уменьшению бактериальной обсемененности ран, что, возможно, объясняет сокращение фазы воспаления раневого процесса и очищение раны за счет выделения пироксида в зоне воздействия [3], [6].

Заключение

1. Слабое деструктивное воздействие импульсно-модулированным током радиочастотного диапазона, дозированное по энергии, активирует процесс пролиферации здоровых клеток тканей.

2. Стимуляция репаративных процессов импульсно-модулированным током радиочастотного диапазона является эффективным и клинически обоснованным методом регенеративной медицины при лечении гнойных, воспалительных и гнойно-воспалительных процессов.

3. Экспериментальный образец прототипа устройства для дозированного воздействия импульсно-модулированным током радиочастотного диапазона обеспечивает оптимальное воздействие с помощью игольчатых электродов при стимуляции пролиферации клеток биологических тканей. Автоматическая установка реальной величины выходной мощности с учетом нагрузочной характеристики высокочастотного генератора позволяет получать адекватное дозирование высокочастотной энергии.

4. Результаты экспериментальных исследований на животных, а также рандомизированные клинические исследования на пациентах показали, что проведение процедуры стимуляции с помощью экспериментального устройства для дозированного воздействия импульсно-модулированным током радиочастотного диапазона является эффективным и клинически обоснованным методом лечения гнойных, воспалительных и гнойно-воспалительных процессов.

Список литературы:

1. Buckingham M. Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates // Curr. Opin. in Genet. Dev. 2006. Vol. 16. PP. 525-532.
2. Stocum D.L. Regenerative biology and medicine. – N.Y.: Acad. Press, 2006. 448 p.
3. Фролов С.А., Сушков О.И., Пишеленская А.И., Данилейко Ю.К., Салюк В.А., Белов С.В. Экспериментальное обоснование параметров электростимуляции процессов заживления открытых послеоперационных ран // Колопроктология. 2013. № 2 (44). С. 9-18.
4. Балан О.В., Белов С.В., Данилейко Ю.К., Дубовая Т.К., Маркитантова Ю.В., Осико В.В., Салюк В.А., Сухоруков В.С., Озернюк Н.Д. Активация восстановительных процессов в тканях крыс под действием радиочастотного тока с импульсно-периодическим режимом модуляции // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2010. № 6. С. 645-652.
5. Балан О.В. Анализ дифференцировки in vitro сателлитных клеток и миоцитов, выделенных из скелетных мышц крыс на разных стадиях онтогенеза / Дисс. ... канд. биол. наук. – М.: Институт «Биологии развития РАН», 2009. 130 с.
6. Пишеленская А.И. Применение высокочастотной электростимуляции в лечении открытых ран промежности и крестцово-копчиковой области / Дис. ... канд. мед. наук. – М.: ГНЦ колопроктологии, 2014. 135 с.
7. Фролов С.А., Сушков О.И., Максимова Л.В., Пишеленская А.И., Белов С.В., Данилейко Ю.К., Осико В.В., Салюк В.А. Высокочастотная электростимуляция раневого процесса у больных после хирургического лечения свищей прямой кишки и эпителиального копчикового хода // Колопроктология. 2010. № 3 (44). С. 3-7.
8. Бабурин Н.В., Белов С.В., Данилейко Ю.К., Егоров А.Б., Лебедева Т.П., Нефедов С.М., Осико В.В., Салюк В.А. Гетерогенная рекомбинация в плазме водяных паров как механизм воздействия на биологические ткани // ДАН. 2009. Т. 426. № 4. С. 1-3.
9. Белов С.В., Данилейко Ю.К., Нефедов С.М., Осико В.В., Салюк В.А., Сидоров В.А. Особенности генерации низкотемпературной плазмы в высокочастотных плазменных электрохирургических аппаратах // Медицинская техника. 2011. № 2. С. 26-32.
10. Balan O.V., Markitantova Y.V., Ozerennyuk N.D., Belov S.V., Danileiko Y.K., Osiko V.V., Salyuk V.A., Dubovaya T.K., Suhorukov V.S. Activation of reconstructive processes in rat tissues under the action of radiofrequency current with a periodic impulse mode of modulation // Biology Bulletin. 2010. Vol. 37. № 6. PP. 551-557.

Сергей Владимирович Белов,
д-р техн. наук, ст. научный сотрудник,
Юрий Константинович Данилейко,
д-р физ.-мат. наук, профессор,
зав. лабораторий,
Вячеслав Васильевич Осико,
д-р физ.-мат. наук, академик РАН,
руководитель научного центра
лазерных материалов и технологий,
Алексей Борисович Егоров,
научный сотрудник,
Виктор Афанасьевич Салюк,
д-р техн. наук, ст. научный сотрудник,
ФГБУН «Институт общей физики
им. А.М. Прохорова» РАН,
г. Москва,
e-mail: ser79841825@yandex.ru