

## OŠTEĆENJA RAZLIČITIH VRSTA HUMANIH KALKULUSA NASTALIH LASERSKIM DEJSTVOM

Vera Šijački Žeravčić<sup>1</sup>, Ana Šijački<sup>2</sup>, Gordana Bakić<sup>1</sup>, Vlada Ćosović<sup>3</sup>, Zoran Ristić<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mašinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Kraljice Marije 16, Beograd,

<sup>2</sup>Urgentni centar, Beograd, <sup>3</sup>IHTM, <sup>4</sup>Institut "Vinča"

**Sadržaj** – CO<sub>2</sub> laser u impulsnom (izlazne snage 5W) i kontinualnom režimu (izlazne snage 15 W) i diodni laser (808nm) su korišćeni za istraživanje fragmentacije žučnih kalkulusa in vitro. Ispitano je ukupno 15 žučnih humanih kalkulusa poznate veličine, sakupljenih tokom hirurških intervencija. Oštećenja izazvana laserom su ispitivana vizuelno i stereo-mikroskopom (povećanje od 10 do 25 puta). Tokom ispitivanja uočena je zavisnost fragmentacije kalkulusa od vrste laserskog dejstva, kao i stepena fragmentacije od tipa ispitivanog kalkulusa. Uočeni su različiti tipovi i dimenzije oštećenja, izazvani dejstvom različitih laserskih snopova, kao i promena u boji površinskih slojeva u zavisnosti od vrste ispitivanih kalkulusa.

### 1. UVOD

Danas je tretiranje kamenaca u ljudskom organizmu, a posebno onih u žuči u znatnoj meri manje invazivan postupak zbog brojnih neinvazivnih metoda koje su razvijene i zbog čega se hirurške intervencije izvode na manje od 2% pacijenata [1]. U ovom radu su prikazani rezultati istraživanja fragmentacije žučnih kalkulusa in vitro za koja su korišćeni CO<sub>2</sub> laser u impulsnom (izlazne snage 5W) i kontinualnom režimu (izlazne snage 15 W) i diodni laser (808nm).

### 2. PATOGENEZA ŽUČNIH KALKULUSA

Žučni kalkulusi (kamenci) u svom sastavu uglavnom sadrže holesterol, bilirubin, soli kalcijuma, kao i male količine proteina i drugih materija [1-6]. Prema svom sastavu dele se na holesterolske i neholesterolske (pigmentirane). Kod holesterolskih kamenaca, prema podacima iz literature, holesterol je glavni sastojak više od tri četvrtine žučnih kamenaca pri čemu njegov sadržaj iznosi i više od 80%. Holesterolski kamenci često sadrže naizmenične slojeve kristala holesterola i mucin glikoproteina [7]. U potpunosti ili najvećim delom su glatki, ovalni ili okrugli, žute ili braon-žute boje. Čisti kristali holesterola su veoma meki, međutim prisutni proteini utiču na povećanje njihove čvrstoće. Supersaturacija žuči, kristalizacija i rast su 3 stadijuma u obrazovanju holesterolskih kamenaca. Kristalizacija žuči se javlja u prisustvu promenjene žučne kinetike, koja nastaje usled dejstva prokristalisanog proteina. Proteini povećavaju kristalizaciju i izlučuju se pri pojavi zapaljenja žučne kesice koje se javlja u prisustvu supersaturacije žuči. Kristalizacija holesterolskih kamenaca i njihov rast se pojačavaju sa smanjenjem kontraktilnosti žučne kesice.

Patofiziologija pigmentiranih kamenaca je još uvek nedovoljno razjašnjena. Neholesterolski kamenci čine grupu crnih, braon ili tamno-zeleno-mrkih pigmentiranih kamenaca, koji se uglavnom sastoje od bilirubina i kalcijumovih soli [5].

Kalcijumbilirubin je najvažnije jedinjenje kod primarno pigmentiranih žučnih kamenaca. Ovaj tip kamenaca se sastoji od 20 – 60 % organske materije. Crni pigmentirani kamenci se javljaju kada se u žuči bilirubin konjuguje u hipersekret sa naknadnim taloženjem kalcijumbilirubina. Promena žučne pH vrednosti, usled mogućih zapaljenskih procesa, olakšava obrazovanje kamenca. Veruje se da se crni pigmentirani kamenci sastoje od polimera bilirubina sa velikom količinom mucin glikoproteina. Oni se najčešće javljaju kod pacijenata sa cirozom ili hroničnim hemolitičkim stanjem za koje je posebno karakteristična povećana ekskrecija bilirubina. Braon pigmentirani kamenci su sačinjeni od soli kalcijuma nekonjugovanog bilirubina sa različitim sadržajima proteina i holesterola. Oni se obrazuju u žučnoj kesici i kanalu kao rezultat bakterijske proizvodnje nerastvorljivog nekonjugovanog bilirubina, koji se posle taloži kao kalcijumova so. Pigmentirane kamence često karakterišu koncentrični pigmentirani slojevi koji ukazuju na ciklični proces kristalizacije.

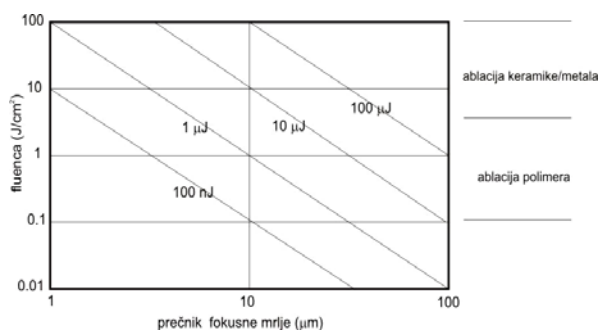
### 3. INTERAKCIJA LASERSKOG ZRAČENJA I HUMANIH MATERIJALA

Ablacija, u najširem smislu, predstavlja uklanjanje materijala pod dejstvom upadnog zračenja svetlosti. Kod većine metala i stakla/kristala uklanjanje se izvodi isparavanjem materijala pod uticajem toplote. Kod polimera uklanjanje se ostvaruje fotohemijским promenama koje uključuju i hemijsko rastvaranje polimera. Ukoliko se uklanjanje odvija isparavanjem od posebnog značaja je oblak isparenja. Isparenja su u stanju sličnom plazmi i sastoje se od delova molekula, neutralnih čestica, slobodnih elektrona i jona, kao i produkata hemijske reakcije. Ona su odgovorna za optičku apsorpciju i rasipanje upadnog snopa i mogu da se kondenzuju na okolnom radnom materijalu i/ili na optičkom sistemu lasera.

Dubina do koje energija laserskog zračenja može da izazove ablaciju je u funkciji sposobnosti materijala da apsorbuje tu energiju. Ona je određena apsorpcionom dubinom materijala i toplotom isparavanja radnog materijala, a takođe je i funkcija gustine energije snopa, trajanja laserskog impulsa i talasne dužine zračenja. Promena površinske gustine energije laserskog zračenja (fluenca) na radnom materijalu u funkciji primenjene energije zračenja i veličine žižne mrlje je prikazana na slici 1.

Što se tiče praga fluence, u literaturi mogu da se nađu različiti opisi rezultata i jačina interakcije laserskog zračenja i materijala biološkog i neorganskog porekla [8]. U oblasti ablacionih procesa materijala biološkog porekla u literaturi se definiše prag fluence kao najniža gustina energije pri kojoj

dolazi do uklanjanja fragmenata materijala (prečnika 20 – 80  $\mu\text{m}$ ). Vizuelnim pregledom je utvrđeno da se sa povećanjem površinske gustine energije povećava prečnik uklonjenih fragmenata: npr. za gustinu energije od 10  $\text{J}/\text{cm}^2$  prosečan prečnik čestica dostiže 0,4 mm.



Sl.1. *Fluena i ablacija materijala za različite energije impulsa*

Za potpuno razbijanje kamenaca mase 300 mg potrebno nekoliko hiljada pogodaka iznad gustine energije od 10  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Važno je istaći da kod niske fluence produkti razaranja – fragmenti ne prelaze prečnik od 80  $\mu\text{m}$ , što je veoma bitno jer te čestice organizam lakše eliminiše od onih milimetarskih veličina. Potrebno vreme za destrukciju holesterolskih kamenaca je manje od vremena potrebnog za razaranja pigmentnih kamenaca.

#### 4. EKSPERIMENT I REZULTATI

Tokom eksperimentalnog rada izvršeno je ispitivanje ukupno 15 žučnih humanih kalkulusa, sakupljenih tokom

hirurških intervencija. Svi kamenci su podeljeni u tri grupe, tako da svaka grupa sadrži i holesterolske i pigmentirane kamence:

- prva grupa uzoraka je izložena dejstvu  $\text{CO}_2$  lasera ( $\lambda = 10,6 \mu\text{m}$ ) snage 5W u impulsnom režimu rada i trajanju od 0,5 s;
- druga grupa je izložena dejstvu  $\text{CO}_2$  lasera, snage 15W u kontinualnom režimu rada i u trajanju od 1 s;
- treća grupa uzoraka je izložena dejstvu diodnog lasera (808 nm) snage 2W u kontinualnom modu.

Nastala oštećenja su posmatrana vizuelno i optičkom stereolupom pri povećanjima od 10 do 25 puta. Takođe, izvršena je dimenziona kontrola svih kamenaca, kao i merenje veličine nastalih oštećenja. Svi rezultati ispitivanja su prikazani tabelarno i mikrofotografijama, Tabele 1-3.

Na kamencima se, u zavisnosti od vrste, primenjenog zračenja i parametara, uočavaju različite vrste oštećenja, kao što su: mehaničke povrede, plastična deformisanost, erozija nastala izbacivanjem materijala, tragovi isparavanja, efekti sagorevanja i topljenja materijala. Svaka od ispitanih grupa pokazuje neke od navedenih efekata delovanja laserskog snopa.

Oštećenja kod pigmentiranih kamenaca prve grupe su: relativno male dubine, različitih nepravilnih oblika, pretpostavlja se da crna boja površinskih slojeva potiče od sagorevanja prisutne organske materije; erozija nastala usled mehaničkog izbacivanja sitnih čestica i površinskog topljenja. Kod holesterolskih kamenaca ove grupe oštećenja su izrazitija u poređenju sa onima kod pigmentiranih, ali i međusobno različita što bi moglo da ukaže, s obzirom da su svi uslovi ispitivanja isti, na različitost u njihovom hemijskom sastavu.

Tabela 1: *Makro i mikro opis oštećenja*

Laser: $\text{CO}_2$ (5W); mod: impulsni (0,5 s)			
Oznaka i dimenzije, mm	<b>1.1</b> - 6,7x4,8x4,0	<b>1.2</b> - 3,8x3,2x3,5	<b>1.3</b> - 2,8x3,3x4,2
Vizuelni opis kamena	<i>Vrsta:</i> pigmentirani <i>Oblik:</i> uglast, zaobljenih ivica <i>Površina:</i> glatka <i>Boja:</i> smeđa sa primesama oker	<i>Vrsta:</i> pigmentirani <i>Oblik:</i> uglast, delimično zaobljenih ivica; "nalepak" <i>Površina:</i> glatka <i>Boja:</i> osnova braon; "nalepak" zelenkast	<i>Vrsta:</i> pigmentirani <i>Oblik:</i> nepravilan <i>Površina:</i> glatka <i>Boja:</i> smeđa sa primesama oker
Makro izgled oštećenja	<i>Oblik:</i> nepravilan <i>Površina:</i> hrapava; po obodu oštećenja glatka <i>Boja:</i> crno braon	<i>Oblik:</i> nepravilan <i>Površina:</i> hrapava; po obodu oštećenja glatka <i>Boja:</i> crno braon	<i>Oblik:</i> nepravilan <i>Površina:</i> hrapava; po obodu oštećenja glatka <i>Boja:</i> crno braon
Mikro izgled oštećenja	<i>Oblik:</i> nepravilan <i>Oštećenje:</i> višemedno	<i>Oblik:</i> skoro pravougaoni <i>Oštećenje:</i> višemedno	<i>Oblik:</i> nepravilan, izdužen <i>Oštećenje:</i> višemedno
Dimenzije oštećenja, mm	(1,43x1,52)x3,38 (obod)	1,72x2,78 (obod)	(1,14-1,44)x2,96 (obod)

Tabela 1 - nastavak: Makro i mikro opis oštećenja


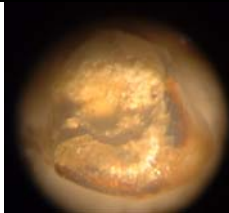
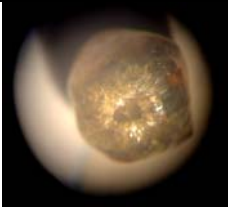
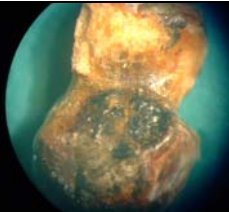
Laser: CO <sub>2</sub> (5W); mod: impulsni (0,5 s)			
Oznaka i dimenzije	1.4 - 3,0x3,3x3,0	1.5 - 2,8x3,3x3,0	1.6 - 2,1x3,15x3,0
Vizuelni opis kamena	Vrsta: holesterolski Oblik: nepravilan Površina: glatka Boja: u osnovi beličasta sa primesama braon	Vrsta: holesterolski Oblik: nepravilan Površina: glatka: Boja: u osnovi beličasta	Vrsta: holesterolski Oblik: nepravilan Površina: glatka: Boja: u osnovi beličasta
Makro izgled oštećenja	Oblik: kružan Površina: po obodu oštećenja glatka sa radijalnim prslinama Boja: maslinasto oker	Oblik: prelom; krater kružni Površina: po obodu oštećenja glatka; prelomna površina je zrnasta (sedimentna) Boja: maslinasto-tamno braon	Oblik: kružni krater Površina: po obodu glatka; Boja: maslinasta do tamno braon
Mikro izgled oštećenja	Oblik: nepravilan eliptičan Oštećenje: višeslojno	Oblik: nepravilan, višeslojno kraterski Oštećenje: monomodno	Oblik: nepravilno eliptično Oštećenje: monomodno
Dimenzije oštećenja, mm	(0,66-1,37)x2,74 (obod)	(2,11-3,0)x3,16 (obod)	(0,44-0,66)x0,88

Tabela 2: Makro i mikro opis oštećenja

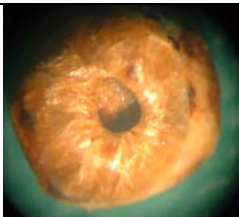
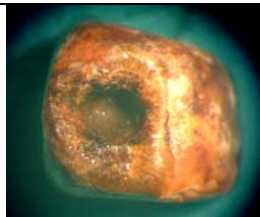
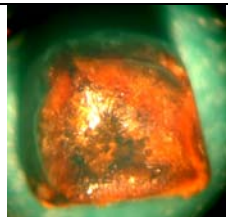
Laser: CO <sub>2</sub> (15W); mod: kontinualni (1 s)			
Oznaka i dimenzije, mm	2.1 - 2,1x3,6x2,2	2.3 - 2,7x3,4x6,1	2.3 - 2,6x4,0x4,1
Vizuelni opis kamena	Vrsta: holesterolski Oblik: nepravilan Površina: sedimentna Boja: beličasta	Vrsta: kombinovani Oblik: spojena dva kamenca Površina: glatka - hrapava Boja: tamno brao - žučkasta	Vrsta: pigmentirani Oblik: nepravilan Površina: glatka Boja: tamno braon
Makro izgled oštećenja	Oblik: kružni Površina: zrnasta (sedimentna) Boja: zelenkasta do tamno braon	Oblik: nepravilan i zahvata celu površinu fasete Površina: hrapava Boja: crna	Oblik: nepravilan Površina: uglavnom po obodu oštećenja glatka Boja: crna
Mikro izgled oštećenja	Oblik: nepravilan Oštećenje: višeslojno	Oblik: nepravilan Oštećenje: višeslojno	Oblik: nepravilan Oštećenje: višeslojno
Dimenzije oštećenja, mm	(0,69-1,1)x1,74	(0,66-0,92)x0,81	(0,46-1,1)x1,12

Efekti topljenja i ponovnog očvršćavanja su prisutni kod sva tri ispitana kamenca sa rastućim efektom od 1.4 ka 1.6. Takođe, efekti "udarnog" toplotnog talasa se manifestuju u pojavi pojaseva (traka) sa skoro paralelnim pružanjem na uzorku izvan zone oštećenja, što je posebno izraženo kod uzorka 1.4.

Oštećenja provocirana kontinualnim režimom rada CO<sub>2</sub> lasera kod uzoraka II grupe su po dubini manja, a po površini veća u poređenju sa oštećenjima kod I prve grupe uzoraka ali sa istim pojavnim efektima.

Treća grupa žučnih kamenaca je okarakterisana veoma jasno definisanim povredama u vidu kratera relativno velike dubine prodora kod oba tipa kamenaca i sa relativno strmim stranama. Oštećenja su dominantno nastala isparavanjem i topljenjem zone materijala koja je ozračena. Ivice kratera u vidu prstenastog pojasa skoro ravnomerne širine su delimično fragmentirane a po obodu pojasa je prisutan deo materijala kratera koji je očvrstnuo. Kod pigmentiranih kamenaca se uočavaju međusobno različite, pre svega po boji, oblasti očvršćavanja, koje ukazuju na to da je hemijski sastav žučnog kamenca nehomogen i različit.

Tabela 3: Makro i mikro opis oštećenja

Laser: diodni 808nm (2W); mod: kontinualni			
Oznaka i dimenzije, mm	3.1 - 3,0x3,2x3,2	3.2 - 3,4x3,4x3,8	3.3 - 3,0x2,8x3,2
Vizuelni opis kamena	Vrsta: pretežno holesterolski Oblik: uglast sa zaobljenim ivicama; slojevit Površina: glatka Boja: po slojevima ide od braon do oker	Vrsta: pigmentirani Oblik: gotovo pravilno prizmatičan sa zaobljenim ivicama Površina: glatka Boja: braon	Vrsta: pigmentirani Oblik: uglast sa zaobljenim ivicama Površina: glatka Boja: braon sa lokalnim svetlim područjem
Makro izgled oštećenja	Oblik: kružni (Ø0,6mm) sa pravilnim vencem Površina: glatka Boja: oker	Oblik: kružni (Ø1,6mm), velike dubine, izražen obod Površina: glatka Boja: crna po obodu; dno je braon	Oblik: kružni male dubine Površina: glatka Boja: blago potamnela u odnosu na osnovnu boju
Mikro izgled oštećenja	Oblik: nepravilan eliptičan Oštećenje: višemodno	Oblik: pravilan kružni Oštećenje: monomodno	Oblik: pravilan kružni Oštećenje: monomodno
Dimenzije oštećenja, mm	(0,37-0,65)x2,86 (obod)	(0,55-0,69)x1,9 (obod)	(0,45-0,57)x1,6 (obod)

## ZAKLJUČAK

Prikazana oštećenja žučnih kamenaca nastala dejstvom dva tipa lasera su međusobno veoma različita, iako su efekti koji su delovali (topljenje, isparavanje, mehaničko oštećivanje) bili isti. Imajući u vidu da se hemijski sastav ispitivanih kamenaca, po grupama, nije previše razlikovao, jasno je da različitost oštećenja, pre svega, treba korelisati sa veličinom površinske gustine zračenja i tipom lasera, odnosno njegovom talasnom dužinom. Naime, talasna dužina CO<sub>2</sub> lasera je 10600 nm zbog čega se njegovo zračenje apsorbuje u maloj zapremini i na rastojanju 0,1 – 0,2 mm od površine. Zračenje primenjenog diodnog lasera talasne dužine koja je za više od 10x manja od talasne dužine CO<sub>2</sub> lasera, ima veću sposobnost penetracije, što je i rezultovalo u većoj dubini oštećenja. Stoga bi se u konkretnom slučaju prednost za uklanjanje žučnih kamenaca ablacijom dala diodnom laseru.

## LITERATURA

- [1] Apstein MD: "Pathophysiology of gallstones and other diseases of the biliary tract." In: Chopra S, May RJ, eds. *Pathophysiology of gastrointestinal diseases*. Boston: Little Brown, pp.489-528, 1989
- [2] R.V. Arutyunyan, V. Yu. Baranov, L.A. Bolshov et al. *Laser beam effects on materials*, Moscow; Nauka, 1989
- [3] Fotona medical laser report, *Experimental and Clinical Investigations with the Twinlight Dental Laser*, vol.D 2.5
- [4] Coomble A.R., Darendeliler M.A. et al, "The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells", *Clinical Orthodontics and Research*, vol4, No.1, pp.3-14, 2001
- [5] Srećković, V Šijački-Žeravčić et al., „Primena lasera u biomedicini, hirurgiji i dijagnostici sedimentnih naslaga žučnog kalkulusa i fibrogenog plaka“, *Zbornik ETRAN*, Kopaonik sv. X-XI, pp.27-34, 1992
- [6] Dr A.P.HOULT et al.: Advanced in laser Soldering using High Power Diod, [www.speelinetech.com/docs](http://www.speelinetech.com/docs)
- [7] [www.columbia.edu/cu/mechanical/mrl/level1/ch02](http://www.columbia.edu/cu/mechanical/mrl/level1/ch02)
- [8] R. Worbe et al.: "HeCl Laser in Billiary Calculus Fragmentation: Fluence Threshold and Ablation Products", *IEEE Biomedical Engineering*, vol. 36, pp. 1202-1209, 1989

**Abstract** – The CO<sub>2</sub> laser in pulse (output power 5W) and continual mode (output power 15W) and diode laser (808nm) were used to investigate the fragmentation of the gall-stones in vitro. Total of 15 gall-stones of known sizes were collected following the surgical interventions. The laser-caused damages were investigated visually with a stereo-microscope (magnification 10-25X). The results of examination have shown that the fragmentation of gall-stones depends on the type of laser action whereas the type of gall-stones determines the degree of fragmentation. It was found that different types and sizes of damages caused by the action of different laser beams as well as the color changes of the surface layers depend on the type of gall-stones examined.

## LASER-CAUSED DAMAGES OF HUMAN CALCULUS

Vera Šijački Žeravčić, Ana Šijački, Gordana Bakić,  
Vlada Ćosović, Zoran Ristić