

SKIN ABLATION USING HIGH INTENSITY FEMTOSECOND LASER

Moisés Oliveira dos Santos, Viviane Pereira Goulart, Wagner de Rossi, Anderson Zanardi de Freitas,
Paulo Roberto Correa, Ricardo Elgul Samad, Nilson Dias Vieira Júnior, Denise Maria Zzell
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN - CNEN/ SP – Brasil
Av. Lineu Prestes 2242 - Cidade Universitária - CEP: 05508-000 - São Paulo - SP BRASIL
E-mail: zzell@usp.br

RESUMO

A técnica de ablação de pele com laser de pulsos ultracurtos de alta intensidade tem mais precisão e menos efeitos colaterais comparado com técnicas com laser convencional. Este estudo teve como objetivo investigar a ablação de pele ex-vivo de ratos da raça Wistar. No experimento usamos um laser de Ti:Safira (830 nm) com energia por pulso variando de 5 a 100 μJ , largura de pulso de aproximadamente 35 fs, a 4 KHz. Os pulsos foram focalizados com lente ($f=50$ mm) nas amostras, resultando numa densidade de energia máxima de 34,1 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$. As amostras de pele ex-vivo foram removidas com bisturi e fixadas em um suporte plano de acrílico, em seguida foram irradiadas com caminho pré-definido e alinhada perpendicularmente ao feixe laser. As amostras de pele foram expostas a quatro diferentes condições de irradiação de forma a varrer toda a área pré-definida, com 25% de sobreposição dos pulsos. A área irradiada foi de 1 mm x 2 mm e separadas por 3 mm entre cada região irradiada. Para avaliar a profundidade de remoção da pele e a qualidade das bordas da lesão, as amostras foram analisadas utilizando tomografia por coerência óptica (OCT). Um sistema de OCT utiliza um diodo superluminescente, com comprimento de onda central de 930 nm e 100 nm de largura de banda (Thorlabs Inc.). Este sistema prevê uma resolução axial e lateral no ar de 6,0 μm . As imagens geradas têm 1 Mpixel (2000x512) correspondendo a um alcance lateral de 6.0 mm e uma profundidade axial de 1,5 mm. O sistema fornece uma probe manual de fibra óptica. Foi possível remover a camada da derme com 50 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ (11,35 J/cm^2) alcançando profundidades à partir de 55 \pm 5 μm , medidas pelo OCT.

Descritores: Ablação de pele, laser de pulso ultracurto, OCT

ABSTRACT

High intensity ultrashort laser pulses ablation techniques have more precision and low collateral damage compared with conventional laser. Our study was designed to investigate ablation of ex-vivo skin samples of Wistar rats. In this experiment, we use a Ti:Sapphire (830 nm) with energy per pulse ranging between 5 and 150 μJ , ultrashort pulses of approximately 35 fs at 4KHz. The pulses were focused by a lens ($f = 50$ mm) on samples resulting in maximum energy density of 34.1 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$. Ex-vivo skin samples were shaved with razor-blade and fixed on flatted acrylic plane, which were positioned on two axes coordinated system with micrometric accuracy, CNC programming was used to guide the sample through a pre-defined path and aligned perpendicularly to the laser beam. Skin samples were exposed to seven different conditions of energy with irradiation performed in raster line, with 25% pulses overlapping. The site of irradiation had 1mm x 2mm, and were separated by 3mm. To evaluate skin removal depth and the quality of lesions borders, the samples were analyzed using optical coherence tomography (OCT). An OCT system using SLD with central wavelength at 930 nm and about 100 nm of bandwidth was used (Thorlabs Inc.). This system provides an axial and lateral resolution in air of 6.0 μm . The images were generated with 1 Mpixel (2000x512) corresponding to a lateral range of 6.0 mm and axial depth of 1.5 mm. This system is provided by a fiber optical hand probe. It was possible to remove skin dermis with 50 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ (11.4 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$) and higher fluencies, from 55 \pm 5 μm depth, measured by OCT.

Key words: Skin ablation, ultrashort laser pulse, OCT

INTRODUÇÃO

As aplicações de lasers de pulsos ultra-curtos estão sendo utilizado com cada vez mais frequência na área da medicina, pois é capaz de realizar tratamentos mais precisos e controlados. Estudos mostram que os danos causados aos tecidos adjacentes são menores a medida que a duração do pulso diminui [1,2,3]. A ablação por técnicas com lasers convencionais apresentam uma menor precisão e efeitos colaterais maiores.

Neste trabalho foi utilizado um laser de pulsos ultra-curtos de femtossegundos ($1 \text{ fs} = 10^{-15} \text{ s}$), o qual apresenta como efeito, na interação com o tecido, a geração de intensidades de pico extremamente elevado, capaz de ionizar elétrons de seus átomos [4]. Criando um plasma com temperatura elevada, que é uma mistura de íons e elétrons livres [4]. Existe um limiar para acontecer à formação do plasma, quando esse limiar é atingido o plasma é formado, o qual absorve grande quantidade de energia incidente e reflete o restante, limitando assim a transmissão de energia para os tecidos adjacentes, esse fenômeno é conhecido como blindagem de plasma [4].

A aplicação mais comum de lasers de pulsos ultracurto é para cirurgias oftálmicas, para excisão de córnea [2,5], pois como é uma área muito sensível, a precisão da ablação é essencial e também não há danos nos tecidos adjacentes, faz com que seja uma técnica promissora. Outro estudo realizado por Huang et. al.[1] mostra um laser de pulsos ultra-curtos utilizado para separar tecidos cutâneos humanos para serem utilizados em implantes.

Para uma melhor compreensão da ablação da pele por laser de femtossegundos este trabalho observou os efeitos em pele de rato Wistar *ex-vivo* e utilizando tomografia por coerência óptica (OCT) para análise dos resultados.

MATERIAL E MÉTODOS DE ANÁLISE

No experimento usamos um sistema laser com amplificação de pulsos com varredura em frequência (*chirped pulse amplification* - CPA), de Titânio:Safira, do Laboratório de Lasers Compactos de

Altíssima Potência do Centro de Lasers e Aplicações (CLA), do IPEN. Neste sistema, o pulso antes de passar pelo meio amplificador, é alongado temporalmente e amplificado. Após o meio de ganho, o pulso é comprimido em um compressor dispersivo, que temporalmente comprime o pulso a uma largura análoga à duração do pulso de entrada. Os pulsos gerados pelo sistema de amplificação, utilizado neste estudo possuíam aproximadamente uma duração de 35 femtossegundos, taxa de repetição do pulso de 500 Hz, e energia variando entre 12,5 e 100 μJ . (Tabela 1)

Tabela 1 – Especificações do laser Ti:Safira.

Sistema laser – Ti: Safira	
Comprimento de onda (λ)	830 nm
Duração do pulso (τ_p)	35 fs
Taxa de repetição do pulso	500 Hz
Potência média na saída do feixe	3 W
Densidades de energia utilizadas (J/cm^2)	2,83; 5,67; 11,35; e 22,71

Os pulsos foram focalizados por meio de uma lente ($f = 50 \text{ mm}$), sobre as amostras resultando numa densidade de energia máxima de $22,71 \text{ J}/\text{cm}^2$. Amostras de pele *ex-vivo*, de rato da raça Wistar, macho, foram tricotomizadas, e removidas com bisturi. As amostras foram fixadas sobre uma placa de acrílico, a qual foi posicionada sobre um posicionador com dois eixos coordenados, de acurácia micrométrica, por programação CNC, para guiar a amostra através do caminho pré-definido e alinhado perpendicularmente ao feixe laser. Amostras de pele foram expostas a quatro condições de energia diferentes, sendo as irradiações executadas de forma a varrer uma região de $1 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$, com sobreposição de pulsos de 25%.

Paralelo a saída do feixe, montamos o sistema de tomografia por coerência óptica [6](Figura 2), para avaliar a profundidade removida de pele e a qualidade das irradiações (Tabela 2).

Tabela 2 – Especificações do sistema OCT

Sistema OCT (Thorlabs Inc., Newton-USA)	
Comprimento de onda central (λ_0)	930 nm
Largura de banda ($\lambda\Delta$)	100 nm
Resolução axial e lateral no ar	6,0 μ m (8 quadros por segundo)

As imagens geradas tem 1 Mpixel (2000x512), correspondendo a um alcance lateral de 6,0 mm e uma profundidade axial de 1,5 mm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo investigou o efeito acumulativo da energia por pulso na pele. Tomamos como referência a energia de 100 μ J/pulso, e fracionamos essa energia em

outras três condições (50, 25 e 12,5 μ J/pulso). A Figura 3 mostra as profundidades alcançadas por cada energia. As energias adotadas no estudo não permitiram observar, pela tomografia, uma remoção mínima de material, já que em todas houve remoção. Indicando a necessidade de reduzir a energia para investigar a remoção ou não de material.

As profundidades alcançadas em cada irradiação foram plotadas em um gráfico log-log(Figura 4), e o melhor ajuste de curvas para os pontos é da forma:

$$P = 55,31 \times D^{0,14} \quad (1)$$

onde: P é a profundidade, e D, a densidade de energia por pulso. A função descrita pelo ajuste de curvas ($y = ax^b$), concorda com o tipo de ajuste usado em outros estudos[4], a menos da forma com que irradiamos, pois variamos a quantidade de pulsos por ponto e fixamos a quantidade de energia total.

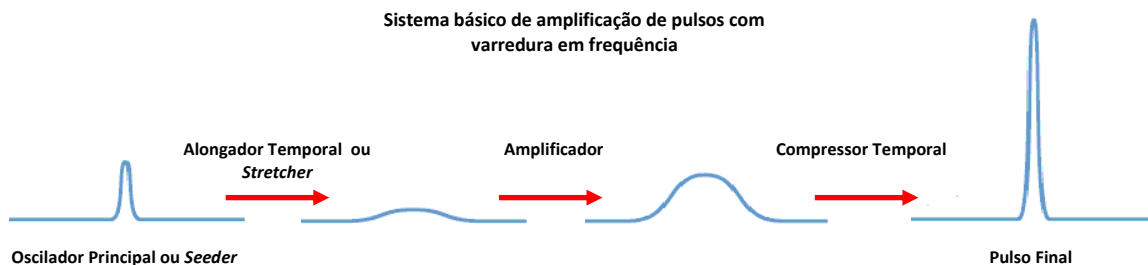


Figura 1: Esquema conceitual de amplificação de pulso com varredura em frequência. O sistema é constituído basicamente de: oscilador principal ou *seeder*; alongador temporal ou *stretcher* (razão de alongamento da ordem de 10^4); amplificador (pico de potência da ordem de 1 TW = 10^{12} W) e por último, compressor temporal.

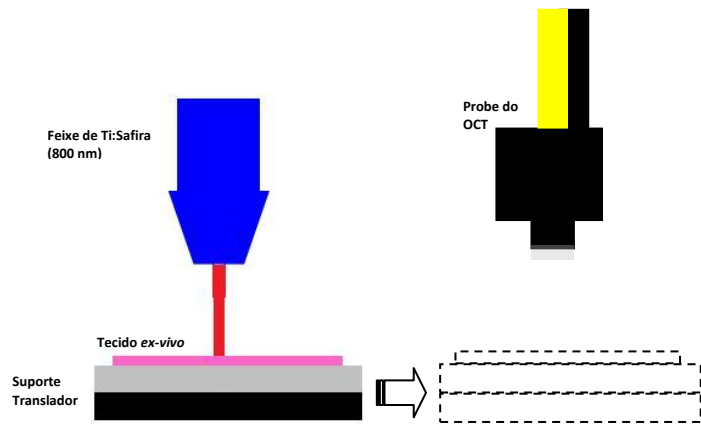


Figura 2: Esquema de montagem do sistema de irradiação laser e do OCT.

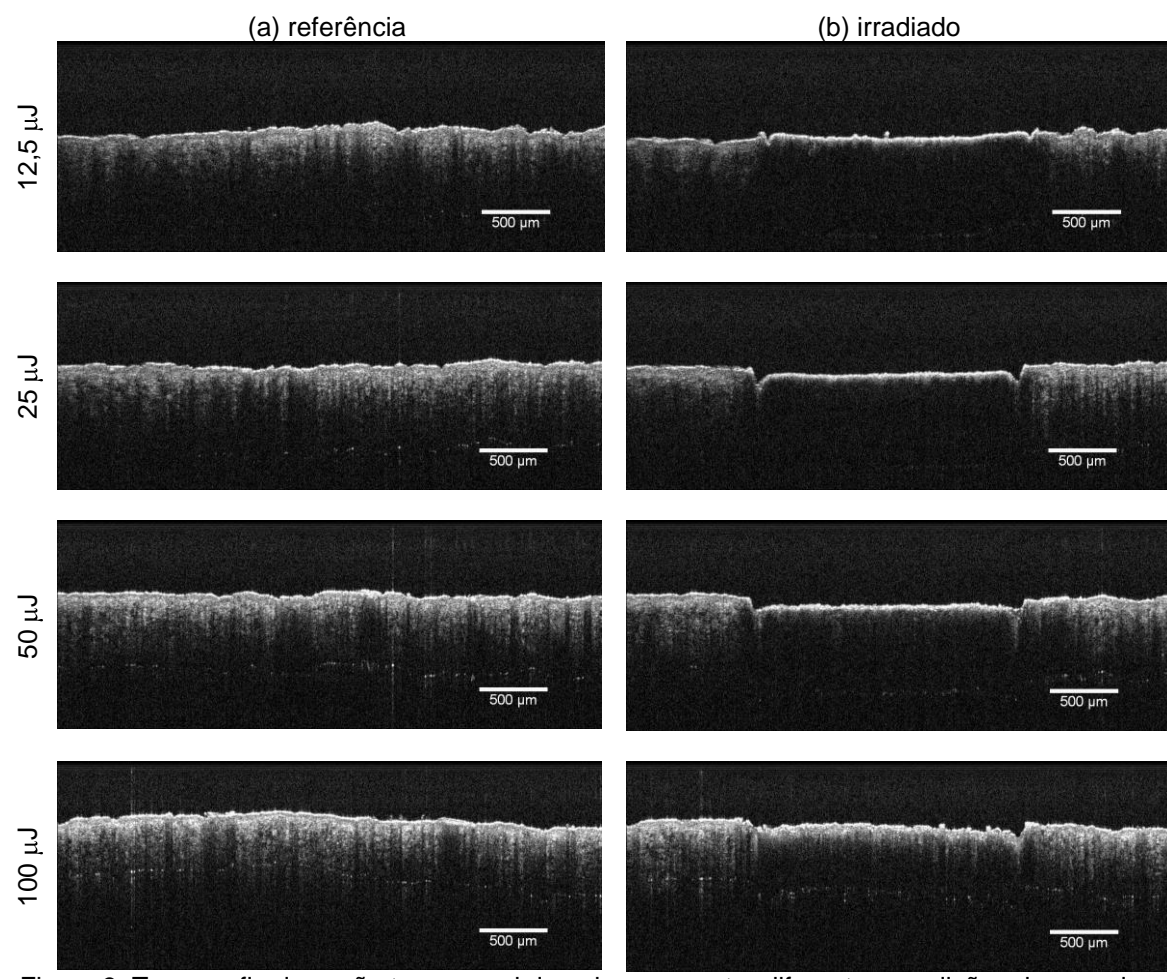


Figura 3: Tomografia da seção transversal da pele, nas quatro diferentes condições de energia por pulso do laser. (a) Tomografias de referência da pele; (b) Tomografias após a irradiação com as energias de 12,5; 25; 50 e 100 μJ . Cada irradiação depositou uma energia total sobre a amostra de 100 μJ

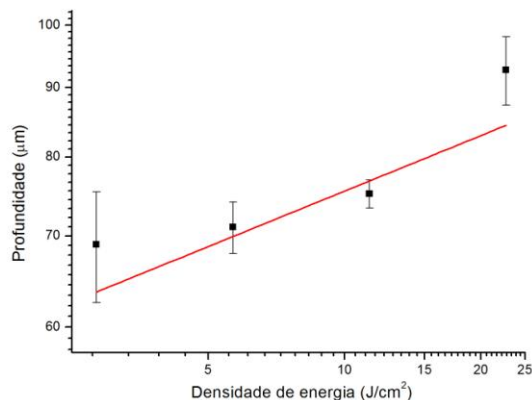


Figura 4: Profundidade de ablação por quantidade de energia depositada versus densidade de energia por pulso. O melhor ajuste de curvas para o conjunto de pontos do gráfico é da forma: $P = 55,31 \times D^{0,14}$, onde P é a profundidade e, D é a densidade de energia por pulso. Pelo gráfico, a irradiação com energia fracionada (12,5 x 8), não atinge a mesma profundidade da energia total de um pulso(100 x 1), portanto não havendo efeito acumulativo no tecido.

CONCLUSÃO

As imagens de tomografia obtidas pelo OCT permitiram avaliar a qualidade e a profundidade atingida pela irradiação laser. A avaliação das densidades de energia varridas sobre a amostra, por meio do gráfico da profundidade em função da densidade de energia, não foi suficiente para definir um limiar de ablação da pele queimada, suficiente para remover debris de tecido, sem que haja mais efeitos térmicos no tecido, necessitando de densidades de energia menores para posteriores análises.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro das seguintes agências de fomento: FAPESP CEPID (05/51689-2), FAPEAM - Programa RH-POSGRAD, Instituto Nacional de Fotônica – INFO/CNPq (573916/2008-0).

REFERÊNCIAS

[1] HUANG, H.; GUO, Z. Human dermis separation via ultra-short pulsed laser plasma-mediated ablation. *Journal of Physics D: Applied Physics*, V. 42, I. 165204, pp. 9-17, 2009.

[2] SUN, H.; HAN, M.; NIEMZ, M. H.; BILLE, J. F. Femtosecond laser corneal ablation threshold: Dependence on tissue depth and laser pulse width. *Lasers in Surgery and Medicine*, V. 39, pp. 654-658, 2007.

[3] ORAEVSKY, A. A.; DA SILVA, L. B.; RUBENCHIK, A. M.; FEIT, M. D.; GLINSKY, M. E.; PERRY, M. D., MAMMINI, B. M.; SMALL, W.; STUART, B. C. Plasma mediated ablation of biological tissues with nanosecond-to-femtosecond laser pulses: Relative role of linear and nonlinear absorption. *Journal of Selective Topics in Quantum Electronics*, V. 2, I. 4, pp. 801-809, 1996.

[4] FREDERICKSON, K. S.; WHITE, W. E.; WHEELAND, R. G.; SLAUGHTER, D. R. Precise ablation with reduced collateral damage using the femtosecond-pulsed, terawatt titanium-sapphire laser. *Archives of Dermatology*, V. 129, pp. 989-993, 1993.

[5] STERN, D.; SCHOENLEIN, R. W.; PULIAFITO, C. A. Corneal ablation by nanosecond, picosecond, femtosecond lasers at 532 and 625 nm. *Archives of Ophthalmology*, V. 107, pp. 587-592, 2009.

[6] Huang, D.; Fujimoto, J. G. et al. Optical coherence tomography, *Science* 254, pp.1178–1181, 1991.