

## Saldatura laser della pelle: stato dell'arte e prospettive future

Paolo Matteini<sup>(1)</sup>, Francesca Rossi<sup>(1)</sup>, Fulvio Ratto<sup>(1)</sup>, Roberto Pini<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> IFAC-CNR, Via Madonna del Piano 10, 50019 Sesto Fiorentino, Italy

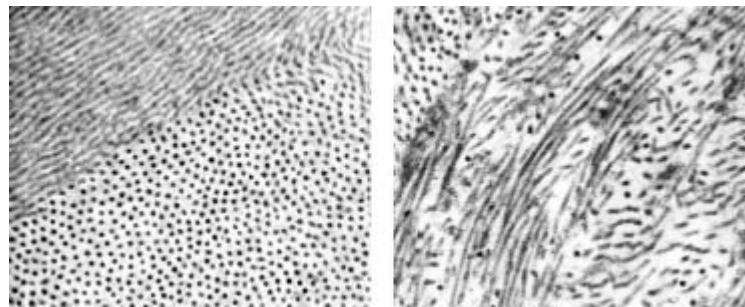
SP.P08.014

## 1 - Introduzione

Da diversi anni ormai la tecnologia laser svolge un ruolo importante nell'ambito di numerose applicazioni biomedicali. Il principale vantaggio prospettato dalle tecniche laser è quello di ridurre notevolmente il trauma chirurgico riducendo il tempo di guarigione e il rischio di complicazioni post-operatorie con netto miglioramento della qualità della vita dei pazienti.

Una tra le applicazioni più promettenti del laser in campo medico-chirurgico è la saldatura dei tessuti biologici ("*laser tissue welding*"). La giunzione di lembi di tessuto tramite luce laser è stata conseguita per la prima volta con successo alla fine degli anni settanta, impiegando un laser a neodimio:ittrio-alluminio-garnet (Nd:YAG) per l'anastomosi microvascolare della carotide e delle arterie femorali di topo. Successivamente, la saldatura laser-assistita è stata sperimentata su numerosi modelli come vasi sanguiferi, pelle, cornea, nervi, intestino, tendini, tratto urinario, tessuto biliare e così via [1, 2]. Tale tecnica, grazie alle sue caratteristiche minimamente invasive, ha assunto progressivamente rilevanza a livello clinico dove appare oggi come valida alternativa all'approccio chirurgico tradizionale. Attualmente sono sempre più numerose le applicazioni di saldatura laser che stanno ricevendo il consenso della comunità scientifica.

Svariati tipi di laser sono stati testati per la saldatura dei tessuti con emissioni variabili dalle lunghezze d'onda nell'infrarosso a quelle nel visibile. Le sorgenti ad infrarosso e nel vicino infrarosso includono i laser a CO<sub>2</sub>, a tulio-olmio-cromo, olmio, tulio e neodimio dopati con terre rare (THC:YAG, Ho:YAG, Tm:YAG e Nd:YAG, rispettivamente) e a diodi di gallio-alluminio-arsenico (GaAlAs). Le sorgenti visibili includono i laser a potassio-titanil fosfato (KTP), a Nd:YAG raddoppiato in frequenza e ad argon. Il processo di saldatura si basa sull'assorbimento dell'energia laser da parte dell'acqua nell'infrarosso e dall'emoglobina e dalla melanina nel visibile, con conseguente produzione di calore all'interno del tessuto. All'aumentare della temperatura, la matrice extracellulare del tessuto subisce modificazioni strutturali a livello macromolecolare che sono alla base del meccanismo di chiusura del taglio (Fig. 1).



**Fig. 1** - Immagini ottenute con un microscopio a trasmissione elettronica (TEM) che descrivono l'arrangiamento fibrillare osservato in uno stroma corneale di controllo (sinistra) e in uno sottoposto a saldatura con laser a diodo (destra). L'aumento della temperatura indotto dall'irraggiamento laser permette alle fibrille dei due lati del taglio di rimescolarsi, dando luogo alla saldatura del tessuto ( $\times 13500$ ) ([2]).

I vantaggi prospettati dalla tecnica laser in confronto alle tradizionali tecniche chirurgiche vanno dalla riduzione dei tempi operatori, alla minore abilità chirurgica richiesta, alla diminuzione della reazione al corpo estraneo che si traduce a sua volta in una risposta infiammatoria contenuta, in una guarigione più veloce, in una maggiore abilità di indurre rigenerazione tissutale e dunque in un risultato estetico migliore. La saldatura laser consente anche di ottenere chiusure ermetiche del tessuto rendendo possibile realizzare anastomosi a sigillatura immediata, particolarmente importanti nel caso della riparazione del tratto vascolare, urinario e gastrointestinale e può essere condotta per via

endoscopica nei casi in cui suture e punti non possano venir impiegati.

Tuttavia, nonostante il vasto numero di studi sperimentali di *laser tissue welding* riportati in letteratura, solo pochi di questi hanno raggiunto la fase clinica. Questo è principalmente da attribuire alla mancanza di una chiara evidenza dei vantaggi della tecnica rispetto alle metodiche tradizionali, e dalla bassa riproducibilità dei risultati. Il danno indotto ai tessuti dal riscaldamento laser diretto, la diffusione del calore e la bassa resistenza meccanica delle anastomosi ottenibili rappresentano i problemi principali per future applicazioni cliniche. Infatti, dal momento che sia l'acqua che l'emoglobina che la melanina sono i principali assorbitori della luce laser all'interno del tessuto, risulta difficile poter confinare il riscaldamento alla sola area da saldare ma, viceversa, tutto il tessuto irradiato viene sottoposto ad effetto fototermico [3]. Un progresso significativo nella soluzione dei problemi associati alla saldatura laser è la proposta di impiegare dei cromofori specifici per la lunghezza d'onda utilizzata e/o dei materiali endogeni o esogeni con funzione di adesivi applicati topicamente al taglio. Il set-up che ha fornito i risultati più interessanti è quello di usare un laser con emissione nel vicino infrarosso – assorbito solo in minima parte dai tessuti biologici – in associazione con un colorante, incorporato o meno in una matrice di adesivo biologico, con spettro di assorbimento coincidente con l'emissione laser. Laser a diodi che emettono intorno ad 800 nm e il cromoforo Indocianina Verde (ICG) sono stati impiegati nella saldatura laser della cornea, nella saldatura di tessuto vascolare, nella saldatura della pelle e nel trapianto della mucosa laringotracheale [4-7]. Lo sviluppo di sistemi di controllo della diffusione dinamica della temperatura indotta a livello della zona saldata ha rappresentato un ulteriore passo in avanti nell'ottimizzazione della tecnica [8].

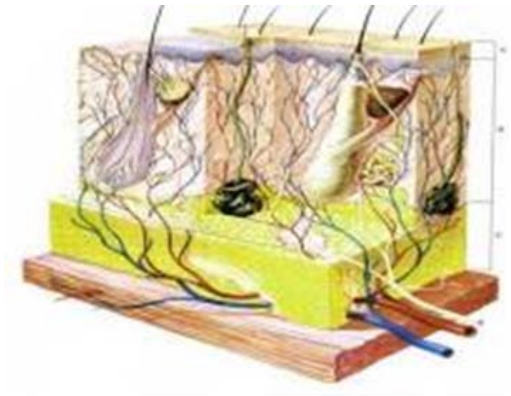
La saldatura laser è stata sperimentata su diversi tipi di tessuto con risultati spesso alterni. I maggiori passi in avanti verso l'accettazione clinica sono stati fatti in campo oftalmologico e nella chirurgia microvascolare sebbene esistano numerose aspettative in numerosi altri settori come la dermatologia, l'urologia, la ginecologia e la neurochirurgia.

## 2 - Saldatura laser della pelle

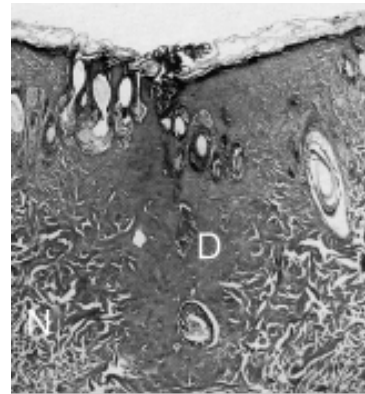
La saldatura laser è stata oggetto di studio da parte di molti ricercatori come metodo alternativo per la chiusura di lembi cutanei tramite l'impiego di varie sorgenti laser come quella a CO<sub>2</sub>, a Nd:YAG, a diodo e ad argon [9]. La prospettiva più promettente dell'applicazione della radiazione laser per la sigillatura della cute è il raggiungimento di un risultato estetico superiore a quello ottenibile tramite le tradizionali tecniche di sutura.

Altri vantaggi sono una minore risposta infiammatoria, un'apposizione ottimale del tessuto, una ri-epitelizzazione precoce e l'ottenimento di chiusure ermetiche alle infezioni batteriche [9]. Al momento attuale la principale difficoltà legata all'applicazione di questa tecnica è rappresentata dalla capacità di ottenere saldature a tutto spessore limitando al contempo la denaturazione termica alla sola zona saldata senza danneggiare l'epidermide e il derma papillare (Fig. 2). Infatti, se da una parte è necessario raggiungere una denaturazione spinta del tessuto per ottenere saldature resistenti all'azione meccanica, un eccessivo danno termico può risultare in una elevata tenuta iniziale, che tende successivamente a diminuire a causa del distacco del tessuto necrotico durante il periodo di rimodellamento della ferita, con formazione di cicatrici e riapertura improvvisa del taglio [10].

L'impiego di **cromofori organici** specifici per la lunghezza d'onda utilizzata ha rappresentato un progresso significativo nella soluzione di questi problemi. La loro applicazione topica permette infatti di minimizzare il danno termico collaterale tramite l'assorbimento differenziale tra la regione marcata col cromoforo e il tessuto circostante [10, 11]. In pratica si riesce a realizzare un assorbimento selettivo della radiazione laser, senza la necessità di focalizzare in maniera precisa il raggio incidente. Inoltre ne deriva la possibilità di impiegare irraggiamenti di potenza decisamente più modesta grazie all'amplificato assorbimento da parte dei tessuti marcati. Le più popolari combinazioni laser-cromoforo includono Indocianina Verde (ICG) in associazione con un laser a diodo e India ink usato insieme ad un laser a Nd:YAG. Nel 2000, è stato impiegato India ink come cromoforo assorbitore per creare saldature con tenuta meccanica superiore alle chiusure cutanee operate con la chirurgia tradizionale [10]. Un risultato altrettanto valido si è ottenuto impiegando una soluzione acquosa di ICG in associazione con un laser a diodo con emissione a 780 nm [11] (Fig. 3). I coloranti impiegati come cromofori selettivi possiedono un elevato coefficiente di assorbimento, sono biocompatibili e vengono riassorbiti in pochi giorni dall'organismo.



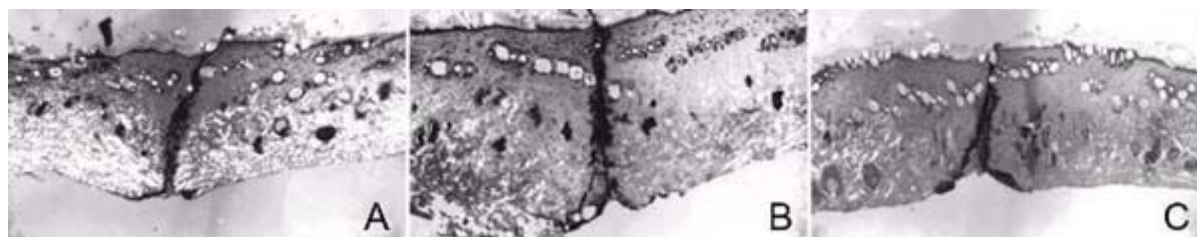
**Fig. 2** - Schema della cute rappresentativo delle principali formazioni della cute e degli annessi cutanei. Si distinguono tre strati principali: l'epidermide (A), il derma (B) e l'ipoderma (C). Modificazioni strutturali indotte dalla radiazione laser e responsabili della saldatura avvengono a livello del derma (tessuto connettivale denso a fasci intrecciati costituito prevalentemente da collagene fibrillare e proteoglicani).



**Fig. 3** - Immagine al microscopio ottico che raffigura un'area di pelle di maiale saldata con laser a diodo (H&E). È stata impiegata una soluzione acquosa di 0,3 mg/mL ICG e una potenza laser di 4 W/cm<sup>2</sup> con impulsi di 250- $\mu$ sec e 8 Hz. N = collagene nativo; D = collagene denaturato. La zona che ha subito danno termico è confinata al margine dell'incisione ([11]).

L'impiego di adesivi biologici è un espediente per migliorare la forza delle riparazioni cutanee [12, 13]. La saldatura laser tramite l'applicazione di adesivi (o “*solders*”, per questo si parla di “*laser soldering*”), prevede l'uso di materiali esogeni (come ad esempio preparati proteici) applicati topicamente al taglio che vengono attivati in seguito a irraggiamento laser. Questi agenti esogeni forniscono una larga area superficiale a livello della quale può avvenire la fusione col tessuto, favorendo l'approssimazione dei margini del taglio che vengono mantenuti uniti fin nel primo periodo post-operatorio. Materiali utili per la saldatura includono sangue, plasma, fibrinogeno e albumina, che rappresenta una delle sostanze maggiormente impiegate per la saldatura. Diversi studi hanno dimostrato che l'aggiunta di un adesivo a base di albumina per rinforzare le suture laser- assistite, migliora significativamente i risultati post-operatori [13]. Inoltre, l'incorporazione all'interno dell'adesivo proteico di un cromoforo assorbitore della luce laser rende possibile confinare il riscaldamento all'area di applicazione dell'adesivo, riducendo il danno termico collaterale al tessuto circostante [14]. L'impiego di albumina dopata con ICG è diventata una scelta progressivamente popolare nell'ultimo decennio: il laser viene impiegato per denaturare l'adesivo proteico applicato al taglio, creando un legame all'interfaccia tra il tessuto e l'adesivo stesso. Tuttavia sono emersi alcuni problemi associati alla tecnica di *laser soldering*: gli adesivi, inizialmente malleabili, diventano velocemente poco flessibili sotto irraggiamento, inoltre sono spesso troppo solubili in condizioni fisiologiche e non permettono una distribuzione omogenea del calore al loro interno. Recenti progressi nella tecnica sono stati raggiunti tramite l'impiego di *solders* semi-solidi costituiti da idrossipropilmetilcellulosa o PLGA dopati con albumina. Questi materiali possiedono caratteristiche di malleabilità migliori oltre ad essere più resistenti all'azione del laser e all'ambiente biologico [12]. È stato anche proposto l'impiego di *solders* con gradienti di concentrazione di cromoforo per ottenere effetti di riscaldamento più omogenei attraverso tutto il tessuto [15]. Il gradiente di concentrazione viene ottenuto comprimendo tra loro strisce molto fini di adesivo proteico a diversa densità di cromoforo o creando un bistrato con la sola parte inferiore contenente il cromoforo.

Altri studi hanno focalizzato la loro attenzione nel migliorare la tecnica di saldatura laser mediante un preciso controllo dei **parametri di irraggiamento**. Una radiazione pulsata con periodi sufficientemente lunghi di raffreddamento tra gli impulsi ha permesso di ottenere saldature resistenti all'azione meccanica limitando al contempo il danno termico alla zona circostante al taglio [16] (Fig. 4). È stato inoltre dimostrato che un maggior diametro dello spot laser permette di minimizzare la denaturazione termica laterale per diffusione del calore e di ottenere saldature a tutto spessore [17].



**Fig. 4** - Immagini di birifrangenza di saldatura laser di cute di topo con laser a Nd:YAG. A) 300 J, 8 s tra gli impulsi. B) 300 J, 4 s tra gli impulsi. C) 150 J, 1,6 s tra gli impulsi. (A) evidenza molto meno danno termico di (B) e (C) che risultano comparabili tra loro ([16]).

Infine, una proposta molto recente è stato quella di impiegare **nanoparticelle** d'oro da usare come assorbitori esogeni, che ha permesso l'applicazione di sorgenti di luce minimamente assorbite dalle componenti tissutali, minimizzando quindi il danno ai tessuti circostanti [18].

In precedenza, la capacità della tecnica di saldatura laser-assistita di accelerare e migliorare il processo di guarigione della pelle è stato dimostrato in maniera inequivocabile [19]. Sebbene al momento attuale nessuna sperimentazione di saldatura laser della pelle sia stata ancora avviata sull'uomo, i numerosi studi sperimentali su modello animale pubblicati negli ultimi anni rappresentano una preziosa base di partenza per lo sviluppo in ambito clinico della tecnica.

## Bibliografia

1. McNally K.M., "Laser tissue welding" Chap. 39, in: T. Vo-Dihn (Eds.), Biomedical Photonics Handbook, CRC Press, Boca Raton, 2003, pp. 1-45.
2. Pini R., Rossi F., Matteini P., Ratto F., Laser tissue welding in minimally invasive surgery and microsurgery, in: L. Pavesi, P. M. Fauchet (Eds.), Biophotonics Series: Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering, 2008, (in press).
3. Kopchok G.E., White R.A., White G.H., Fujitani R., Vlasak J., Dykhovskiy L., Grundfest W.S., CO2 and argon laser vascular welding: acute histologic and thermodynamic comparison, *Lasers Surg Med* 8 (1988) 584-588.
4. Rossi F., Pini R., Menabuoni L., Mencucci R., Menchini U., Ambrosini S., Vannelli G., Experimental study on the healing process following laser welding of the cornea, *JBiomed Opt* 10 (2005) 024004.
5. Puca A., Albanese A., Esposito G., Maira G., Tirpakova B., Rossi G., Mannocci A., Pini R., Diode laser-assisted carotid bypass surgery: an experimental study with morphological and immunohistochemical evaluations, *Neurosurgery* 59 (2006) 1286-1294.
6. Chiarugi C., Martini L., Borgognoni L., Reali U.M., Gori F., Pini R., Toncelli F., Technical improvements in diode-laser-assisted skin welding, *Proc SPIE* 2623 (1996) 407-411.
7. Wang Z., Pankratov M.M., Gleich L.L., Rebeiz E.E., S.M. S., New technique for laryngotracheal mucosa transplantation. 'Stamp' welding using indocyanine green dye and albumin interaction with diode laser, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 121 (1995) 773-777.
8. Rossi F., Pini R., Menabuoni L., Experimental and model analysis on the temperature dynamics during diode laser welding of the cornea, *J Biomed Opt* 12 (2007) 014031.
9. Abergel R.P., Lyons R., Dwyer R., White R.R., Uitto J., Use of laser for closure of cutaneous wounds: experience with Nd:YAG, argon, and CO2 lasers, *J Dermatol Surg Oncol* 12 (1986) 1181-1185.
10. Fried N.M., Walsh J.T.J., Laser skin welding: in vivo tensile strength and wound healing results, *Lasers Surg Med* 27 (2000) 55-65.
11. DeCoste S.D., Farinelli W., Flotte T., Anderson R.R., Dye-enhanced laser welding for skin closure, *Lasers Surg Med* 12 (1992) 25-32.
12. Sorg B.S., Welch A.J., Tissue welding with biodegradable polymer films-demonstration of acute strength reinforcement in vivo, *Lasers Surg Med* 31 (2002) 339-342.
13. Simhon D., Brosh T., Halpern M., Ravid A., Vasilyev T., Kariv N., Katzir A., Nevo Z., Closure of skin incisions in rabbits by laser soldering: wound healing pattern, *Lasers Surg Med* 35 (2004) 1-11.
14. Kirsch A.J., Duckett J.W., Snyder H.M., Canning D.A., Harshaw D.W., Howard P., Macarak E.J., Zderic S.A., Skin flap closure by dermal laser soldering: a wound healing model for sutureless hypospadias repair, *Urology* 50 (1997) 263-272.

15. Lauto A., Kerman I., Ohebshalon M., Felsen D., Poppas D.P., Two-layer film as a laser soldering biomaterial, *Lasers Surg Med* 25 (1999) 250-256.
16. Fried N.M., Walsh J.T.J., Dye-assisted laser skin closure with pulsed radiation: an in vitro study of weld strength and thermal damage, *JBiomed Opt* 3 (1998) 401-408.
17. Fried N.M., Hung V.C., Walsh J.T.J., Laser spot size and beam profile studies for tissue welding applications, *IEEE J Select Top Quant Electron* 5 (1999) 1004-1012.
18. Gobin A.M., O'Neal D.P., Watkins D.M., Halas N.J., Drezek R.A., West J.L., Near infrared laser-tissue welding using nanoshells as an exogenous absorber, *Lasers Surg Med* 37 (2005) 123-129.
19. Capon A., Mordon S., Can thermal lasers promote skin wound healing?, *Am J Clin Dermatol* 4 (2003) 1-12.