Applications potentielles des lasers à excimères en neurochirurgie

S. Avrillier, D. Etti, G. Allegre*, F. Hor** et M. Desgeorges**

Laboratoire de Physique des Lasers, Université Paris XIII, 93430 Villetaneuse, France

**EPHE et Laboratoire de Psychopharmacologie, Neurophysiologie Service 11, Hôpital Paul Guiraud, 94800 Villejuif, France*

***Service de Neurochirurgie, Hôpital du Val de Grâce, 75005 Paris, France*

Abstract: XeCl excimer lasers could be potentially very relevant in the field of neurosurgery since they can be used for resection and for diagnostic. In this paper we describe the first *in vivo* demonstration that small, well defined cuts can be obtained in the brain with a stereotactically implanted optical fibre. We also relate a preliminary *in vitro* study which shows that 308 nm laser-induced autofluorescence spectra of normal and malignant human brain tissues are different enough for diagnosis. Finally, we give very recent *in vivo* results concerning evoked responses produced by the XeCl excitation of a bundle of central nervous fibres in the rat. These two last diagnostic methods could be used during stereotactical laser resection procedures to localise the distal tip of the optical fiber and to determine the pathological state of the irradiated tissue.

1. INTRODUCTION

La première opération neurochirurgicale, utilisant le laser à rubis, a été réalisée en 1962 [1]. Depuis, d'autres lasers, essentiellement les lasers à CO₂ et les lasers Nd:YAG, ont été expérimentés. Le laser à CO₂ permet de vaporiser et de couper des petits volumes de tissu cérébral; mais son utilisation est limitée par l'absence de fibres optiques conduisant l'infrarouge lointain ainsi que par sa faible capacité à coaguler les vaisseaux sanguins [2]. Le laser Nd:YAG est efficace pour l'hémostase mais produit des nécroses de coagulation sur les tissus environnants [3].

Le laser à excimères XeCl ayant déjà démontré dans plusieurs domaines de la médecine (angioplastie coronaire, ophtalmologie, dentisterie [4,5]) une excellente aptitude à découper de façon précise des petits volumes de tissu sans aucun dommage thermique sur les tissus voisins, il est naturel de penser que son application en neurochirurgie pourrait se révéler intéressante. Ceci est d'autant plus vrai que la longueur d'onde UV de ce laser, $\lambda=308\text{nm}$, est encore transmise de façon raisonnable dans des fibres optiques en silice. En effet, les neurochirurgiens disposent

actuellement d'une méthode de reconnaissance et de repérage à trois dimensions des structures cérébrales, fondée sur le traitement informatique des scans RMN. Cette méthode leur permet, grâce à la technique dite de "stéréotaxie", d'atteindre, avec une sonde creuse et très fine, n'importe quelle partie du cerveau à partir d'un orifice de dimensions réduites pratiqué dans l'os du crâne. Le trajet en ligne droite est calculé de façon à éviter les vaisseaux sanguins. Cette opération, complètement indolore pour le patient qui n'est d'ailleurs pas endormi, est actuellement surtout utilisée pour faire des biopsies de régions suspectes, mais il est tout à fait possible d'introduire une fibre optique dans la sonde de stéréotaxie et d'acheminer ainsi la lumière du laser jusqu'au tissu situé à son extrémité.

Des essais préliminaires, *in vitro*, de photoablation UV à 308 nm en bout de fibre de tissus cérébraux frais ont démontré qu'il était possible d'obtenir une destruction propre, sans effet thermique ni fumée, d'une région petite et bien délimitée. Au regard de ces résultats encourageants, une collaboration a été mise en place entre notre équipe et plusieurs équipes de neurochirurgiens dont le but final est:

- d'une part de mettre au point une méthode thérapeutique qui, associant le laser à excimères et sa fibre UV à la technique de stéréotaxie, permettrait de détruire de petites tumeurs ou structures cérébrales sans ouvrir le crâne du malade;
- d'autre part d'étudier la possibilité d'utiliser la lumière de ce même laser XeCl, à des énergies inférieures au seuil de photoablation, pour déterminer la nature du tissu irradié et/ou son état fonctionnel.

2. ASPECT THERAPEUTIQUE

2.1.Méthode expérimentale

Une expérimentation animale *in vivo* sur le rat [6] a été réalisée pour déterminer les paramètres optimaux de la méthode de photoablation UV par stéréotaxie (énergie par impulsion, cadence de tir, surface active et géométrie de la sonde). Le laser utilisé est un laser XeCl (SEL 520 Sopra) couplé à une fibre de silice de 600 μ m de diamètre de coeur (Ensign Bickford HCSW 600). La fibre est dénudée de son revêtement extérieur sur les quinze derniers millimètres pour réduire le diamètre de la partie introduite dans le cerveau. La face distale de la fibre est clivée et contrôlée au microscope avant chaque procédure. La fibre est positionnée dans le tissu cérébral par une méthode de stéréotaxie bien répertoriée chez le rat (cadre de Horsley Clarke modifié par Aleonard, anesthésie générale par 1cc de chloral/100g de poids). Un tir laser d'une seule impulsion de 10mJ, correspondant à 3,55 J/cm², avec une durée de 100ns, est effectué dans le noyau rouge (matière grise), puis dans la capsule interne (matière blanche). La fibre est ensuite retirée, l'orifice de 2mm de diamètre pratiqué dans l'os est refermé à l'aide d'une colle appropriée et la peau est suturée. Des contrôles par RMN ou par coupes histologiques sont pratiqués 1, 2, 4, 8, 16, 32 jours et 7 mois après l'opération.

2.2 Résultats

14 rats Wistar adultes ont été utilisés, ils ont tous présenté un comportement parfaitement normal après la procédure. Au stade initial (24h) la lésion apparaît comme une petite destruction du tissu entourée d'une petite hémorragie. L'hémosidérine est englobée dans des macrophages au bout de 5 jours. Deux semaines après l'opération, la perte centrale de tissu se présente comme une fente d'un

Fig 1: Suivi de l'évolution de la lésion par imagerie RMN.

Fig 2: Comparaison entre les contrôles histologique (à gauche) et RMN (à droite) un mois après l'opération.

millimètre entourée de macrophages contenant des lipides ou de l'hémوسidéline, de quelques cellules gliales ou astrogliales, de fibroblastes et de cellules lymphoïdes; il n'y a pas de prolifération capillaire notable. Un mois après la procédure, l'histologie est la même: la lésion n'excède pas 2 à 2,2mm de large mais une démyélinisation périphérique est notée. De l'oedème est présent sur le site de la destruction. 7mois plus tard la lésion est petite, bien délimitée avec très peu de cellules inflammatoires. Il y a peu de différence entre les résultats obtenus dans la matière blanche et la matière grise: dans les deux cas, la lésion apparaît plus comme une perte de tissu que comme une nécrose de coagulation. Les résultats histologiques correspondent bien aux résultats RMN.

2.3 Discussion

Comparées aux lésions obtenues avec d'autres lasers, dits "thermiques" les lésions obtenues par photoablation UV dans la matière cérébrale sont beaucoup mieux délimitées, les dommages thermiques sont quasiment inexistantes. Bien que la photoablation UV soit ici pratiquée pour la première fois, *in vivo*, dans le volume du tissu et non pas en surface, l'onde de choc éventuellement produite par la photoablation ne résulte pas en un dommage permanent et significatif de structures environnantes. Ceci est probablement dû au fait que la matière cérébrale est molle et amortit cette onde très rapidement.

Une petite hémorragie a été notée dans les contrôles histologiques des premiers jours suivant la procédure confirmant ainsi l'inaptitude du laser XeCl à l'hémostase. Il faudra donc limiter l'utilisation de ce laser à des régions peu vascularisées ou lui associer un autre laser "thermique", par exemple le laser à argon, qui à faible énergie (inférieure à celles qui produisent une vaporisation des tissus) peut présenter d'excellentes qualités hémostatiques.

En conclusion, le laser XeCl et sa fibre UV, se sont révélés comme un outil précieux pour pratiquer de ablations précises de petits volumes cérébraux soit par voie directe, soit par voie stéréotaxique (sans ouverture du crâne) avec un dommage minimal sur les structures environnantes.

3.ASPECT DIAGNOSTIQUE

La spectroscopie d'autofluorescence des tissus biologiques, induite par laser, est une méthode diagnostique de plus en plus explorée en médecine. Bien que les spectres obtenus sans coloration préalable soient souvent formés de structures larges et peu contrastées, des critères tels que l'intensité absolue des maxima et des minima ou le rapport des intensités à des fréquences judicieusement choisies permettent de reconnaître la pathologie des tissus [7]. Encore une fois les fibres optiques permettent de travailler *in situ* et d'emprunter le canal de stéréotaxie. En particulier, il paraît très intéressant de pouvoir utiliser la fluorescence induite par une impulsion à très faible énergie du laser à excimères thérapeutique pour savoir avant de déclencher la photoablation U.V. si le tissu situé à l'extrémité de la fibre est effectivement un tissu à détruire. La précision actuelle de repérage en stéréotaxie est en effet de l'ordre du millimètre et peut paraître insuffisante dans certains cas

3.1.Méthode expérimentale

Un appareil de spectroscopie par fluorescence induite en bout de fibre par le laser XeCl, utilisant un détecteur optique multicanaux et un cathéter multifibre a été mis au point dans notre laboratoire [8]. Il permet d'enregistrer un spectre de fluorescence avec un seul tir excitateur de quelques μJ . Il a été utilisé *in vitro* pour étudier des tissus humains cérébraux pathologiques ou sains prélevés moins de deux heures auparavant au cours d'une intervention chirurgicale. Des spécimens ont été obtenus à partir de 4 patients opérés d'un glioblastome grade IV.

Fig 3: Spectrofluorimètre à cathéter multifibre mis au point au Laboratoire de Physique des Lasers. Pour plus de détails se reporter à la référence 8.

3.2 Résultats

Les spectres enregistrés montrent deux maxima principaux. Le premier, situé aux environs de 365nm est un maximum artificiel dû à la coupure du filtre passe-haut placé devant le spectromètre et destiné à éliminer la lumière de l'impulsion excitatrice (308nm, 40ns de durée, $2\mu\text{J}$ d'énergie totale). Dans cette région spectrale ce sont principalement le tryptophane, le collagène et l'élastine qui fluorescent.

Le second maximum situé après 450nm correspond à la fluorescence de NADH qui reflète l'activité de la cellule. Cependant, le sang présente une forte absorption aux environs de 400nm et ceci peut avoir une influence non négligeable sur l'allure des spectres selon le degré de vascularisation du tissu.

De façon générale on constate que la partie centrale de la tumeur, qui est aussi la partie la plus ancienne et qui peut parfois être nécrosée, fluoresce beaucoup moins que la matière blanche saine. Toutefois, à la périphérie de la tumeur, où les tissus présentent une forte activité cellulaire, les spectres obtenus sont extrêmement variables: ils peuvent parfois, comme on le constate sur la figure 4, être beaucoup plus intenses que pour les régions saines. D'autres fois, la forte vascularisation de certaines régions de cette périphérie peut entraîner une atténuation et une déformation des spectres due à l'absorption par le sang.

Fig 4: Spectres de fluorescence enregistrés avec le fluorimètre de la figure 3 sur des tissus sains ou pathologiques. Les courbes correspondent à un seul pulse excitateur de $4\mu\text{J}$ à 308nm .

3.3 Discussion

Ces résultats préliminaires, enregistrés *in vitro*, montrent sans ambiguïté qu'il est possible de distinguer par cette méthode les tissus sains des tissus pathologiques. Cependant, les rôles extrêmement importants joués d'une part par le sang et d'autre part par l'activité des cellules cancéreuses, nous ont incités à tendre le plus rapidement possible vers une étude *in vivo*. Dans un premier temps, nous travaillerons à crâne ouvert, de façon à pouvoir corrélérer nos résultats à l'état pathologique réel des tissus contrôlés histologiquement. Nous espérons ainsi développer une méthode diagnostique applicable par voie stéréotaxique qui soit plus rapide et mieux adaptée au traitement ablatif par laser que la méthode biopsie + analyse histologique.

4. ASPECT STIMULATION ET REPERAGE

Pendant les expériences de photoablation UV *in vivo* sur le rat, nous avons constaté que des impulsions laser appliquées sur des tissus cérébraux profonds pouvaient induire des mouvements de l'animal endormi. Ceci est le signe que des faisceaux nerveux proximaux ou des noyaux cellulaires étaient stimulés et provoquaient des ordres moteurs. Une série d'expériences a été effectuée de façon à déterminer d'une part l'énergie nécessaire pour obtenir une stimulation et d'autre part le type de tissu nerveux pouvant être stimulés [9].

4.1. Méthode expérimentale

17 rats ont été utilisés pour ces expériences. Les animaux sont anesthésiés (kétamine intrapéritonéale 150 mg/kg), curarisés (pavulon 6 mg/kg) et mis sous assistance respiratoire. Les stimulations sont provoquées par des impulsions UV (XeCl, $\lambda=308$ nm, $\Delta t=40$ ns) en bout de fibre de 400 μm de coeur et, pour comparaison, par des impulsions électriques ($I=20$ à 100 μA , $\Delta t=100$ à 500 μs) délivrées à l'extrémité d'une électrode métallique placée ultérieurement au même point. Les enregistrements se font à l'aide d'électrodes métalliques bipolaires introduites dans le noyau ventral postérieur droit du thalamus (relais des influx sensoriels).

Les sites de stimulation utilisés sont de deux types:

- dans une première série d'expériences la stimulation est appliquée (par méthode stéréotaxique) dans le plan mésencéphalique au niveau du noyau rouge;
- dans une seconde série, la stimulation est appliquée dans le faisceau cunéatus de la moelle épinière au niveau de la troisième vertèbre cervicale.

4.2 Résultats

Les résultats sont montrés sur la figure 5. Les réponses obtenues par stimulation UV (en haut) ou stimulation électriques (en bas) sont dans les deux cas très similaires.

Fig 5: Comparaison des réponses enregistrées dans le noyau ventral postérieur droit du thalamus pour une stimulation par un pulse UV (en haut) et une stimulation électrique (en bas). A droite la stimulation est effectuée dans le mésencéphale (sous le noyau rouge), à gauche elle est effectuée à une distance plus grande, dans le faisceau cunéatus gauche de la moelle épinière. On notera la différence des échelles de temps.

La stimulation par des impulsions UV est un phénomène présentant un seuil en dessous duquel aucune réponse n'est obtenue. Nous avons pu mesurer très précisément ce seuil qui est de $0.92 \pm 0.03 \text{ J/cm}^2$. Cette valeur est très légèrement inférieure au seuil de photoablation de ces tissus à 308 nm ($\approx 1 \text{ J/cm}^2$). Au dessus de ce seuil une réponse est obtenue pour chaque impulsion laser (la cadence de répétition utilisée est de 1 Hz). Concernant le temps de latence, il est très légèrement supérieur ($\sim 1 \text{ ms}$ dans le cas d'une stimulation dans la moelle épinière) à celui obtenu avec une stimulation électrique.

4.3 Discussion

Cette série d'expériences montre clairement, comme cela avait été prédit par d'autres [10], qu'une impulsion UV peut stimuler des fibres nerveuses. Cependant le mécanisme de ce phénomène est loin d'être élucidé. Il pourrait s'agir d'une dépolarisation, déjà constatée à d'autres longueurs d'onde. Mais il est probable qu'un processus intermédiaire soit impliqué car le pulse laser est très court (40ns) comparé au temps nécessaire pour produire une excitation électrique ($\sim 10^{-4} \text{ s}$). L'existence de cette étape intermédiaire pourrait également expliquer le temps de latence supérieur observé avec une excitation UV. Le but ultime de cette étude est d'obtenir une localisation précise de l'extrémité de la fibre dans le cerveau à partir des potentiels évoqués par les impulsions laser.

5. CONCLUSION

Nous avons démontré que l'on pouvait obtenir par photoablation UV en bout de fibre, une destruction localisée des tissus avec peu de lésions dans les tissus environnants. Cette étude devrait aboutir dans un proche avenir à la création d'un nouvel outil de neurochirurgie à "crâne fermé" qui associé à un diagnostic par autofluorescence induite, trouvera très certainement dans un proche avenir, sa place spécifique parmi les outils thérapeutiques.

REFERENCES

- [1] Rosomov H.L., Carroll F., *Arch Neurol* (1966) 143-148.
- [2] Cozzens J.W., Cerullo L.J. *Neurosurgery* **16**, 4 (1985) 449-453.
- [3] Wharen R.E. and al, *J. Neurosurg.* **60** (1984) 531-539
- [4] Avrillier S., *Annales de Physique* **16** (1991) 21-28
- [5] Avrillier S., Tinet E., Etori D., *Annales de Physique* **17** (1992) 13-20
- [6] Allègre G., Avrillier S., Cornu P., Thiébaud J.B., Sitbon J.R. et al, "Cerebral tissue excimer laser photoablation: preliminary in vivo studies in the rat brain" *Proceeding of the SPIE* **1968** (1993) 388-392
- [7]. Pour la bibliographie sur ce sujet voir par exemple:
Andersson-Engels S. et al., *IEEE Journal of Quantum Electronics* **26** No 12, (1990) 2207-2217
- [8] Etori D., Tinet E., Hor F., Desgeorges M. et Avrillier S., "Faisceaux de fibres optiques en spectroscopie de fluorescence induite par laser" *Proceedings of OPTO94* Paris, 26-28 Avril 1994.
- [9] Allègre G., Avrillier S. and Albe-Fessard D., *Neuroscience Letters* (1994) sous presse
- [10] Pellet W. et al, *Gazette médicale de France* **1,4** (1967) 1857-1859