

## ВИКОРИСТАННЯ ЛАЗЕРІВ У МЕДИЦИНІ

О.Ю.Бандурин

Ужгородський національний університет,  
вул. Підгірна, 46, Ужгород, 88000

Розглянуто сучасний стан, методи і методики лазерної діагностики і терапії, що розвиваються і знаходяться на різних стадіях клінічного використання та ґрунтуються на термічній та нетермічній дії лазера. Серед нетермічних методів відзначено лазерно-індуковану флуоресценцію, яка дозволяє проводити ранню діагностику пухлин, здійснювати моніторинг атеросклеротичних бляшок, виявляти атеросклеротичні зміни стінок судин. Розглянуто застосування лазерної доплериметрії для визначення кровотоку в судинах, шкірних покриттях та тканинах.

Розробка сучасних лабораторних методів діагностики захворювань, що об'єктивно відображають характер патології, особливості її перебігу, є актуальним завданням сьогодення. Особливий інтерес являють методи та методики, за допомогою яких можливе не лише діагностування, а й контроль за ефективністю застосованого лікування, або здійснення власне лікування. Клініка хронічних захворювань в сучасних умовах має особливості: збільшення кількості атипових клінічних форм негативно впливає на сучасну діагностику, а відтак і на лікування хворих. У зв'язку з цим проблема вдосконалення лабораторної діагностики захворювань є одним з найважливіших заходів, спрямованих на розвиток методів, які дозволяють виявляти хворобу на початкових стадіях.

Одним з перспективних методів є метод діагностики хронічних захворювань печінки за допомогою вивчення фотолюмінесценції сироватки крові при її опроміненні УФ-світлом [1–2]. Значний інтерес являє подальший розвиток даного методу не тільки для розширення можливостей діагностики хронічних захворювань печінки, а і для визначення конкретної патології на початкових стадіях, а також для виявлення особливостей перебігу даної патології [2]. Оптичні дослідження флуоресцентних властивостей жовчі та структур, що спостерігаються при її кристалізації [3], також демонструють перспективність їх застосування.

Лазерні технології широко застосовуються в медицині як для діагностики, так і для лікування [4–6]. На початку термічна дія лазера домінувала в хірургії та гемостазі, і зараз її застосування постійно розширюється завдяки можливості комп'ютерного моделювання наслідків такої дії [7]. Протягом останнього десятиріччя отримали розвиток неруйнівні спектроскопічні методики діагностики і лікування [8].

Серед нетермічних методів використання лазерного випромінювання слід насамперед, відзначити методи, в яких діагностика пухлин на ранній стадії здійснюється при вивченні люмінесценції тканин при лазерному опроміненні. В деяких випадках є можливість після цього здійснювати фотодинамічну терапію пухлин за рахунок стимуляції фотохімічних процесів. Лазерно-індукована флуоресценція, як і раманівська спектроскопія, крім того, дають можливість здійснювати моніторинг атеросклеротичних бляшок в режимі реального часу. Інтенсивно розвивається вивчення і застосування лазерної доплериметрії для визначення кровотоку в судинах, шкірних покриттях та тканинах. В багатьох лабораторіях світу оптична маммографія посідає чільне місце серед лазерно-флуоресцентних методів. Більш інтенсивне імпульсне лазерне випромінювання використовується для генерації рентгенівських променів, за допомогою яких отримують необхідні медичні зображення.

Фотодинамічна терапія є різновидом фотохімічного лікування, де пухлино-асоційовані речовини використовуються в поєднанні з червоним світлом лазера при інтенсивності, що не призводить до гіпертермічних змін [9–11]. Прогрес у розвитку цього методу відбувається завдяки використанню нових сенсibilізаторів, таких як  $\delta$ -амінолевулінова кислота (ALA). Лазерно-індуковані спектри флуоресценції біологічних молекул мають невелику структуру, однак достатню для розділення нормальної і патологічно змінених тканин. Для цього використовують специфічні пухлино-розшукувачі речовини. Окрім пухлин, при використанні спектроскопії в ангиології можуть бути виявлені атеросклеротично змінені стінки судин.

Відбите світло може бути використане для аналізу тканин. Так, тканинний кровоток може бути вивчений методом лазерної доплерівської флуометрії [12]. На сьогоднішній день за допомогою цього методу отримують візуалізоване зображення току крові. За допомогою розділеної в часі спектроскопії можливо спостерігати транспорт фотонів у тканині. Транслюмінація з детектуванням лише вперше емітованих фотонів дозволяє збільшити зображення тканини шляхом зменшення затемнення, викликаного багатократним розсіянням світла. Багато дослідницьких робіт присвячено маммографії без використання іонізуючого випромінювання.

Іншими аспектами вивчення транспортування фотонів у тканині є оптична дозиметрія при успішній фотодинамічній терапії злоякісних пухлин та вивчення процесів оксигенації мозку. При цьому молекули тканини, опромінені лазерним світлом, можуть споживати отриману енергію шляхом або радіаційних переходів (нагрівання), або фотохімічних процесів, або емісією люмінесцентного випромінювання. Оптичне лікування хворих псоріазом або недоношених новонароджених з надлишком білірубину є добре знаними прикладами медичної фотохімії.

Фотодинамічна терапія пухлин (ФДТ) з використанням особливих речовин, що накопичуються в пухлині, є подальшим прикладом у цьому контексті. При оптичному збудженні сенсibilізованих молекул енергія може бути передана молекулам кисню в пухлині, які збудяться в агресивні синглетні стани. Релаксація синглетного кисню призводить до загибелі злоякісних клітин, де накопичені ліки. Розроблено та активно вивчається при клінічній апробації велика кількість сенсibilізованих агентів, таких як похідні гематопорфірину, фталоціаніни, хлорини та пурпури. Особливий інтерес викликає натуральна біологічна трансформація  $\delta$ -аміно-левулінової кислоти в протопорфірин IX, який дуже активний фотодинамічно та сильно флуоресцює. ALA є натуральною молекулою організму і використовується в нормальному циклі гема для його створення. ALA може бути нанесена локально у вигляді крему, вкриваючи пухлину шкіри, таку як базальноклітинна карцинома. Вбудований протопорфірин може бути виявлений як потужний сигнал у вигляді роздвоєного максимуму в червоній ділянці спектру, що спостерігається від тканини пухлини при її опроміненні УФ азотним лазером. В нормальній тканині домінує флуоресценція в синьо-зеленій ділянці спектру, яка зумовлена такими молекулами, як NADP, еластин та колаген. Найпривабливішою методикою для виявлення пухлин є моніторинг збільшення інтенсивності люмінесценції в червоній області, поділеного на зменшення інтенсивності в синьо-зеленій області. Визначення меж пухлини в такий спосіб досягається при реєстрації безрозмірної величини, такої як це відношення, на яке не впливають зміни за рахунок топографії пухлини, інтенсивності флукуації і т.д.

ФДТ досягається опроміненням тканин червоним світлом ( $\lambda=635$  нм) у випадку АЛК-ФДТ. У літературі [13, 14] також наводяться приклади використання ФДТ при локалізації пухлин у різних органах, таких як легені, сечовий міхур та кишківник.

Широко застосовують лазери і в ангіології. Серцево-судинні захворювання є, після раку, головним чинником смертності в країнах Заходу. Хірургічне лікування атеросклерозу включає в себе агресивні процедури, такі як операції на відкритому серці з коронарним шунтуванням. Нові лазерні методи лікування розробляються як можлива альтернатива традиційній хірургії. Одним з них є метод лазерної транслюмінальної ангіопластики, в якому скловолоконні катетери вводяться через периферичну артерію, наприклад, стегнову [15]. В такий спосіб можливо відрізати вражені атеросклерозом артерії від здорової судинної стінки, використовуючи лазерно-індуковану люмінесценцію. Форма спектру люмінесценції тканин містить інформацію про зміни на молекулярному рівні. Спектр змінюється, коли еластин частково замінюється колагеном в бляшці. На спектрах мінімум інтенсивності люмінесценції спостерігається при довжині хвилі  $\lambda=420$  нм, що спричинено сильним поглинанням гемоглобіном у крові. Більш слабкі максимуми поглинання розташовані поблизу 540 і 580 нм. Завдяки змінам у спектрах відбувається локалізація атеросклеротичної бляшки. Слід відзначити, що в реальному обладнанні необхідно враховувати перепоглинання світла у крові, для чого визначають відношення інтенсивностей люмінесценції на двох довжинах хвиль, де однаково поглинання у крові. Це можна вважати відносним недоліком методу. Після локалізації атеросклеротичної бляшки за допомогою високоенергетичного імпульсу випромінювання ексимерного лазера вона випалюється. В наш час кількість рестенозів судин за допомогою лазерної ангіопластики на Заході така ж, як і за допомогою балонної дилатації.

Враховуючи це, зауважимо, що перспективу подальшого розвитку мають не лише методи, в яких для збудження флуоресценції використовується випромінювання лазера. Під час розробки методики вимірювання спектрів флуоресценції сироватки крові при її опроміненні УФ-

світлом (методику досліджень, апаратну реалізацію та результати детально викладено в [1, 2]) нами отримано цілий ряд цікавих результатів, які не відображено в публікаціях. Так, поряд із дослідженнями сироватки крові, вимірювались спектри флуоресценції нативної крові. В тих випадках, коли в ролі джерела УФ-випромінювання використовувалась розрядна Zn-лампа з НВЧ-збудженням, кварцова кювета з кров'ю опромінювалася практично монохроматичним світлом з довжиною хвилі резонансної лінії атома ZnI 213,9 нм. Перед кюветою був розташований світлофільтр УФС-5 (тобто випромінювання з довжиною хвилі  $>300$  нм не потрапляло на кювету), а в спектральному діапазоні від 200 до 300 нм у спектрі випромінювання Zn відсутні інші потужні лінії, що й підтвердили дослідження спектру випромінювання лампи типу ВСБ-2, які ми проводили.

У спектрах люмінесценції нативної крові не було зареєстровано яскравих особливостей у вигляді максимумів, як у спектрах фотолюмінесценції сироватки. Проте на фоні неперервного спектру випромінювання в області довжин хвиль від 350 до 630 нм спостерігалась ціла низка мінімумів, поява яких пов'язана з перепоглинанням у крові. Окрім згаданих у [15] максимумів поглинання при  $\lambda=420$  нм (за рахунок гемоглобіну), та менш виражених при  $\lambda=540$  нм і  $\lambda=580$  нм, ми спостерігали також максимуми поглинання при  $\lambda=375\div 380$  нм та більш інтенсивні при  $\lambda=615\div 620$  нм. Природа появи цих максимумів поглинання залишається невизначеною, проте відзначимо, що їх інтенсивності також залежать від наявності патологій. Зрозуміло, що для вирішення питань про практичне застосування цієї методики для діагностики необхідні додаткові експерименти. Однак перспектива отримати нові сучасні методики діагностики та ще й без використання дорогого обладнання (наприклад, ексимерного лазера) є дуже привабливою.

Раманівська спектроскопія залишається потужним інструментом, яким

хіміки користуються при аналізі комплексних органічних молекул. Зараз техніка раманівської спектроскопії адаптована для аналізу тканин. Найбільшими труднощами при її використанні є слабкі сигнали та конкуруючі процеси люмінесценції, які зазвичай повністю накладаються на раманівський сигнал. Останній в цьому випадку можливо визначити лише завдяки його пікоподібній формі. Ефективним шляхом зменшення впливу люмінесценції є використання лазера з майже інфрачервоним випромінюванням, коли люмінесценція збуджується не дуже ефективно. ІЧ неодимовий лазер ( $\lambda=1064$  нм) в комбінації з Фур'є-спектрометром дозволяє зареєструвати раманівський спектр. У клініці більш практичним є використання діодного лазера ІЧ-діапазону в комбінації з охолодженим напівпровідниковим детектором. В такому варіанті використання раманівської спектроскопії для діагностики атеросклерозу судин використовується клінічно та продовжує розвиватися [16 - 17].

Отримання корисної для діагностики інформації про стан не окремих судин, а мікросудин тканин в невеликому шарі є більш складним завданням. В наш час серед методів, що активно використовуються (і описані в літературі) для вимірювання кровотоку тканин, найбільш відомими є, окрім розглянутої нами флуоресцентної ангіографії [18], методи ізотопної [19] та термічної [20] ангіографії, відеомікроскопії [21], реоплетизмографії та фотоплетизмографії [22] та моніторинг кровотоку лазерною доплериметрією [23]. Остання використовується більш широко, тому зупинимося на ній більш детально.

Коли фотон взаємодіє з об'єктом, що рухається (таким як клітина крові), то його частота змінюється за рахунок ефекту Доплера. Величина цієї зміни залежить від вектора швидкості клітини крові та вектора напрямку руху розсіяного фотона. Виникає питання: які величини зміщення частоти можна зареєструвати? Це фотони, що розсіялися лише “вперед”,

оскільки всі інші напрямки розсіювання є “шкідливими”, тому що вклад в доплерівське зміщення буде нульовим, якщо вектор розсіювання фотона є перпендикулярним до вектору швидкості частинки. Тому, наприклад, при дослідженні області розсіювання 0,5 мкм з використанням звичайного HeNe лазера ( $\lambda=632,8$  нм), для фотонів, розсіяних “вперед” (кут розсіювання  $\sim 5^\circ$ ), клітини крові, що рухаються зі швидкістю 0,5 мм/с, будуть приводити до доплерівського зсуву частоти від нуля до декількох сотень герц. Це замалий, але цілком реальний для вимірювань діапазон частот.

При реалізації цього методу у волоконному варіанті, окрім суто медичних труднощів, для отримання якісної інформації необхідно розв'язати цілий комплекс фізико-математичних проблем. А саме: інтегрування сигналу по всьому діапазону доплерівського зміщення частот; розрахунок розподілу по швидкостях частинок крові, що рухаються (на детектор попадають фотони, що розсіялися від частинок, які рухаються з різними швидкостями); визначення густини частинок, що розсіюють фотони; визначення впливу функції чутливості тканини, що досліджується (оптичні властивості тканин також впливають на сигнал).

Незважаючи на такі труднощі, протягом останнього десятиріччя кількість практичних застосувань цього методу неперервно збільшується [24] не тільки при вимірюваннях кровотоку шкірних покровів, але й для моніторингу кровотоку в інших тканинах: кістках, м'язах, периферичних нервах, нирках тощо [25]. Зауважимо, що кровоток реєструється в конкретній точці в певний проміжок часу. Для отримання зображення кровотоку тканини необхідно переміщувати детектор по тканині, що створює ризик інфекції та є незручним для пацієнта. Тому на сучасному етапі волоконну лазерну доплериметрію здебільшого використовують для вимірювання швидкості або відносної зміни швидкості току крові (за рахунок стимульованої зміни) в певній

точці, і меншою мірою для отримання зображення розподілу кровотоку по периферії тканини.

При реалізації неволоконної лазерної доплериметрії отримують двовимірне зображення кровотоку ткани дистанційно [26]. Лазерний промінь сканується по поверхні тканини за допомогою системи з кроковим двигуном (з комп'ютерним керуванням), на відстані від 15 до 30 см від поверхні. Зображення отримується з максимальної площі  $25 \times 25 \text{ см}^2$ . В кожній точці промінь лазера затримується на 50 мілісекунд. Протягом цього періоду відбувається реєстрація розсіяного назад світла, частота якого має доплерівське зміщення за рахунок руху клітин крові в поверхневій мікросудинній мережі. Після цього відбувається переміщення фотодетектора слідом за лазером, також за допомогою крокового двигуна. При цьому на фотокатод детектора одночасно потрапляють фотони, що розсіялися від рухомих

та нерухомих клітин. Оскільки сигнал від рухомих об'єктів змінюється в часі (на відміну від нерухомих), є можливість його виділення за рахунок частотного модулювання. Відокремлений корисний сигнал зв'язаний з середньою швидкістю руху клітин крові та їх середньою концентрацією в об'ємі. Середня глибина зондованого шару тканини становить 0,2 мм. Коли завершуються вимірювання у всіх точках досліджуваної площини (максимально 4096 точок), комп'ютерна обробка інформації видається у вигляді кольорового зображення [24].

Таким чином, розглянуті методи і методики флуоресцентно-лазерної діагностики і терапії широко розвиваються в різних напрямках і знаходять використання на різних стадіях клінічного лікування. Застосування цих методів дозволяє отримувати інформацію на молекулярному рівні і є перспективним у багатьох галузях медицини.

### Література

1. Л.Т.Сіксай, О.Ю.Бандурин, Ю.А.Бандурин, *Наукові записки Рівненського державного педінституту* **6**, 85 (1998).
2. Л.Т.Сіксай, О.Ю.Бандурин, Ю.А.Бандурин, *Наук. вісник Ужг. унів. Сер. мед.* **11**, 177 (2000).
3. М.В.Курик, Л.Т.Сіксай, О.Ю.Бандурин, *Наук. вісник Ужг. унів. Сер. мед.* **13**, 84 (2001).
4. G.Pettit, R.W.Waynant. *Lasers in Medicine* (Wiley, New York. 1998.)
5. J.A.Carruth, A.L.McKenzie. *Medical Lasers Science and Clinical Practice*.(Adam Hilger Ltd., Bristol. 1986.)
6. V.V.Tuchin, *Laser Physics* **3**, 767 (1993).
7. G.Muller, A.Roggan (Editors), *Laser-induced Interstitial Thermo-therapy* (SPIE, Bellingham,1996.)
8. S.Klinteberg, K.Svanberg, I.Wang (Editors), *Lund University Medical Laser Centre Progress Report 1993-94/95* (Lund University, Lund, 1996.)
9. S.L.Marcus, in: *Photodynamic Therapy of Human Cancer: Clinical Status, Potential and Needs*, Ed. by C. Gomer (SPIE, Bellingham, 1990), p. 1.
10. H.I.Pass, *J. National Cancer Inst.* **85**, 443 (1993).
11. S.L.Marcus, in: *Lasers in Medicine*, Ed. by G.Pettit and R.W.Waynant (Wiley, New York, 1995).
12. P.A.Oberg, *Critical Reviews in Biomedical Engineering* **18**, 125 (1990).
13. K.Svanberg, I.Wang, C.Klinberg, *Brit. J. Dermatology* **130**, 743 (1994).
14. S.Svanberg, *Physica Scripta* **T72**, 69 (1997).
15. K.Svanberg, S.Svanberg *La Recherche* **24** 686 (1993).
16. R.R.Alfano, S.Lubicz, G.C.Tang *et al.*, *Lasers Life Sci.* **4**, 23 (1991).
17. J.J.Baraga, M.S.Feld, R.P.Rava, *Appl. Spectr.* **46** 187 (1992).
18. F.Lund, *Fluorescein angiography of the skin in diagnosis, prognosis and evaluation of therapy in peripheral arterial dis-*

- eases (In: 9th Europ. Conf. Microcirculation, Antwerpen, 1976), p. 257-262.
19. M.Engelhart, B.M.Kristensen, J.J Kristensen, *Invest. Denn.* **80** 12 (1983).
  20. G.Holti, K.W.Mitchell, in: *Non-Invasive Physiological Measurements*, Ed. by P.Roife (Academic Press, London, 1979), p. 113-123.
  21. B.Fagrell, P.Fronek, M.Intaglietta, *Am. J. Physiol.* **233**, H318 (1977).
  22. A.-V.J.Challoner, in: *Non-Invasive Physiological Measurements*, Ed. by P.Roife (Academic Press, London, 1979), p. 125-151.
  23. G.E.Nilsson, T.Tenland and P.A.Oberg, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **27**, 597 (1980).
  24. G.E.Nilsson, *Physica Scripta* **T72**, 83 (1997).
  25. A.P.Shepherd, P.A.Oberg, *Laser Doppler Blood Flowmetry* (Kluwers Academic Publishers, Boston, 1990.)
  26. K.Wardell, A.Jakbobsson and G. E.Nilsson, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **40**, 309 (1993).

## APPLICATION OF LASERS IN MEDICINE

**O.Yu.Bandurin**

Uzhhorod National University  
Pidhirna St. 46, Uzhhorod, 88000

Present state, new methods and techniques of laser technology in medicine, both with regard to diagnostics and therapy are discussed. Among non-thermal methods the details of laser-induced fluorescence are considered more widely, in particular, their use in real-time monitoring of atherosclerotic plaques, diagnostics of diseased vessel wall and, subsequently, photodynamic therapy, including tumour diseases. Also, the operating principles of laser Doppler image scanning methods for visualization of the tissue blood perfusion and flowmetry are considered.