

О.Д. МАМУТА,¹ В.С. ВОЙЦЕХОВИЧ,¹ Н.М. КАЧАЛОВА,¹ Л.Ф. ГОЛОВКО,²
В.Л. ГАНУЛ,³ С.Л. ЗАЙЦЕВ,³ О.М. КРАВЧЕНКО⁴

¹ Інститут фізики НАН України
(Просп. Науки, 46, Київ 03028)

² НТУ України "Київський політехнічний інститут"
(Просп. Перемоги, 37, Київ 03056)

³ Національний інститут раку МОЗ України
(Вул. Ломоносова, 33/43, Київ 03022)

⁴ Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України
(Вул. М. Амосова, 5, Київ 03680)

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ НЕПЕРЕРВНОГО ТА ІМПУЛЬСНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ОПТИЧНІ ТА ТЕПЛОФІЗИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН

УДК 539

Створено експериментальну установку для дослідження особливостей оптичних та теплофізичних характеристик біологічних тканин під дією неперервного та імпульсного (фемтосекундного) лазерного випромінювання. Отримані результати є передумовою для створення комплексного підходу, що дасть змогу оцінити вплив та розрахувати дози лазерного опромінення при проведенні сеансів лазерної терапії, а також дозволить виявляти патології тканин та визначати їх чіткі межі вже на ранніх стадіях розвитку, що є вкрай необхідним як в діагностичних цілях, так і при необхідності хірургічного втручання.

Ключові слова: лазерна діагностика, фемтосекундний лазер, люмінесцентна діагностика, оптичні характеристики біотканин.

1. Вступ

На сьогодні широкий арсенал лазерів і лазерних систем вже впроваджено в різні галузі медичної науки та практики. Найбільше застосування лазери отримали в хірургії, урології та офтальмології, де використовується переважно руйнівний ефект високо інтенсивного опромінення при проведенні безкровних операцій. Лазери успішно застосовуються для терапевтичного опромінювання крові та діагностики захворювань внутрішніх органів. До основних фізичних ефектів, що супроводжують вплив лазерного випромінювання на біоткани-

ни, належать [1]: флуоресценція, обернене розсіяння, пряме відбивання, пропускання, поглинання, а також акустичні хвилі, абляція та теплова коагуляція. Різним біологічним тканинам притаманні певні властивості, оптичні (спектральні характеристики, коефіцієнт відбиття, глибина проникнення випромінювання), та теплофізичні (теплопровідність, температуропровідність, теплоємність). З огляду на це, відрізняється і характер впливу на них лазерного випромінювання, тому для кожного типу біотканин необхідно вибирати індивідуальні параметри та режими опромінення: довжину хвилі, потужність, а також тривалість впливу, та дозу випромінювання. В зв'язку з цим актуальність дослідження оптичних властивостей біотканин не викликає сумнівів, та, в свою

© О.Д. МАМУТА, В.С. ВОЙЦЕХОВИЧ,
Н.М. КАЧАЛОВА, Л.Ф. ГОЛОВКО, В.Л. ГАНУЛ,
С.Л. ЗАЙЦЕВ, О.М. КРАВЧЕНКО, 2014



Рис. 1. Зовнішній вигляд обладнання фемтосекундного комплексу

чергу, стимулює розробку нових лазерних засобів [2–4].

Важливо зауважити, що існуючі методи лазерної терапії засновані на інтегральних оптичних характеристиках біологічних тканин, не враховують локальні кутові розподіли проходження лазерного випромінювання крізь тканину, що суттєво обмежує точність при розрахунку доз опромінення і, як наслідок, ефективності лазерної терапії. Таким чином, метою даної роботи є дослідження впливу лазерного випромінювання різних режимів: неперервного та ультракоротких (фемтосекундних) імпульсів на біологічні тканини з метою подальшого використання у лазерній терапії та діагностиці.

2. Експериментальна частина

Експериментальні дослідження проводилися в Національному інституті раку МОЗ України на обладнанні лазерного медико-біологічного центру ТОВ «Біофізика – Україна», рис. 1.

Наведемо робочі характеристики фемтосекундного комплексу.

Технічні характеристики лазера Mira 900-F:

- джерело накачки: випромінювання лазера Verdi V-10;
- вихідна потужність: середня до 1,5 Вт, пікова до 100 кВт;
- довжина хвилі випромінювання (діапазон перебудови) від 700 до 900 нм;
- тривалість імпульсу, не більше 200 фс;
- частота слідування імпульсів 76 МГц;
- нестабільність вихідної потужності менше, ніж 3%;
- нестабільність довжини хвилі менше, ніж 2 нм;
- діаметр променя 0,8 мм;
- розходження променя 1,7 мрад;

- поляризація променя горизонтальна;
- шум не більше 2%;
- споживана потужність < 2 кВт.

Технічні характеристики генератора гармонік Model 0–050:

- довжина хвилі першої гармоніки 700–900 нм;
- поляризація горизонтальна;
- довжина хвилі другої гармоніки 350–450 нм;
- довжина хвилі третьої гармоніки 233–333 нм.

Контроль за вихідними характеристиками лазерного комплексу – потужністю та довжиною хвилі здійснювався в автоматичному режимі. Для вимірювання потужності використовували Field Master TM GS, напівпровідникові і теплові датчики якого забезпечували вимірювання в широкому спектрі довжин хвиль від 0,19 до 10,6 мкм, для неперервного випромінювання в діапазоні від 1 нВт до 5 кВт та енергії імпульсного випромінювання в діапазоні від 1 мкДж до 20 Дж [5]. Для реєстрації спектральних характеристик використовували спектрометр HR2000+, який забезпечував вимірювання в діапазоні від 200 до 1100 нм з високою роздільною здатністю 0,035 нм [6]. У діапазоні довжин хвиль 350–450 нм робоча потужність на виході становила: середня – 200 мВт, пікова – 17,5 кВт; у діапазоні – 700–900 нм робоча потужність на виході: середня – 400 мВт, пікова – 35 кВт. Для дослідження спектральних характеристик біотканин (коефіцієнтів пропускання, відбиття, спектрів флуоресценції розсіяння та пропускання), а також теплофізичних (розподіл температури по глибині біотканини та її поведінка в часі) було створено установку, блок-схему якої наведено на рис. 2.

Об'єктом досліджень були здорові та патологічні тканини шлунку та стравоходу у кількості 25 зразків в кожній групі, їх розмір дорівнював 10×10 мм. Усі наведені вище властивості біотканин аналізувалися для різних довжин хвиль лазерного випромінювання (375–450 нм, 750–900 нм) в неперервному та імпульсному (фемтосекундному) режимах. Можливості створеної установки дозволяли реєструвати індикатриси розсіяння і відбивання. Перед кожним вимірюванням зразки біотканин охолоджували до кімнатної температури 20 °С у фізіологічному розчині. Розсіяне зразками біологічних тканин випромінювання реєструвалось спектрометром 8. Вимірювання температури проводили цифровим мультиметром DT 838, який оснащений термопарою ТП-01 (хромель-алюмеле-

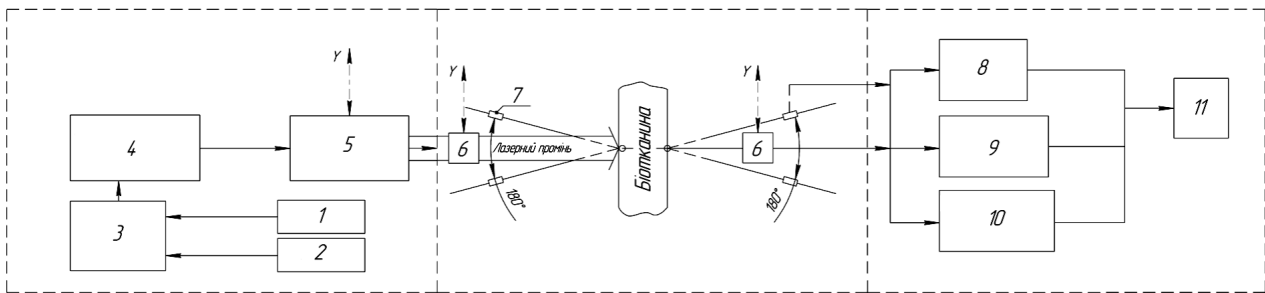


Рис. 2. Блок-схема експериментальної установки Фемтосекундний комплекс: 1 – БЖ – блок живлення; 2 – БО – блок охолодження; 3 – Verdi V-10; 4 – Mira Optima 900-F; 5 – генератор гармонік Model 0-050, Блок вимірювань; 6 – поляризатор, 7 – теплові та оптичні датчики, Блок реєстрації; 8 – спектрометр HR2000+; 9 – вимірювач потужності Field Master GS; 10 – цифровий вимірювач температури мультиметр DT 838 з термопарою ТП-01; 11 – ПК – персональний комп'ютер

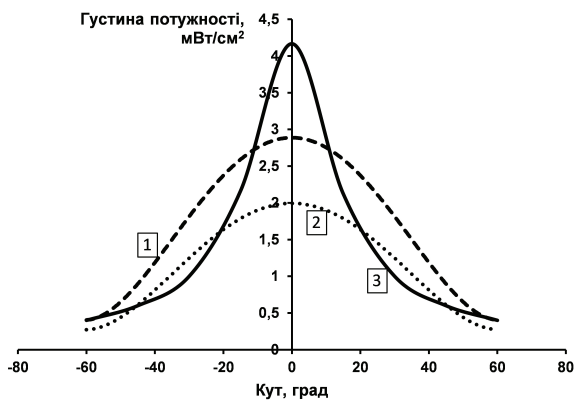


Рис. 3. Індикатриси коефіцієнтів пропускання лазерного випромінювання зразками біотканин: 1 – фемтосекундний режим, здорова біотканина, 2 – фемтосекундний режим, патологічна біотканина, 3 – неперервний режим, здорова біотканина

ва термопара (Ni-Cr vs Ni-Al), точність вимірювання 3%. Статистична обробка проводилась за допомогою програмного забезпечення EXCEL 7,0 і Statistica 5,0 [7–9], статистична помилка в досліджах була 5%. Повторність вимірювань була триразова.

3. Результати та їх обговорення

3.1. Особливості пропускання біотканинами лазерного випромінювання неперервного та імпульсного режимів

Дослідження проводили на експериментальній установці, наведеній на рис. 2. Лазерне випромінювання з такими характеристиками: $\lambda = 800$ нм, $P = 400$ мВт, проходило крізь зразки біотканин та реєструвалося у різних напрямках рухливим датчиком вимірювача потужності, який розміщував-

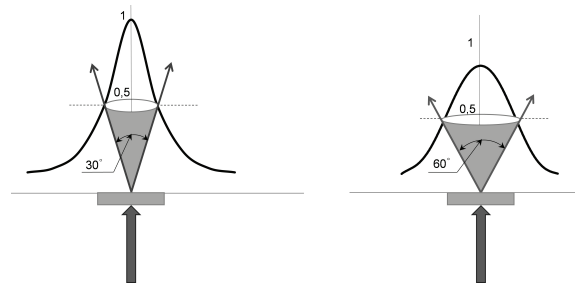


Рис. 4. Схематичне зображення пропускання зразками здорових біотканин лазерного випромінювання різних режимів: а – неперервного, б – фемтосекундного

ся на відстані 50 мм поза зразком. Це дозволило визначити кутові залежності коефіцієнта пропускання, наведені на рис. 3.

На рис. 4 схематично зображено особливості кутового розподілу пропускання лазерного випромінювання різних режимів зразком здорових біотканин. Як видно з рис. 4, якщо виділити частину пройшовшого випромінювання на рівні 0,5 від максимального значення та вище, то її можна умовно відобразити як випромінювання, що проходить в тілесний кут 30° для неперервного режиму та в кут 60° для фемтосекундного режиму. Сумарна потужність, що проходить в ці кути, становить 48 мВт для неперервного режиму та 67 мВт для фемтосекундного режиму, що відповідає 12% та 17% від потужності падаючого випромінювання.

3.2. Обернене розсіяння лазерного випромінювання різних режимів зразками біотканин

Дослідження проводили на експериментальній установці, наведеній на рис. 2. Розсіяне від зразків



Рис. 5. Індикатриси зворотного розсіяння лазерного випромінювання: 1 – фемтосекундний режим, здорова біотканина, 2 – фемтосекундний режим, патологічна біотканина, 3 – неперервний режим, здорова біотканина

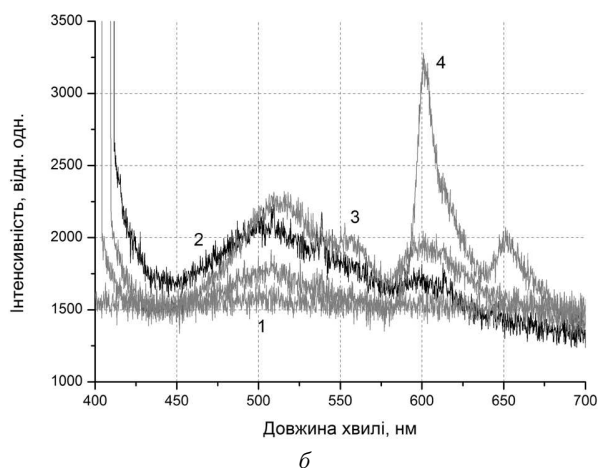
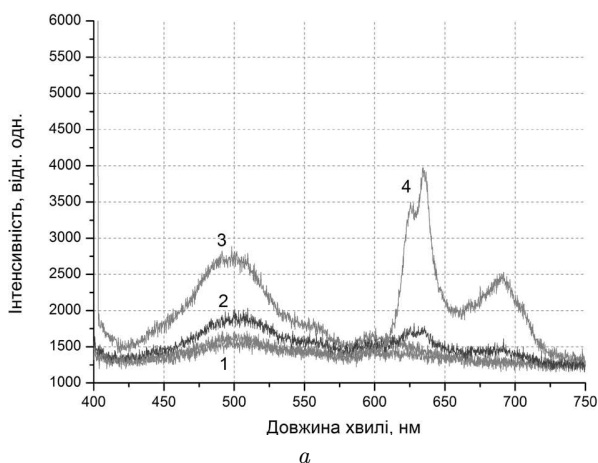


Рис. 6. Спектри флуоресценції зразків біотканин стравоходу (а) та шлунку (б), отримані при збудженні фемтосекундним випромінюванням: 1 – здорових, 2 – середини пухлини, 3 – пухлини недалеко від границі, 4 – границі пухлини

біотканин лазерне випромінювання різних режимів (неперервне та імпульсне), реєструвалося датчиком вимірювача потужності, який розміщувався на відстані 50 мм перед тканиною. На рис. 5 наведено індикатриси оберненого розсіяння для здорових та патологічних зразків біотканин.

Аналіз рис. 3, рис. 4 та 5, дає можливість зробити такі висновки стосовно особливостей пропускання та розсіяння здоровими та патологічними тканинами різних типів лазерного випромінювання, а саме:

- зразки здорових тканин поглинають менше, ніж патологічні;
- фемтосекундне випромінювання поглинається менше, ніж неперервне.

Ці висновки також підтверджуються дослідженнями температурних характеристик біотканин, наведених у п. 3.4. Необхідно відзначити, що вказані вище особливості спостерігаються для більшості видів м'яких біологічних тканин.

3.3. Дослідження спектрів флуоресценції біотканин

Спектри флуоресценції зразків здорових та патологічних біотканин стравоходу та шлунку при збудженні лазерним випромінюванням в неперервному та імпульсному (фемтосекундному) режимах були отримані на експериментальній установці, наведених на рис. 2. Сигнали флуоресценції реєструвалися на відстані 10 мм від зразків біологічних тканин при різних кутах відносно горизонтальної осі. Найбільш інформативними виявилися спектри флуоресценції зразків біотканин, що були зареєстровані в діапазоні кутів $-15^\circ + 15^\circ$. Дослідження показали, що в діапазоні довжин хвиль 760–840 нм спектри розсіяння та поглинання співпадають зі спектрами падаючого випромінювання. При опроміненні біотканин лазерним випромінюванням в діапазоні довжин хвиль 380–420 нм випромінювання поза тканиною відсутнє, а спектральний склад розсіяного випромінювання має ряд особливостей. На рис. 6 наведено спектри флуоресценції патологічних та здорових зразків тканин стравоходу та шлунку при збудженні випромінюванням $\lambda = 400$ нм.

З рис. 6 добре видно, що флуоресцентний сигнал, отриманий від зразка на границі пухлини під дією імпульсного випромінювання, має найбільшу інтенсивність порівняно з іншими спектрами. З ме-

дичної точки зору такий факт є цілком зрозумілим, оскільки саме на границі пухлини відбуваються істотні біохімічні зміни, а в центрі пухлини всі процеси вже можна вважати завершеними, в зв'язку з цим, сигнал флуоресценції від пухлини набагато слабкіший, ніж від границі. Таким чином, спектри флуоресценції, отримані при збудженні фемтосекундним випромінюванням зразків біотканин, можна вважати вагомим чинником при ідентифікації та визначенні меж патологій біологічних тканин.

3.4. Вплив імпульсного лазерного випромінювання на теплофізичні характеристики біологічних тканин

Дослідження розподілу температури вздовж зразків здорових та патологічних біотканин стравоходу проводили на експериментальній установці, наведеній на рис. 2. В ролі експонуючого випромінювання використовували лазерні імпульси фемтосекундної тривалості з такими характеристиками: $\lambda = 800$ нм, $P = 400$ мВт, час експозиції становив 1 с, 5 с та 10 с. Заміри температури зразків біотканин під дією випромінювання проводили на глибинах 1 мм, 3 мм, 6 мм та 10 мм за допомогою датчика термопари, який переміщували вздовж поперечного перерізу зразка.

Як видно з рис. 7, температура здорових тканин стравоходу при експозиції фемтосекундним випромінюванням: на 10-й секунді, на глибині 1 мм становить 37°C і плавно спадає по експоненті до глибини 8 мм; при експозиції тривалістю в 1-ну секунду – максимально поширюється в глиб тканини лише на 3 мм. Температура патологічних тканин стравоходу при експозиції імпульсним лазерним випромінюванням: на 10-й секунді досягає максимального значення 40°C на глибині 1 мм і плавно спадає по експоненті до глибини 9 мм; при експозиції тривалістю в 1-ну секунду – не поширюється глибше, ніж на 6 мм. З рис. 7 випливає, що температура патологічних зразків стравоходу за різних часів експозиції на глибині 1 мм більша, ніж у здорових приблизно на 3°C , а на глибині 6–10 мм – істотним чином не відрізняється. Отже, вже на першій секунді взаємодії лазерного випромінювання з патологічною біотканиною її температура значно підвищується. Це зумовлено біохімічними змінами в патологічній біотканині, за

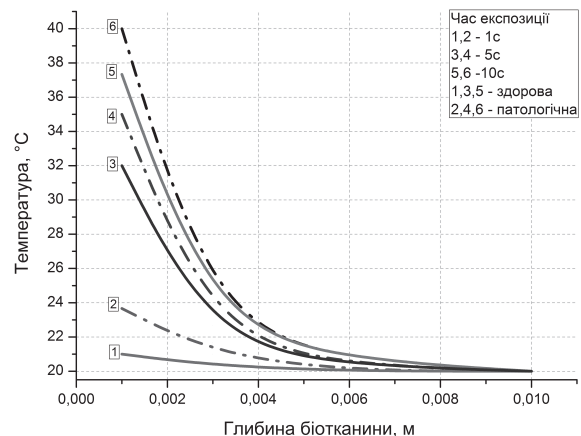


Рис. 7. Розподіл температури вздовж поперечного перерізу зразків біологічних тканин стравоходу при експозиції фемтосекундним лазерним випромінюванням: 1, 3, 5 – здорові, 2, 4, 6 – патологічні

яких спотворюються її морфологічні та гістологічні параметри, і вона стає здатною до поглинання та утримання тепла. Таким чином, для ідентифікації (здорових, або патологічних) біотканин, а також розрахунку доз лазерного опромінення при проведенні лазерної терапії оптимальним є визначення температури на глибинах від 1–3 мм.

4. Висновки

В результаті дослідження оптичних характеристик зразків біологічних тканин (шлунку та стравоходу) отримано, що:

- в спектрах флуоресценції спостерігаються відтворювані піки. Спостерігалася чітка відмінність спектрів флуоресценції патологічних та здорових біотканин за інтенсивністю (в патологічній тканині інтенсивність вища, ніж в здоровій, при цьому вона зростає при переміщенні від середини до границі пухлини до 3-х разів по відношенню до інтенсивності в здоровій тканині). При опроміненні області, що знаходиться на межі між здоровою та патологічною ділянками тканини зразка, лазерним короткохвильовим випромінюванням в діапазоні 380–400 нм у спектрі флуоресценції з'являються додаткові піки в довгохвильовій області (600–700 нм);

- потужність випромінювання розсіяного зразками здорових біотканин на 20%–30% більша порівнянно з патологічними зразками, внаслідок того, що патологічна тканина має більший коефіцієнт

ент поглинання. Це, в свою чергу, приводить до більшого нагрівання патологічної біотканини під час експозиції лазерним випромінюванням;

– існує кутова закономірність поширення неперервного та фемтосекундного лазерного випромінювання крізь біотканини, яка характерна для різних типів біотканин. А саме, пройшовши випромінювання на рівні 0,5 від максимального значення та вище можна умовно відобразити як випромінювання, що проходить в тілесний кут 30° для неперервного режиму та в кут 60° для фемтосекундного режиму.

Дослідження теплофізичних характеристик біотканин (стравоходу та шлунку) показали, що патологічні біотканини здатні в більшій мірі накопичувати тепло, внаслідок змін їх морфологічних та гістологічних параметрів. Отже, за теплофізичними властивостями можна встановити патологію біотканин. Таким чином, комплексний підхід, що ґрунтується на дослідженні: спектрів флуоресценції, потужності розсіяного випромінювання та випромінювання, що пройшло крізь біологічні тканини, дає можливість відрізнити патологічні тканини від здорових, а також визначити межі патологічних новоутворень, що є принципово важливим в разі необхідності хірургічного втручання. В свою чергу, аналіз кутового розподілу поширення лазерного випромінювання в біотканинах, дозволяє визначати величину густини потужності для різних біотканин, що є важливим в розрахунках дози лазерного опромінення при проведенні сеансів лазерної терапії.

1. Н.М. Niemz, *Laser-Tissue Interactions. Fundamentals and Applications* (Springer, Berlin, 2007).
2. В.В. Тучин, *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях* (Изд-во Саратов. Университета, Саратов, 1998).
3. А.В. Беликов, А.В. Скрипник, *Лазерные биомедицинские технологии (часть 1). Учебное пособие* (СПбГУ ИТМО, Санкт-Петербург, 2008).
4. А.В. Беликов, А.В. Скрипник, *Лазерные биомедицинские технологии (часть 2). Учебное пособие* (СПбГУ ИТМО, Санкт-Петербург, 2009).
5. *FieldMasterTM GS Power/Energy Analyzer User Manual* (COHERENT, Printed in the U.S.A., 2002).
6. *HR2000+ High-speed Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual* (Ocean Optics, Printed in the U.S.A., 2010).

7. Г.Н. Зайцев, *Математическая статистика в экспериментальной ботанике* (Наука, Москва, 1984).
8. О.Ю. Реброва, *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA* (МедиаСфера, Москва, 2003).
9. С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич, *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel* (Морион, Киев, 2001).

Одержано 26.02.14

А.Д. Мамута, В.С. Войцехович,
Н.М. Качалова, Л.Ф. Головка, В.Л. Ганул,
С.Л. Зайцев, А.Н. Кравченко

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ НЕПРЕРЫВНОГО И ИМПУЛЬСНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ОПТИЧЕСКИЕ И ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

Резюме

Создана экспериментальная установка для исследования особенностей оптических и теплофизических характеристик биологических тканей под действием непрерывного и импульсного (фемтосекундного) лазерного излучения. Полученные результаты являются предпосылкой для создания комплексного подхода, который даст возможность оценить влияние и рассчитать дозы лазерного облучения при проведении сеансов лазерной терапии, а также позволит выявлять патологии тканей и определять их четкие границы уже на ранних стадиях развития, что является крайне необходимым как в диагностических целях, так и при необходимости хирургического вмешательства.

А.Д. Мамута, В.С. Войцехович,
Н.М. Качалова, Л.Ф. Головка, В.Л. Ганул,
С.Л. Зайцев, А.Н. Кравченко

INFLUENCE OF CONTINUOUS AND PULSED LASER RADIATION ON OPTICAL AND THERMAL PROPERTIES OF BIOLOGICAL TISSUES

Summary

An experimental installation is created to research the features in the optical and thermophysical properties of biological tissues under the action of continuous and pulsed laser radiation. The results obtained form a basis for the development of a complex technique aimed at estimating the influence of laser radiation and calculating the laser radiation dose obtained in the course of a laser therapy session. The data obtained may be useful to identify the pathologies of tissues and to accurately determine their boundaries already at the early stages of their evolution, which is important for the proper diagnostics and in surgery.