

Биодозиметрия в низкоинтенсивной фототерапии. Часть I.

Г.Н.Змиевской, к.ф.-м.н., М.А.Галкин, Д.В.Костюков,

Московский государственный технический университет им. Н.Э.Баумана, Москва

Современную медицину невозможно представить без широкого применения лазерной техники, как в лечебных, так и в диагностических целях [1-4]. На сегодня можно констатировать, что в лазерной медицине созрели предпосылки перехода количества в качество. Именно проблематика охраны здоровья, носящая глобальный характер и беспрецедентно обострившаяся в России и СНГ, требует не столько насыщения медицинских учреждений новейшей техникой, сколько развития современных медико-технических технологий, дающих максимальный эффект при минимальной затрате сил и средств. Это в полной мере относится как к лечебным, так и к диагностическим применениям лазеров.

С системной точки зрения лечебное воздействие является либо деструктивным (хирургическое), либо управляющим (терапевтическое). Диагностическое воздействие можно рассматривать как информационное. Все виды воздействия призваны в итоге восстанавливать гомеостатическое состояние живой системы, возможно более близкое к норме. Само по себе понятие нормы является нетривиальным, поскольку живая система существует в постоянном взаимодействии с окружающей средой. Тем не менее, установив выделенные пространственно-временные и информационные ограничения на диапазон внешних воздействий, можно говорить об *условной* гомеостатической норме.

Определим дозу как *обобщенную количественную меру воздействия на биообъект, вызывающую отклонения от нормы*. Такое определение дозы, учитывающее в принципе любые воздействия, нуждается в конкретизации для того, чтобы его можно было рассматривать как рабочее для определенного вида взаимодействий. Применительно к лазерной медицине принято рассматривать дозу либо как энергию электромагнитного излучения оптического диапазона, падающую на единичную площадку поверхности биообъекта (поверхностная доза), либо как энергию, накопленную в единице объема биообъекта (объемная доза) [5,6]. Уже такой «разной» настораживает, поскольку количественная мера воздействия, будучи ключевым понятием, не должна иметь нескольких определений.

Рассматривая биообъект как черный ящик, на который осуществляется внешнее воздействие, необходимо выделить отклик биообъекта на это воздействие. Если нет возможности отследить и количественно охарактеризовать отклик, то нет возможности и предсказать результаты взаимодействия, даже если известны все параметры лазерного излучения. Но понятие отклика требует специального определения, учиты-

вая сложность объекта и постоянно имея в виду системный характер взаимодействия.

Будем понимать под *откликом* совокупность всех результатов, которые можно в той или иной степени связать с данным воздействием. Количественной мерой отклика является совокупность *соотносимых параметров* [5], допускающих измерение доступными средствами. Измеряя эти соотносимые параметры, можно предсказывать биологический эффект, даже не зная параметров самого биообъекта.

Тем самым основную задачу дозиметрии можно сформулировать следующим образом: построение функциональной зависимости между совокупностью параметров лазерного воздействия и соотносимыми параметрами отклика и использование этой функциональной зависимости для управления самим воздействием.

Заметим, что вторая часть поставленной задачи может быть решена только при уже известной функциональной зависимости между параметрами воздействия и соотносимыми параметрами отклика. Обычно эта зависимость в литературе именуется «доза-эффект» [5,6], но если рассматривать ее в упрощенной трактовке, не учитывающей полноту набора параметров, как воздействия, так и отклика, то неизбежны абсурдные выводы, которыми пестрит литература по практической лазерной медицине. Правильный прогноз отклика может быть сделан только в том случае, когда построение *функции воздействия-отклик* (ФВО) проведено корректно. В конкретных задачах, где результаты воздействия выражаются большим и априори не известным количеством параметров, построение ФВО включает в себя всю совокупность эвристических элементов исследовательского характера.

Роль спектра биологического действия в построении ФВО

Спектр биологического действия (СБД) – зависимость относительной эффективности наблюдаемого биологического отклика от длины волны падающего излучения [7]. Иначе говоря, СБД есть та часть спектра поглощения, которая непосредственно связана с определенным фотобиологическим эффектом (ФБЭ).

Заметим, что такая трактовка СБД сама по себе порождает принципиальные затруднения, связанные с тем, что для гигантских биомолекул однозначное определение именно того квантового перехода, который обуславливает нужную фотохимическую реакцию, весьма нетривиально.

Но даже если такое (первичное) взаимодействие и удастся описать, то до полного, т.е. связанного с проектированием конкретных ле-

чебных или диагностических устройств, описания взаимодействия излучения с биообъектом еще очень далеко, поскольку требуется проследить несколько переходов с одного системного уровня на другой. А каждый такой переход умножает трудности, встречающиеся при поиске первичного взаимодействия.

Все излучение, поглощаемое биообъектом, формирует его спектр поглощения (СП). СБД формируется *только теми молекулами, которые иницируют данный эффект*. Поэтому естественно называть молекулы, ответственные за СБД, *дифференциальными* молекулами (в отличие от *фоновых* молекул, ответственных за весь СП).

Часто СБД рассматривается как аддитивная часть СП [7]. Но такое рассмотрение можно признать корректным только в том случае, когда имеется рецепт выделения СБД из СП. Рассматривая поведение дифференциальных молекул как сигнал, а фоновых – как шум, видим, что шум может быть как аддитивным, так и мультипликативным. Если шум мультипликативен, то выделение полезной информации осложняется. Аддитивность СБД по отношению к СП можно рассматривать только в случае *линейности* взаимодействия лазерного излучения с биосредой, что имеет место в крайне редких случаях. Более того, практически вся совокупность взаимодействий электромагнитного излучения оптического диапазона с биообъектами носит, как правило, нелинейный характер, поскольку оптические характеристики биообъектов существенно образом изменяются в процессе взаимодействия. Поэтому для исследования СБД необходимы методические компромиссы, неизбежные для переходов с одного системного уровня на другой. Практическое выполнение условий этих переходов представляет большие практические затруднения [7]. Поэтому приводимые в литературе сведения об измерении СБД в большинстве своем несостоятельны с методической точки зрения [8-10].

Это связано прежде всего с длительным застоем редукционизма в молекулярной биологии [11], имевшим место в течение всей второй половины минувшего века. Еще в 1930-х годах *Паскаль Джордан*, один из основателей квантовой теории, предложил ввести понятие «квантовая биология», имея в виду ориентацию биологии на новейшие достижения в физике и химии. Но после открытия двойной спиральной структуры ДНК большинство ведущих ученых приняли парадигму «расчленения» больших систем, предполагающую, что поведение таких систем можно понять и объяснить, анализируя поведение их составных частей без поиска нового качества при переходе на более высокие системные уровни. Она-то и получила наименование редукционизма и привела к фактическому застою в биологии к концу XX века, поскольку на фоне бурного развития исследований на молекулярном и субмолекулярном уровнях интенсивность исследований на макроуровнях (тка-

невом, органном, организменном) упала ниже допустимых пределов [11].

Положение изменилось к лучшему в 90-х годах минувшего века, когда появилось новое направление в науке, получившее название «биофотоника». Эта область знаний образовалась на стыке квантовой оптики и биологии, акцентируя внимание на коллективных квантовых эффектах при взаимодействии электромагнитного излучения с биообъектами. В сущности, биофотонику можно рассматривать как логически неизбежный союз биологии и квантовой электроники, вступившей к этому времени в пору научной зрелости. Рождение биофотоники представляет собой важный шаг вперед в понимании существа биологии как системно-комплексной области знаний. Именно биология изучает объекты, которые являются достаточно сложными, чтобы соответствовать названию *живых систем*. Их существование и функционирование невозможно понять, просто расчлняя их на составные части вплоть до молекулярного уровня, как это длительное время делалось под влиянием парадигмы редукционизма. В этом отношении биофотоника предоставляет уникальную возможность для реализации системного подхода при переходе от молекулярного на более высокие системные уровни. Реализация такого системного подхода при изучении живых систем позволяет снова ввести в обращение термин «квантовая биология», имея в виду наличие *коллективных* квантовых эффектов на системных уровнях выше молекулярного (вплоть до организменного). Тем самым биофотоника и биофотонные исследования [11,12] имеют особое значение для «переоткрытия» и настоящего наполнения понятия «квантовая биология» современными достижениями физики и химии.

Дозиметрические аспекты низкоинтенсивной фототерапии

Низкоинтенсивное оптическое излучение (НОИ), в первую очередь лазерное, нашло широкое применение в медицине [2,9]. Имеется много работ по изучению механизмов действия НОИ на биологические объекты разного уровня организации — от молекулярного до организменного [2,7,8,9,11-13]. В свете необходимости исследования СБД без выяснения этих механизмов не может быть корректной постановки основной задачи дозиметрии. Однако до сих пор нет общепринятой концепции механизма действия НОИ на живые организмы. Есть несколько альтернативных точек зрения, объясняющих частные явления или эксперименты.

Употребление термина НОИ, а не НИЛИ (низкоинтенсивное *лазерное* излучение) обусловлено тем, что из основных характеристик лазерного излучения, прежде всего, имеют значение длина волны и спектральная плотность. Когерентность и поляризация лазерного излучения влияют на лечебный эффект в меньшей степени, хотя утверждать, что они вообще не имеют

значения, нет достаточных оснований.

Проблема выяснения механизмов действия НОИ на биообъекты является центральной как для медиков и биологов, так и разработчиков аппаратуры в течение вот уже почти 40 лет развития низкоинтенсивной лазерной терапии (НИЛТ). Пока она далека от разрешения, хотя сам факт резкого повышения интереса к НИЛТ в последние 10 лет говорит о положительных сдвигах в ее изучении.

В среде медиков и биологов сформировалось представление о специфичности и неспецифичности взаимодействия НОИ с живыми организмами. *Специфическим* называют взаимодействие света и БО, связанное с интенсивным молекулярным поглощением света, т.е. таким, для которого установлены «специфические» фотоакцепторы, осуществляющие первичное поглощение света и запускающие затем ряд «специфических» фотохимических реакций. Типичный пример такого взаимодействия – фотосинтез. Соответственно, *неспецифическим* взаимодействие считается тогда, когда биологический отклик велик, а поглощение света настолько мало, что однозначно установить первичный акцептор не представляется возможным. Именно этот аспект — установление первичных акцепторов при отсутствии сильного поглощения — и вызывает наиболее ожесточенные дискуссии, поскольку превращение неспецифического взаимодействия в специфическое открывает путь к практическому применению НИЛТ не на эмпирической, а на строго научной основе, так как позволяет осуществлять продвижение в решении проблемы биодозиметрии.

Спектральный диапазон, в котором работают лазерные терапевтические аппараты, соответствует «окну прозрачности» биотканей (600-1200 нм) и находится далеко от характерных полос электронного поглощения всех известных хромофоров организма (исключение — пигменты глаза, поглощающие на линиях 633 и 660 нм). Следовательно, ни о какой *значительной* (по сравнению с падающей) поглощенной энергии не может быть и речи.

Тем не менее, под действием НОИ наблюдается целый ряд клинических эффектов, которые в течение длительного времени служат основой НИЛТ. Если попытаться обобщить все эти эффекты, то можно определить неспецифическое интегральное действие на клеточном уровне следующим образом: лазерное излучение воздействует на функциональную активность клеток. При этом оно не меняет самой функции, но может усиливать ее интенсивность. Иначе говоря, под действием НОИ *изменяется скорость процессов клеточного метаболизма*. На физико-химическом языке это означает, что потенциальные барьеры ключевых биологических реакций меняют свою высоту и ширину. В частности, НОИ может сильно повлиять на мембранный потенциал. С ростом напряженности поля мембраны активационные барьеры ферментативных реакций, завязанных на мембранный транспорт, снижаются,

обеспечивая тем самым экспоненциальный рост скорости ферментативных реакций [13].

Наиболее разработанной моделью на сегодня можно считать «светокислородную» [7], в которой предполагается, что *первичным* фотоакцептором (на молекулярном уровне) является растворенный молекулярный кислород, который при поглощении кванта света переходит в синглетное состояние. Синглетный кислород играет ключевую роль практически во всех процессах клеточного метаболизма, причем для изменения характера ферментативных реакций требуется очень малое изменение концентрации $^1\text{O}_2$ (в пределах порядка). Эксперименты [13,14] показали, что скорость клеточного роста для важнейших клеточных культур (лейкоциты, лимфоциты, фибробласты, злокачественные клетки и др.) существенно изменяется в зависимости от плотности энергии (в пределах от 10 до 500 Дж/см²), режима и длины волны падающего излучения.

Переход с молекулярного уровня на клеточный осуществляется через изменение структуры водной матрицы. Тушение синглетного кислорода может происходить, как известно, либо химическим, либо физическим путем. В отсутствие фотосенсибилизаторов можно считать, что преобладает физическое тушение. При физической дезактивации возбужденных молекул $^1\text{O}_2$ на колебательные подуровни окружающих молекул передается энергия порядка 1 эВ. Этой энергии достаточно для разрыва водородных связей, создания ионных или ориентационных эффектов, т.е. локальное высвобождение такой энергии приводит к сильному возмущению структуры ближнего окружения растворенной молекулы $^1\text{O}_2$. В термодинамически устойчивом состоянии единичное возмущение на расстояниях молекулярного масштаба не может играть заметной роли и должно с гарантией разрушаться тепловыми флуктуациями.

Однако биожидкости нельзя, вообще говоря, рассматривать как термодинамически равновесные структуры. Для моделирования процессов в биожидкостях следует использовать метастабильное состояние растворов биомолекул, возникающее в *начальных фазах* процесса растворения. Особенность таких метастабильных состояний — высокая чувствительность к локальным возмущениям. Внутриклеточная или внутритканевая вода представляют собой структуры, близкие к жидкому кристаллу (одномерный дальний порядок), с расстоянием между молекулами ~ 2,7 Å [13].

Изменение структуры водной матрицы должно отражаться в изменении показателя преломления раствора биожидкости, что наблюдалось экспериментально при облучении растворов биожидкостей излучением He-Ne лазера ($\lambda = 632,8$ нм) [14].

Отметим, что динамические возбуждения «жидкокристаллической» воды могут при определенных условиях приводить к возникновению коллективных динамических состояний. Ситуация аналогична превышению порога генерации

в лазере, когда обозначается лавинообразное возрастание преобладания индуцированного излучения. Иначе говоря, динамика воды становится *когерентной*, так что структура жидкости в объеме некоторого кластера становится доминирующей во всем объеме раствора. По проведенным оценкам, в 1 см³ воды находится в среднем 10^{16} - 10^{17} кластеров, из которых только в 10^{10} - 10^{11} возникает молекулы фотовозбужденного синглетного кислорода ($\sim 10^6$ от общего числа) [15]. При релаксации этих кластеров формируются зародыши новой структурной фазы. При росте зародышей наблюдается изменение показателя преломления Δn_0 , в $\sim 10^6$ раз большее, чем соответствовало бы переориентации отдельного кластера. Это наблюдалось экспериментально [14, 15]: поглощение энергии лазерного излучения с длиной волны 632,8 нм в пределах 10^{-3} - 10^{-5} Дж вызывало такое изменение показателя преломления плазмы крови, которое соответствовало бы «охлаждению» всего объема среды на ~ 6 Дж (!). Аналогичные по характеру зависимости наблюдались в растворах белков, липидов, гликопротеинов и др. [13]. Общим ингредиентом для всех этих веществ является вода, а это косвенно подтверждает тот вывод, что вода является *универсальным неспецифическим акцептором* для всех видов электромагнитных излучений, «специфическим» акцептором для которого является растворенный газ из воздуха (O₂, N₂, CO₂, NO и др.). Тем самым первичные процессы с участием газов воздуха («дыхательная цепь») приводят к вторичным процессам, связанным с переориентацией водной матрицы.

Приближенное соотношение между энергетическими дозами поглощенного излучения, соответствующими проявлению изменений в структуре водной фазы (активация) и подсистемах электрон-протонного и ионного транспорта, составляет 1:10:100.

Если частицы, ответственные за перенос энергии и энтропии в последних фазах светокислородного эффекта, можно считать известными [7], то с определением переносчика взаимодействия в структурной фазе возникают затруднения. Анализ литературных данных [15] наводит на мысль, что решающую роль в структурных превращениях играют своеобразные волны возмущений магнитной природы, распространяющиеся по водородным связям, тогда как активными центрами, управляющими динамикой волновой картины, являются парамагнитные молекулы кислорода.

В основном состоянии молекула кислорода, триплет или бирадикал, обладает большим магнитным моментом, так как имеет на соседних атомах по одному неспаренному электрону. Молекулам воды, благодаря двум протонам, также присущ магнетизм, и хотя протонные магнитные моменты на три порядка меньше, зато в ближайшем окружении кислородной молекулы их на три порядка больше. Магнитное взаимодействие создает вокруг каждой кисло-

родной молекулы динамическую водную структуру, своеобразный магнитный кластер.

В результате резонансного поглощения фотона молекула кислорода переходит на один из уровней возбуждения электронной оболочки, являющихся синглетными. Это означает, что практически мгновенно (за время 10^{-14} ... 10^{-15} с) в данной окрестности исчезает связанное с электронными спинами магнитное поле. Молекулы воды в ближайшем окружении испытывают при этом сильное магнитное возмущение: производная от магнитной индукции по времени на восемь порядков (!) превышает технически достижимые значения в современных экспериментальных установках. Это возмущение не может остаться на месте, оно распространяется по водородным связям водного кластера и в виде волны уходит в систему.

В возбужденной молекуле кислорода также происходит ряд событий. Если произошел переход на относительно высокий энергетический уровень, например, $^1\Sigma^+_g$, то с него молекула быстро, в течение пикосекунд, «скатывается» по колебательно-вращательным подуровням в наиболее устойчивое состояние $^1\Delta_g$. Поэтому результат активации не зависит от того, в какой полосе поглощения кислорода производить облучение. Имеет значение только общее количество синглетного кислорода, генерируемое за экспозицию, и оно сильно зависит от длины волны.

Время жизни возбужденной в синглетное состояние молекулы кислорода составляет порядка 10^{-7} ... 10^{-8} с. Соответствующая диффузионная длина — не более сотни нанометров, что много меньше среднего расстояния между эритроцитами. Следовательно, возбужденная молекула не может проникнуть дальше мембраны конкретного эритроцита. Возмущения достигают наружной поверхности клеточной мембраны и производят там, благодаря спин-орбитальным взаимодействиям, перестройки гидратной оболочки, структуры мембранных ферментов и липидной матрицы (бислоя). Другими словами, образуясь в водной фазе, возбужденная молекула кислорода в ней и погибает, чтобы возродиться в исходной триплетной форме. Дезактивация столь же коротка, как и прямой переход — не более периода электромагнитной волны — и вновь сопровождается локальным магнитным ударом. Соответствующая волна также уходит в систему. Ввиду существенного различия временных констант возбуждения молекулы кислорода и пребывания ее в возбужденном состоянии изменения должны накапливаться, и клетки активируются совместно, будучи объединены единым волновым процессом. Фазовый переход происходит в пике активации, где эритроциты достигают наивысшей степени синхронизации. Очевидно, что эффект усиливается с ростом степени когерентности поглощаемого излучения и имеет существенную дозозависимость.

Волны магнитных возмущений (если их существование удастся подтвердить) должны взаи-

модействовать с магнитным вектором электромагнитной волны и с внешним магнитным полем. Это вероятный кандидат на роль распределенного рецептора организма для СВЧ излучений и слабых магнитных полей. Именно они могут являться тем глубинным звеном, благодаря которому в организме происходит интерференция разнообразных факторов физической и химической природы [15].

Предположение о радикальном изменении свойств клеточной мембраны под действием НОИ можно считать общепринятой рабочей гипотезой. Учитывая нелинейность эффекта и его существенную дозозависимость, естественно предположить, что существует минимальная доза облучения, ниже которой клетка никак не реагирует на воздействие НОИ, и максимальная, выше которой должно происходить разрушение мембраны.

Переход от клеточного к организменному уровню может быть качественно описан, опираясь на представление о передаче энергии возбуждения той же водной матрице. Наиболее просто это можно представить в случае внутривенного облучения крови (кстати, такая методика НИЛТ была «пионером» среди всех «узаконенных» методик лазерной терапии, получив еще в 1984 г. разрешение Комиссии МЗ СССР на применение в клинической практике).

Выходящее из торца световода внутрь вены излучение можно считать полностью поглощаемым кровью. Следовательно, зная мощность на выходе световода и время экспозиции, можно вычислить поглощенную дозу. Соответственно можно рассчитать и число N активных молекул, генерированных за процедуру. Оптимальная активация происходит при одном и том же универсальном значении N_0 , независимо от возраста, пола, веса и других особенностей организма. Из всей энергии излучения, поглощаемой кровью, на возбуждение молекул кислорода расходуется примерно 10^{-5} часть [7]; остальные 99,999% превращаются в теплоту, которая, ввиду малости абсолютного значения поглощенной энергии, не оказывает на процесс заметного влияния. В каждом элементарном акте, т.е. генерации и активации одной молекулы синглетного кислорода, выделяется одно и то же количество электромагнитной энергии. Соответствующие кванты ввиду передачи энергии водной матрице не остаются в месте поглощения энергии излучения, а *распространяются по всей кровеносной системе*. Поэтому для диагностических целей можно брать пробы крови в любой части тела, например, из пальца.

Основой жидкой фазы крови является вода. Ее молекулярная структура универсальна, как и внутримолекулярная структура универсального фоторецептора — кислорода. Поэтому универсален закон их совместного возбуждения (дисперсионной среды) и активации взвешенных в водной матрице частиц (дисперсной фазы), в частности, эритроцитов.

У здорового человека эритроциты в основном активированы, и он вряд ли ощутит результат светового воздействия. Однако в организме больного их активность снижена, и фотоиндуцированный процесс получает продолжение. Ввод в суспензию эритроцитов или в кровь оптимального числа активированных молекул кислорода, генерируемого благодаря резонансному поглощению фотонов, вызывает повышение интенсивности мембранного транспорта и эластичности мембран до предельного уровня. Другими словами, сами эритроциты как субъекты и объекты метаболизма максимально активируются. В организме это означает восстановление кислородного снабжения тканей, нормализацию их энергетики и постепенное улучшение состояния всего организма, *независимо от того, каким был диагноз заболевания*. Так может быть объяснена основная особенность лазерной терапии — неспецифичность.

При анализе процессов на тканевом и организменном уровнях особенно оживленные дискуссии вызывает роль когерентности падающего излучения. В пользу необходимости учета когерентности говорит то, что при рассеянии лазерного излучения от биообъекта всегда наблюдается спекл-структура, несущая информацию об объекте и позволяющая добиваться при определенных условиях терапевтического эффекта [16]. Спекл-структура наблюдается только при достаточно высокой степени когерентности падающего излучения, причем для различных типов лазерных источников степень когерентности может различаться достаточно сильно [16,17].

Противоположная точка зрения основана на том, что когерентность практически сразу разрушается при взаимодействии лазерного излучения с оптически анизотропными биотканями. Кроме того, многочисленные эксперименты на клеточном и субклеточном уровнях показывают, что аналогичные эффекты наблюдаются как при использовании лазера, так и некогерентных источников (светодиода или лампы накаливания, снабженной светофильтром) [8].

По нашему мнению, из упомянутых экспериментов никак не следует вывод об отсутствии влияния когерентности на лечебный эффект на высших системных уровнях. По сути дела, упорное отрицание роли когерентности в ряде работ [8,18-21] обусловлено все той же «редукционистской» позицией, предполагающей, что процессы на микроуровне допускают обобщение на макроуровень без существенных качественных изменений.

Между тем высокая когерентность лазерного излучения и фазовый характер взаимодействия с биологической тканью приводят к быстрому (на малом отрезке оптического пути) изменению различных пространственно-временных распределений интенсивности света. Энергетически значимыми при этом в смысле максимального воздействия на биоткань оказываются распределения интенсивности, хорошо согласованные по микроструктуре с участком облучае-

мой ткани. Вследствие такой согласованности будет происходить эффективное возбуждение ансамблей биологических макромолекул либо молекул-рецепторов, передающих свое возбуждение, например, молекулам нуклеиновых кислот. С математической точки зрения такие процессы допускают описание в рамках фрактальной геометрии [22], тем более что и биологические ткани имеют фрактальную структуру. Можно утверждать, что изменение структуры фронта световой волны должно продолжаться до тех пор, пока его фрактальная размерность не сравняется с фрактальной размерностью облучаемой биологической ткани, что обеспечит наилучшие условия возбуждения биологических структур и макромолекул. Такое явление естественно назвать «фрактальным резонансом» [17].

Самоподобная (фрактальная) для разных масштабов рассмотрения пространственно-временная структура биологической ткани обуславливает механизм согласования характеристик электромагнитного поля с оптическими характеристиками среды при его прохождении через биоткань.

Итак, разногласия между «сторонниками» и «противниками» учета когерентности при воздействии НОИ на биообъект не должны носить характера антагонизма. Все дело в системном уровне рассмотрения соответствующих эффектов. В процессе переизлучения внутри ткани когерентность излучения, действительно, разрушается. Но при этом формируются зоны с высокой степенью пространственной неоднородности излучения. Степень возникающей пространственной неоднородности прямо связана со степенью когерентности падающего излучения [16,17]. Высокая плотность мощности может вызывать локальные нелинейные эффекты на уровне первичных процессов. На клеточном уровне эта нелинейность неминуемо вызовет соответствующую неспецифическую реакцию, особенно при совпадении фрактальных размерностей поля и среды («фрактальный резонанс»). А в таком случае «отклик» водной матрицы и соответственно эффект на организменном уровне могут быть существенно усилены.

Литература

- [1]. Плетнев С.Д. (ред.) Лазеры в клинической медицине. — М.: Медицина, 1996. — 432 с.
- [2]. Москвин С.В., Буйлин В.А. (ред.). Низкоинтенсивная лазерная терапия. — М.: ТОО «Фирма «Техника», 2000. — 724 с.
- [3]. Tuchin Valery V. (Ed.) Optical Biomedical Diagnostics. — Washington, USA: SPIE Press, 2002. — 1094 p.
- [4]. Рогаткин Д.А. Неинвазивные оптические диагностические технологии для медицины. // Лазер-Информ, 2003, № 23 (278), с. 2.
- [5]. Dorshel K., Muller G. How to define dosimetry for laser treatment. // SPIE Institute Series, 1989, IS5, p.10.
- [6]. Muller G., Sliney D.H. Dosimetry of laser radiation in medicine and biology. // SPIE Institute Series, 1989, IS5, p.38.
- [7]. Захаров С.Д., Иванов А.В. Светокислородный эффект в клетках и перспективы его применения в терапии опухолей. // Квантовая электроника, 1999, 29, №3, с.192.
- [8]. Кару Т.И., Календо Г.С., Лобко В.В. Зависимость биологического действия низкоинтенсивного света на клетки от параметров излучения — когерентности, дозы и длины волны. // Известия АН СССР, сер. физ., 1983, 47, с.2017.
- [9]. Козлов В.И., Буйлин В.А., Самойлов Н.Г. Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. — Самара-Киев: Здоровье, 1993. — 216 с.
- [10]. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. М.: Техника, 2003. — 256 с.
- [11]. Biophotonics. Optical Science and Engineering for the 21st Century. Ed. By Xun Shen and R. Van Wijk. — New York: Springer Science+Business Media, Inc., 2005. — 222 p.
- [12]. Popp F.A. Photon Storage of Biological Systems. Electromagnetic Bio-Information, eds. F.A.Popp, U. Warnke, H.Koenig and W.Peschka. — Muenchen: Urban & Schwarzenberg, 1989, p. 144-167.
- [13]. Чудновский В.М., Леонова Г.Н., Скопинов С.А. с сопр. Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии. — Владивосток: Дальнаука, 2002. — 157 с.
- [14]. Пономарев О.А., Фесенко Е.Е. Свойства жидкой воды в электрических и магнитных полях. // Биофизика, 2000, 45, №3, с.389.
- [15]. Захаров С.Д., Иванов А.В., Вольф Е.Б., Данилов В.П., Науен К.Т., Новиков Е.Г., Панасенко Н.А., Перов С.Н., Скопинов С.А., Тимофеев Ю. П. Структурные перестройки в водной фазе клеточных суспензий и белковых растворов при светокислородном эффекте. // Квантовая электроника, 2003, 33, с.149.
- [16]. Минаев В.П. О возможном механизме влияния когерентности лазерного излучения на взаимодействие с биотканью при НИЛТ. — Использование лазеров для диагностики и лечения заболеваний: Научно-информационный сборник. — М.: ЛАС, 1996. — с.5.
- [17]. Змиевской Г.Н. Дозиметрические аспекты низкоинтенсивной фототерапии при когерентных и некогерентных воздействиях // Измерительная техника, 2005, № 10, с.53.
- [18]. Кару Т.И. О молекулярном механизме терапевтического действия излучения низкоинтенсивного лазерного света. // Доклады АН СССР, 1986, 291, с. 1245.
- [19]. Karu T.I. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. // IEEE J. Quant. Electronics, 1987, QE-23, p.1703.
- [20]. Karu T.I. Activation of metabolism of nonphotosynthesizing microorganisms with monochromatic visible (laser) light: a critical review. Lasers in Life Sciences. 1996. 7, p.11.
- [21]. Кару Т.И. Клеточные механизмы низкоинтенсивной лазерной терапии. // Успехи современной биологии, 2001, 121, с.110.
- [22]. Мандельброт Б. Фракталы. Пер. с фр. — М.-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая

Биодозиметрия в низкоинтенсивной фототерапии. Часть 2

Г.Н.Змиевской, к.ф.-м.н., М.А.Галкин, Д.В.Костюков,
Московский государственный технический университет им. Н.Э.Баумана, Москва

Приборная реализация биологической обратной связи

Поиск преобладающих механизмов отклика биообъекта на фотовоздействие определяет специфику построения систем обратной связи, позволяющих управлять самим фотовоздействием. Перечисленные выше биофизические аспекты отклика биообъекта на молекулярном, клеточном и более высоких системных уровнях с использованием практических результатов применения низкоинтенсивной фототерапии позволяют сконцентрировать внимание на механизме стимуляции периферического кровотока, который может служить своеобразным «мостиком» между микро- и макроуровнями и при всем том поддается непосредственному

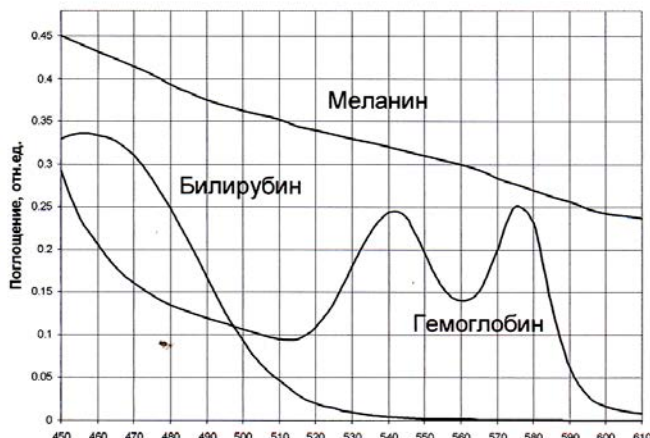


Рис.1 Спектры поглощения гемоглобина, билирубина и меланина

фотометрическому контролю.

Во время проведения сеансов фототерапии в большинстве случаев происходит усиление интенсивности периферического кровотока.

Оно может быть зарегистрировано независимо оптическими методами с использованием особенностей спектральных кривых поглощения основных пигментов биотканей.

Наиболее отчетливо усиление периферического кровотока можно наблюдать по изменению поглощения на длине волны 576 нм, соответствующей второму (длинноволновому) максимуму поглощения оксигемоглобина. На этой длине волны уже практически отсутствует поглощение билирубина, а поглощение излучения меланином менее существенно, чем на более коротких длинах волн (рис.1). Кроме того, при фототерапевтических процедурах, проводимых с использованием излучения красной и ИК областей спектра, концентрация меланина в поверхностных тканях не испытывает заметных изменений, в отличие от концентрации гемоглобина, прямо связанной с интенсивностью кровотока [23].

Средства измерения. Для решения задачи введения биологической обратной связи был разработан спектрофотометр, способный контролировать динамику коэффициента диффузного отражения в выбранном диапазоне спектра в режиме экспресс-анализа. В качестве источника света используется полупроводниковый «белый» (широкополосный) светодиод. Мощность зондирующего оптического излучения — около 1 мВт. Отраженное излучение, собранное приемным световодом, попадает в полихроматор. Используется полихроматор дифракционного типа (дифракционная решетка с пилообразным профилем). В схеме предусмотрен датчик момента срабатывания, реагирующий на величину усилия, с которым светочувствительная часть прижимается к биообъекту.

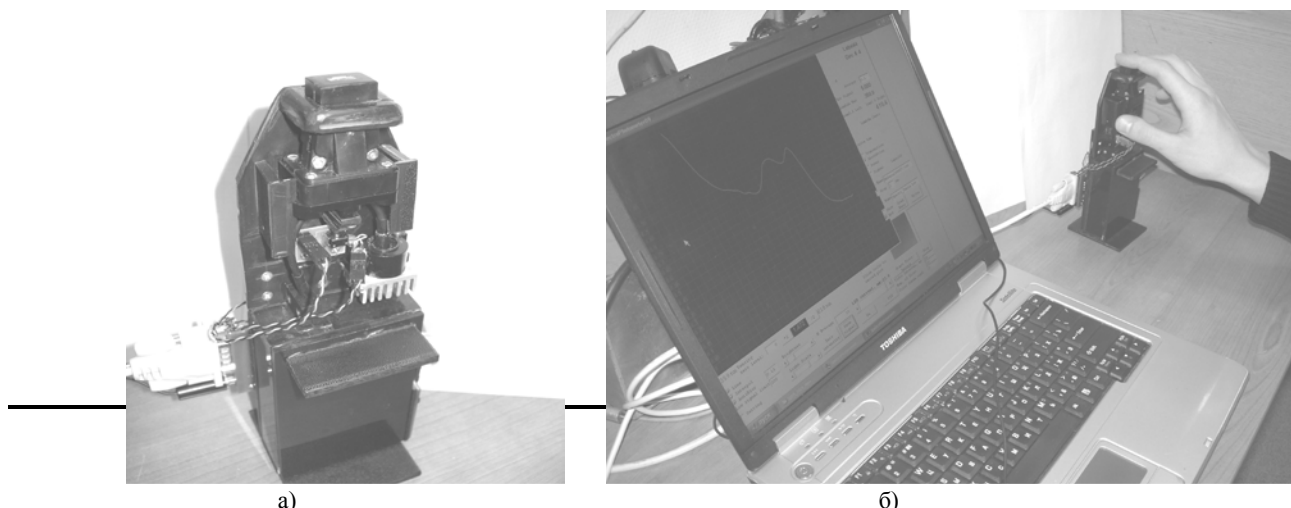


Рис.2 Внешний вид макета спектрофотометра для экспресс-анализа спектров отраженного биообъектом

Табл.1 Классификация сигналов ФПГ, принятая в медицинской практике

Класс	Форма сигнала	Примечание	увеличение жёсткости артерии	увеличение возраста пациента
1		Отчётливо видна отдельная впадина на нисходящей части кривой ФПГ. Данный класс часто встречается у молодых пациентов.		
2		Впадина отсутствует, на её месте имеется горизонтальный участок.		
3a		Нет ни впадины, ни горизонтального участка, но имеется резкое изменение угла спадающей части ФПГ сигнала.		
3b		Нет ни впадины, ни горизонтального участка, имеется резкое изменение угла спадающей части ФПГ сигнала на нисходящей части, а также на восходящей части имеется изменение угла подъёма кривой.		
4		Нет ни впадины, ни горизонтального участка, ни скачка угла, кривая ФПГ имеет сглаженную форму. Данный класс часто встречается у пожилых пациентов.		

Внешний вид макета спектрофотометра и процесс измерения спектра отраженного биообъектом оптического сигнала показаны на **рис.2**.

При выраженной положительной динамике коэффициента поглощения на длине волны 576 нм коэффициент поглощения на опорной длине волны 640 нм практически не изменяется.

Предложенный экспресс-анализ спектра отраженного сигнала обеспечивает достаточную для уверенной регистрации изменений интенсивности периферического кровотока чувствительность и воспроизводимость измерений.

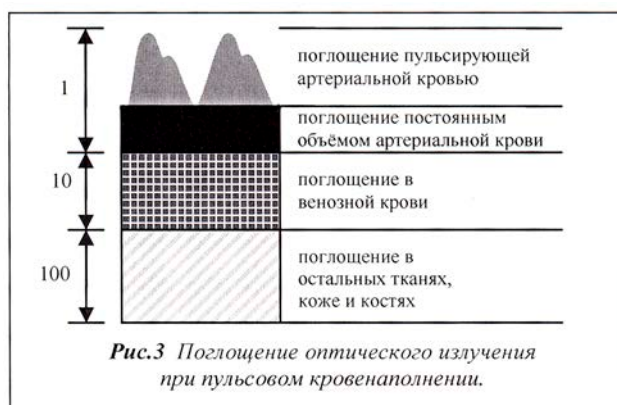
В ряде случаев анализ динамики периферического кровотока требует более детального исследования с выделением специального набора соотносимых параметров отклика биообъекта. Для таких случаев нами разработан фотоплетизмографический прибор с реактивной гиперемией. Такие приборы предназна-

ны для экспресс-анализа морфологии пульсовой кривой в процессе фототерапевтического воздействия на организм и должны обеспечивать как можно более простую процедуру обследования при сохранении необходимой информативности для врача, принимающего решение о дальнейших действиях.

Классификация фотоплетизмографических сигналов. Несмотря на многолетний опыт, в настоящее время существует неопределённость в том, каким образом формируется и чему соответствует фотоплетизмограмма (в дальнейшем ФПГ). Считается, что постоянная составляющая связана с поглощением излучения тканями и фиксированным объемом крови лоцируемого участка, пульсовая же составляющая связана с изменением объема крови исследуемой области в течение сердечного сокращения [24] (**рис.3**).

На основании анализа литературных данных можно сделать вывод, что на форму пульсовой волны влияют системные характеристики кровообращения. Анализ формы контура ФПГ сигнала ведется с 30-х годов минувшего столетия [25]. За этот период физиологами выработана классификация ФПГ-сигналов [26], приведенная в **табл.1**.

Биофизические модели и методика измерений. Классификация, приведенная в **табл.1**, принята большинством физиологов, но обладает безусловным недостатком, осложняющим действия разработчиков диагностической аппаратуры: она носит выраженный описательный ха-



рактически не содержит количественных характеристик сигнала.

Несмотря на сложившуюся ситуацию, в сигнале фотоплетизмограммы были все же выделены несколько параметров, имеющих связь с физиологией. К этим параметрам относятся индекс жёсткости SI (*stiffness index*) и индекс отражения RI (*reflection index*) (рис.4).

Индекс жёсткости артерии SI прямо связан с физиологическими параметрами. Он отражает податливость артериальной стенки к пульсовому кровенаполнению. Второй индекс — индекс отражения RI — соответствует величине отражённой неоднородностями сосудистой сети пульсовой волны.

Установление параметров фотоплетизмограммы, отражающих физиологию отклика сосудистой системы на внешнее воздействие, является нетривиальной задачей. Утверждать, что два описанных параметра (индекс жесткости и индекс отражения) могут рассматриваться в качестве полной системы, позволяющей адекватно описать состояние сосудистого русла, априори нет оснований. Кроме того, даже с чисто математической точки зрения описание достаточно сложной формы фотоплетизмограммы только двумя параметрами невозможно. Поэтому необходимо выявление новых закономерностей в зависимостях математических параметров сигнала от изменения физиологических характеристик сердечно-сосудистой системы.

Для выделения характеристик периферического кровообращения следует работать в изобестической точке (805 нм). Это необходимо для того, чтобы исключить влияние физиологической помехи, вызванной изменением соотношения оксигемоглобина и дезоксигемоглобина в лоцируемом участке. Имеющиеся в практическом применении пульс-оксиметры и фотоплетизмографы не ориентированы на такую работу, поэтому для решения поставленной задачи был разработан новый двухканальный фотоплетизмограф, на уровне НИРовской разработки получивший наименование ФИПК-2К (рис.5).

ФИПК-2К позволяет производить диагностику функционального состояния эндотелиальной ткани. Изучение функции эндотелия и установ-

ление его ведущей роли в патогенезе таких широко распространённых заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, стенозирующий атеросклероз сосудов головного мозга и нижних конечностей, гипертоническая болезнь и др. диктует необходимость создания простого неинвазивного теста для оценки его состояния [27].

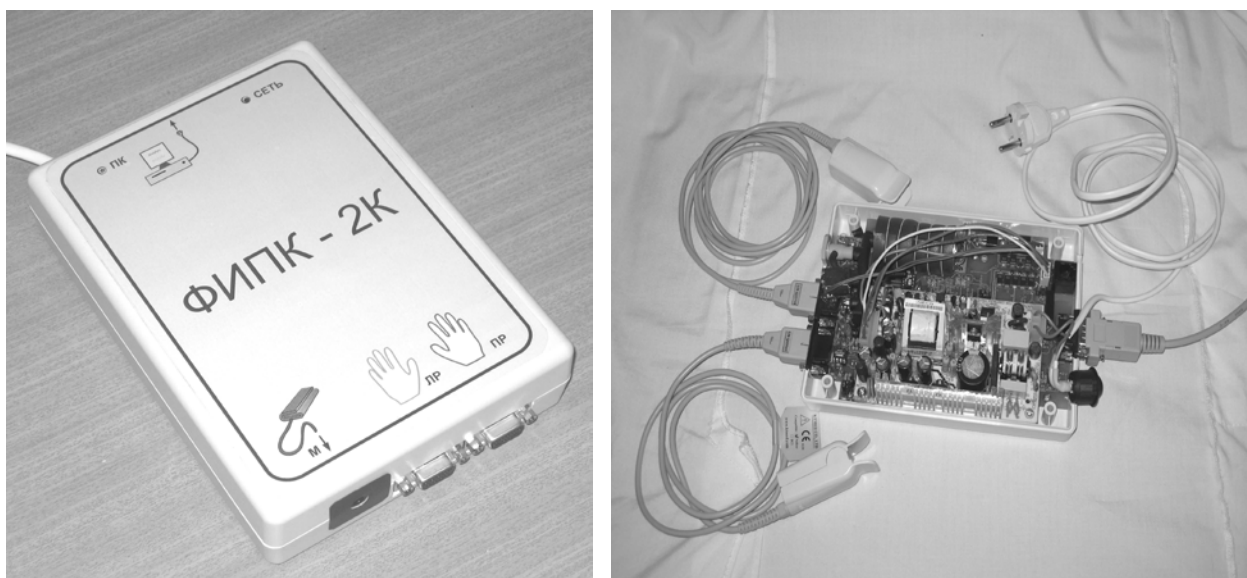
В настоящее время разрабатываются алгоритмы автоматизированного поиска соотносимых параметров. Уже разработаны алгоритмы автоматического поиска главных максимумов и минимумов, частоты сердечного сокращения, фазового сдвига, благодаря которым можно анализировать экспериментальные данные, используя программы-интерпретаторы, и на основе этого анализа дополнять и корректировать набор параметров.

Заключение

Проблема дозиметрии в лазерной медицине (построение функции “воздействие-отклик”) в последние годы приобрела особую актуальность. Это относится как к лечебным, так и к диагностическим применениям лазеров. Несмотря на объективные и субъективные затруднения уже сегодня можно указать пути решения этой проблемы, основанные на выделении ключевого понятия — спектра биологического действия. Задача реализации этих путей в конкретных приложениях состоит в создании адекватных поставленным задачам метрологических методик, сопровождающих разработку и применение соответствующих медико-технических технологий. В целом задача определения набора соотносимых параметров отклика организма на заданное внешнее воздействие представляет собой составную часть основной задачи дозиметрии, т.е. построение функциональной зависимости между совокупностью параметров воздействия и соотносимыми параметрами отклика и использование этой функциональной зависимости для управления самим воздействием. Экспресс-спектрофотометрия и фотоплетизмография представляют собой важнейшие составляющие этой задачи и открывают богатые перспективы для развития неинвазивных методов диагностики *in situ*, т.е. непосредственно в живом организме. Вместе с тем создание био-



Рис.4 Индекс жёсткости SI и индекс отражения RI.



а) **б)**
Рис.5 Макет двухканального фотоплетизмографа с реактивной гиперемией:

а) внешний вид; б) прибор со снятой крышкой корпуса и подсоединенными датчиками и компьютерным кабелем

фотометрических устройств, прототипами которых являются описанные приборы, дает уникальные возможности разрабатывать адаптивные фототерапевтические системы различного типа с широким применением информационных технологий и тем самым удовлетворить требованиям медицины XXI века — медицины, осуществляющей мониторинг состояния здоровья человека и не разделяющей профилактических, лечебных и реабилитационных функций.

Литература

[23]. Долгов В.В., Ованесов Е.Н., Щетникович К.А. Фотометрия в лабораторной практике. —

СПб.: «Витал Диагностика СПб».

[24]. Kamal AA, Harness JB, Irving G, Mearns AJ. Skin photoplethysmography – a review. // Comput Methods Programs Biomed., 1989; 28, p.257.

[25]. Dillon JB, Hertzman AB. The form of the volume pulse in the finger pad in health, arteriosclerosis, and hypertension. // Am. Heart. J., 1941, 21, p.172.

[26]. Dawber TR, Thomas HE Jr, McNamara PM. Characteristics of the dichroic notch of the arterial pulse wave in coronary heart disease. // Angiology, 1973, 24, p.244.

[27]. Vita J.A., Keaney J.F. The clinical implications of endothelial dysfunction. // Journ. Am. Coll. Cardiol., 2003, 42, p.7.

