

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОМОДИФИКАЦИИ КРОВИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМИ ДОЗАМИ ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДЛИН ВОЛН

© 2017 г. Г.А. Залесская

Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, 220072, Минск, пр. Независимости, 68, Беларусь

E-mail: zalesskaya@imaph.bas-net.by

Поступила в редакцию 15.04.16 г.

С учетом оптических свойств биологических тканей в интервале 405–950 нм рассчитаны спектры глубины проникновения излучения в кровь и в кожные ткани; оценена доля излучения, достигающая крови в кровеносном сосуде при надвненном облучении крови. Определены оптимальные длины волн для внутривенного и надвнного облучения крови, которые могут обеспечить эффективное образование молекулярного кислорода в крови вследствие фотодиссоциации оксигемоглобина. Для оптического излучения различных длин волн продемонстрированы типичные для фототерапии изменения характеристик оксигенации крови: степени насыщения гемоглобина кислородом, концентрации оксигемоглобина, парциальных давлений кислорода, а также концентрации некоторых продуктов метаболизма, инициированные фотодиссоциацией оксигемоглобина. Рассмотрены физические причины изменений характеристик оксигенации и содержания продуктов метаболизма под влиянием фототерапии.

Ключевые слова: кровь, кожные ткани, глубина проникновения оптического излучения, фотодиссоциация оксигемоглобина.

Среди современных технологий лазерной медицины важное место занимают методы, основанные на воздействии лазерного излучения на кровь – многофункциональную, генерализующую систему организма. Наиболее распространенным методом воздействия лазерного излучения на кровь является внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК). В ряде работ было показано, что более простой в исполнении, неинвазивный и безболезненный метод надвнного облучения крови обеспечивает положительные терапевтические результаты как с лазерными (НЛОК), так и не лазерными источниками излучения (НОК), которые, по данным работ [1–3], не отличаются по результатам воздействия на кровь. Экспериментально установлено, что проникающая способность оптического излучения в биологической ткани зависит от длины волны, постепенно увеличиваясь при переходе от видимого к красному и инфракрасному (ИК) диапазонам, которые в большинстве работ использовались для НЛОК, НОК и поверхностного облучения тканей. Од-

нако выбор длины волны и мощности излучения – основных параметров воздействия, влияющих на лечебные эффекты, – вряд ли можно считать окончательно обоснованным. Надежное определение необходимых параметров для ВЛОК, НЛОК и НОК сдерживается отсутствием количественных оценок: проникающей способности излучения различных длин волн в поверхностные слои тканей и в кровь, а также ослабления излучения над сосудистым слоем кожных тканей. Наличие таких данных позволило бы повысить эффективность методов фототерапии, применение которых постоянно расширяется эмпирическим путем без учета оптических характеристик биологических тканей и молекулярных механизмов терапевтического действия оптического излучения.

К настоящему времени уже известно достаточно много о молекулярных механизмах действия оптического излучения на кровь. В работах [2,4–7] нами было показано, что оптическое излучение на длинах волн, используемых для фототерапии, поглощается гемоглобином эритроцитов, который является первичным фотоакцептором. Преобразование поглощенной кровью световой энергии преимущественно протекает через фотодиссоциацию комплексов гемоглобина с лигандами, что приводит к изменениям фракционного состава гемоглобинов

Сокращения: ВЛОК – внутривенное лазерное облучение крови, НЛОК – надвнное лазерное облучение крови, НОК – надвнное облучение крови не лазерными источниками, ИК – инфракрасный, АФК – активные формы кислорода, оксиHb – оксигемоглобин.

крови, степени его насыщения кислородом, сродства гемоглобина к кислороду, конформационным изменениям белковой глобулы гемоглобина [6,7]. В результате облучение крови оказывает влияние на кислородный обмен в организме и, как следствие, на баланс между наработкой активных форм кислорода (АФК), регулирующих протекание многих внутри- и межмолекулярных процессов, и их ингибированием антиоксидантными системами организма. Коррекция баланса между наработкой АФК и их ингибированием компонентами антиоксидантной защиты, инициируемая фототерапией, рассматривается в работах [2,4–7] как процесс, позволяющий стимулировать положительный терапевтический эффект при различных патологиях.

Предложенный в работах [2,4–7] молекулярный механизм терапевтического действия фототерапии позволил объяснить ряд эффектов, которые долгое время не имели однозначной трактовки.

1. Терапевтический эффект фототерапии, достигнутый при лечении ряда заболеваний, обусловлен противодействием АФК деструктивному развитию свободно-радикальных реакций, сопутствующих многим заболеваниям и патологическим процессам. В физиологически допустимых количествах АФК действуют как регуляторы целого ряда метаболических процессов, приспособляя обмен веществ к функционированию в неблагоприятных условиях [8].

2. Установленная во многих работах дозовая зависимость стимулирующего действия фототерапии, согласно которой до некоторой дозы наблюдался положительный клинический эффект, а при более высоких дозах – отрицательный, отражает зависимость инициированных фототерапией процессов от концентрации АФК. Одни и те же АФК при более высоких концентрациях могут инициировать каскад биохимических реакций, приводящих к повреждению биологических тканей, но при физиологически допустимых концентрациях участвуют во внутри- и межклеточной регуляции важнейших физиологических процессов [8].

3. Истощение антиоксидантной защиты в течение курса фототерапии или при неудовлетворительном исходном состоянии организма способно приводить к негативным нарушениям баланса между наработкой и сохранением физиологически допустимого количества АФК, а следовательно, и к отрицательным результатам лечения. Стойкое увеличение содержания АФК в клетках при снижении способности к их нейтрализации оказывает губительное влияние.

Цель настоящей работы – определение спектральных условий, позволяющих обеспечить эффективное образование кислорода в крови при фотодиссоциации оксигемоглобина (оксиНб); анализ физических причин, вызывающих изменения характеристик оксигенации и содержания продуктов метаболизма под влиянием фототерапии излучением различных длин волн.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В биологических тканях, где свет рассеивается многократно, его прохождение зависит от коэффициента поглощения μ_a , коэффициента рассеяния μ_s , фактора анизотропии g и характеристик источника оптического излучения. Для оценок эффективности воздействия оптического излучения с различными длинами волн использовали упрощенную модель, описывающую оптические характеристики кожной ткани, включающей эпидермис, дерму и кровь в кровеносных сосудах, одним значением каждой из вышеперечисленных характеристик – μ_a , μ_s и g , полученных *in vivo* [9–11]. Вследствие сильных отличий в результатах измерений, выполненных разными авторами, расчеты проводили только по данным, приведенным для крови (интервал 200–1200 нм) в обзорной работе [9], а для кожных тканей – в работах последних лет [10,11]. Отметим, что отобранные в работах [10,11] результаты в разных спектральных областях отличаются от трех до пяти раз. Зависимость ослабления излучения $I(z)/I_0$ от z – глубины проникновения в кожные ткани и кровь в условиях многократного рассеяния – оценивали с помощью приближенного выражения, представляющего $I(z)/I_0$ как экспоненциальную функцию расстояния от облучаемой поверхности: $I(z) = I_0 e^{-\mu_{\text{эф}} z}$, где I_0 – интенсивность падающего излучения, $\mu_{\text{эф}} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$ – эффективный коэффициент ослабления излучения в облучаемом слое крови, $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$ – редуцированный (или транспортный) коэффициент рассеяния [12]. Для разных длин волн λ коэффициенты поглощения крови с разной степенью оксигенации оценивали как $\mu_{a \text{ кр}}(\lambda) = \mu_{a \text{ окси Нб}}(\lambda) + \mu_{a \text{ дезоксиНб}}(\lambda)$.

Эффективность воздействия излучения различных длин волн на кровь определяли по количеству молекул кислорода $N(\lambda)$, образовавшихся при фотодиссоциации оксиНб в облучаемом слое крови в единицу времени. При типичных условиях фототерапии ширина светового пучка много больше освещенной толщи крови, поэтому структура поля излучения в

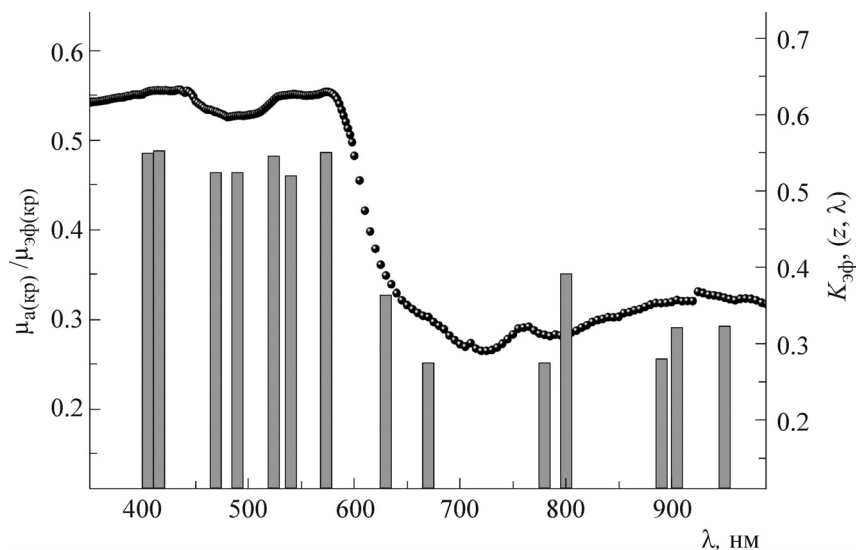


Рис. 1. Зависимость отношения $(\mu_a(\lambda)/\mu_{эф}(\lambda))$ от длины волны. Вертикальные столбики – величины эффективных спектральных коэффициентов поглощения крови $K_{эф}(\lambda, z)$.

среде может рассматриваться как постоянная в поперечном сечении пучка. В таком приближении величина $N(\lambda)$, зависящая не только от оптических, но и от биофизических характеристик крови [13], представлялась в виде:

$$N(\lambda) = (\mu_a(\lambda)/\mu_{эф}(\lambda)) H C_h S O_2 q(\lambda) I_0 s (1 - e^{-\mu_{эф} z}), \quad (1)$$

где H – гематокрит (доля объема крови, занятая эритроцитами), C_h – доля объема эритроцитов, приходящаяся на гемоглобин, $S O_2$ – степень насыщения гемоглобина кислородом, $q(\lambda)$ – квантовый выход фотодиссоциации оксиHb, s – площадь светового пучка. Согласно выражению (1) для сравнения $N(\lambda)$ на разных длинах волн излучения при постоянных ($H C_h S O_2$) необходимо оценить $(I_0 s (\mu_a(\lambda)/\mu_{эф}(\lambda)) \cdot (1 - e^{-\mu_{эф} z}))$ – интенсивность поглощенного кровью излучения по всей толще освещенного слоя в направлении распространения излучения. С точностью до постоянного множителя ($s H C_h S O_2$) это произведение представляет собой эффективный спектральный показатель поглощения крови ($K_{эф}(\lambda, z)$), характеризующий освещенность внутри биологической ткани, в наибольшей степени зависящую от отношения $(\mu_a(\lambda)/\mu_{эф}(\lambda))$. При облучении крови излучением λ_1 и λ_2 с одной и той же интенсивностью I_0 и при одинаковых исходных биофизических характеристиках крови отношение $K_{эф}(\lambda_1)/K_{эф}(\lambda_2)$ показывает, во сколько раз фотодиссоциация оксиHb при поглощении излучения λ_1 окажется эффективнее, чем при λ_2 . Значения $K_{эф}(\lambda, z)$, приведенные на

рис. 1, рассчитаны для слоя крови с $S O_2 = 70\%$, при прохождении через который пропускание снижалось в 10 раз. Предполагалось, что при терапевтических дозах излучения оптические свойства среды не зависят от I_0 . Предлагаемый подход позволяет, опираясь на известные оптические характеристики биологических тканей, достаточно просто выявить наиболее существенные из них для практически важных задач биомедицинской оптики и оценить их влияние на эффективность светового воздействия.

Что касается квантового выхода фотодиссоциации оксиHb q , то в исследуемом спектральном интервале его значения не известны для цельной крови. В работах, выполненных на растворах гемоглобина, приводятся значения q от 2 до 13%, не зависящие от λ в интервале длин волн от 300 до 610 нм вследствие быстрого безызлучательного заселения самого нижнего электронного состояния данной спиновой мультиплетности [14,15]. Для $\lambda > 650$ нм предсказывалось сильное падение q по сравнению с указанными величинами [14,16]. Однако следует ожидать, что величины q в цельной крови отличаются от полученных в растворах гемоглобина. Кинетика переноса кислорода кровью определяется свойствами эритроцитов и прохождением O_2 через их мембрану, вследствие этого процессы оксигенации и деоксигенации гемоглобина в эритроцитах протекают значительно медленнее, чем в растворах гемоглобина [17]. Поэтому известные данные о квантовом выходе фотодиссоциации оксиHb в растворах не ис-

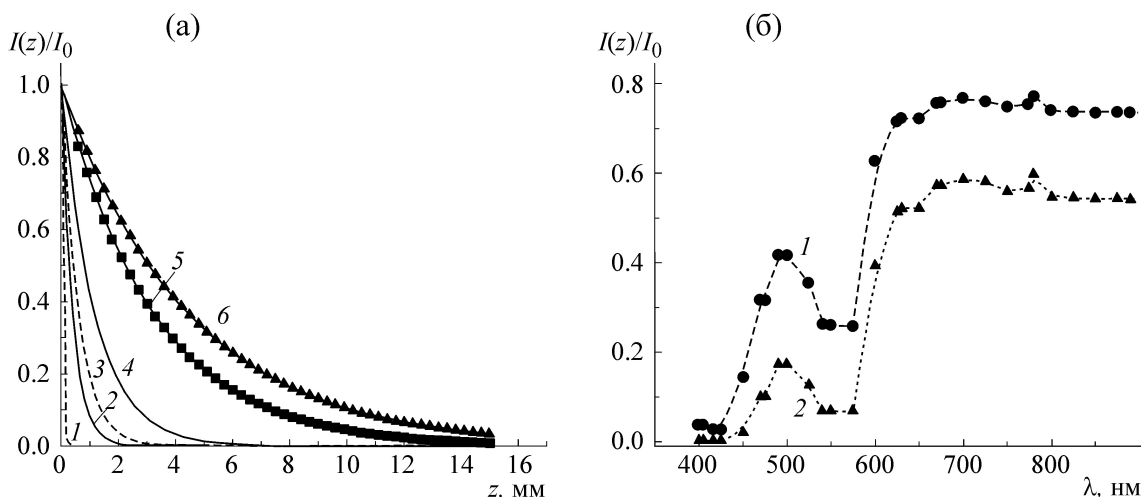


Рис. 2. (а) – Зависимости пропускания от длины волны для крови (1 – 524 нм, 2 – 630 нм, 3 – 905 нм) и для кожной ткани (4 – 524 нм, 5 – 630 нм, 6 – 890 нм); (б) – доля излучения, прошедшего через слой кожной ткани толщиной 1 мм (1), 2 мм (2).

пользовались для крови в настоящей работе, а зависимость q от λ полагалась не существенной при сопоставлениях отношений $N(\lambda_1)/N(\lambda_2)$.

Влияние курсов НЛОК ($\lambda = 670$ нм, 20 мВт, $t = 20$ мин, семь ежедневных процедур, аппарат «Родник», Люзар, Беларусь) и ВЛОК ($\lambda = 632,8$ нм, 670 нм, 2 мВт на выходе световода, $t = 20$ –30 мин, десять ежедневных процедур) на характеристики оксигенации и продукты метаболизма оценивали по результатам анализов образцов крови пациентов ($n = 40$ при НЛОК, $n = 25$ при ВЛОК). Образцы отбирали до и после окончания курса, а для двух–трех пациентов – после каждой процедуры курса. Для образцов облученной и необлученной крови на спектрофотометрическом блоке прибора ABL-800 (Radiometer, Дания), который за одно измерение определяет оптическое пропускание образца на 128 длинах волн в интервале 478–678 нм, измеряли содержание различных фракций гемоглобина, степень насыщения гемоглобина венозной крови кислородом ($S_{V}O_2$) и концентрации лактата и глюкозы. Парциальные давления кислорода ($p_{V}O_2$) определяли на газоанализаторе прибора ABL-800. Степень насыщения гемоглобина артериальной крови оценивали по данным пульсоксиметра (ЮМ-300, Ютас, Украина). Концентрацию холестерина определяли на биохимическом анализаторе ФП-901 (Labsystems, Финляндия). Взаимосвязь количественно нормально распределенных признаков выявляли с использованием критерия Пирсона (уровень значимости принимался равным менее 0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Длины волн оптического излучения, оптимальные для фототерапии. Глубины проникновения излучения в кровь и кожные ткани. На первом этапе сопоставляли ослабление интенсивности падающего излучения I_0 слоем крови и кожным покровом для длин волн, широко используемых в фототерапии (интервал 405–950 нм). Зависимости $I(z)/I_0$ от глубины z для исследуемых длин волн λ , представленные на рис. 2а для крови и для кожных тканей, получены с оптическими показателями, типичными для биологических тканей человека [9–11]. На рис. 2б приведен спектр пропускания кожных тканей на глубинах 1 и 2 мм, позволяющий количественно сопоставить рост пропускания с увеличением длины волны и оценить долю излучения, достигающего крови в локтевой вене. В соответствии с приведенными данными малая доля прошедшего через поверхность кожи излучения с $\lambda = 416$ нм (2%) и 470 нм (30%) будет достигать крови в вене с предполагаемым расположением на глубине 1 мм. Такие длины волн не эффективны для НЛОК и НОК в отличие от интервала 630–950 нм, в котором пропускание излучения на глубине 1 мм увеличивается до 80% при продвижении в длинноволновую область спектра. Известно, что при фототерапии поверхностных тканей излучением с $\lambda = 630$ –950 нм разными авторами были получены хорошие клинические результаты. Так как оптические характеристики крови изменяются с S_{O_2} , то зависимости $I(z)/I_0$ от z при разной степени оксигенации крови будут отличаться.

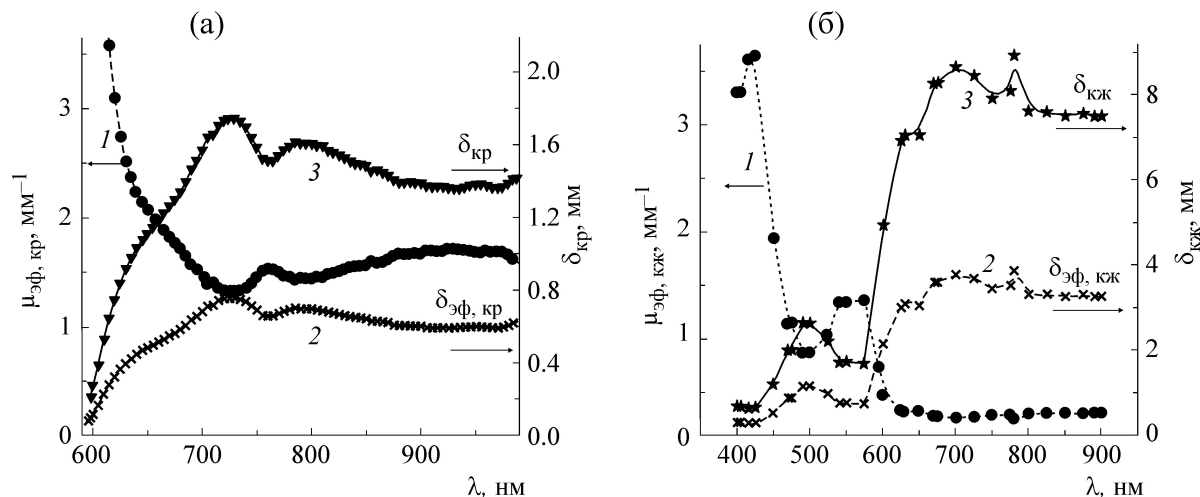


Рис. 3. Зависимости глубины проникновения излучения в кровь (а) и в кожные ткани (б) от длины волны: 1 – редуцированный коэффициент рассеяния, 2 – спектр эффективной глубины проникновения, 3 – спектр полной глубины проникновения.

Для крови спектр эффективных глубин проникновения $\sigma_{\text{эф, кр}}(\lambda) = 1/\mu_{\text{эф, кр}}$, на которых интенсивность диффузно рассеянного света уменьшается в e раз, показан на рис. 3а. Здесь же показан спектр полных глубин проникновения $\sigma_{\text{кр}}(\lambda)$, при которых пропускание крови (I/I_0) снижается в 10 раз. Как следует из данных, представленных на рис. 3а, спектральный ход $\sigma_{\text{эф, кр}}(\lambda)$ и $\sigma_{\text{кр}}(\lambda)$ обусловлен селективностью оптических свойств крови. Наличие максимумов в спектрах глубин проникновения около 720 и 800 нм связано со снижением поглощения крови в этих областях. Для крови величина $\sigma_{\text{кр}}(\lambda)$ возрастает от нескольких мкм в интервале 405–600 нм до 1,4 мм при продвижении в длинноволновую область спектра ($\lambda > 650$ нм). В результате в желто-красной области спектра в кровь проникает больше света.

Спектры $\sigma_{\text{эф, кж}}(\lambda)$ и $\mu_{\text{эф, кж}}(\lambda)$, сопоставленные на рис. 3б для кожных тканей, демонстрируют взаимосвязь глубины проникновения с оптическими характеристиками хромофоров кожи. На рис. 3б приведен также спектр полной глубины проникновения излучения в кожные ткани $\sigma_{\text{кж}}(\lambda)$, на которой излучение ослабевает в 10 раз. Зависимости $\sigma_{\text{эф, кж}}(\lambda)$ и $\sigma_{\text{кж}}(\lambda)$ передают характерные особенности изменения глубины проникновения излучения в кожные ткани при продвижении в длинноволновую область спектра. Наличие четко выраженных минимумов в областях 400–420 нм и 530–575 нм обусловлено остаточным поглощением крови в дерме. Приведенные результаты показывают, что оптическое излучение с длинами волн $\lambda = 405\text{--}416$ нм проникает только в поверхностные

слои кожных тканей. Излучение этих длин волн не пригодно для НЛОК и НОК. Однако глубина проникновения постепенно увеличивается при продвижении в длинноволновую область, достигая 8–9 мм в области 700–900 нм. Рассчитанные значения $\sigma_{\text{кж}}(\lambda)$ удовлетворительно совпадают с литературными данными, полученными при измерениях глубин проникновения излучения в кожу на нескольких длинах волн: $\sigma_{\text{кж}} = 2,53$ мм при $\lambda = 600$ нм, $\sigma_{\text{кж}} = 2,76$ мм при $\lambda = 630$ нм, $\sigma_{\text{кж}} = 3,6$ мм при $\lambda = 700$ нм, $\sigma_{\text{кж}} = 5,4$ мм при $\lambda = 800$ нм [18,19]. Следует указать, что значения $\sigma_{\text{кж}}(\lambda)$ будут отличаться от приведенных на рис. 2б при использовании других литературных данных для оптических характеристик кожной ткани человека.

Спектральные показатели поглощения крови $K_{\text{эф}}(\lambda, z)$, позволяющие сравнить эффективность фотодиссоциации оксиНв излучением с разными λ , наиболее часто используемыми при фототерапии, показаны на рис. 1. Как видно из представленных данных, при прямом облучении крови методом ВЛОК оптическое излучение действует наиболее эффективно в интервале длин волн 406–574 нм, в пределах которого значения $K_{\text{эф}}(\lambda, z)$ изменяются незначительно. При продвижении в область больших длин волн $\lambda > 630$ нм эффективность ВЛОК снижается, уменьшаясь на традиционно используемых для ВЛОК длинах волн: на 630 нм – в полтора, а на 670 нм – в два раза по сравнению с облучением на длине волны 406 нм. Отметим, что из-за больших глубин проникновения $\sigma_{\text{кр}}(\lambda)$ излучение с длинами волн 630–670 нм более равномерно освещает кровь в вене, снижая при

ВЛОК возможность отрицательных пристеночных эффектов.

Данные о спектральных показателях поглощения крови $K_{\text{эф}}(\lambda, z)$ позволяют объяснить результаты, казалось бы противоречивые с точки зрения фотодиссоциации оксиHb. Так, в работе [20] было установлено, что лазерное излучение с длиной волны 632,8 нм (доза 1,5 Дж/см²) оказалось более эффективным в заживлении ран и активации супероксиддисмутазы, чем излучение с длиной волны 441,2 нм (доза 0,75 Дж/см²) и 532 нм (доза 0,75 Дж/см²). Эти результаты невозможно объяснить, сравнивая только одну характеристику – коэффициент поглощения крови: $\mu_a = 62 \text{ мм}^{-1}$ ($\lambda = 441,2 \text{ нм}$), $21,5 \text{ мм}^{-1}$ ($\lambda = 532 \text{ нм}$) и $0,75 \text{ мм}^{-1}$ ($\lambda = 632,8 \text{ нм}$) при $SO_2 = 75\%$ [9], хотя поглощение света кровью капилляров, расположенных в дерме, обуславливает терапевтическое действие поверхностного облучения [12,21]. В то же время в работе [21] показано, что в нормальных кожных тканях при падающей энергии 1 Дж средние дозы поглощенного излучения на длинах волн 441 и 630 нм соотносятся как $0,86/0,61 = 1,4$ при $S_V O_2 = 75\%$, но не как $62/0,75 = 82,6$.

Эффекты, инициированные изменением оксигенации крови при фототерапии; зависимости от длины волны оптического излучения. До настоящего времени не уделялось достаточного внимания влиянию фотоиндуцированных изменений характеристик оксигенации крови: степени насыщения гемоглобина крови кислородом $S_V O_2$, концентрации оксиHb (F_{HbO_2}), парциальных давлений газов крови ($p_V O_2$, $p_V CO_2$) на позитивные клинические процессы, инициированные в живом организме. Рассмотрим зависимости характеристик оксигенации крови от длины волны оптического излучения, представляющие наибольший интерес для клинического применения.

Практически важная особенность фотомодификации крови, облучаемой *in vivo*, – достаточно высокая степень фотодиссоциации оксиHb эритроцитов излучением широкого диапазона длин волн, в том числе ближнего ИК- и красного диапазонов, которые особо важны для лечения поверхностных тканей. В отличие от предсказанного в работах [14,16] для растворов гемоглобина сильного падения величины q при $\lambda > 600 \text{ нм}$ фотодиссоциация оксиHb в этом интервале по количественным результатам оказалась сопоставимой с инициированной в видимой области. Сопоставимые результаты оксигенации крови в разных диапазонах были получены как при облучении крови в крупных кровеносных сосудах [2,4–7], так и при

воздействии излучения от 500 нм до 950 нм на поверхность кожных тканей, которые содержат в себе множество кровеносных сосудов [22]. Как показано в наших предыдущих работах [2,4–7], на всех использованных для фототерапии длинах волн с разными коэффициентами поглощения венозной крови – УФОК ($\lambda = 254 \text{ нм}$, $\mu_a = 45,3 \text{ мм}^{-1}$), ВЛОК ($\lambda = 632 \text{ нм}$, $\mu_a = 0,86 \text{ мм}^{-1}$), ВЛОК ($\lambda = 670 \text{ нм}$, $\mu_a = 0,551 \text{ мм}^{-1}$) ВЛОК ($\lambda = 800 \text{ нм}$, $\mu_a = 0,407 \text{ мм}^{-1}$) и НЛОК ($\lambda = 670$ и 800 нм) – были получены подобные, но количественно отличающиеся изменения спектров поглощения крови в областях, чувствительных к оксигенации (полосе Сор, дублете 540 и 570 нм, области 650–950 нм). Они были вызваны изменениями содержания окси- и деоксиHb в крови вследствие фотодиссоциации оксиHb. Количественные отличия в спектрах образцов крови разных пациентов зависели прежде всего от исходного содержания фракций окси- и деоксиHb в крови и оптических характеристик крови на изучаемых длинах волн. Фотодиссоциация оксиHb протекала непосредственно в эритроцитах.

Процесс фотодиссоциации под влиянием фототерапии излучением с различными λ сопровождался конформационными перестройками в молекулах гемоглобина, которые проявлялись в изменениях ИК-спектров поглощения крови и эритроцитарной массы [6,7]. Известно, что метод ИК-спектроскопии обладает высокой чувствительностью к структурным превращениям белков и позволяет их контролировать. Влияние оптического излучения на вторичную структуру белков крови наиболее сильно проявилось в изменениях интенсивности и контура ИК-полосы амид I ($\nu_{\text{max}} = 1654 \text{ см}^{-1}$) – интенсивной полосы, принадлежащей преимущественно валентным колебаниям связей C=O, а также ИК-полос амид III (1200–1340 см^{-1}), зависящих от вторичной структуры белковой глобулы. Изменения третичной структуры белковой части молекулы гемоглобина приводили к изменениям полосы амид II ($\nu_{\text{max}} = 1540 \text{ см}^{-1}$). Анализ контуров полос амид I, амид II и амид III показал, что излучение разных λ , используемых для ВЛОК, НЛОК и УФОК, вызывало подобную совокупность конформационных изменений сложной пространственной структуры молекулы гемоглобина, которые инициировались фотодиссоциацией оксиHb.

Результаты прямых измерений $\Delta p_V O_2$, $\Delta S_V O_2$, $\Delta F_V \text{HbO}_2$ при фототерапии показали, что регистрируемые в конце курса изменения $S_A O_2$ в артериальной крови отдельных пациентов оказались близкими по величине, как

при облучении венозной крови излучением различных длин волн – 254, 632,8, 670, 800 нм ($\Delta S_{\Lambda}O_2 = 2-6\%$) [2,4-7], – так и при поверхностном облучении тканей в диапазоне длин волн 450–900 нм ($\Delta S_{\Lambda}O_2 = 2-5\%$) [21]. В то же время в конце курса изменения степени насыщения венозной крови ($\Delta S_{\vee}O_2$) и парциального давления кислорода в венозной крови $\Delta p_{\vee}O_2$ для отдельных пациентов достигали при ВЛОК и НЛОК величины 20–30% [2,4-7].

Для практического использования фототерапии и дальнейшего развития соответствующего приборостроения чрезвычайно важно сопоставлять спектральные показатели поглощения крови $K_{\text{эф}}(\lambda, z)$ на разных длинах волн. Согласно выполненным оценкам, эффективный спектральный показатель поглощения $K_{\text{эф}}(\lambda, z)$ остается наибольшим в пределах интервала 406–574 нм, а затем снижается при продвижении в длинноволновую область. Однако при ВЛОК ($\lambda = 630, 632,8$ нм) $K_{\text{эф}}(\lambda, z)$ лишь в 1,5, а при ВЛОК ($\lambda = 670$ нм) – в 2 раза меньше, чем при ВЛОК ($\lambda = 405$ нм), но не в 116 и 184 раза, как это следует из сравнения коэффициентов поглощения крови μ_a при $S_{\vee}O_2 = 70\%$. Таким образом, невозможно выбрать длину волны оптического излучения, пригодную для оптимального увеличения содержания O_2 в облучаемой крови, только на основании значений μ_a . Приведенные оценки эффективности воздействия оптического излучения с длинами волн 405–630 нм на кровь подтверждаются экспериментальными результатами, полученными в работе [23]. Было установлено, что ВЛОК на длинах волн 405 нм ($\mu_a = 101,7 \text{ мм}^{-1}$) и 633 нм ($\mu_a = 0,87 \text{ мм}^{-1}$) примерно в равной степени влияет на нормализацию уровня триглицеридов и холестерина в сыворотке крови. Следует указать, что для более точной оценки возможных изменений в содержании продуктов метаболизма под влиянием излучения различных λ необходимо определить содержание кислорода в артериальной ($C_{\text{тА}}O_2$) и венозной крови ($C_{\text{тВ}}O_2$), а затем количество кислорода, извлекаемого тканями из капилляров, которое определяется артериовенозной разностью по кислороду: $ABP_{O_2} = C_{\text{тА}}O_2 - C_{\text{тВ}}O_2$, где $C_{\text{тВ}}O_2 = [\text{Hb}] \cdot 1,39(S_{\vee}O_2)/100 + 0,0031p_{\vee}O_2$, $[\text{Hb}]$ – концентрация гемоглобина.

Другой важной особенностью, которую следует учитывать при анализе результатов фототерапии, полученных с использованием излучения разных длин волн, является зависимость эффективности воздействия от исходной степени насыщения гемоглобина кислородом (SO_2) –

важного диагностического параметра, от которого зависят оптические характеристики крови. На рис. 4а для $\lambda = 670$ нм сопоставлены две зависимости: изменения содержания оксиHb ($\Delta F_{\text{Hb}O_2}$) от исходной величины $S_{\vee}O_2$, а также коэффициента поглощения венозной крови μ_a от $S_{\vee}O_2$. Изменения индивидуальных значений $\Delta F_{\text{Hb}O_2}$ после курса НЛОК, представленные на рис. 4а, получены для группы пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, у которых исходные значения $S_{\vee}O_2$ и $p_{\vee}O_2$ были ниже нормальных вследствие типичного для них превышения потребления кислорода над его доставкой и, как следствие, растраты венозных запасов кислорода. Согласно рис. 4а, как содержание оксиHb ($F_{\text{Hb}O_2}$), так и величина μ_a изменяются с ростом исходных величин $S_{\vee}O_2$ однонаправленно, убывая с увеличением $S_{\vee}O_2$. Подобные зависимости проявятся при фототерапии на тех длинах волн, на которых величины μ_a , сильно зависящие от оксигенации гемоглобина крови, убывают с ростом $S_{\vee}O_2$ [9]. Многочисленные сообщения об отсутствии терапевтической реакции на облучение у пациентов с нормальными высокими значениями $S_{\vee}O_2$ могут быть обусловлены зависимостью μ_a ($S_{\vee}O_2$). Регуляторное влияние курса НЛОК на $S_{\vee}O_2$, изученное по двум группам упорядоченного ряда, разделенного по исходному значению $S_{\vee}O_2$ с использованием метода медианы, проявилось в меньшем увеличении средних значений $S_{\vee}O_2$ в подгруппе с исходными значениями выше медианы, чем в подгруппе с более низкими значениями (рис. 5а). Вопреки широко распространенному мнению о всеобщем нормализующем влиянии курсов фототерапии, облучение крови оказало регуляторное, но еще не нормализующее воздействие.

Особый интерес представляет анализ фотоиндуцированных изменений содержания продуктов метаболизма и их зависимости от длины волны используемого для фототерапии излучения. Именно, по продуктам метаболизма в большинстве медицинских применений определяется эффективность различных методов фототерапии. На рис. 4б для примера сопоставлены зависимость изменения концентрации глюкозы в крови ($\Delta C_{\text{глюк}}$) от исходного значения $S_{\vee}O_2$ и зависимость коэффициента поглощения крови μ_a от $S_{\vee}O_2$, подтверждающие влияние количества поглощенного кровью света на метаболические процессы. Аналогичное сопоставление выполнено для изменений содержания холестерина (рис. 4в). Для отдельных пациентов, как было показано ранее [24], изменения

в содержании продуктов метаболизма зависели не только от оксигенации крови и ее фотоиндуцированных изменений излучением разных λ , но и от их исходного содержания. Регуляторное воздействие фотогемотерапии на метаболизм, отражающее успешность лечения отдельных пациентов, проявлялось уменьшением содержания продуктов метаболизма в подгруппе с высоким исходным значением и повышением в подгруппе с более низким, как это показано для концентраций холестерина (рис. 5б). Однако при использованных дозах фотогемотерапия оказывала регуляторное, но еще не нормализующее влияние не только на показатели оксигенации, но и на продукты метаболизма.

Успешное терапевтическое использование технологий фотогемотерапии предполагает также учет динамики показателей кислородного статуса венозной и артериальной крови в течение всего курса и после его окончания. Чтобы установить особенности влияния фотогемотерапии излучением различных λ на характеристики оксигенации, необходимы количественные сопоставления их величин в образцах крови, отобранных в одинаковые фиксированные моменты времени по отношению к началу облучения. В течение курсов фотогемотерапии на всех длинах волн наблюдались осцилляции величин p_{vO_2} , S_{vO_2} и F_{HbO_2} с возрастанием их во время процедур до значений, близких к нормальным или даже превышающих их. Но позитивные изменения, достигнутые во время каждой из процедур, затем через 15–20 мин после их окончания начинают убывать [2,23].

ВЫВОДЫ

Установлено, что фотодиссоциация оксиHb, способствующая дополнительному экстрагированию кислорода из крови при фотогемотерапии, влияет на кислородзависимые процессы. Воздействие оптического излучения различных длин волн, используемых при фотогемотерапии (ВЛОК и НЛОК, НОК), увеличивая содержание кислорода в крови, приводит как к генерализованной реакции организма, так и к стимуляции разнообразных местных терапевтических эффектов: к снижению гипоксии тканей с увеличением степени насыщения облучаемой венозной крови кислородом на 20–30%, к активации процессов метаболизма. Найдено, что фотоиндуцированные изменения как характеристик оксигенации, так и продуктов метаболизма связаны с исходной степенью насыщения гемоглобина крови кислородом, определяющей коэффициент поглощения крови.

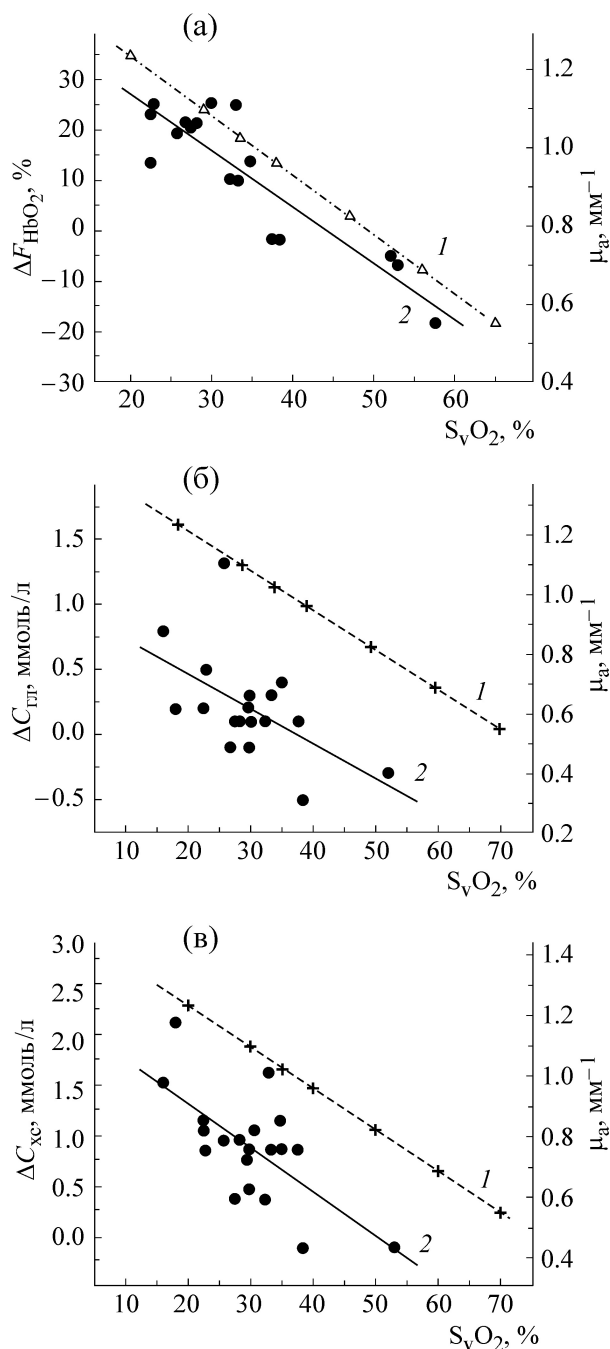


Рис. 4. Зависимости (кривые 2) от исходной степени насыщения гемоглобина S_{vO_2} фотоиндуцированных под влиянием НЛОК изменений: (а) – содержания оксиHb ($r = -0,89$, $p < 0,0001$), (б) – концентрации глюкозы ($r = -0,54$, $p < 0,001$), (в) – концентрации холестерина ($r = -0,67$, $p < 0,001$); кривые 1 – зависимость коэффициента поглощения крови μ_a от S_{vO_2} .

В спектральном диапазоне 405–950 нм наибольшее увеличение содержания кислорода в крови при прямом воздействии на кровь методом ВЛОК может быть получено при исполь-

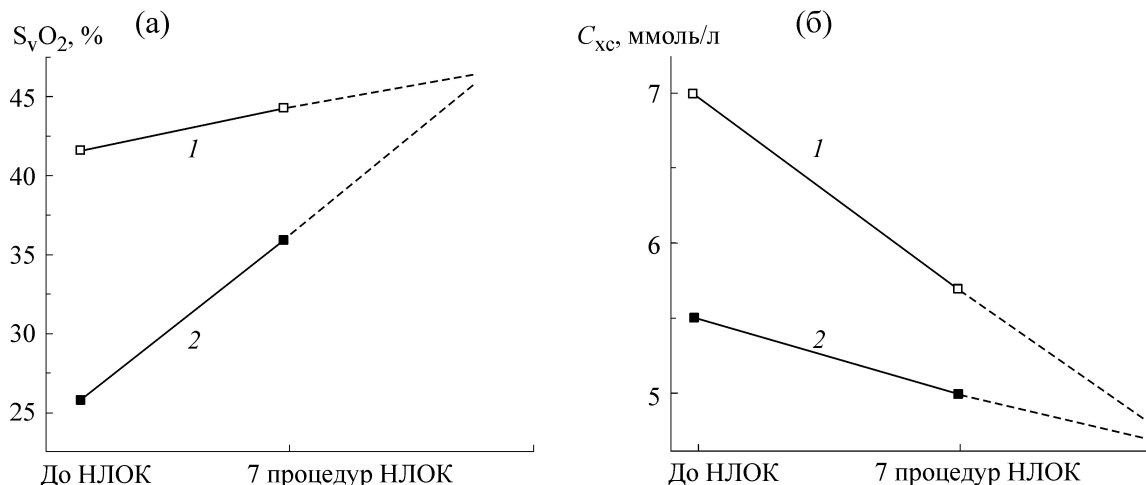


Рис. 5. Регуляторное влияние семи процедур НЛОК: (а) – на степень насыщения гемоглобина кислородом S_{vO_2} ; (б) – на содержание холестерина C_{xc} (1 – для пациентов подгруппы с исходными значениями больше медианы, 2 – меньше медианы).

зовании излучения в интервале длин волн 405–570 нм, в пределах которого эффективность ВЛОК изменяется незначительно, но затем снижается при продвижении в длинноволновую область ($\lambda > 630$ нм). Показано, что уменьшение эффективности воздействия возможно оценить только по снижению коэффициента поглощения крови с ростом длины волны; необходимы оценки поглощенной энергии в облучаемом слое крови с учетом μ_a , μ_s и g . Эффективность воздействия часто применяемых ВЛОК на длинах волн 630 нм и 670 нм будет соответственно лишь в 1,5 и 2 раза, а не в 116 и 184 раза меньше, чем при ВЛОК на длине волны ($\lambda = 405$ нм), как это следовало бы из сравнения коэффициентов поглощения крови при $S_{vO_2} = 70\%$.

На основании оценок глубины проникновения и ослабления излучения кожными тканями показано, почему интервал 405–570 нм непригоден для надвенозного облучения крови (НЛОК и НОК). Наиболее эффективным для НЛОК и НОК является оптическое излучение от 670 нм до 950 нм, обеспечивающее достаточные для надвенозного облучения как глубину проникновения, так и интенсивность излучения, достигающую вен (до 60–80% от падающего излучения).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. И. Карандашов, Е. Б. Петухов и В. С. Зродников, *Фототерапия (светолечение)* (Медицина, М., 2001).
2. Г. А. Залеская, *Фотомодификация крови терапевтическими дозами оптического излучения* (Белорусская наука, Минск, 2014).
3. Г. И. Клебанов, Н. Ю. Шураева, Т. В. Чинчук и др., *Биофизика* **51** (2), 332 (2006).
4. Г. А. Залеская и Е. Г. Самбор, *Журн. прикл. спектроскопии* **72** (2), 230 (2005).
5. Г. А. Залеская и В. С. Улащик, *Журн. прикл. спектроскопии* **76** (1), 51 (2009).
6. Г. А. Залеская и Т. О. Маслова, *Оптика и спектроскопия* **110** (2), 304 (2011).
7. Г. А. Залеская, *Журн. прикл. спектроскопии* **81** (3), 433 (2014).
8. Н. К. Зенков, В. З. Ланкин и Е. Б. Меньщикова, *Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты* (МАИК «Наука/Интерпериодика», М., 2001).
9. N. Booschart, G. J. Edelman, M. C. Aalders, et al., *Lasers Med. Sci.* **29**, 453 (2014).
10. J. L. Sandell and T. C. Zhu, *Biophotonics* **4** (11–12), 773 (2011).
11. T. Lister, P. A. Wright, and P. H. Chappel, *J. Biomed. Optics* **17** (9), 090901 (2012).
12. А. Е. Пушкарева, *Методы математического моделирования в оптике биоткани* (ИТМО, Санкт-Петербург, 2008).
13. В. В. Барун, А. П. Иванов, А. Н. Башкатов и др., *Оптика и спектроскопия* **115** (2), 235 (2013).
14. J. W. Petrich, C. Poyart, and J. L. Martin, *Biochemistry* **27** (11), 4049 (1988).
15. N. Yang, S. Zang, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **353**, 953 (2007).
16. Б. М. Джагаров, В. С. Чирвоный и Г. П. Гуринович, в сб. *Лазерная пикосекундная спектроскопия и фотохимия биомолекул*, под ред. В. С. Летохова (М., 1987), сс. 180–212.
17. И. И. Иванов, А. В. Локтюшин, Р. А. Гуськова и др., *Докл. РАН* **414** (5), 697 (2007).

18. D. E. Hudson, D. O. Hudson, J. M. Winner, and B. D. Richardson, *Photomed. Laser Surgery* **31** (4), 163 (2013).
19. P. J. Kolari, *Arch. Dermatol. Res.* **277**, 342 (1985).
20. Т. В. Махнева, Д. М. Протопопов, Ю. А. Владимиров и А. Н. Осипов, *Биофизика* **53** (5), 894 (2008).
21. В. В. Барун, А. П. Иванов, А. В. Вологовская и В. С. Улащик, *Журн. прикл. спектроскопии* **74** (3), 387 (2007).
22. S. S. Yesman, S. O. Mamilov, D. V. Veligotsky, and A. I. Gisbrecht, *Lasers Med. Sci.* **30** (9), (2015). DOI: 10.1007/s10103-015-1838-y.
23. Н. В. Ботин, Т. З. Успенская и С. В. Москвин, *Фотобиол. и фотомед.* **4**, 48 (2009).
24. Г. А. Залеская, Н. В. Акулич, А. В. Марочков и др., *Журн. прикл. спектроскопии* **77** (3), 451 (2010).

Efficiency of Blood Photomodification by Therapeutic Doses of Optical Radiation at Different Wavelengths

G.A. Zalesskaya

Stepanov Institute of Physics, National Academy of Sciences of Belarus, prosp. Nezavisimosti 68, Minsk, 220072 Belarus

In the wavelength range of 405–950 nm spectra of the penetration depth of radiation were calculated for the blood and skin tissue, based on the optical properties of biological tissues; the fraction of radiation reaching blood in a blood vessel was estimated during supravenuous irradiation of blood. The optimal wavelengths were determined for intra- and supravenuous irradiation of blood to ensure the efficient formation of molecular oxygen in blood due to photodissociation of oxyhemoglobin. For optical radiation of different wavelengths, associated with photochemotherapy changes of blood oxygenation characteristics in the degree of oxygen saturation of hemoglobin, concentration of oxyhemoglobin, partial pressure of oxygen as well as in the concentration of some products of metabolism which were initiated by oxyhemoglobin photodissociation were demonstrated. Physical reasons of changes under the influence of photochemotherapy for the oxygenation characteristics and the content of the metabolic products were examined.

Key words: blood, skin tissues, depth for penetration of optical radiation, oxyhemoglobin photodissociation