

УДК 681.2.082:615.849.19

Дунаев А. В., канд. техн. наук,

Жеребцов Е. А., студент

Орловский государственный технический университет

Применение методов неинвазивной спектрофотометрии для исследования системы микроциркуляции крови при низкоинтенсивной лазерной терапии

Ключевые слова: неинвазивная спектрофотометрия, лазерная доплеровская флоуметрия, низкоинтенсивная лазерная терапия

В статье рассмотрены возможности и преимущества использования спектрофотометрических методов неинвазивной диагностики для исследования реакции системы микроциркуляции крови при контроле эффективности низкоинтенсивной лазерной терапии. С методологической и технической точек зрения наиболее перспективными признаны методы оптической тканевой оксиметрии и лазерной доплеровской флоуметрии.

В современной отечественной медицине в последние десятилетия особое место среди физиотерапевтических методов лечения занимает низкоинтенсивная лазерная терапия (НИЛТ) благодаря таким специфическим свойствам низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ), как монохроматичность и высокая спектральная плотность мощности, когерентность, которая приводит к малой расходимости луча света, возможность простой фокусировки (расфокусировки) и транспортировки излучения оптическими линзами и зеркалами, возможность передачи энергии по оптическим волокнам (световодам), прозрачность для НИЛИ верхних слоев кожи и слизистых оболочек органов человека и животных и т. д. Однако споры о механизмах действия НИЛИ на биоткань и дозировках НИЛТ не прекращаются до сих пор. Рекомендуемые значения плотности мощности и энергетической экспозиции («дозы») в разных руководствах по НИЛТ различаются в сотни и более раз (соответственно от 0,5 до 200 мВт/см² и от 0,1 до 120 Дж/см²). На сегодняшний день актуальными и спорными остаются вопросы наличия самого лечебного эффекта биостимуляции от НИЛИ до порога температурного нагрева, вопросы дозовой зависимости этого эффекта, возможность его объективизации, контроля и соответствующего метрологического обеспечения всех процедур НИЛТ.

В настоящее время в связи с интенсивным развитием диагностических методов, основанных на неинвазивной медицинской спектрофотометрии (НМС) — фотоплетизмографии (ФПГ), пульсоксиметрии (SaO₂), оптической тканевой оксиметрии (ОТО), лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД) и др., все более актуальным становится вопрос о возможности их применения в качестве методов контроля эффективности НИЛТ в режиме реального времени. Связано это с тем, что современные приборы НМС достаточно достоверно и легко могут регистрировать изменения в микроциркуляции и оксигенации крови, что в свою очередь является одним из ключевых моментов при оценке лечебного эффекта от НИЛИ, так как в медицинской литературе вопрос о стимуляции периферического кровообращения в тканях при НИЛТ уже не вызывает споров (например, [1]).

Следует отметить, что попытки использовать методы НМС (например, биофотометрию, фотоплетизмографию и т. д. [2]) для индикации реакции системы микроциркуляции крови (МЦК) на лазерное терапевтическое излучение ранее неоднократно предпринимались.

Так, известны работы по использованию метода пульсоксиметрии для определения динамики степени оксигенации биотканей пальцев руки при воздействии на поверхность кожного покрова лазерным излучением разных длин волн, лежащих в полосе поглощения гемоглобина крови человека [3]. Авторы указывают, что оптическое просветление кожи пальцев руки в области воздействия лазерным излучением с мощностью 5 мВт приводит к заметному (порядка 4 %) изменению степени оксигенации в капиллярном русле в процессе облучения. Не прибегая к просветлению тканей, авторы наблюдали уменьшение оксигенации на 4 % при воздействии лазером мощностью 2 Вт. Метод пульсоксиметрии имеет известные преимущества,

к которым можно отнести большой опыт использования в медико-биологической практике и относительно высокую повторяемость результатов измерений. Однако данный метод дает информацию о насыщении кислородом только артериальной крови (SaO_2) и только в моменты систолического заполнения артерий кровью, что уменьшает его ценность в рамках исследования реакции системы МЦК при НИЛТ, так как не передает информации о происходящих изменениях в других частях микроциркуляторного русла. Сами авторы указывают, что для получения более детального представления о происходящих в биоткани процессах необходимо расширение набора измеряемых параметров, в частности учет скорости микроциркуляции крови.

Также в этой области известны работы, посвященные изучению влияния излучения полупроводникового лазера с длиной волны 675 нм и различной плотностью мощности на степень оксигенации в микроциркуляторном русле кожи руки *in vivo* методом спектроскопии обратного диффузного отражения в видимом диапазоне [4]. Авторы отмечают, что при облучении ткани, в частности кожи руки, происходит рост степени оксигенации. Однако отмеченный эффект проявляется лишь при достаточно больших плотностях мощности лазерного воздействия (0,3–7,5 Вт/см²). Указывается даже на появление ожогов в области облучения. Наблюдаемый рост оксигенации авторы объясняют сильным тепловым эффектом, имеющим место в ходе воздействия с подобными большими мощностями. Отмечается также, что в опытах с лазерным облучением, имеющим малую плотность мощности (менее 100 мВт/см²) и длины волн 630 и 675 нм, не обнаружено заметных изменений степени оксигенации и относительной концентрации гемоглобина в микроциркуляторном русле. Авторами выдвигается предположение, что реакцию ткани на НИЛИ возможно удастся определить другими методами, например с помощью изучения доплеровского рассеяния от движущихся частиц крови в области воздействия. Следует отметить, что в данных экспериментах определение оксигенации крови проводилось с использованием лабораторной экспериментальной установки, реализующей достаточно оригинальный принцип измерения, т. е. не использовался какой-либо серийно выпускаемый тканевый оксиметр, имеющий известные метрологические характеристики по точности и чувствительности.

В данной работе предлагается для исследования динамики кислородного обмена в тканях под действием НИЛИ использовать метод оптической тканевой оксиметрии, лишенный указанных выше недостатков пульсоксиметрии и спектроскопии обратного диффузного отражения. Портативный спектрофотометрический неинвазивный прибор «Спектротест» регистрирует усредненные значения

показателя сатурации крови (SO_2) по всему артерио-венозному руслу системы МЦК без привязки вычислений к кардиоритму в перфузии тканей кровью [5], что дает возможность ориентировочно оценивать по результатам измерений SO_2 потребление кислорода в исследуемых тканях непосредственно во время проведения процедуры НИЛТ. Перспективность использования метода ОТО для исследования системы МЦК при проведении импульсной НИЛТ, например в ближнем ИК-диапазоне, обусловлена также рядом конструктивных и методологических преимуществ.

Во-первых, достаточный диагностический объем обследования биоткани (глубина зондирования порядка 2–3 мм), необходимый для стабильной регистрации воздействия НИЛИ, в схемах «на отражение» приборов НМС (рис. 1).

Во-вторых, возможность расположения компактной оптической головки с излучателями и фотоприемником на теле пациента — конструктивного расположения измерительной головки как снаружи облучающего терминала лазерного терапевтического аппарата (АЛТ), так и внутри него.

В-третьих, высокая чувствительность метода ОТО, что объективно показывают различные функциональные (нагрузочные) тесты и пробы (дыхательная, тепловая, холодовая, окклюзионная и др.) [5, 6].

При исследовании системы МЦК методом ОТО для контроля эффективности НИЛТ по критерию оценки потребления кислорода в облучаемых тканях достаточно информативным параметром является параметр удельного потребления кислорода в тканях ($\text{SO}_{2\text{уд}}$), который определяется по формуле [6]:

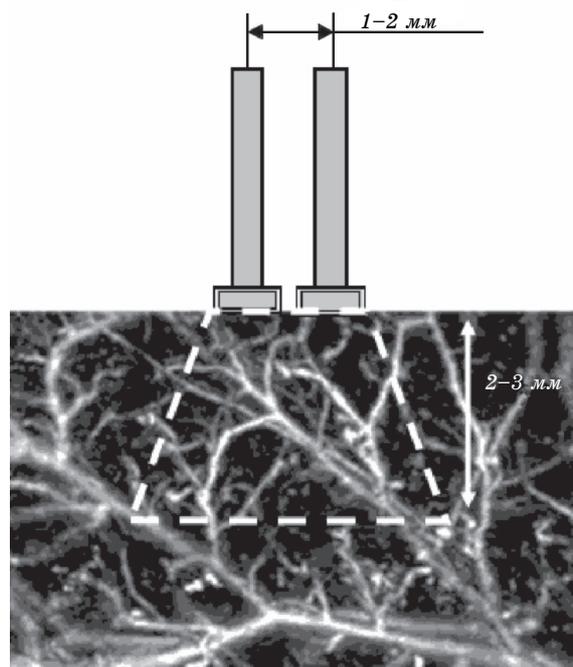


Рис. 1 Сплетение микрососудистого русла и объем обследования в НМС в схеме «на отражение»

$$SO_{2\text{вд}} = \frac{100 - SO_2}{V_{\text{кр}}}, \quad (1)$$

где $V_{\text{кр}}$ — средний уровень объемного капиллярного кровенаполнения поверхностных слоев мягких биологических тканей (также регистрируется тканевым оксиметром «Спектротест»).

Данный параметр характеризует общее потребление кислорода в тканях на единицу объема циркулирующей в них крови и может выступать в качестве индикатора реакции системы МЦК на НИЛИ. Параметр $V_{\text{кр}}$ в ОТО характеризует среднее по диагностическому объему статическое заполнение эритроцитами крови сосудистого русла системы МЦК (в англоязычной литературе называется показателем общего гемоглобина крови или капиллярным гематокритом крови) и также может быть использован в качестве оценки процессов микрогемодинамики при проведении НИЛТ.

Наряду с контролем динамики оксигенации тканей необходимо при исследовании системы МЦК регистрировать и динамику изменения кровоснабжения периферических тканей под действием НИЛИ. Наиболее чувствительным методом регистрации динамики процессов МЦК в биотканях в настоящее время считается метод ЛДФ, позволяющий определять среднюю перфузию тканей кровью (показатель микроциркуляции — ПМ) на уровне микроциркуляторного русла биоткани, а также частотные ритмы процессов микрогемодинамики [7]. Индекс перфузии (ПМ) в ЛДФ характеризует не только объем циркулирующей в ткани крови (как близкий по своему медико-биологическому смыслу параметр $V_{\text{кр}}$ в методе ОТО), но и среднестатистическую скорость движения эритроцитов в микрососудах, что является необходимым при исследовании системы МЦК при НИЛТ.

Для исследования влияния НИЛИ на динамику параметров системы МЦК был проведен ряд пробных экспериментов с использованием лазерного доплеровского флоуметра «ЛАКК-02» и АЛТ «УЛАН-БЛ-20». К особенностям данного аппарата можно отнести возможность регулировки средней мощности терапевтического воздействия посредством изменения частоты следования импульсов излучения в широком диапазоне от 2 до 30000 Гц, энергия импульса при этом фиксирована и равна 1 мкДж. Генерируемое лазерное излучение имеет длину волны 830 нм в ближней ИК-области спектра.

Целью проведенных экспериментов являлось установление возможности регистрации с помощью метода ЛДФ отклика в параметрах системы МЦК облучаемой биоткани при импульсной НИЛТ в ИК-диапазоне.

В качестве облучаемой области у здорового добровольца при моделировании НИЛТ была выбрана внутренняя сторона предплечья со стороны локтевого сгиба. Излучатель АЛТ «УЛАН-БЛ-20» прикреплялся к штативу и подводился к коже (рис. 2).

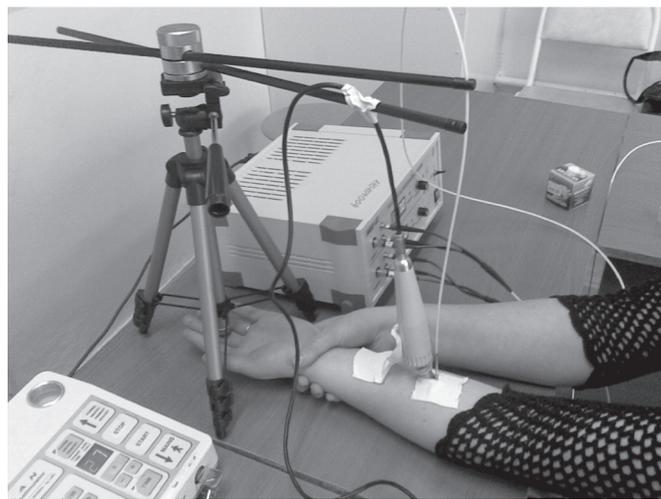


Рис. 2 | Внешний вид экспериментальной установки

В непосредственной близости от излучателя нормально к поверхности кожи, без надавливания устанавливался составной световодный зонд диаметром 3 мм аппарата «ЛАКК-02».

В первой серии экспериментов выбрали частоту следования импульсов 30 кГц. Запись ЛДФграммы длилась в течение 2 мин. Затем включали АЛТ на определенное время, отмеряемое секундомером, запись сигнала ЛДФ продолжалась. После истечения времени воздействия ЛДФграмма записывалась еще 3–4 мин. По данному алгоритму эксперимент повторяли для времен экспозиции НИЛИ от 10 до 120 с. Таким образом, каждый раз изменялась энергетическая экспозиция («доза») при НИЛТ.

Во второй серии экспериментов использовали алгоритм, аналогичный вышеописанному, только для изменения энергетической экспозиции воздействия вместо времени изменяли частоту следования импульсов, а время экспозиции оставалось фиксированным. В АЛТ использовали частоты от 80 до 30 000 Гц. При проведении экспериментов особое внимание уделялось минимизации артефактов при снятии ЛДФграмм. Полученные данные анализировали в среде MathCAD, а также встроенными средствами в интерфейсную программу «ЛАКК-02» (версия 2.20.0.507WL).

При обработке данных сигнал ЛДФ разбивали на три фрагмента: участок, предшествующий НИЛТ и являющийся контрольным, участок со временем экспозиции НИЛТ и участок, соответствующий времени непосредственно после облучения. При обработке ЛДФграмм использовали участки до и после воздействия НИЛИ, так как сигнал ЛДФ, соответствующий длительности процедуры НИЛТ, в настоящей работе пока не анализировался из-за трудностей учета влияния лазерного излучения от АЛТ на измерительный канал аппарата «ЛАКК-02». Фрагменты зарегистрированной ЛДФграммы до и после процедуры НИЛТ приведены на рис. 3. Параметры процедуры НИЛТ для данного примера: мощность в импульсе — 5 Вт, частота следования

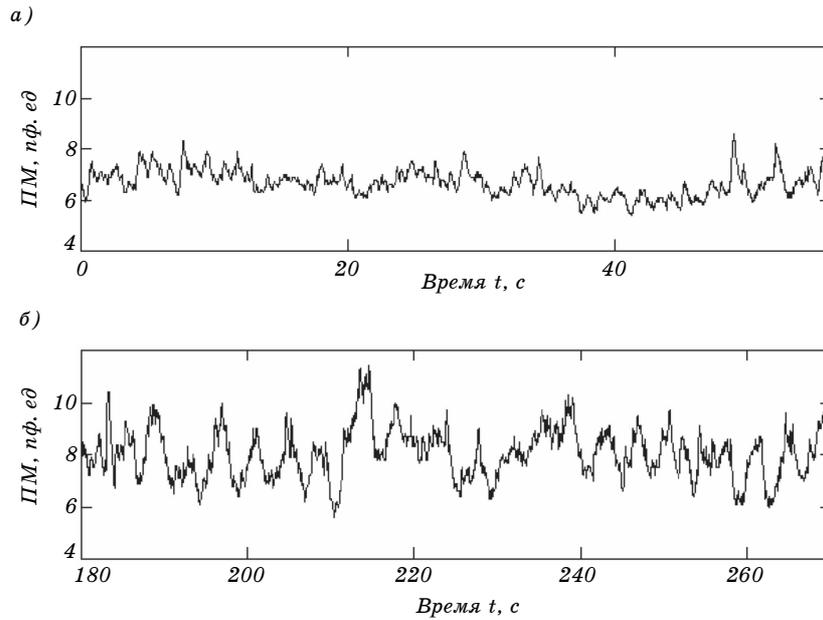


Рис. 3. Фрагменты экспериментальных ЛДФграмм: а — фрагмент до процедуры НИЛТ; б — после процедуры НИЛТ

импульсов — 30 кГц, длительность импульсов — 200 нс, площадь облучения — 1 см², энергетическая экспозиция — 3,3 Дж/см². Амплитудно-частотные спектры приведенных фрагментов ЛДФграмм представлены на рис. 4.

Сигналы, соответствующие исследуемым фрагментам, подвергали фильтрации цифровым фильтром высоких частот с частотой среза 0,5 Гц для уменьшения влияния артефактов, лежащих в низкочастотной области. Затем для участков вычисляли среднеквадратическое отклонение (СКО) сигнала и для каждого эксперимента коэффициент $K_{СКО}$ — отношение СКО сигнала после НИЛТ к СКО до облучения:

$$K_{СКО} = \sigma_2 / \sigma_1, \quad (2)$$

где σ_1 и σ_2 — СКО сигнала до и после НИЛТ.

Аналогично вычислял коэффициент K_{cp} — отношение среднего арифметического сигнала после

воздействия к среднему арифметическому сигнала до воздействия:

$$K_{cp} = M_2 / M_1, \quad (3)$$

где M_1 и M_2 — среднее арифметическое ПМ до и после воздействия НИЛИ.

В рамках описываемой группы пробных экспериментов наблюдалось увеличение среднего арифметического и СКО ПМ в первом приближении пропорционально энергетической экспозиции НИЛИ. Примеры графиков полученных зависимостей коэффициентов K_{cp} и $K_{СКО}$ от энергетической экспозиции НИЛИ представлены на рис. 5 и 6.

В общем случае достаточно выраженные изменения ПМ наблюдались в частотном диапазоне, соответствующем пульсовым ритмам. Известно, что увеличение амплитуды пульсовой волны при повышении перфузии (рост параметра M — среднего арифметического значения показателя микро-

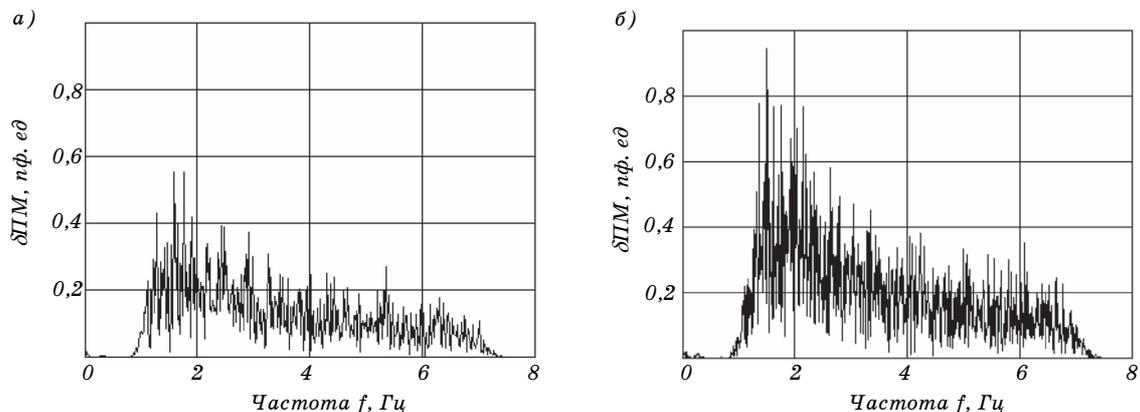


Рис. 4. Примеры амплитудно-частотных спектров исследуемых фрагментов ЛДФграмм с удаленной низкочастотной составляющей до (а) и после (б) процедуры НИЛТ

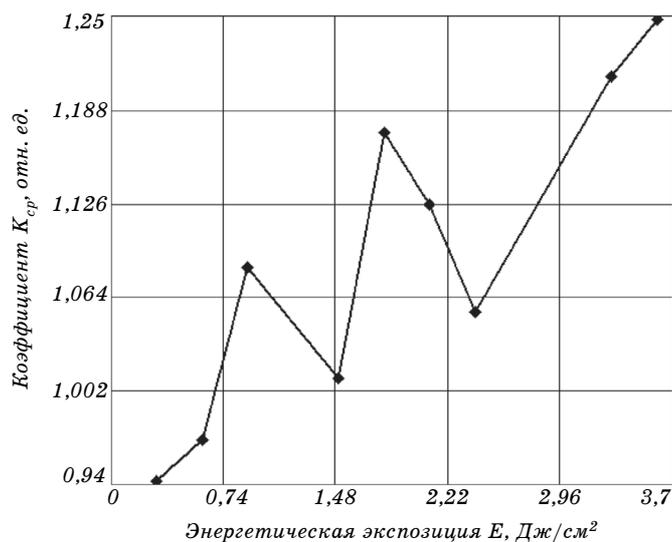


Рис. 5 Зависимость коэффициента $K_{ср}$ от энергетической экспозиции НИЛИ

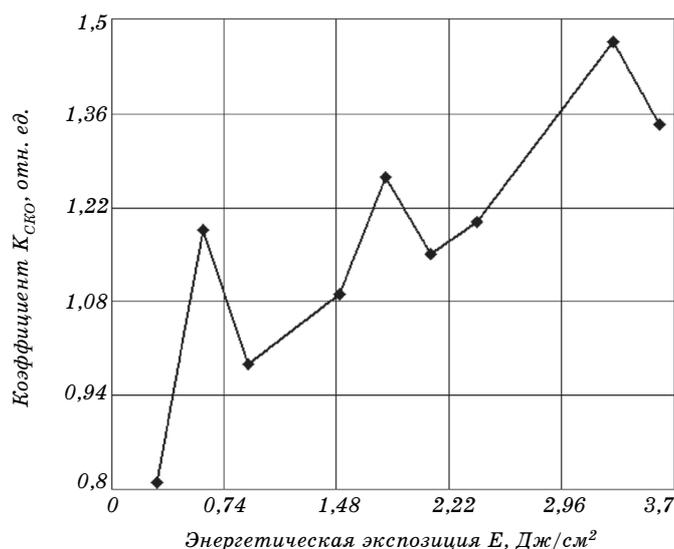


Рис. 6 Зависимость коэффициента $K_{ско}$ от энергетической экспозиции НИЛИ

циркуляции), регистрируемые в одинаковый временной интервал, означает увеличение притока в микроциркуляторное русло артериальной крови [7]. Следовательно, влияние НИЛИ на систему МЦК может быть также зарегистрировано и методом оптической тканевой оксиметрии, так как увеличение притока артериальной крови повлечет за собой увеличение оксигенации биоткани. Результаты обработки экспериментальных фрагментов ЛДФграмм, отражающих интенсивность микроциркуляции периферических тканей, показывают наличие стимулирующего эффекта от НИЛТ, характеризующегося увеличением кровоснабжения тканей.

Таким образом, метод ЛДФ позволяет регистрировать отклик в параметрах системы МЦК облучаемой биоткани при НИЛТ, а использование других методов НМС (например, ОТО) представляется весьма перспективным в рамках решения проблемы построения биотехнических систем для НИЛТ с контролем эффективности воздействия. Кроме того, рассмотренные методы ОТО и ЛДФ позволяют изучать влияние на микроциркуляторное русло обычного теплового эффекта, возникающего при воздействии на биоткани НИЛИ, особенно если аппаратно обе технологии могут быть выполнены в едином приборном варианте. Методика учета температурных осцилляций биоткани при НИЛТ, влияние локального нагрева на систему МЦК и критерий этого влияния на общий эффект от облучения, а также учет эффекта плацебо при лазерной терапии являются предметом дальнейших исследований.

Литература

1. Клебанов Г. И. Низкоинтенсивное лазерное облучение вызывает priming лейкоцитов // Использование лазеров для диагностики и лечения заболеваний. М.: Изд-во ЛАС, 1996. С. 11–14.
2. Александров М. Т. Лазерная клиническая биофотометрия (теория, эксперимент, практика). М.: Техносфера, 2008.
3. Аксенов Е. Т., Мокрова Д. В. Динамика оксигенации гемоглобина крови под воздействием лазерного излучения // Биомедицинская радиоэлектроника. 2008. № 11. С. 39–41.
4. Стратонников, А. А., Ермишова Н. В., Лощенов В. Б. Диагностика реакции капиллярного русла тканей на лазерное излучение // Квантовая электроника. 2002. № 10. С. 917–922.
5. Афанасьев А. И., Рогаткин Д. А., Сергиенко А. А., Шумский В. И. Методики и аппаратура неинвазивной оптической тканевой оксиметрии // Голография: Фундаментальные исследования, инновационные проекты и нанотехнологии: Материалы XXVI школы по когерентной оптике и голографии / Под. ред. А. Н. М а л о в а. Иркутск: Папирус, 2008. С. 505–513.
6. Крупаткин А. И., Рогаткин Д. А., Сидоров В. В. Клинико-диагностические показатели при комплексном исследовании микрогемодинамики и транспорта кислорода в системе микроциркуляции // Материалы VI междунар. конф. «Гемореология и микроциркуляция». Ярославль, ЯГПУ им. К. Д. Ушинского, 2007. С. 106.
7. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: Руководство для врачей / Под. ред. А. И. К р у п а т к и н а, В. В. С и д о р о в а. М.: Медицина, 2005. 256 с.