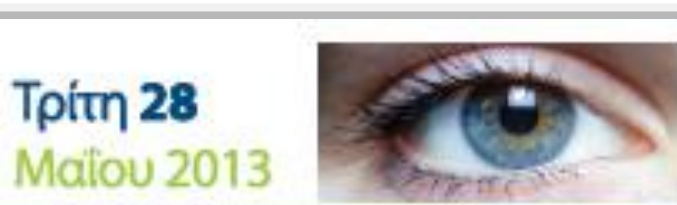




ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ LASER ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ – Εισαγωγή και βασικές αλληλεπιδράσεις της ακτινοβολίας με βιοδομές

Μυρσίνη Μακροπούλου,

**Αναπλ. Καθηγήτρια Τομέα Φυσικής,
Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών,
Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα**



Εφαρμογές των Laser στη Βιοϊατρική:

**Εισαγωγή και βασικές αλληλεπιδράσεις
της ακτινοβολίας με βιοδομές**

**Μυρσίνη Μακροπούλου,
Αν. Καθηγήτρια, ΣΕΜΦΕ/ΕΜΠ**





1895: ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΩΝ ΑΚΤΙΝΩΝ X ΚΑΙ ΤΗΣ ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑΣ



Φυσική

Ιατρική

Ατομική και Πυρηνική Φυσική

Ακτινοδιαγνωστική,
Ακτινοθεραπεία,
Πυρηνική Ιατρική

Ιατρική Φυσική
- Ακτινοφυσική

1961: ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΩΝ ΑΚΤΙΝΩΝ LASER



Φυσική

Ιατρική

Ατομική και Μοριακή Φυσική

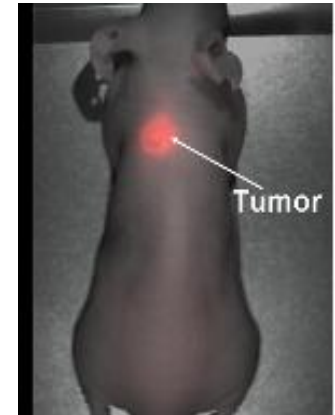
Χειρουργική με lasers, Διάγνωση
με lasers, Έρευνα - Αναλύσεις

Ιατρική Φυσική
- lasers

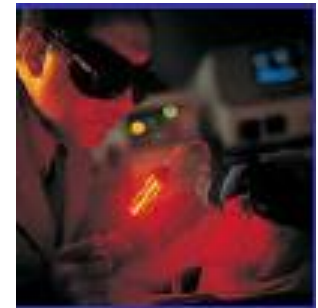


■ *Ακτινοβολία laser και βιοϊατρικές εφαρμογές – Εισαγωγή*

❖ Τα laser, αυτή η σχετικά νέα (γενέθλιο έτος το 1961) και αποκλειστικά **τεχνητή πηγή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας**, έχουν εισβάλλει επαναστατικά σε όλους τους τομείς της ζωής μας, ιδιαίτερα δε στη Βιολογία και στην Ιατρική, όπου ο κατάλογος των εφαρμογών τους εμπλουτίζεται καθημερινά.



Οι βιοϊατρικές εφαρμογές των laser διακρίνονται σε δύο κύρια βασικά πεδία. Το ένα αφορά τις **διαγνωστικές εφαρμογές** (*in vivo*, πριν ή κατά τη διάρκεια χειρουργικής επέμβασης και *in vitro*, σε μοριακό ή κυτταρικό επίπεδο), ενώ το δεύτερο αφορά **θεραπευτικές εφαρμογές** (βιοδιέγερση, αφαίρεση ιστών – χειρουργικές τομές, φωτοδυναμική θεραπεία του καρκίνου, φυσικοθεραπεία κ.ά.).



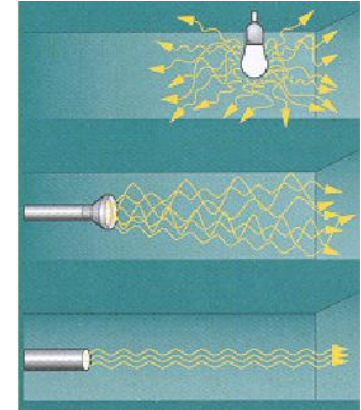


ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ LASERS ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ

a) Συμφωνία

b) Κατευθυντικότητα

Η δέσμη μπορεί να εστιασθεί σε κηλίδα της τάξης του μήκους κύματος και να οδηγηθεί αποτελεσματικά σε οπτική ίνα.



c) Μονοχρωματικότητα

→ Επιλεκτική μοριακή απορρόφηση



d) Λαμπρότητα

→ Μεγάλη ισχύς - ειδικές δράσεις

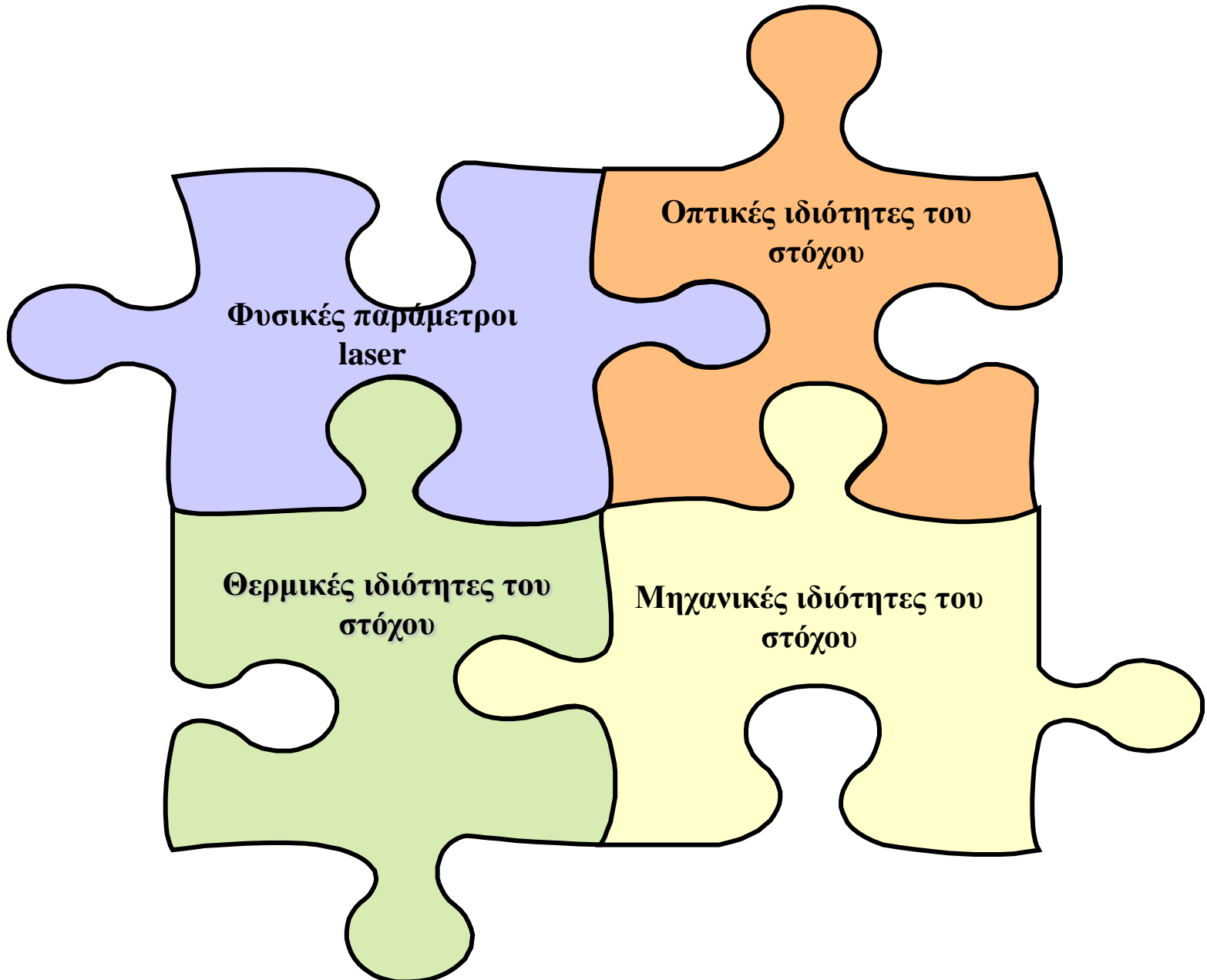
e) Συνεχής ή παλμική λειτουργία

→ Προϋπόθεση για κάποιες εφαρμογές





Η βιολογική δράση της ακτινοβολίας laser εξαρτάται από:

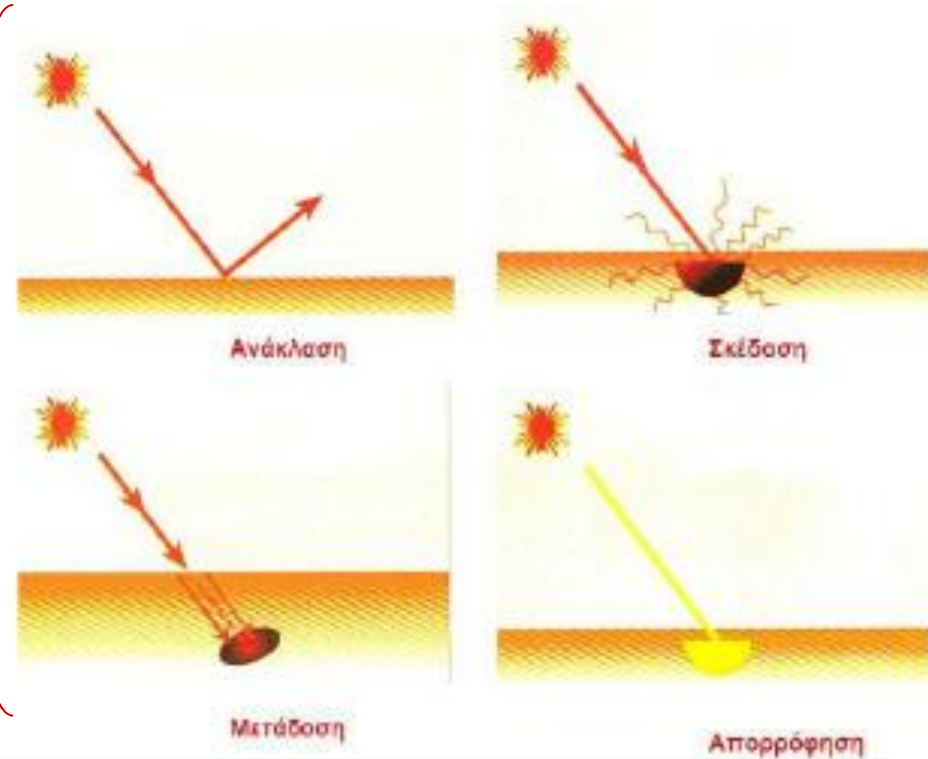




❖ Πρωταρχική αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας laser

Όταν μια δέσμη laser προσπέσει πάνω στην επιφάνεια ενός ιστού μπορεί να ανακλαστεί, να σκεδαστεί, να μεταδοθεί ή να απορροφηθεί.

Τα κύρια οπτικά φαινόμενα κατά την ακτινοβολήση με δέσμη laser:





Απορρόφηση της ακτινοβολίας laser

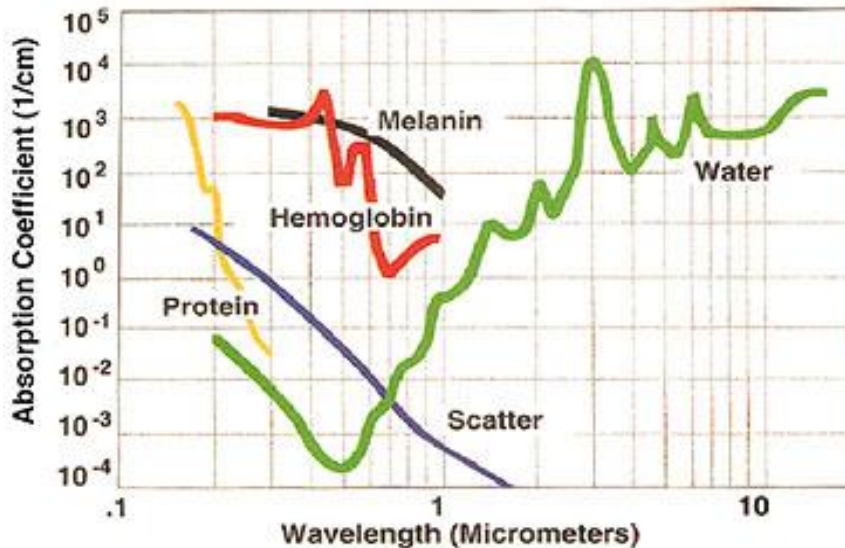
1. Εξαρτάται από τη συγκέντρωση και το φάσμα απορρόφησης ορισμένων μορίων («**χρωμοφόρα**») του κάθε ιστού.
2. Εξαρτάται από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας:

• **Υπεριώδες (UV)** - απορροφούν ισχυρά οι πρωτεΐνες.

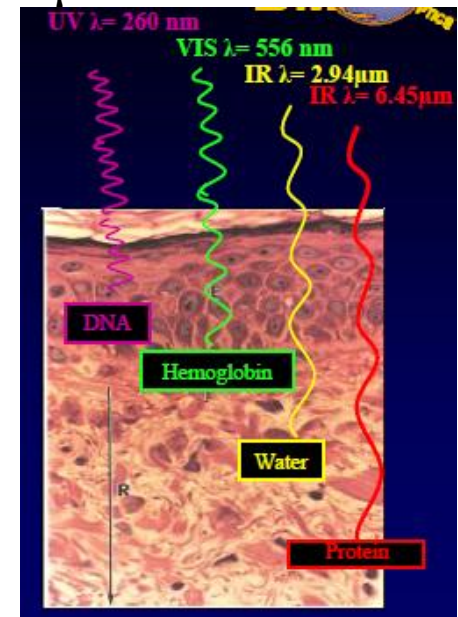
• **Ορατό** - απορροφούν η αιμοσφαιρίνη, η μελανίνη και άλλα χρωμοφόρα συστατικά των ιστών.

• **700 - 900 nm** - το λεγόμενο “οπτικό παράθυρο” όπου η απορρόφηση ελαχιστοποιείται (μέγιστο βάθος διείσδυσης) στους ιστούς.

• **Υπέρυθρο (IR)** - απορροφά κυρίως το νερό, με μέγιστο στα 2,94 μm .

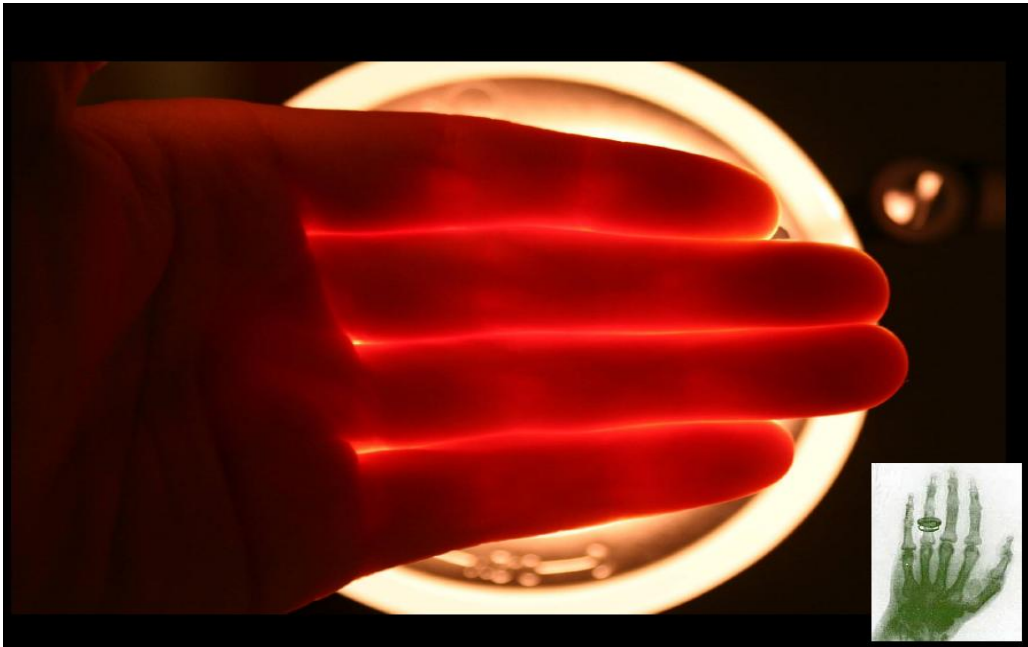
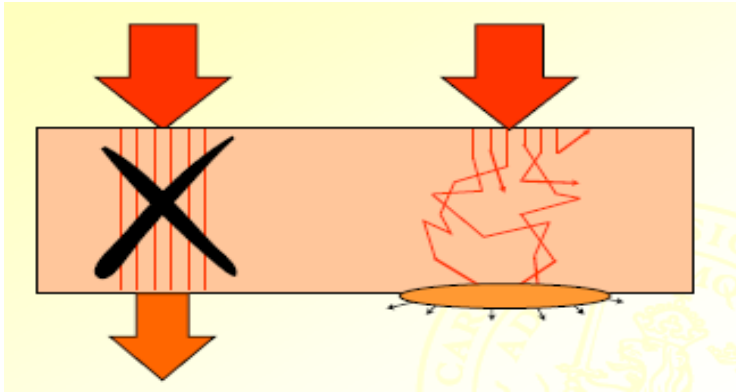


Συντελεστές απορρόφησης διαφόρων βιομορίων ως συνάρτηση του μήκους κύματος





Σκέδαση της ακτινοβολίας laser

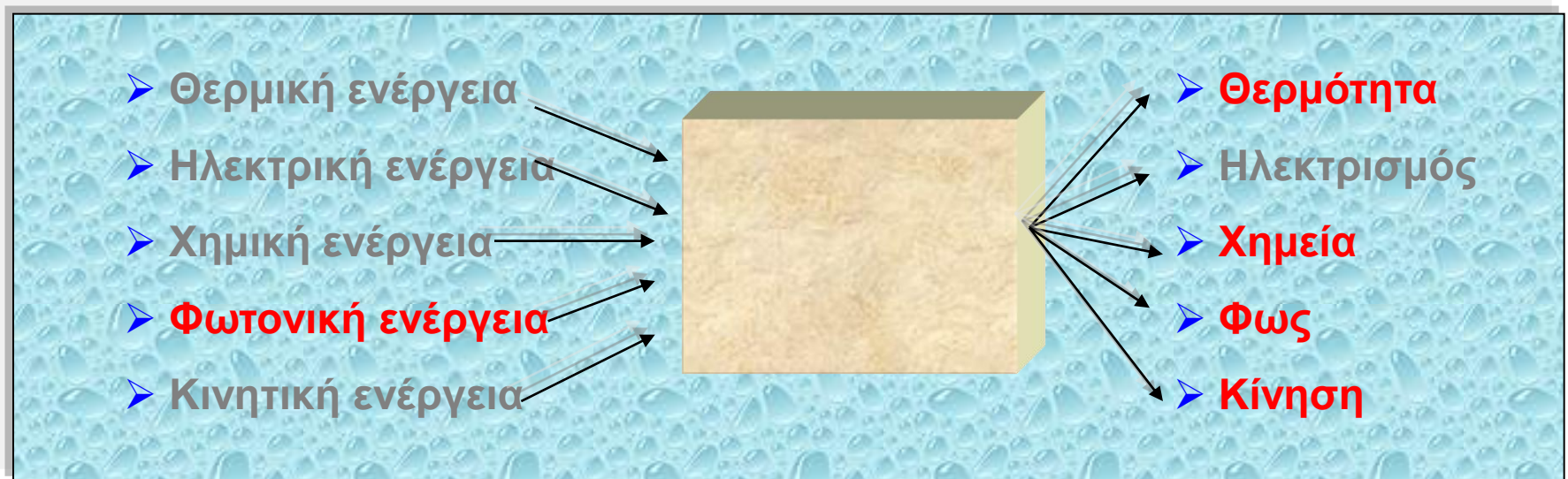


(From: Stefan Andersson-Engels, Lund University, Department of Physics, Lund, Sweden)



ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ LASER ΣΕ ΒΙΟΔΟΜΕΣ

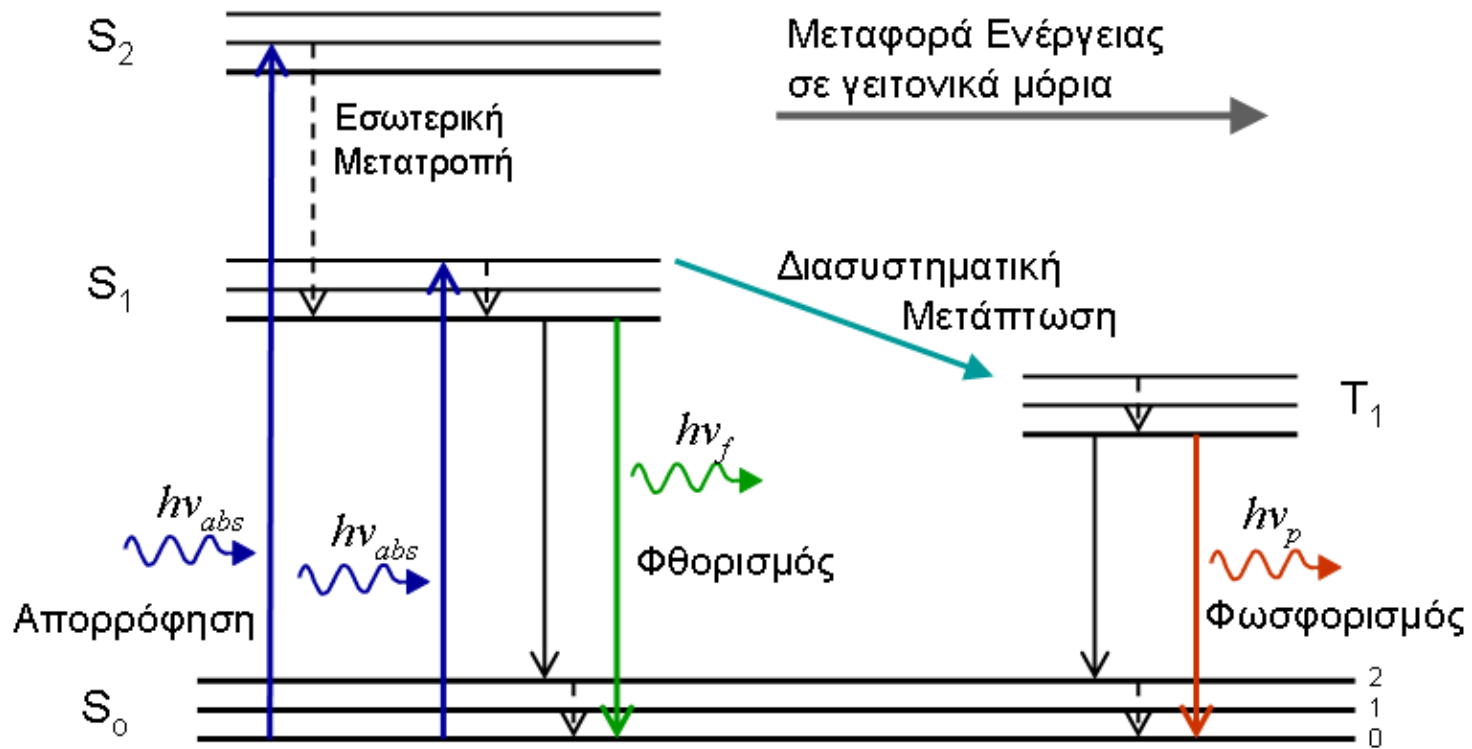
❖ Η φωτεινή ενέργεια που απορροφάται από την έμβια ύλη μετατρέπεται σε **ενέργεια χημικών δεσμών**, σε **θερμότητα**, σε **μηχανική ενέργεια** (κύματα πίεσης), ενέργεια ηλεκτρικού πεδίου ή ακόμη και σε **φωτεινή ενέργεια** (φθορισμός – φωσφορισμός).



❖ Ανάλογα με το μηχανισμό ενεργειακής μετατροπής, τα **φωτοβιολογικά αποτελέσματα** διακρίνονται σε: **φωτο-χημικά**, **φωτο-θερμικά** και **φωτο-μηχανικά αποτελέσματα**.



Μηχανισμοί δράσης των laser στους ιστούς - Φωτοχημική δράση



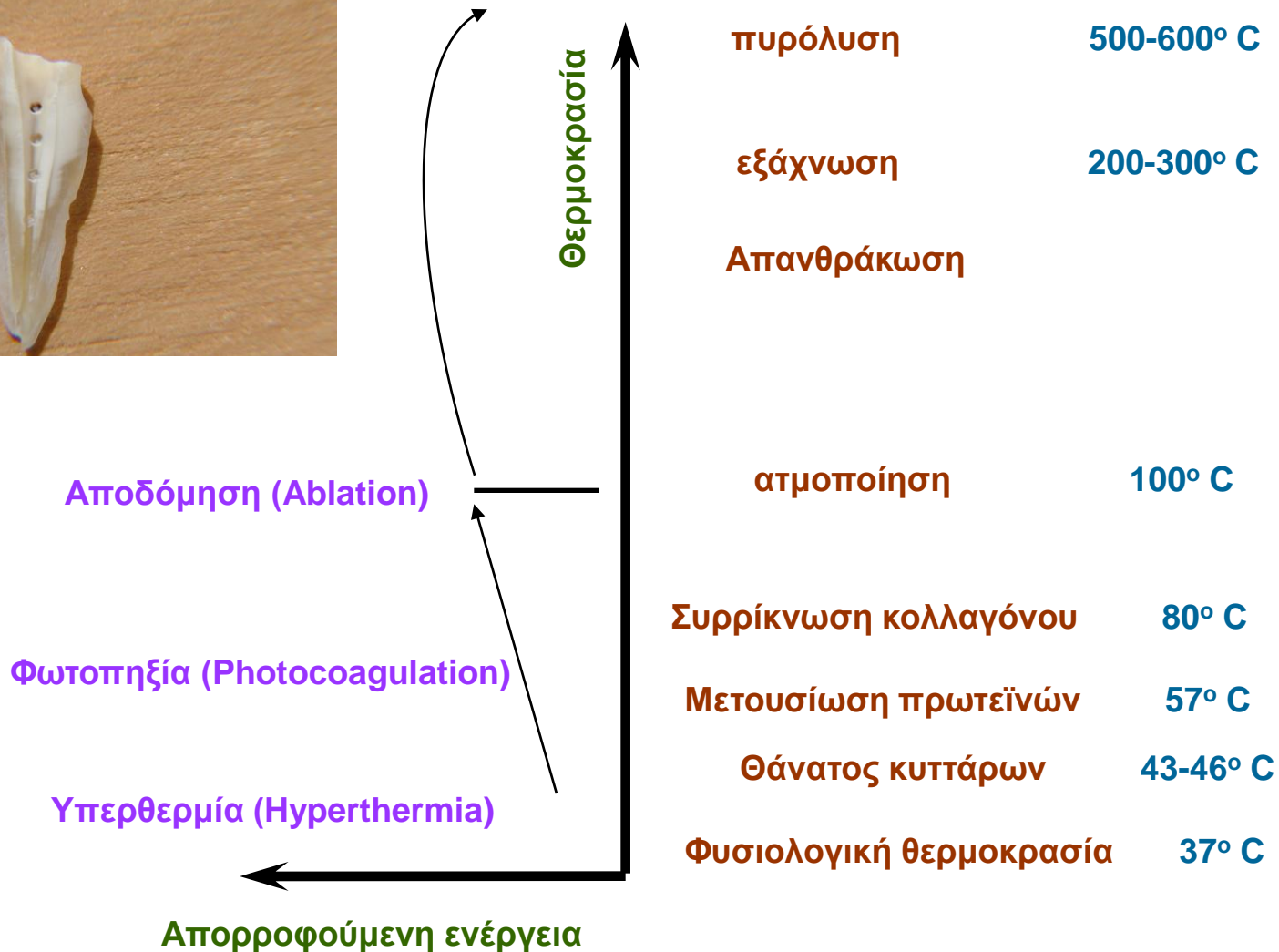
• **Φωτοχημική δράση:** Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία laser, στην ορατή ή στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος, απορροφάται από φυσικά ή «εξωγενή» χρωμοφόρα βιομόρια των ιστών και προκαλεί ηλεκτρονιακές διεγέρσεις (**μονοφωτονική διεγερση, πολυφωτονική διεγερση**) με επακόλουθα φωτοβιοχημικά αποτελέσματα.

• Οι κυριότερες εφαρμογές είναι η **φωτοδυναμική θεραπεία καρκινικών όγκων**, η **βιοδιέγερση για επούλωση πληγών**, η **φωτοδιάγνωση με laser** κ.ά.



Μηχανισμοί δράσης των laser στους ιστούς - Φωτοθερμική δράση

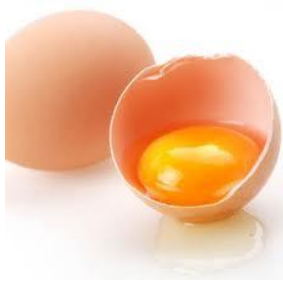
Φωτοθερμικές αλλοιώσεις σε ιστούς που ακτινοβολούνται με laser





Μηχανισμοί δράσης των Laser στους ιστούς - Φωτοθερμική δράση

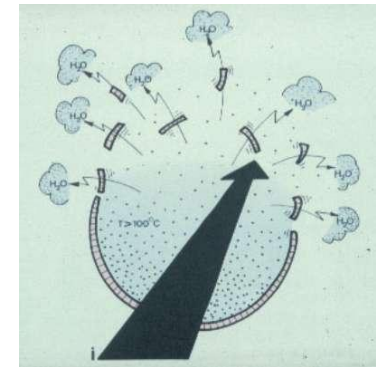
Φωτοπηξία. Στην πήξη η μόνη μακροσκοπικά παρατηρούμενη αλλαγή είναι μια λεύκανση της ακτινοβοληθείσας επιφάνειας. Αυτή η **λεύκανση** φανερώνει ανάκλαση όλων των ορατών μηκών κύματος του φωτός και προκαλείται από βασικές αλλαγές στη δομή του ιστού, κάτι που οδηγεί σε αυξημένη σκέδαση και πολλαπλές διαθλάσεις και ανακλάσεις της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.



Πήξη



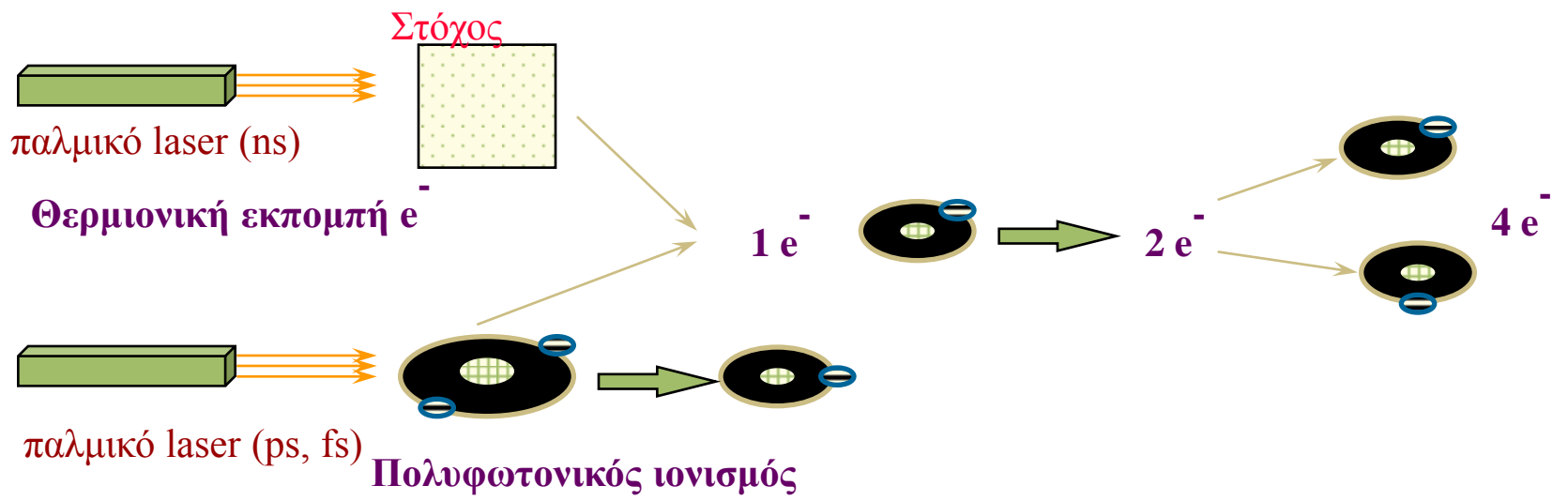
Ατμοποίηση



• **Φωτοθερμική δράση:** Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία Laser, στην ορατή ή στην υπέρυθρη περιοχή του φάσματος, απορροφάται από συστατικά βιομόρια των ιστών, αυξάνει τις ταλαντωτικές κινήσεις των μορίων και μετατρέπεται σε θερμότητα. Ανάλογα με τις οπτικές και τις θερμικές ιδιότητες του βιολογικού στόχου οι θερμοκρασίες που αναπτύσσονται οδηγούν σε **υπερθερμία** (θερμοκρασία $\leq 43^\circ \text{C}$, εφαρμογές στη βιοδιέγερση, φυσιοθεραπεία, αλλά και στην ακτινοθεραπεία **καρκινικών όγκων**), **φωτοπηξία** (θερμοκρασία $60^\circ \div 80^\circ \text{C}$, εφαρμογές σε αιμόσταση **μικρών αγγείων**, **φωτοπηξία στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια κ.ά.**), **αποδόμηση** (θερμοκρασία $\geq 100^\circ \text{C}$, εφαρμογές στη χειρουργική).



ΦΩΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ



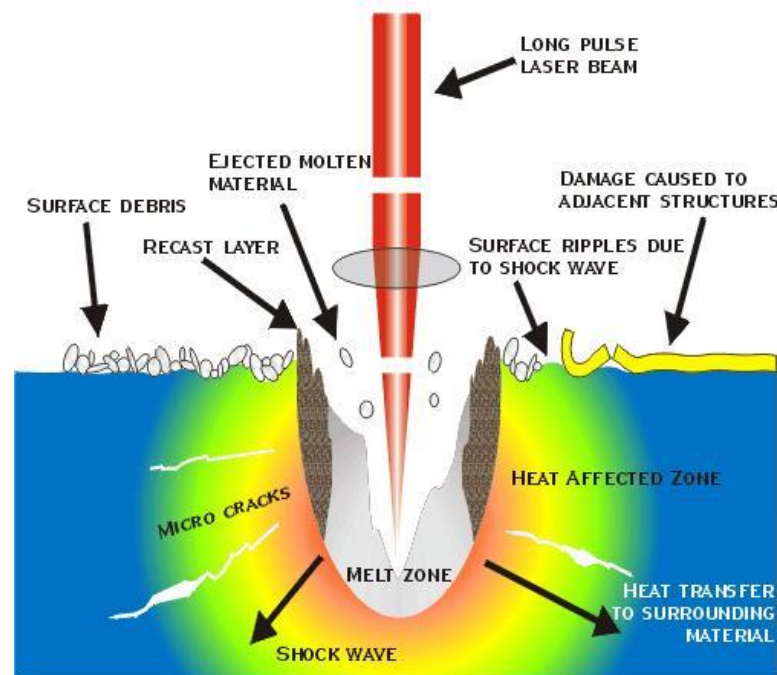


Μηχανισμοί δράσης των laser στους ιστούς - Φωτομηχανική δράση

Δημιουργία μηχανικών κυμάτων

Φωτο-διηλεκτρική διάσπαση: Συμβαίνει σε εντάσεις ακτινοβολίας laser της τάξης των 10^{10} W.cm⁻², οι οποίες μπορούν να επιτευχθούν με παλμικό laser στο εστιακό του επίπεδο. Η δημιουργία πλάσματος οδηγεί σε shock wave, το οποίο διαδίδεται αρχικά με υπερηχητική ταχύτητα.

Θερμο-ελαστική διαδικασία: Η φωτεινή ενέργεια laser απορροφάται από ορισμένη μάζα, δημιουργείται βαθμίδα θερμοκρασίας λόγω μετατροπής της φωτεινής ενέργειας σε θερμότητα, η οποία οδηγεί σε ακουστικό κύμα αν η θερμότητα που αναπτύσσεται δεν οδηγεί σε αλλαγή φάσης, δηλαδή η ενέργεια laser είναι κάτω από το κατώφλι εξάτμισης.

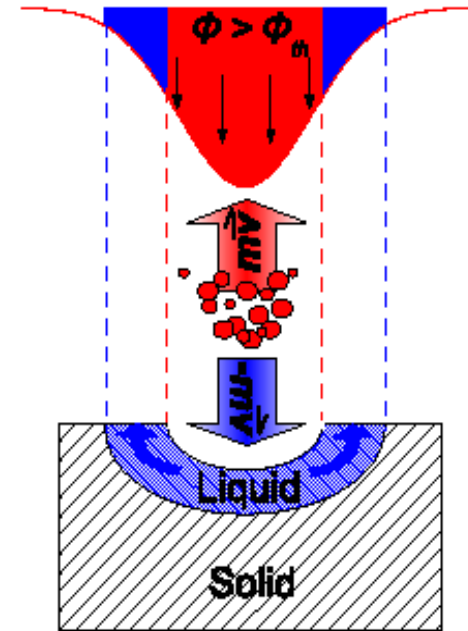




Μηχανισμοί δράσης των Laser στους ιστούς - Φωτομηχανική δράση

Φωτο-εκρηκτική εξάτμιση:

Συμβαίνει κατά τη φωτοαποδόμηση ιστών, όταν η απορροφούμενη πυκνότητα ενέργειας της ακτινοβολίας Laser ξεπερνά κάποιο κατώφλι, το οποίο προσδιορίζεται από τις θερμικές ιδιότητες του μέσου. Η εκρηκτική απομάκρυνση υλικού από την επιφάνεια του ιστού-στόχου επάγει, σύμφωνα με την **αρχή διατήρησης της ορμής**, ανάκρουση που διαδίδεται ως ακουστικό κύμα.

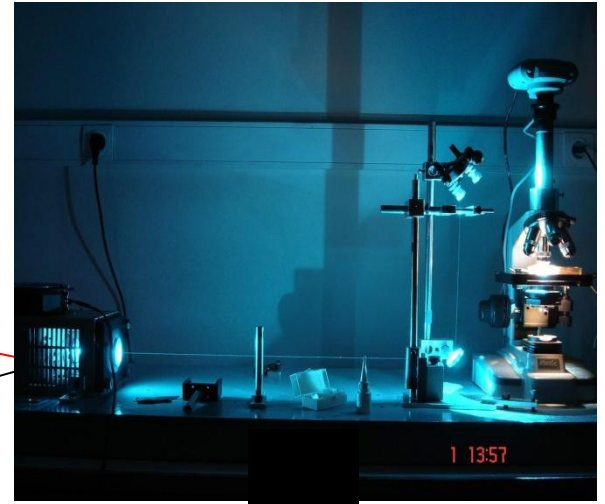
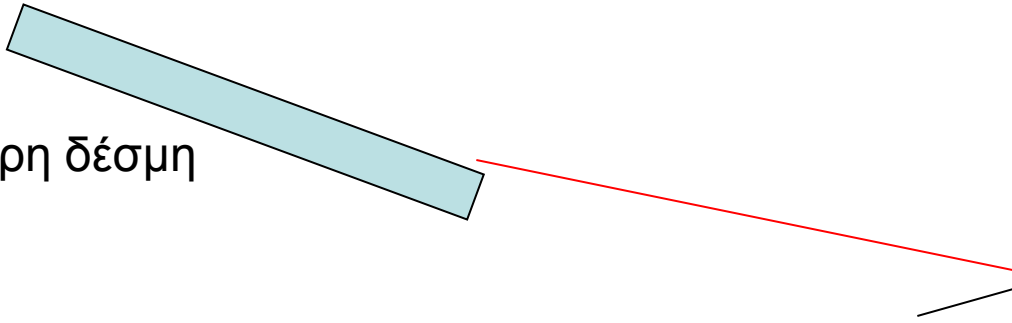


• Φωτομηχανική δράση: Η ισχυρή παλμική ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία Laser απορροφάται από ορισμένα βιομόρια και προκαλεί φωτο-ιονισμό και διάσπαση μοριακών δεσμών με «**ψυχρό**» τρόπο. Ο φωτο-ιονισμός, είτε με θερμιονική εκπομπή ηλεκτρονίων ή με πολυφωτονικό ιονισμό, δημιουργεί **πλάσμα**, το οποίο εκτονώνεται με ταυτόχρονη δημιουργία υδροδυναμικών ακουστικών και κρουστικών κυμάτων και προκαλεί ρήξη μοριακών δεσμών και αποδόμηση. Οι κλινικές εφαρμογές που αξιοποιούν αυτήν τη δράση είναι η φωτοδιαθλαστική χειρουργική του οφθαλμού, η ενδοσκοπική λιθοτριψία, ορισμένοι τύποι χειρουργικών επεμβάσεων κ.ά.

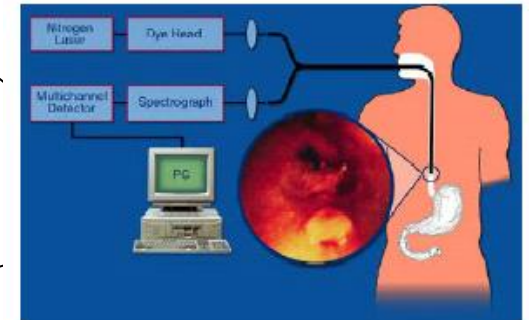
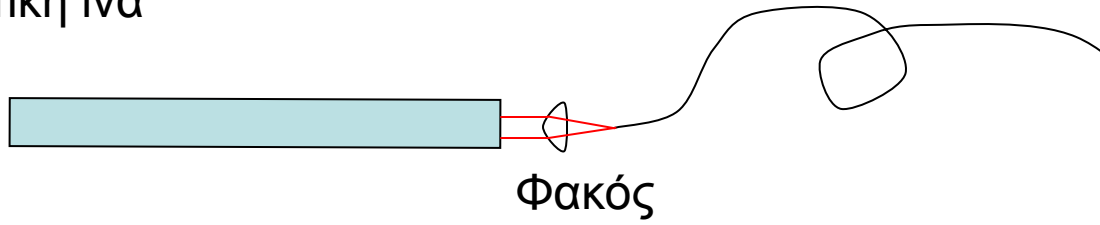


Συστήματα οδήγησης της δέσμης

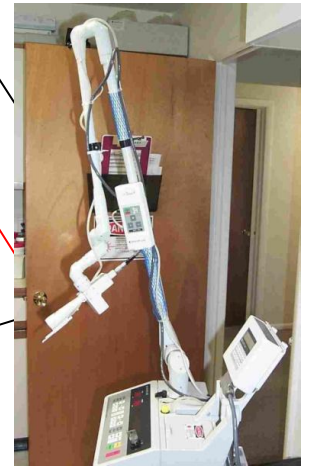
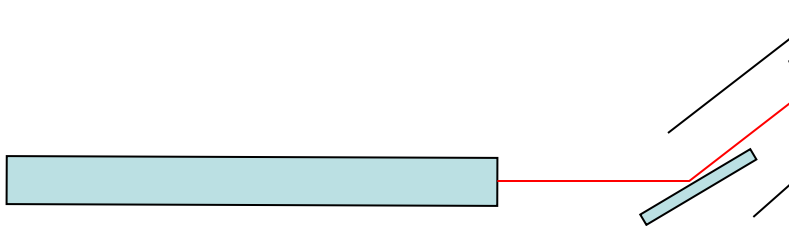
Ελεύθερη δέσμη



Οπτική ίνα

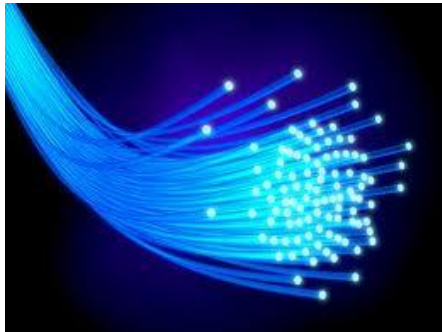


Αρθρωτός βραχίονας





Συστήματα οδήγησης της δέσμης – ενδοσκοπία



Endoscopes



Rhynopharyngo-
laryngoscopes



Gastrosopes
duodenoscopes
colonoscopes



Nephroscopes



Arthroscopes



Bronchoscopes



Uretroscopes
Cystoscopes



Laparoscopes

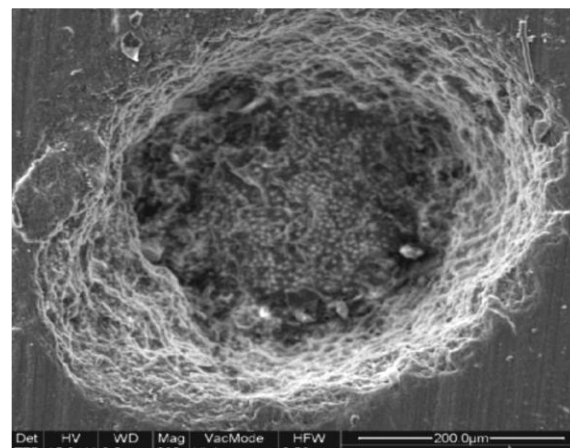
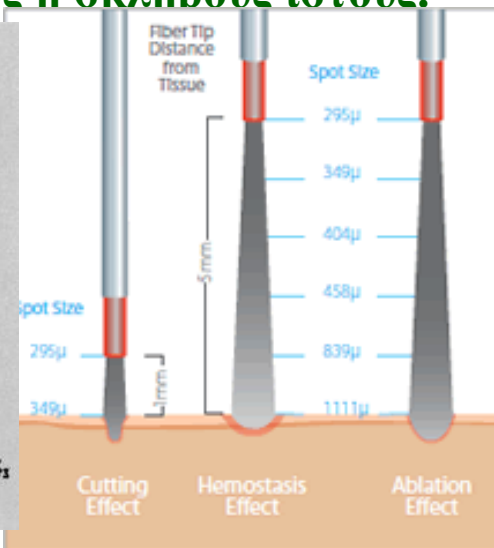
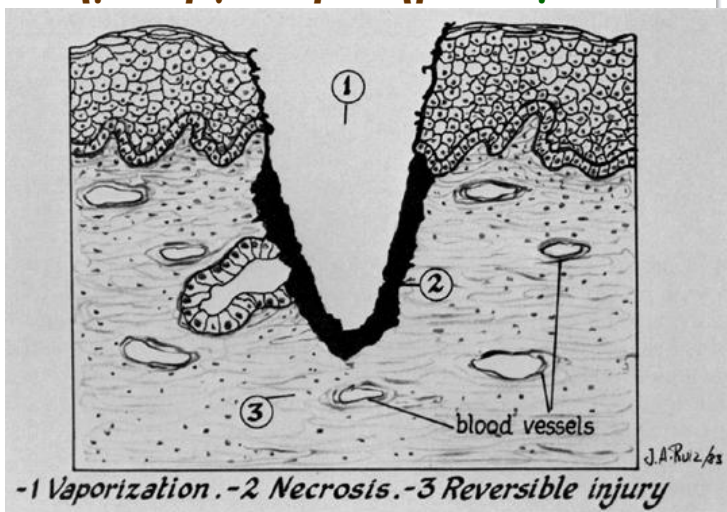


Hysteroscopes
Amnioscopes

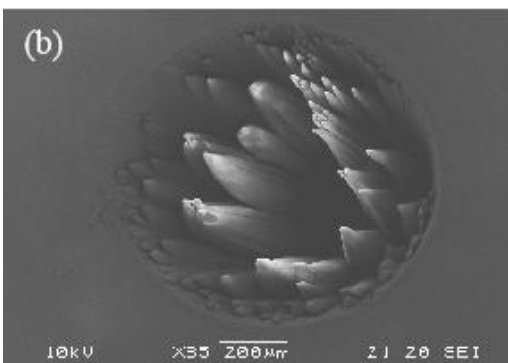
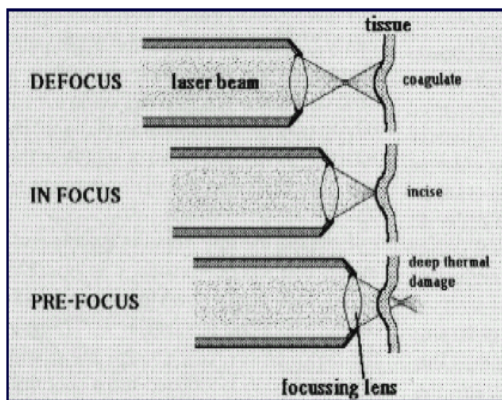


■ Αλληλεπίδραση laser – ιστών και ο ρόλος της ισχύος

Το φωτοβιολογικό αποτέλεσμα εξαρτάται, εκτός των άλλων, από την ισχύ της δέσμης και τη διάρκεια ακτινοβολήσης. Από τα χαμηλά έως τα υψηλά επίπεδα ισχύος, η δράση του laser μεταβάλλεται από φωτοχημική σε θερμική, μηχανική ή ηλεκτρική δράση. Στις περισσότερες περιπτώσεις η επίδραση του laser οδηγεί στη δημιουργία κρατήρα σε μαλακούς ή σκληρούς ιστούς.



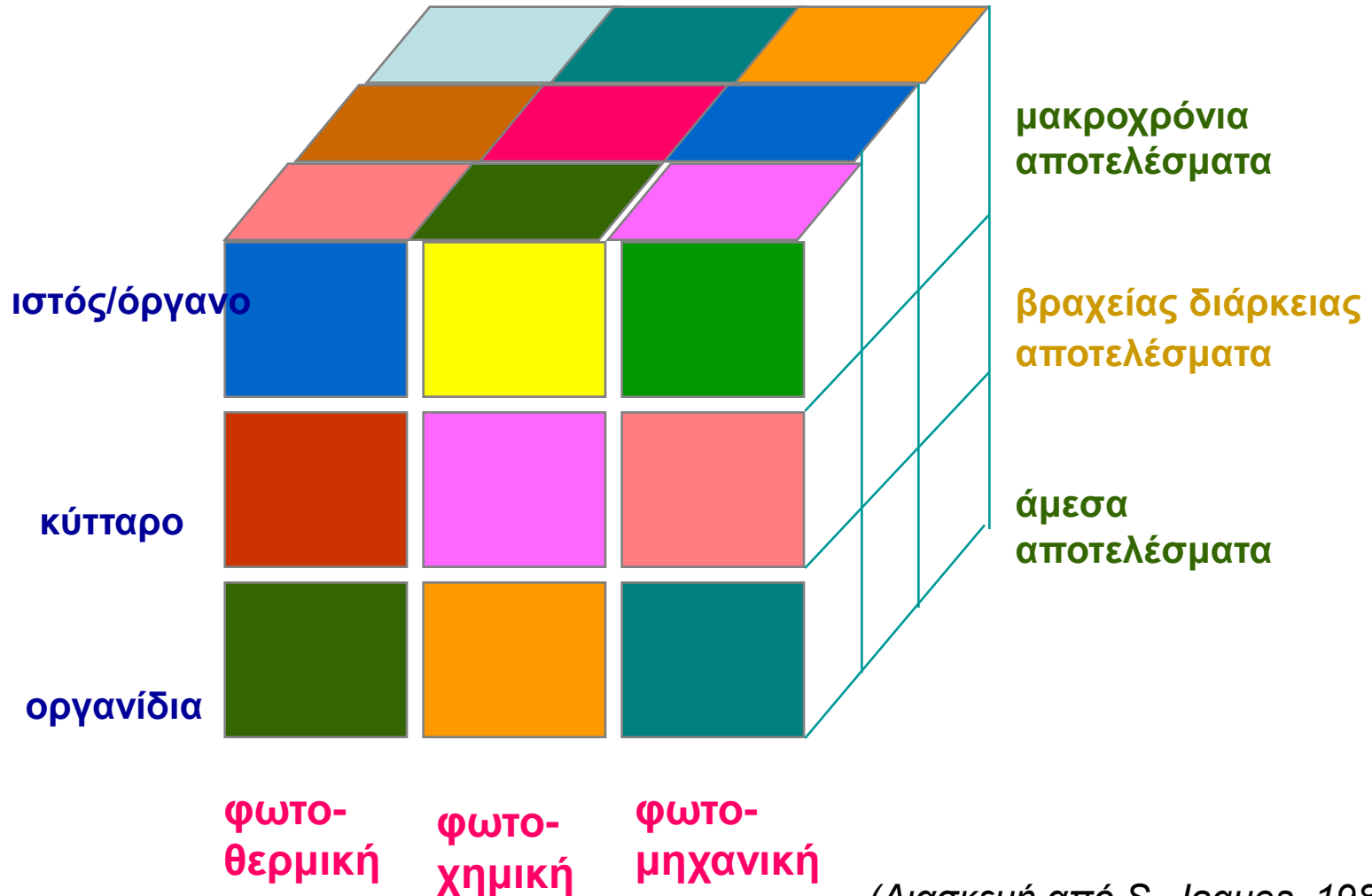
Αποδόμηση οδοντίνης με Er:YAG laser (2 Hz, 56 mJ, 5 παλμοί).



Αποδόμηση ενδοφακού με excimer laser (0.5 J/cm² και N=11.000 παλμοί).



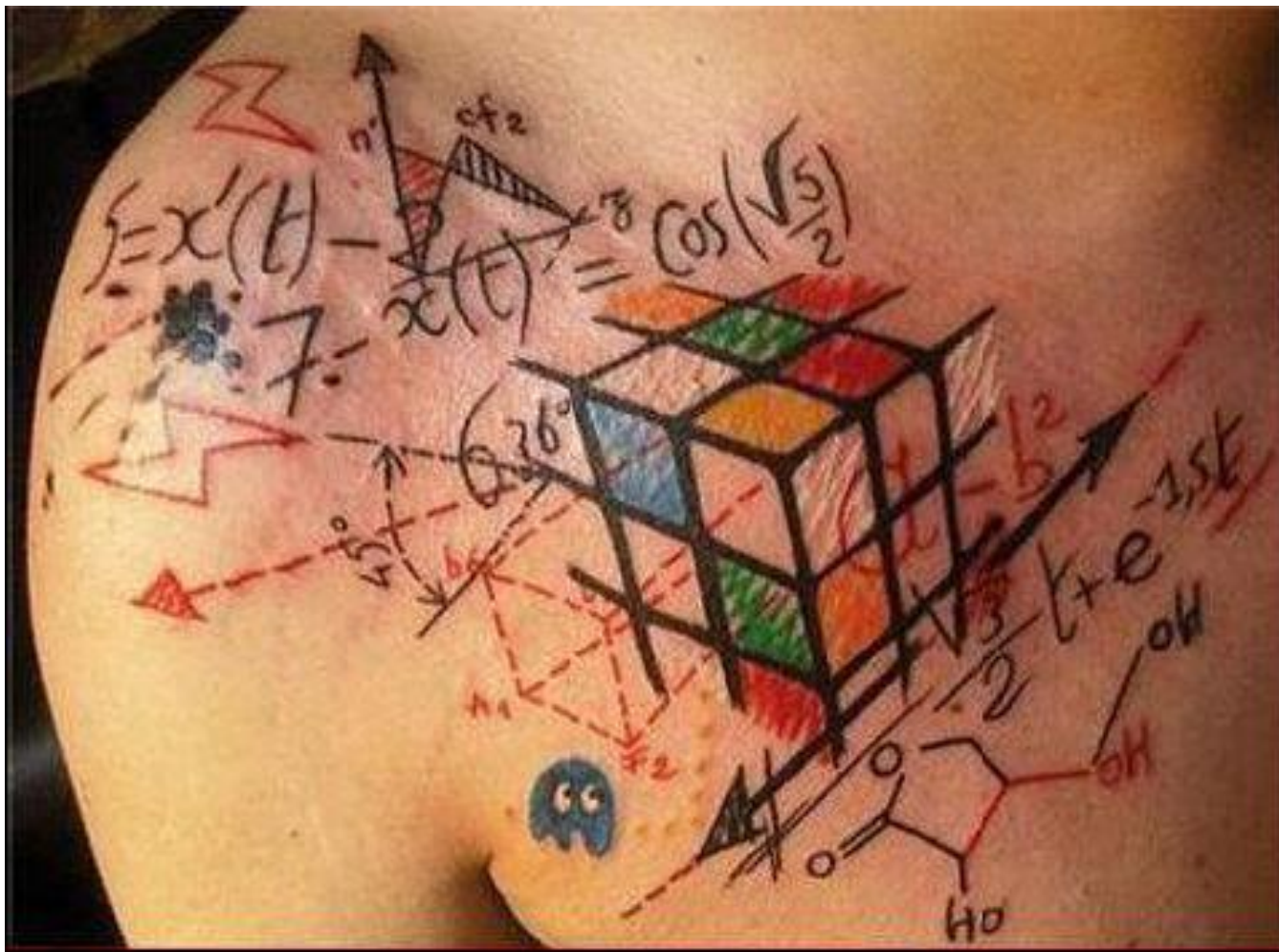
☿ Σχηματική απεικόνιση της αλληλεπίδρασης laser - έμβιας ύλης



(Διασκευή από S. Jaques, 1989)



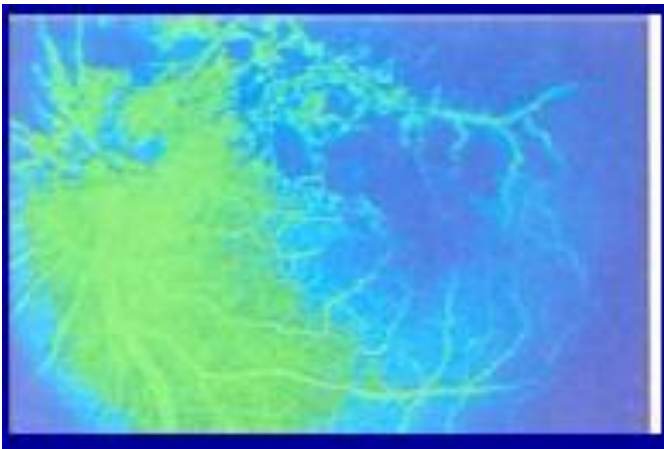
Βιοϊατρικές εφαρμογές των laser



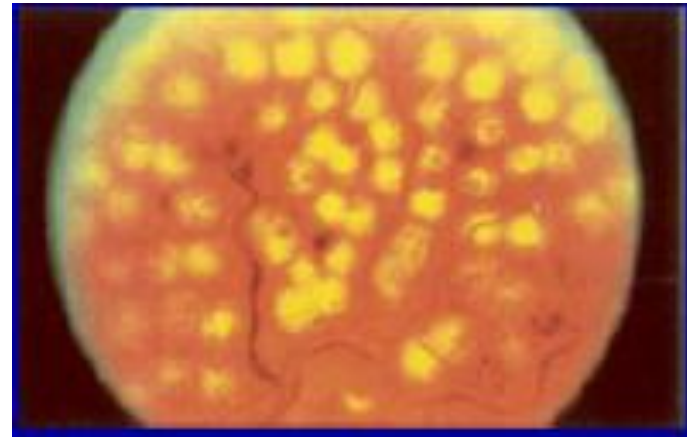


Βιοϊατρικές εφαρμογές των laser

Τα lasers στον τομέα της Ιατρικής εφαρμόστηκαν καταρχήν στην οφθαλμολογία. Οι πρώτες επεμβάσεις στον τομέα της οφθαλμολογίας έγιναν κυρίως στον περιφερικό αμφιβληστροειδή (**φωτοπηξία**), με lasers αργού/κρυπτού.



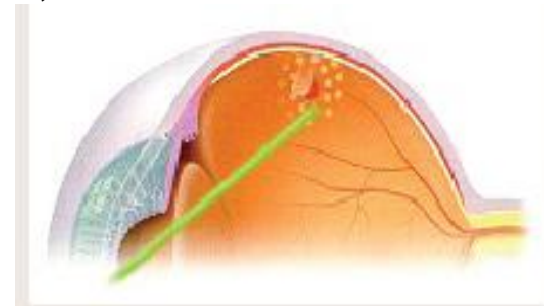
(α)



(β)

(α) Αιμορραγία στον αμφιβληστροειδή. (β) Εικόνα του αμφιβληστροειδή μετά από θεραπεία (φωτοπηξία) με laser (από L.R.Lindvold, Center for Biomedical Optics and New Laser Systems).

Φωτοπηξία με laser



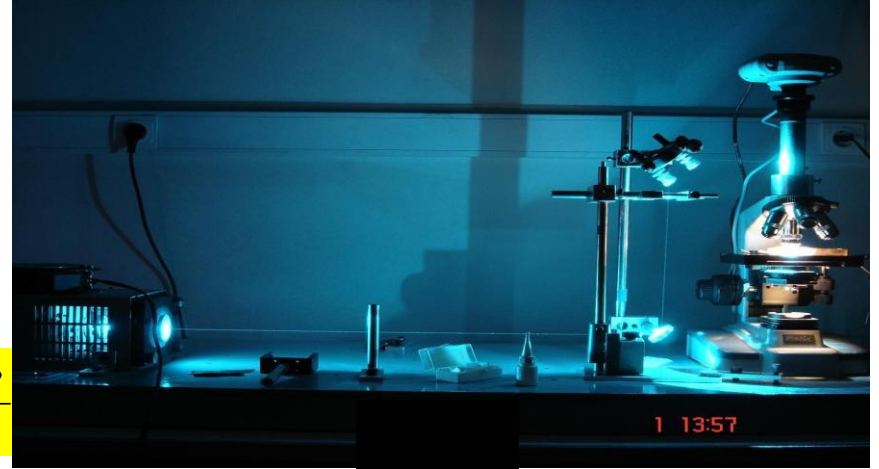


❖ Πως το φως μπορεί να κινήσει ή να παραμορφώσει ένα κύτταρο; Οπτική παγίδευση βιοδομών



$$|\vec{p}| = \frac{h}{\lambda}$$

$$\vec{F} = \frac{d\vec{p}}{dt}$$



❖ Η επαγωγή δυνάμεων σε μικροδομές κατά την ακτινοβολία τους με laser οφείλεται στη μεταβολή της ορμής των φωτονίων κατά την αλληλεπίδρασή τους με το στόχο, σύμφωνα με τον **θεμελιώδη νόμο της Φυσικής $F=dP/dt$** (όπου $F=$ δύναμη και $P=$ ορμή).

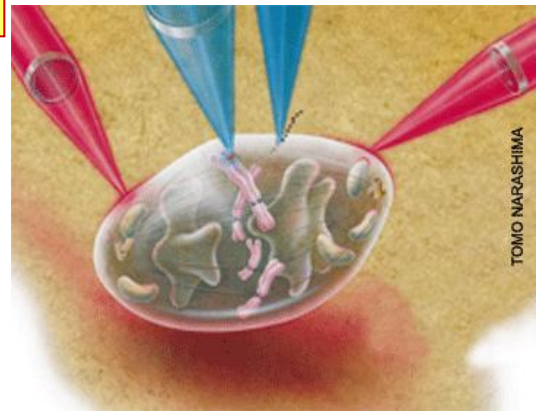
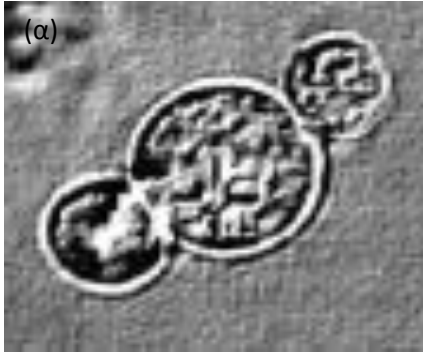
❖ Έτσι έχει κανείς **το πλεονέκτημα μιας μεθόδου ανέπαφης, μη-επεμβατικής και πολύ μεγάλης ακρίβειας.**

❖ Το φως laser μπορεί επίσης να διεισδύσει στο κύτταρο χωρίς να καταστρέψει τα κυτταρικά τοιχώματα ή τη μεμβράνη και με τη βοήθεια των δυνάμεων που επάγει η πίεση ακτινοβολίας να παγιδεύσει κάποιες δομές.

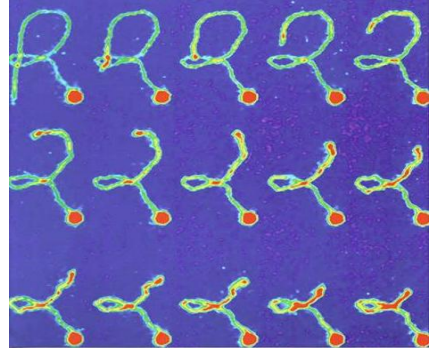
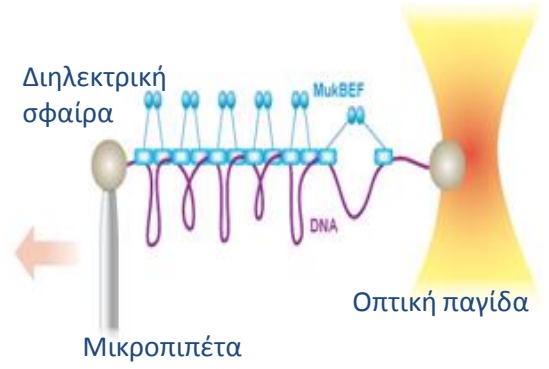


Εφαρμογές της οπτικής παγίδας.

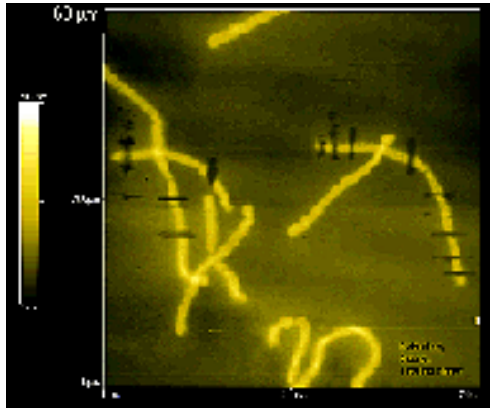
Δύο κύτταρα δολοφόνοι δίπλα σε ένα καρκινικό κύτταρο με τη χρήση διπλής οπτικής παγίδας.



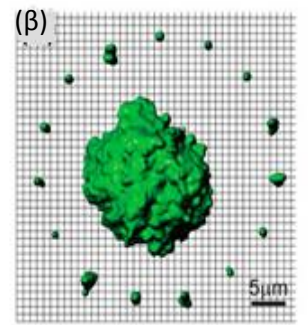
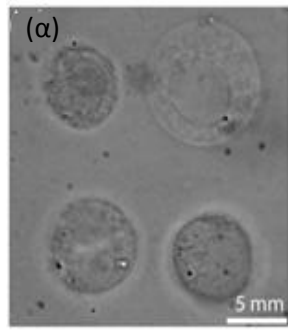
Πρόσδεση σφαιρών πολυστυρενίου στο άκρο μορίου DNA. Μετακίνηση οπτικά παγιδευμένης σφαίρας. Ξετύλιγμα του DNA.



Συνδυασμός AFM, οπτικών ψαλιδιών, οπτικής λαβίδας για την κοπή και την μετακίνηση χρωμοσωμάτων.



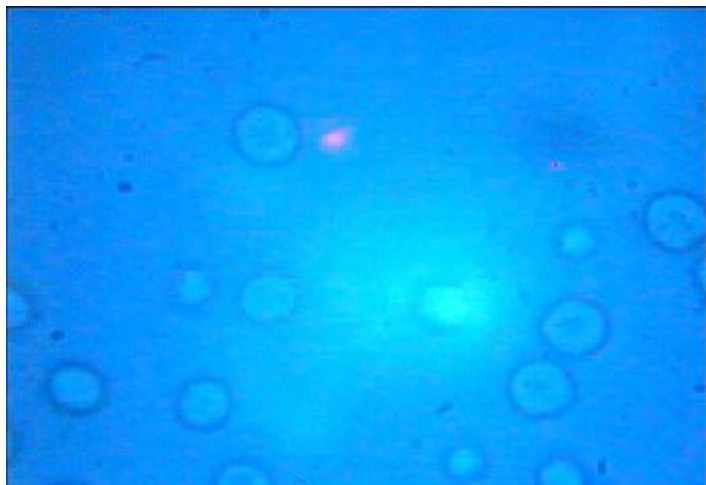
Δημιουργία ετεροτυπικών δικτύων κυττάρων με ολογραφικές παγίδες



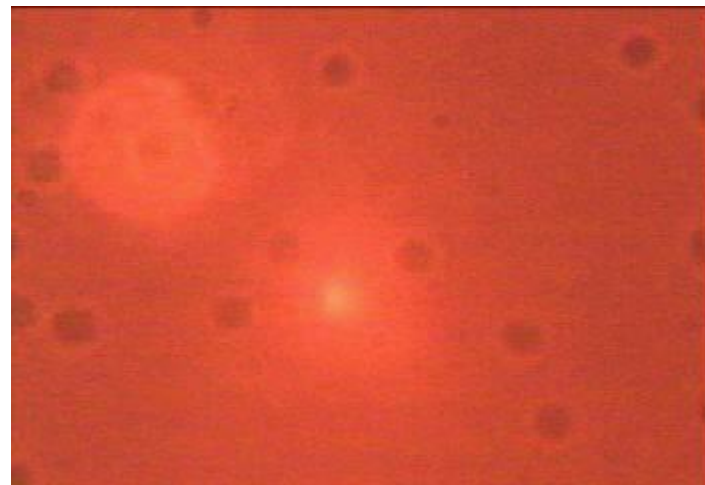


■ Εφαρμογές της οπτικής παγίδευσης με δέσμη laser στον μικροχειρισμό βιοδομών

Οπτική λαβίδα laser He-Ne ($\lambda = 633 \text{ nm}$, 8 mW) που δεν απορροφάται από την πλειοψηφία των βιολογικών ιστών. Παγίδευση κυττάρων μαγιάς.

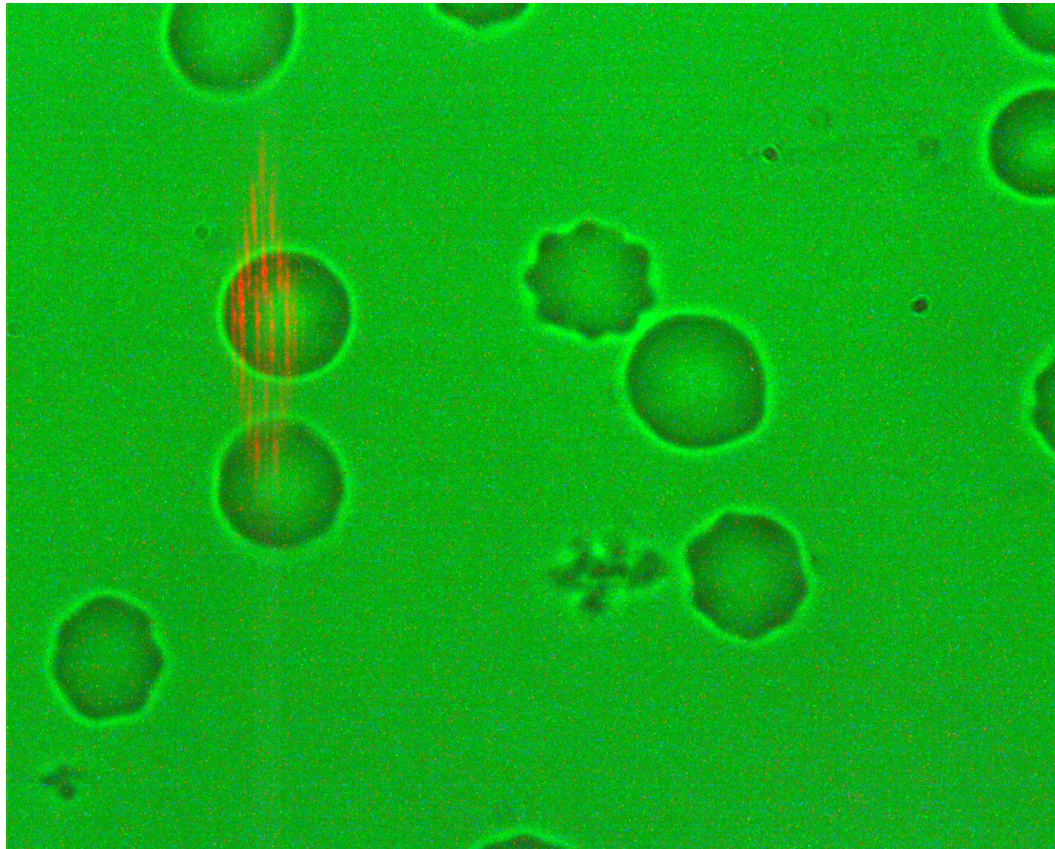


Οπτική λαβίδα laser αργού ($\lambda = 514 \text{ nm}$) σε μικροσφαιρίδια πολυστυρενίου βαμμένα με κίτρινη χρωστική. Παγίδευση και φθορισμός





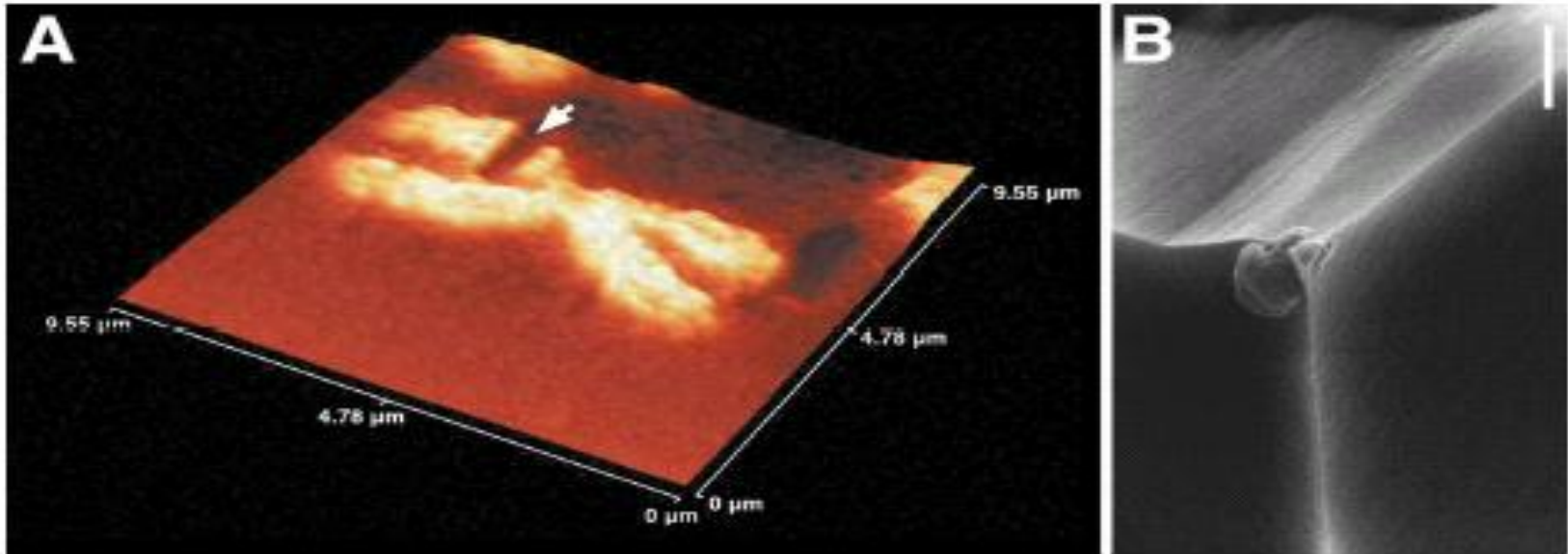
Εφαρμογές της οπτικής παγίδευσης με δέσμη laser: ερυθροκύτταρα σε γραμμική οπτική παγίδα και εμβιομηχανικές μετρήσεις





❖ Ένα παράδειγμα στη μικρο(νανο;)χειρουργική χρωμοσωμάτων

D. Fotiadis et al. / Micron 33 (2002) 385–397



(A) AFM τοπογράφημα του ανθρώπινου χρωμοσώματος 2, ληφθέν μετά από εκτομή. Η περιοχή της εκτομής και αποκοπής του DNA σημειώνεται με ένα βέλος. Το τοπογράφημα κατεγράφη στον αέρα, με χρήση μικροσκοπίας AFM σε tapping mode. Η αποκοπή του DNA έγινε σε contact mode. Το τοπογράφημα εμφανίζεται ανάγλυφο και δείχνει μια κατακόρυφη κλίμακα λαμπρότητας περίπου 190 nm. (B), Εικόνα SEM (Scanning Electron Microscopy) του στυλεού του AFM μετά την αποκοπή του DNA. Η μπάρα στο B αντιστοιχεί σε 1 μm.



1. “**Ίατρικά lasers: Επιστήμη και κλινική εφαρμογή**”, G. Carruth and A. McKenzie, μετάφραση, σύγχρονη ενημέρωση και επιμέλεια Α.Α. Σεραφετινίδης και Μ.Ι. Μακροπούλου, Εκδόσεις Συμμετρία, Αθήνα, 1994.
2. P.N. Prasad. **Introduction to Biophotonics**. Wiley Interscience Inc., New Jersey, (2003).
3. M S Patterson and S Jacques, **Laser-tissue interactions, in Handbook of Laser Technology and Applications** (C. Webb, ed.) Institute of Physics Publishing, Bristol, (2003).
4. Ε.-Χ. Ι. Παπαγιιάκουμου, «**Διερεύνηση των φυσικών χαρακτηριστικών και του τρόπου διάδοσης σύμφωνης ακτινοβολίας για την κατανόηση των βασικών μηχανισμών οπτικής παγίδευσης**», Διδακτορική διατριβή, ΣΕΜΦΕ – ΕΜΠ, 2005.
5. 2. Σπυράτου Ελλάς, «**Φωτο-βιοφυσικές εφαρμογές των laser και ανάπτυξη μεθοδολογίας μικροχειρισμού νανο-σωματιδίων με χρήση οπτικής παγίδας laser**», Διδακτορική διατριβή, ΣΕΜΦΕ – ΕΜΠ, 2010.
6. 4. Κοτσιφάκη Δόμνα, «**Οπτική παγίδα και μικροχειρισμός διηλεκτρικών σωματιδίων και βιολογικών δειγμάτων χρησιμοποιώντας δέσμες laser**», Διδακτορική διατριβή, ΣΕΜΦΕ – ΕΜΠ, 2011.
7. E. Spyratou, M. Makropoulou, A.A. Serafetinides, “**Line Optical Tweezers: A tool to investigate stained liposomes transformations and to determine shear modulus**”, *Colloids and Surface A*, 349 35-42, (2009).





ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

➤ Τα περισσότερα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν εδώ έγιναν με εθνική χρηματοδότηση (ΓΓΕΤ, Υπουργείο Παιδείας) και από προγράμματα βασικής έρευνας του ΕΜΠ, αλλά κυρίως με το μεράκι και το τάλαντο κάποιων ανθρώπων.



Ευχαριστώ για την προσοχή σας