

LASER U MEDICINI I BIOLOGIJI

DRAGICA WINTERHALTER i D. BROZ

*Zavod za fiziku Medicinskog fakulteta, Zagreb
(Primljeno 3. III 1972)*

U članku su dani fizikalni principi lasera i pregled primjene lasera u biološkim i medicinskim istraživanjima kao i u medicinskoj praksi.

U biološkim istraživanjima laser se upotrebljava za ispitivanje strukture stanica. U medicini postoje primjene laserskog zračenja u oftalmologiji, kirurgiji, zubarstvu, a i brojna istraživanja o učinku laserskog zračenja na tkivo tumora. Istaknuta je potreba zaštite osoblja koje radi s laserskim uređajima.

Lasersko zračenje u suvremenoj medicini svakim danom postaje sve važnije; ono se, naime, primjenjuje sve više u fundamentalnim medicinskim istraživanjima, a već se uspješno primjenjuje u dijagnostici i terapiji.

U medicini postoje tri velika područja primjene laserskog zračenja, prvenstveno kao dragocjeno sredstvo u znanstvenim istraživanjima, kao postupak u dijagnostici i kao terapijska metoda. U svakom od spomenutih područja već su postignuti važni rezultati, iako je upotreba lasera u medicini još u početnom stadiju razvitka. Primjenom laserske mikroskopije objašnjeni su mnogi procesi u stanicama. Laserskom tehnikom moguće je uništiti žive stanice i proučavati njihova fiziološka svojstva, kao i proces nastanka patoloških promjena. Laserska svjetlost omogućit će fotografiranje mnogih tkiva »in vivo«, što do sada nije moglo biti u potpunosti učinjeno s postojećim tehnikama. Tako je npr. vrlo teško ustanoviti rak pluća u početnom razvitku, jer se rani stadij te bolesti rendgenskim zrakama ne može otkriti. Naime, dosadanjom tehnikom bronhoskopske pretrage ne može se dovoljno doprijeti periferiji pluća. Međutim, usmjeravanjem intenzivnog laserskog svjetla kroz bronhoskop tkivo pluća bit će vidljivo i na samoj periferiji.

Od osobitog praktičnog značenja je primjena laserskog zračenja u oftalmologiji, o čemu će kasnije biti više govora. Stoga je potpuno razumljivo što su mnogi medicinski istraživački programi prvenstveno vezani i usmjereni za primjenu u fiziološkoj optici.

Postoje brojni pokušaji istraživanja upotrebe lasera u terapiji malignih tumora. Već se danas može reći da će sasvim sigurno laserska

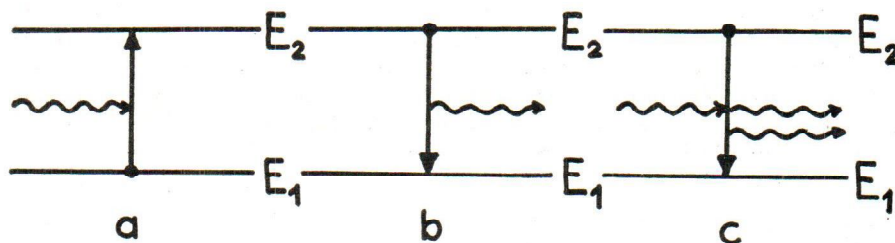
tehnologija biti od velike neposredne vrijednosti pri odstranjenju bilo kojih tumora, a napose tumora koji su dostupni laserskom postupku i koji jako apsorbiraju laserski snop.

Sve što je gore rečeno ni u čemu ne isključuje mogućnost upotrebe lasera i u drugim medicinskim disciplinama.

FIZIKALNI PRINCIP LASERA

Laser se ubraja među najvažnija dostignuća nauke posljednjih godina. Ime je kratica engleskog naziva »Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation«, a znači pojačanje svjetlosti pomoću stimulirane (inducirane) emisije zračenja. Stimuliranu emisiju elektromagnetskog zračenja predvidio je još godine 1917. *A. Einstein*, a na njenu upotrebu za pojačanje elektromagnetskog zračenja prvi su ukazali *Townes* i *Schawlow* (1) u Americi, i *Basov* i *Prokhorov* (2) u Rusiji. Prvi laser sa sintetskim rubinom sagradio je *Maiman* (3) godine 1960. Od tog vremena otkriveno je mnogo novih materijala koji se koriste kao aktivna sredstva u laserima, to su razni kristali, poluvodiči, tekućine i plinovi. Spektralno područje izlaznih laserskih snopova obuhvaća danas valne duljine od $0,15 \mu$ do 35μ (4, 5), a maksimalna snaga od $2,5 \times 10^{13}$ vata postignuta je neodim-staklo-laserskim sistemom (5) uz valnu duljinu od $1,06 \mu$.

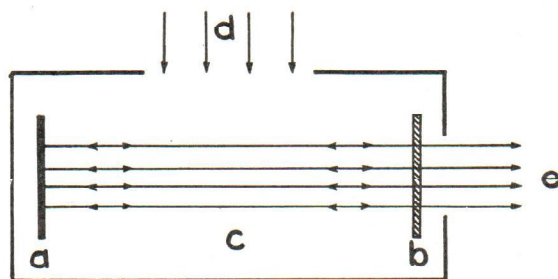
Otkriće i razvoj lasera osniva se na zakonima kvantne teorije zračenja. Pomoću tih zakona možemo objasniti stimuliranu emisiju, koja predstavlja glavni proces u aktivnom materijalu lasera. Poznato je da atom emitira zračenje kad prelazi iz pobuđenog u osnovno stanje, tj. prijelazom iz stanja više energije u normalno stanje. Atom može prijeći u pobuđeno stanje apsorpcijom kvanta elektromagnetskog zračenja (sl. 1a). To je jedini proces kojim se atom pobuđuje zračenjem. Naprotiv, postoje dva procesa za prijelaz atoma iz višeg energetskog stanja u normalno stanje emisijom zračenja, i to: spontana (sl. 1b) i stimulirana emisija (sl. 1c). Pri spontanoj emisiji atom prelazi iz stanja više



Sl. 1. a. Apsorpcija kvanta elektromagnetskog zračenja
b. Spontana emisija
c. Stimulirana emisija.

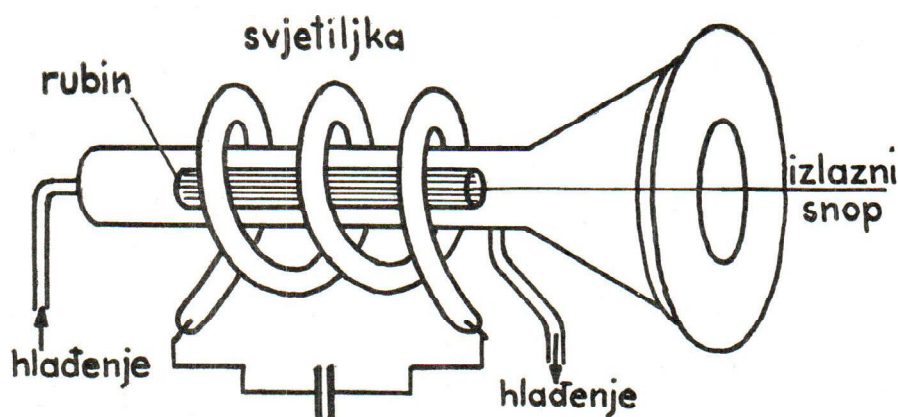
u stanje niže energije bez vanjskog utjecaja i pri tom emitira kvant elektromagnetskog zračenja. Stimulirana emisija nastaje kad upadni kvant potakne prijelaz atoma sa stanja više u stanje niže energije; tada je emitirani kvant iste frekvencije i iste faze kao i kvant upadnog vala. Amplitude upadnog vala se pri tom sumiraju, pa je intenzitet upadnog kvanta, nakon stimulirane emisije, pojačan. Spontano zračenje je nekoherentno, jer nastaje posve slučajno, nasumce. Stimulirano zračenje je koherentno i dešava se s istom vjerojatnošću kao i apsorpcija. Prema tome, da bismo dobili koherentni izvor svjetlosti, potrebno je podesiti sistem atoma tako da upadno elektromagnetsko zračenje izaziva pretežno stimuliranu emisiju.

Uvjet za stimuliranu emisiju jest tzv. inverzija naseljenosti, odnosno veći broj atoma u višem energetske stanju. Tada je, naime, vjerojatnost za stimuliranu emisiju veća, jer više atoma prelazi, iz pobuđenog stanja u osnovno, negoli obratno. Svjetlost koja tako nastaje, prolazi aktivnim materijalom u laserskoj cijevi, reflektira se od dviju graničnih paralelnih ploha [sl. 2 plohe a) i b)] i izaziva mnogostruko djelovanje s pobuđenim atomima. Intenzitet svjetlosti postaje sve veći i snop izlazi (e na sl. 2) kroz jednu od reflektirajućih ploha (zrcala) koja je polupropusna.



Sl. 2. Prolaz svjetlosti kroz aktivni materijal

Laserski snop svjetlosti je koherentan, tj. valovi svjetlosti podudaraju se u fazi; taj je snop monokromatičan, što znači da je spektralna širina emitiranog laserskog snopa veoma uska. Snop svjetlosti je paralelan, a fokusiranjem na vrlo malu površinu mogu se njime postići i velike snage. Izlazna svjetlost može biti kontinuirana ili u pulsevima. Tako je npr. spomenuti prvi rubinski laser emitirao kratkotrajne pulseve crvenog svjetla, a njegova maksimalna snaga bila je 10.000 vata emitiranih u nekoliko milijuntih dijelova sekunde. Na sl. 3 prikazan je shematski rubinski laser. Obasjavanje rubina vrši se jakim izvorima svjetlosti, a čitav sistem mora se hladiti, jer intenzivan izvor svjetlosti uzrokuje dosta veliko zagrijavanje. Kristal rubina ima polirane i posebrene krajeve, a ploha kroz koju izlazi snop svjetlosti je polupropusna.



Sl. 3. Rubinski laser

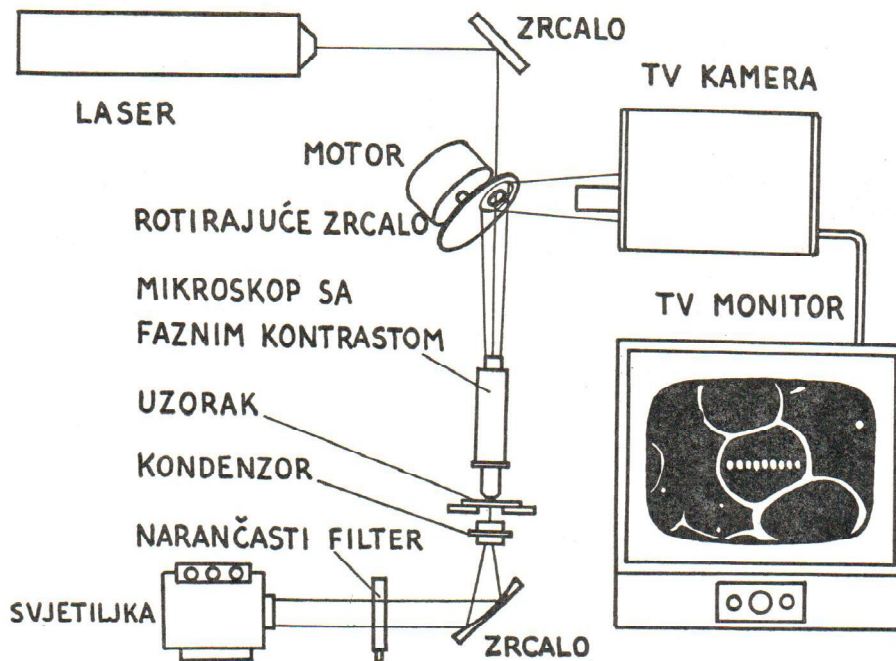
PRIMJENA LASERA U BIOLOSKIM ISTRAŽIVANJIMA

Djelovanje laserskog snopa svjetlosti na živo tkivo razlikuje se od njegova djelovanja na neživu materiju, jer je biološko tkivo veoma složeno i heterogeno i podložno mnogim biokemijskim procesima koji se stalno mijenjaju. Većina živog tkiva sadrži u sebi vcliki postotak vode koja utječe na indeks loma i toplinsku vodljivost. Osim toga, pojedina tkiva, pa i pojedini slojevi nekog tkiva, imaju razna fizikalna svojstva, i time utječu na apsorpciju, refleksiju i transmisiju laserskog snopa.

Biološka istraživanja koja se danas vrše laserom odnose se prvenstveno na ispitivanje strukture stanica u svrhu analize nekih staničnih funkcija. Laser pri tom služi kao mikroskalpel, jer se njegov snažni snop može fokusirati pomoću optičkog sistema tako da na živoj stanici izvede rez promjera 0,5 do 1 μ (6). Na slici 4 prikazan je takav uređaj koji se sastoji od argonskog lasera snage oko 1 vat, valnih duljina 4880 Å i 5145 Å. Taj laser emitira 60 pulsa koherentne svjetlosti u sekundi. Nefokusirani laserski snop promjera oko 3 mm reflektira se od zrcala pod kutem od 90° i prolazi kroz pukotinu drugog zrcala koje se okreće 60 puta u sekundi, tako da svaki laserski puls prolazi kroz pukotinu. Mikroskop s faznim kontrastom fokusira snop na površinu promjera 0,5 μ , i to je dimenzija oštećenja stanice. Sliku stanice koju stvara mikroskop rotirajuće zrcalo reflektira u televizijsku kameru ili se fotografira.

Laserskim mikroskopom postiže se vrlo kratko trajanje zračenja, pa se njime mogu ozračiti i stanice koje se vrlo brzo gibaju. Veliki intenzitet i monokromatičnost snopa omogućuje uništavanje onih dijelova stanice koje ga apsorbiraju. Prema tome, može se postići selektivno uni-

štavanje stanica ako ih selektivno obojimo adekvatnom bojom. Osim toga, laserskom mikropunturom moguće je djelovati na jednu stanicu u sklopu drugih. Ubrzanom snimkom moguće je pratiti učinak smrti jedne stanice na ostale okolne stanice, kao i na sredstvo koje ju okružuje (7). Tako se može proučiti pojava nazvana nekrotaktizmom. Neke stanice bivaju privučene stanicom koja je oštećena. Čim ozračene stanice



Sl. 4. Laser kao mikroskopski

pokažu znakove promjene, zdrave okolne stanice počinju se usmjeravati prema zračenjem oštećenim i nastaje ono što patoanatom naziva »rozeta«. Neoštećene stanice fagocitiraju ozlijeđenu, najčešće je raskomadaju i svaka od njih odnosi dio plijena, pa za nekoliko minuta nema ni traga mrtvoj stanici. Kadšto ostaje dio mrtve stanice, ali taj više ne privlači nijednu zdravu stanicu, čak i ako se ona nalazi u neposrednoj blizini. Izgleda kao da u mrtvoj stanici više nema nekrotične supstancije. Bilo bi zanimljivo ispitati te supstancije i saznati da li su one specifične za neke vrste stanica.

Tom se tehnikom mogu proučiti i drugi učinci na okolinu stanice, kao što su oslobađanje tvari ili specifičnih antitijela. Prema tome, takva tehnika omogućuje studij nekih aspekata stanične ekologije.

Metoda laserske mikropunkture omogućila je eksperimentalno ispitivanje strukture stanica, kao npr. mitohodrija stanica srčanog mišića, kromozoma stanica plućnog tkiva, jezgri iz stanica raka i drugih.

PRIMJENA LASERA U MEDICINSKOJ DIJAGNOSTICI I TERAPIJI

Laser se najčešće upotrebljava u oftalmološkoj kirurgiji. Oko je, naime, izvanredno osjetljivo za lasersko zračenje. Optički sistem fokusira laserski snop na pigmentirani epitel mrežnice koji ga lako apsorbira. Fokusiranjem snopa raste energija na jedinicu osvijetljene površine, koja se uslijed toga zagrije i nastaje koagulacija tkiva. Laserski snop služi tada kao fotokoagulator koji ima izvanredne prednosti pred dosadašnjim fotokoagulatorima.

Vrijeme izloženosti vrlo je kratko; tako je npr. u slučajevima odlupljenja mrežnice (ablatio retinae) dovoljan bljesak od 1 milisekunde da bi se spojila mrežnica sa svojom podlogom, žilnicom. Pacijent pri tom ne osjeća nikakvu bol, pa anestezija nije potrebna. U tako kratko vrijeme izloženosti pacijent neće reagirati na svjetlost, pa ni mehaničko fiksiranje oka nije potrebno. Promjer snopa na mrežnici može biti vrlo malen, oko 1 mm, a rukovanje je jednostavno, jer instrument može biti veličine običnog oftalmoskopa.

Kao izvori upotrebljavaju se rubinski laseri koji emitiraju valne dužine od 6943 Å i neodim-staklo-laseri čija je valna dužina 10.600 Å (8). Ove valne duljine prolaze kroz oko do mrežnice i apsorpcija nastaje u pigmentiranom epitelu i žilnici. Energija laserskih koagulatora varira između 0,1 i 0,7 džula (9).

Usmjeren i snažan laserski snop može služiti u kirurgiji kao »beskrvni nož«. Istraživanja utjecaja laserskog zračenja na nervna tkiva (9) pokazala su da se mogu postići lokalizirana oštećenja raznih dijelova centralnog nervnog sistema. Ta su istraživanja najčešće vršena pulzirajućim rubinskim laserima, relativno niskih energija (najviše do 100 džula), a rjeđe neodimskim ili argonskim laserima. Primijećeno je djelovanje na krvne žile koje su nakon ozračivanja bile znatno oštećene, njihova propustljivost povećana, a intravaskularna tromboza često se javljala. Nadalje, primijećena je različita osjetljivost na lasersko zračenje pojedinih stanica nervnog tkiva, kao i veća osjetljivost pigmentiranog od nepigmentiranog tkiva. Svrha je ovih istraživanja upoznavanje neurofizioloških funkcija, kao i klinička primjena lasera. Dosada postignuti rezultati na eksperimentalnim životinjama nedvojbeno ukazuju na prednost laserskih sistema u kliničkoj i eksperimentalnoj neurokirurgiji.

Istraživanja laserskog djelovanja u zubarstvu svode se na lasersku spektroskopiju zuba, ozračivanje zuba i usne šupljine eksperimentalnih životinja, kao i ozračivanje ljudskih izvađenih zuba. Pokusi na pacijentima vrlo su rijetki. Struktura zuba ispitivana je laserskom spektrosko-

pijom (10) i ustanovljena je prisutnost titana i cinka u zubnom kamencu. Smatra se da bi ova tehnika mogla omogućiti proučavanje otpornosti zubne cakline, lokalnih infekcija i raznih promjena na zubima.

Laserskim ozračivanjem djelovalo se uspješno na karice, ali do sada nije bilo moguće utvrditi pravu dubinu tako nastale nekroze. Postignuto je i razaranje zubnog kamenca, a vrše se daljnja istraživanja na selektivnom uništavanju zubnog kamenca, a da se pri tom ne ošteti zubno meso.

Postoje nadalje brojna istraživanja o učinku laserskog zračenja na inokulirane životinjske tumore (11) i na eksperimentalne tumore izazvane kancerogenim spojevima (12). Najuspješniji antitumorozni učinak dobiven je nakon ozračivanja melanoma, čiji je rast spriječen za 98% (13). Usporedo s ispitivanjem laserskog zračenja na eksperimentalne tumore životinja tekla su i istraživanja aktivnosti tog zračenja i na tumore ljudi. Dobiveni su pozitivni rezultati djelovanja na melanome (14), na metastaze melanoma u koži (15), na stanice raka larinksa, kao i na metastaze bronhogcnih karcinoma i glioblastoma (16).

Liječenje tumora pomoću laserskog snopa sastoji se u sposobnosti tog zračenja da proizvede momentalni i lokalni nekrotični učinak na tkivo tumora i da bude izvanredno selektivno s obzirom na pigmentirane strukture. Osim toga, tumorozno tkivo pokazuje pojačanu osjetljivost na lasersku radijaciju, dok je djelovanje na zdravo okolno tkivo neznatno. Daljnji razvoj laserskih sistema s valnim duljinama u zelenoplavom i ultraljubičastom području, kao i povećanje snage na jedinicu površine, neosporno će doprinijeti još široj primjeni laserske radijacije u terapiji malignih tumora.

Budući da lasersko zračenje djeluje štetno na tkivo i organe čovjeka, napose na organ vida, kožu i dr., to je prijeko potrebna zaštita osoblja koje radi s laserskim uređajima (9, 13). Treba naglasiti da svojstva ovog zračenja nisu još dovoljno ispitana s medicinsko-biološkog gledišta, pa stoga postoji bojazan od potencijalne opasnosti za istraživače, medicinsko osoblje, kao i za pacijente na koje se to zračenje primjenjuje.

Literatura

1. *Schawlow, A. L., Townes, C. H.*: Infrared and Optical Lasers, *Phys. Rev.*, 112 (1958) 1940.
2. *Basov, N. G., Prohorov, A. M.*: Molekularnii Generator i Usilitelj, *Uspehi Fizičkih Nauk*, 58 (1955) 485.
3. *Maiman, T. H.*: Stimulated Optical Radiation in Ruby, *Nature*, 187 (1960) 493.
4. *Marković, B., Peršin, A.*: Plinski laseri, *Elektrotehnika*, 2 (1965) 83.
5. *Emmett, J. L.*: Frontiers of Laser Development, *Phys. Today*, 24 (1971) 24.
6. *Berns, M. W., Rounds, D. E.*: Cell Surgery by Laser, *Sci. Am.*, 222 (1970) 100.
7. *Bessis, M.*: Application du laser en cytologie expérimentale, *Zeit. f. angew. Mathem. und Physik*, 16 (1965) 174.

8. *Saltonstall, Jr. R.*: Laser Technology, Hobbs, Dorman and Comp. Inc. Publ., New York, (1965) 93.
9. *Goldman, L.*: Biomedical Aspects of the Laser, Springer Verlag, Berlin, (1967) 97, 154, 190.
10. *Sherman, D. B., Ruben, M. P., Goldman, H. M., Brech, F.*: The Application of Laser for the Spectrochemical Analysis of Calcified Tissues, Ann. N. Y. Acad. Sci., 122 (1965) 167.
11. *Minton, J. P., Ketcham, A. S., Dearman, J. R.*: The Applications of Pulsed, High-Energy Laser Radiation to Multiple Intraabdominal Tumor Implants in Experimental Animals, Surgery, 58 (1965) 12.
12. *Goldman, L.*: Applications of the Laser Beam in Cancer Biology, Int. J. Cancer, 1 (1966) 309.
13. *Kavetsky, R. E., Chudakov, U. G., Sidorik, E. P., Gamaleja, N. F., Kogut, T. S.*: Lasers in Biology and Medicine, Zdorovya Publ. House, Kiev, (1969) 229, 230.
14. *Goldman, L., Siler, U. E., Blauey, D.*: Laser Therapy of Melanomas, Surg. Gynec. Obstet., 124 (1967) 49.
15. *McGuff, P. E., Deterling, R. A., Gottlieb, L. S.*: Laser Radiation for Metastatic Malignant Melanoma, J. A. M. A., 195 (1966) 393.
16. *Rosomoff, H. L., Carroll, F.*: Effect of Laser on Brain and Neoplasm, Surg. Forum, 16 (1965) 431.

Summary

THE LASER IN MEDICINE AND BIOLOGY

Physical principles of the laser are described and its application in biological and medical investigations as well as in medical practice is dealt with.

In biological investigations the laser is employed in the study of cell structure. Its application in medicine involves the use in ophthalmology, surgery and dentistry. A number of medical investigations is concerned with the study of the effects of laser radiation on cancerous tissue. The necessity of personnel protection against laser radiation is emphasized.

*Institute of Physics, Medical Faculty,
Zagreb University, Zagreb*

*Received for publication
March 3, 1972*