

References

1. Gamaley N.F. Mechanisms of biological effects of laser irradiation. *Lasers in Clinical Medicine*. Edited by Pletnev S.D. Moscow: Medicine, 1996: 51–58.
2. Korosteleva N.F., Marchenkova T.E. Ultrasonic phacoemulsification and its effect at cornea endothelium. *Ophthalmosurgery*. 1991; 2: 21–26.
3. Malyugin B.E. Medico-technological system of surgical rehabilitation of patients with cataracts based on ultrasonic phacoemulsification with IOL implantation: Author's abstract. Dissertation of Doctor of Medical Sciences. Moscow, 2002: 49.
4. Semenov A.D., Magaramov D.A., Sumskeya L.V., Chentsova O.B., Prokofieva G.L., Mozherenkov V.P., Makeieva N.S. Low-level helium-neon laser light for the treatment of secondary endothelial-epithelial dystrophy of the cornea: Methodological recommendations. Moscow, 1987: 7.
5. Supova M.V., Glinskaya N.Yu., Trunova O.V., Smirnova N.S. Methodical aspects of application of low-level laser irradiation in therapy. Manual for physicians. Moscow: Volna, 1995: 55.
6. Takhchidi Kh.P., Kopaeva V.G., Belikov A.V., Kopaev S.Yu. Laser ophthalmologic multifunctional system. Patent of the Russian Federation No. 2477110 C2. dated Feb. 4, 2011.
7. Teterina T.P. Light, eye, brain. Principles of color treatment. Kaluga: Oblizdat, 1998: 214.
8. Uldanov V.G., Shchuko A.G., Pyankov V.Z. Laser physiotherapy and stimulation in ophthalmology: methodical recommendations. Irkutsk, 1996: 20.
9. Fedorov S.N., Kopaeva V.G., Andreev Yu.V. et al. A technique for laser cataract extraction, Patent No. 2102048 of Russian Federation dated March 20, 1995.
10. Fedorov S.N., Kopaeva V.G., Andreev Yu.V. et al. Results of 1 000 laser cataract extractions. *Ophthalmosurgery*. 1999; 3: 3–14.
11. Fedorov S.N., Kopaeva V.G., Andreev Yu.V. Laser light – a fundamentally new type of energy for ocular lens surgery. *Clinical ophthalmology*. 2000; 1 (2): 43–47.
12. Khodzhaiev N.S. Cataract surgery with minor incisions: clinical and theoretical backgrounds. Author's abstract. Dissertation of Doctor of Medical Sciences. Moscow, 2000: 48.
13. Dodick J.M. Neodymium-YAG laser phacolysis of the human cataractous lens. *Arch. ophthalmol.* 1993; 111: 903–904.
14. Franchini A. Erbium «Phacolaser» removes soft to moderate hard nuclei with minimal complications Italian investigators report. *Euro Times*. 1999; 4: 11.
15. Höh H., Fisher E. Pilot study on erbium laser phacoemulsification. *Ophthalmol.* 2000; 107: 1053–1062.
16. Roibeard O.E. Femto surgery. Study calls into question benefit of femto-cataract surgery's accuracy in capsulorhexis. *Eurotimes*. 2013; Sept. 12: 9.

УДК 615.8; 615.9; 616-099

ЛАЗЕРНО-СТИМУЛИРОВАННАЯ ФОТОДИССОЦИАЦИЯ КАРБОКСИГЕМОГЛОБИНА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МЕТОД ДЕТОКСИКАЦИИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ УГАРНЫМ ГАЗОМ

С.О. Мамилев¹, С.С. Есьман¹, М.М. Асимов², А.И. Гизбрехт³¹ Институт прикладных проблем физики и биофизики НАН Украины, Киев, Украина² Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь³ Институт электроники Болгарской АН, София, Болгария

Резюме

Приведены результаты исследований спектральной зависимости степени лазерно-стимулированной фотодиссоциации карбоксигемоглобина (HbCO) в артериальной крови при облучении первой фаланги пальца руки. Определение относительной концентрации HbCO проводится методом пульсовой оксиметрии. По данным статистической обработки измерений в спектральном диапазоне 400–940 нм получено значение изменения относительной концентрации HbCO в зависимости от длины волны источника излучения. Показано, что в спектрах HbCO наблюдаются три максимума (на 525, 600 и 850 нм), где уменьшение относительной концентрации HbCO достигает 2,5%. В области максимального эффекта в видимой области спектра было проведено исследование эффекта от мощности облучения. На обеих длинах волн изменение относительной концентрации HbCO выходит на насыщение при мощности более 40 мВт. Скорость фотодиссоциации HbCO очень высока, и ее квантовый выход, который составляет почти 80% в области максимального эффекта, позволяет ожидать высокой эффективности предлагаемого оптического метода устранения токсического действия угарного газа.

Ключевые слова: карбоксигемоглобин, угарный газ, лазерно-стимулированная фотодиссоциация.

Контакты: Мамилев С.О., e-mail: MamilovSO@nas.gov.ua

Для цитирования: Мамилев С.О., Есьман С.С., Асимов М.М., Гизбрехт А.И. Лазерно-стимулированная фотодиссоциация карбоксигемоглобина как перспективный метод детоксикации при отравлении угарным газом // Лазерная медицина. – 2018. – Т. 22. – № 3. – С. 30–33

LASER-ASSISTED BLOOD CARBOXYHEMOGLOBIN PHOTODISSOCIATION: A PROMISING TECHNIQUE FOR DECREASING CARBON MONOXIDE INTOXICATION

Mamilov S.O.¹, Esman S.S.¹, Asimov M.M.², Gisbrecht A.I.³¹ Institute of Applied Problems of Physics and Biophysics of National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine² Institute of Physics of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus³ Institute of Electronics, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

Abstract

Experimental results of in-vivo studies on laser-assisted photodissociation of carboxyhemoglobin (HbCO) under visible and near IR optical irradiation of arterial blood in the first hand finger are presented. Arterial HbCO concentration was measured by the fingertip pulse oximetry. The statistical assessment of obtained measurements in the spectral range of 400–940 nm has revealed changes in HbCO rela-

tive concentration depending on radiation source wavelength. It was shown that there are three maxima (at 525, 600 and 850 nm) HbCO spectra where HbCO concentration decreases by 2.5%. The impact of irradiation power was studied at the area of maximal effect in the visible region of the spectrum. Changes in HbCO relative concentration reach saturation level when laser light power exceeds 40 mW at both wavelengths. HbCO photodissociation rate is very high, and its quantum yield, which is almost 80% in the region of maximal effect, allows to expect high efficiency of the proposed optical method for eliminating toxic effect of carbon monoxide.

Keywords: *carboxyhemoglobin, laser-induced photodissociation.*

Contacts: Mamilov S.O., e-mail: MamilovSO@nas.gov.ua

For citation: Mamilov S.O., Esman S.S., Asimov M.M., Gisbrecht A.I. Laser-assisted blood carboxyhemoglobin photodissociation: a promising technique for decreasing carbon monoxide intoxication. *J. Laser Medicine*. 2018; 22 (3): 30–33 (in Russian)

Введение

Отравления угарным газом (СО) – одна из основных причин отравлений газами, начиная с воздействия атмосферы крупных городов и хронического отравления курильщиков до тяжелых клинических случаев при бытовых инцидентах и пожарах [4, 7]. Механизм токсического действия угарного газа основан на образовании прочного комплекса карбоксигемоглобина (HbCO) – соединения гемоглобина, в котором атомы железа вместо молекулярного кислорода связываются с оксидом углерода, обладающего химическим сродством к гемоглобину, в 200–300 раз превышающим сродство к кислороду, и на 3–4 порядка большим временем выведения из организма. Образование HbCO снижает способность крови к транспорту кислорода, что особенно сказывается на органах, обладающих высокой потребностью в кислороде, прежде всего сердце и мозг. На клеточном уровне оксид углерода связывается с такими белками и ферментами, как миоглобин, цитохромоксидаза, цитоглобин, нейроглобин и др. [1, 7].

Большинство населения подвергается воздействию относительно низкой концентрации СО в окружающей среде, приводящей к среднему уровню карбоксигемоглобина в крови менее 2%. Карбоксигемоглобин эндогенного происхождения, обусловленный внутренней выработкой СО в результате ферментативно-управляемого катаболизма гемсодержащих соединений дает уровни от 0,4 до 1%. Средний уровень HbCO у умеренных курильщиков составляет 5%, у заядлых курильщиков он может превышать 10% и иногда достигать 15% [8]. Признаки и симптомы отравления СО появляются при превышении концентрации HbCO в крови 10%, но и меньшие концентрации вызывают неблагоприятные последствия для здоровья, особенно у людей групп повышенного риска. К последним относятся лица с сердечно-сосудистыми и легочными заболеваниями, курильщики, беременные и лица определенных профессий (водители, дорожные рабочие, металлурги, нефтяники и т. п.).

После прекращения поступления оксида углерода извне молекулы HbCO диссоциируют с образованием оксигемоглобина и СО постепенно выводится через легкие. В нормальных условиях при свежем воздухе период полувыведения СО из крови составляет около 5 часов и выведение замедляется по мере уменьшения концентрации. Единственным эффективным способом снижения уровня HbCO в крови является лишь гипербарическая оксигенация, а применение кислородной маски может сократить время полувыведения до 40–90 минут. В настоящее время способность современной медицины справляться с этой проблемой ограничена, поэтому

разработка новых эффективных методов детоксикации отравления угарным газом является актуальной социальной проблемой.

Авторами [1] ранее уже рассматривался вопрос об использовании фотодиссоциации HbCO в качестве перспективного вспомогательного метода детоксикации при отравлениях угарным газом. Наши исследования показали, что транскутанное облучение артериальной крови приводит к лазерно-стимулированной фотодиссоциации карбоксигемоглобина.

В настоящей работе описано исследование эффективности фотодиссоциации HbCO в зависимости от спектрального состава фотолизирующего излучения и показано, что развитие этого подхода может быть использовано для создания оптического метода детоксикации отравленных угарным газом.

Материал и методы

Определение относительной концентрации карбоксигемоглобина SaCO проводится методом, аналогичным методу пульсовой оксиметрии, который опирается на измерение света, модулированного пульсовой волной крови. SaCO определяется как отношение концентрации HbCO к сумме концентраций компонентов Hb, HbO₂ и HbCO в артериальной крови, т. е. $SaCO = HbCO / (Hb + HbO_2 + HbCO)$.

В данной работе для определения относительной концентрации HbCO использовался описанный ранее [2] трехволновый датчик рассеянного назад света на базе светодиода L-53MGC (InGaAlP, $\lambda_{max} = 568$ нм), стандартной для пульсоксиметрии пары V97B ($\lambda_{max} = 660$ и 940 нм) и кремниевого фотодиода BPW34. Методика измерений аналогична использованной нами для исследования эффекта фотодиссоциации в зависимости от длины волны [6] и обеспечивает точность измерений <0,2%.

В эксперименте светодиод вводился внутрь пульсоксиметричного датчика таким образом, чтобы облучалась нижняя передняя часть первой фаланги пальца и при этом прямой световой поток не попадал на поверхность фотоприемника. Расстояние от внешнего источника до фотоприемника составляло около 5 мм. Измерения проводились на пальцах умеренного курильщика со средним содержанием карбоксигемоглобина в крови от 4 до 5,5%. Для изучения действия каждого из источников было записано от 10 до 25 трехволновых наборов фотоплетизмограмм по схеме: 30–40 с без излучения, 30–40 с при включенном излучении и 30–40 с без излучения.

Совокупность накопленных экспериментальных данных в области низкоинтенсивной лазерной терапии (фотобиостимуляции) демонстрирует отсутствие разницы в

результатах облучения крови когерентным излучением лазеров и излучением нелазерных источников [5]. Последние десятилетия в фототерапии широко используются светодиоды, характеризующиеся относительно узкой спектральной полосой излучения, и показано, что медико-биологические результаты облучения зависят только от длины волны используемого оптического источника и дозы облучения.

В экспериментах было использовано 18 источников излучения (светодиоды и лазерные диоды) в видимой и ближней ИК-области спектра с длинами волн 405, 470, 505, 525, 568, 590, 605, 625, 635, 650, 660, 700, 780, 808, 850, 860, 880 и 940 нм. Для каждого из источников подбиралась такая мощность излучения, которая отвечает одинаковому количеству фотонов, падающих на облучаемый участок кожи на разных длинах волн. Мощность оценивалась измерителем средней мощности и энергии лазерного излучения ИМО-2Н и варьировала от 20 мВт для $\lambda = 405$ нм до 8 мВт для $\lambda = 940$ нм. На поверхности кожи площадь лазерного пятна составляла 0,16 см², а соответствующая плотность мощности облучения кожи с учетом исходной апертуры источников составляет от 50 до 125 мВт/см².

Полученные значения статистически обрабатывались с использованием соответствующего пакета программы Origin 7,5, и исчислялись погрешности значений для достоверности $p = 0,95$ с использованием таблицы Стьюдента.

Результаты и обсуждение

По данным статистической обработки результатов измерений для всех источников получено значение изменения относительной концентрации HbCO в зависимости от длины волны источника излучения (рис. 1).

В спектрах HbCO наблюдаются два максимума в видимой области спектра (525 и 600 нм) и более широкий максимум в ближней инфракрасной области (850 нм). Максимальное изменение Δ HbCO достигает 2,6%. При

этом следует заметить, что падение SaCO происходит на начальном фоне концентрации ~5%, то есть в области максимального эффекта фотолиз испытывают ~50% молекул HbCO.

Полученные результаты коррелируют со спектром поглощения HbCO и спектром пропускания покровных тканей. Карбоксигемоглобин имеет максимум поглощения в области 555 нм и слабое поглощение в более длинноволновой области. Максимум в области 850 нм, очевидно, связан с фактом, что покровная ткань прозрачнее для ИК-диапазона, чем для более коротковолнового излучения.

В области максимального эффекта в видимой области спектра (525 и 600 нм) было проведено исследование эффекта от мощности облучения. Средние значения HbCO без облучения составляли $4,6 \pm 0,33_{SD}\%$.

На рис. 2 приведена зависимость величины падения концентрации Δ HbCO в артериальной крови от мощности облучения на обеих длинах волн. На обеих длинах волн кривая изменения относительной концентрации карбоксигемоглобина выходит на насыщение при оптической мощности более 40 мВт. Это означает, что дальнейшее увеличение количества фотонов не приводит к увеличению числа актов фотодиссоциации молекул HbCO в облучаемой крови и полученные максимальные значения Δ HbCO/HbCO определяют квантовый выход фотодиссоциации карбоксигемоглобина.

Кроме того, мы оценивали выход фотодиссоциации как отношение изменения относительной концентрации под действием излучения к ее величине до облучения. На длине волны 525 нм квантовый выход фотодиссоциации молекул HbCO составил $0,79 \pm 0,03$, а на длине волны 605 нм – $0,76 \pm 0,02$. Полученные экспериментальные результаты хорошо коррелируют с расчетами в [1, 3].

Аналогичным способом были измерены зависимости величины изменения концентрации карбоксигемоглобина Δ HbCO от мощности облучения на длине волны 850 нм. Но следует отметить, что при превышении мощ-

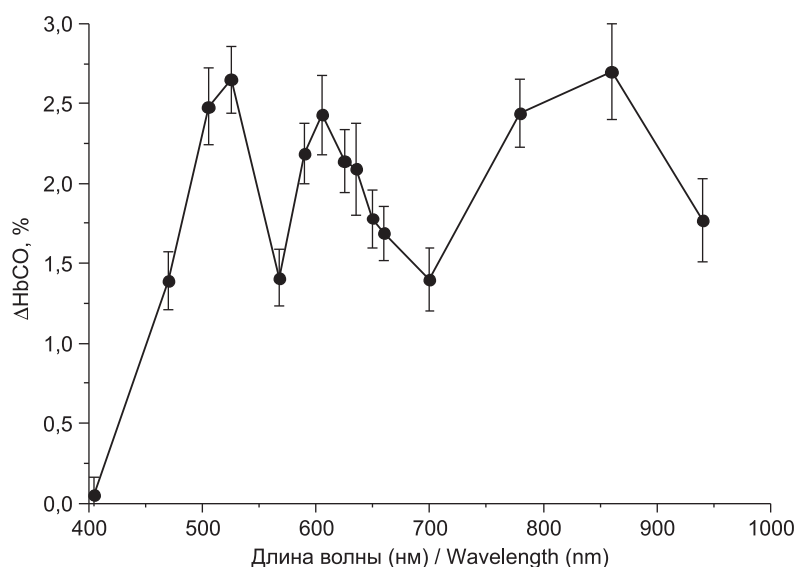


Рис. 1. Изменения относительной концентрации карбоксигемоглобина в зависимости от длины волны излучения

Fig. 1. Changes in carboxyhemoglobin relative concentration depending on radiation wavelength

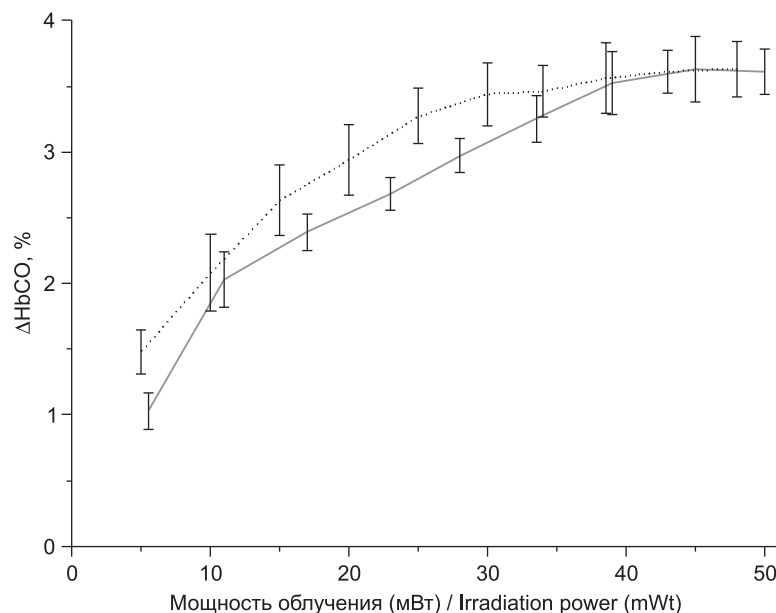


Рис. 2. Зависимость изменения относительной концентрации карбоксигемоглобина в артериальной крови от мощности излучения

Fig. 2. Dependence of carboxyhemoglobin relative concentration in the arterial blood on laser light power

ности облучения в 10 мВт пульсоксиметрический сигнал выходил за диапазон измерения аналого-цифрового преобразователя и измерения становились невозможными. Относительное падение концентрации карбоксигемоглобина при максимальной мощности облучения достигало 88%, при этом кривые еще не выходили на насыщение. Таким образом, можно считать, что и 0,88 являются нижними оценками значений квантового выхода фотодиссоциации карбоксигемоглобина при $\lambda = 850$ нм.

Следует отметить, что принципиальным отличием данного исследования от всех ранее выполненных на растворах комплексов гемоглобина является факт, что в условиях *in vivo* за счет кровотока обеспечивается постоянное количество объектов фотодиссоциации, в то время как в кюветах *in vitro* количество молекул, могущих испытать фотолиз, уменьшается по экспоненте. Кроме того, за счет непрерывности облучения продукты рекомбинации лиганда с гемом могут испытать повторную фотодиссоциацию. В результате мы имеем квантовую эффективность устоявшегося процесса фотодиссоциации, что соответствует природным условиям.

Заключение

Экспериментально *in vivo* исследовано действие оптического излучения видимого и ближнего ИК-диапазона на карбоксигемоглобин артериальной крови. Показано, что при таком облучении уменьшение относительной концентрации HbCO в артериальной крови зависит от спектральных характеристик лазерного облучения.

Предлагаемый метод, основанный на фотодиссоциации HbCO в крови, в сочетании с другими существующими методами (кислородная гипервентиляция, а также гипербарическая кислородная терапия) может значительно повысить эффективность лечения отравления угарным газом. Скорость фотодиссоциации HbCO очень высока, и ее квантовый выход, который составляет

почти 80% в области максимального эффекта, позволяет ожидать высокой эффективности предлагаемого подхода в клинических применениях. Фотодиссоциации HbCO можно достичь в альвеолах легких или в кожных кровеносных сосудах на длинах волн 525 или 605 нм. Требуемая мощность лазера и время обработки в клинической практике должны определяться в соответствии с оптическими свойствами кожи, глубиной проникновения и объемом крови, освещенной лазерным излучением.

Работа частично выполнена при финансовой поддержке Академии наук Украины и Болгарского Фонда научных исследований (проекты H18/8/2017 и ДНТС/01/7/2017).

Литература / Reference

1. Asimov M., Asimov R., Gisbrecht A. New approach to carbon monoxide poisoning treatment by laser-induced photodissociation of carboxyhemoglobin of cutaneous blood vessels. *Proc. SPIE*. 2004; 5830: 414–419.
2. Asimov M., Asimov R., Mamilov S. High sensitive pulsoximeter spectrophotometer for laser optical dosimetry in biology and medicine. *Proc. SPIE*. 2006; 6251: 147–154.
3. Egan W., Brewer W., Morgan S. Measurement of Carboxyhemoglobin in Forensic Blood Samples Using UV-Visible Spectrometry and Improved Principal Component Regression. *Appl. Spectroscopy*. 1999; 53: 218–225.
4. Fierro M. Carbon monoxide (CO). *Air Updates. Health professional pages*. 2001: 1–11.
5. Karu T. *Biomedical Photonics Handbook*, Editor Tuan Vo-Dinh, Boca Raton, FL, CRC Press LLC, 2003, 48–1–48–21.
6. Mamilov S., Esmann S., Veligodski D., Asimov M., Gisbrecht A. The dependence of the efficiency of photolysis of carboxyhemoglobin *in vivo* on wavelength. *J. of Appl. Spectroscopy*. 2014; 81 (3): 432–436.
7. Raub J.A. Carbon monoxide poisoning – a public health perspective. *Toxicology*. 2000; 145 (1): 1–14.
8. Von Burg R. Toxicology Update. *J. Appl. Toxicology*. 1999; 19: 379–386.