

ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΟΠΤΙΚΗ

- Μελέτη αλληλεπίδρασης φωτός με βιολογική ύλη και βιολογικά υλικά (π.χ. βιολογικούς ιστούς).
- Φως: Υπέρυθρη, Οπτική, και Υπεριώδης ακτινοβολία.
- Σκοπός της μελέτης είναι διττός:
 - (α) βασική μελέτη και κατανόηση της δομής και λειτουργίας της βιολογικής ύλης.
 - (β) ανάπτυξη μη επεμβατικών τεχνικών για την έγκαιρη πρόγνωση, διάγνωση, και θεραπεία παθολογικών καταστάσεων.
- **Κύρια πλεονεκτήματα:**
 - (α) μη ιονίζουσα ακτινοβολία.
 - (β) μη επεμβατική τεχνική.
 - (γ) παροχή πληροφορίας σε πραγματικό χρόνο.
 - (δ) παροχή ποσοτικής πληροφορίας (όχι μόνο ποιοτικής).
- **Κύριο μειονέκτημα:** ισχυρή σκέδαση του φωτός, περιορίζει την χρήσιμη πληροφορία που μπορούμε να πάρουμε καθώς και το βάθος διείσδυσης στους βιολογικούς ιστούς.

ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΟΠΤΙΚΗ

- Μελέτη δύο βασικών φυσικών διεργασιών:
- **Απορρόφηση φωτός:** μια πληθώρα βιοχημικών μορίων έχουν χαρακτηριστικά φάσματα απορρόφησης του φωτός που σχετίζονται με τις ηλεκτρονικές, δονητικές, περιστροφικές, ενεργειακές καταστάσεις τους. Την απορρόφηση μπορεί να ακολουθήσει σε ορισμένες περιπτώσεις και δευτερογενής εκπομπή ακτινοβολίας όπως ο **φθορισμός**.
- **Σκέδαση φωτός:** η σκέδαση του φωτός μπορεί να είναι ελαστική ή μη (ανελαστική). Στους βιολογικούς ιστούς κυριαρχεί η σκέδαση τύπου Mie που περιγράφει ελαστική σκέδαση του φωτός από σκεδαστές με τυπικές διαστάσεις παρόμοιες με το μήκος κύματος του φωτός. Η σκέδαση **Raman** (μη ελαστική) παρέχει συγκεκριμένη πληροφορία για συγκεκριμένα μόρια, αλλά η έντασή της είναι γενικά πολύ χαμηλή, πράγμα που κάνει την ανίχνευση δύσκολη.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΟΠΤΙΚΗ

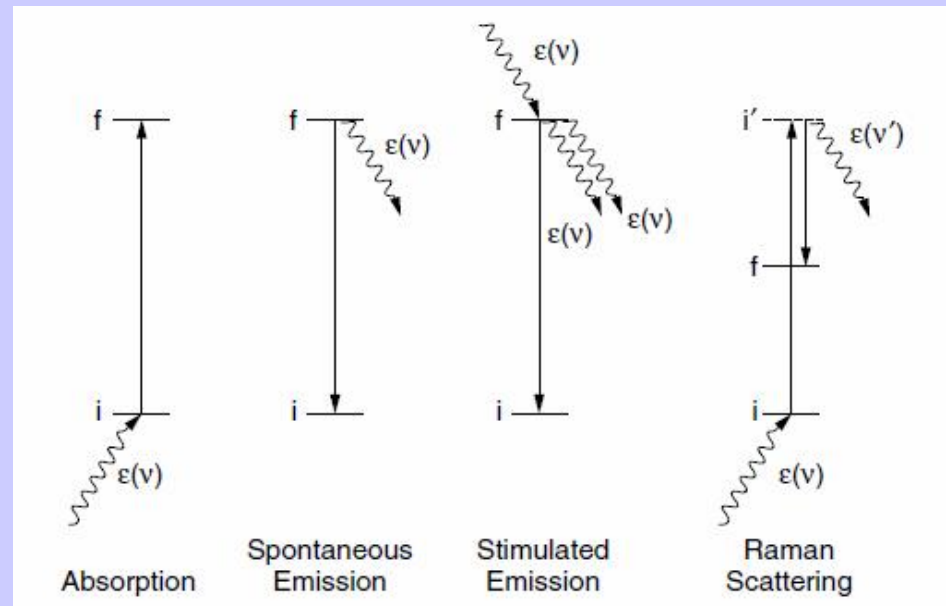
- Υπάρχουν πολλές τεχνικές καθώς και συνδυασμός τεχνικών.
- Ορισμένες δημοφιλείς απ' αυτές είναι οι κάτωθι.

- Φασματοσκοπία σκέδασης
- Φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης
- Οξυμετρία και παλμική οξυμετρία
- Φασματοσκοπία Raman
- Φασματοσκοπία Φθορισμού
- Κυτταρομετρία Ροής (Flow Cytometry)
- Φωτοδυναμική Θεραπεία (Photodynamic Therapy)
- Οπτική Τομογραφία (OCT - Optical Coherence Tomography)
- Συνεστιακή Μικροσκοπία

ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΕΣ ΣΤΑΘΜΕΣ

- Τα μόρια που βρίσκονται μέσα στα βιολογικά συστήματα και τους βιολογικούς ιστούς έχουν γενικά μια πολύπλοκη δομή από ενεργειακές στάθμες.
- Τα ηλεκτρόνια μπορούν να αλλάζουν ενεργειακές στάθμες απορροφώντας ή εκπέμποντας φως.
- Μερικοί τρόποι αλληλεπίδρασης μορίων-φωτός φαίνονται παρακάτω.

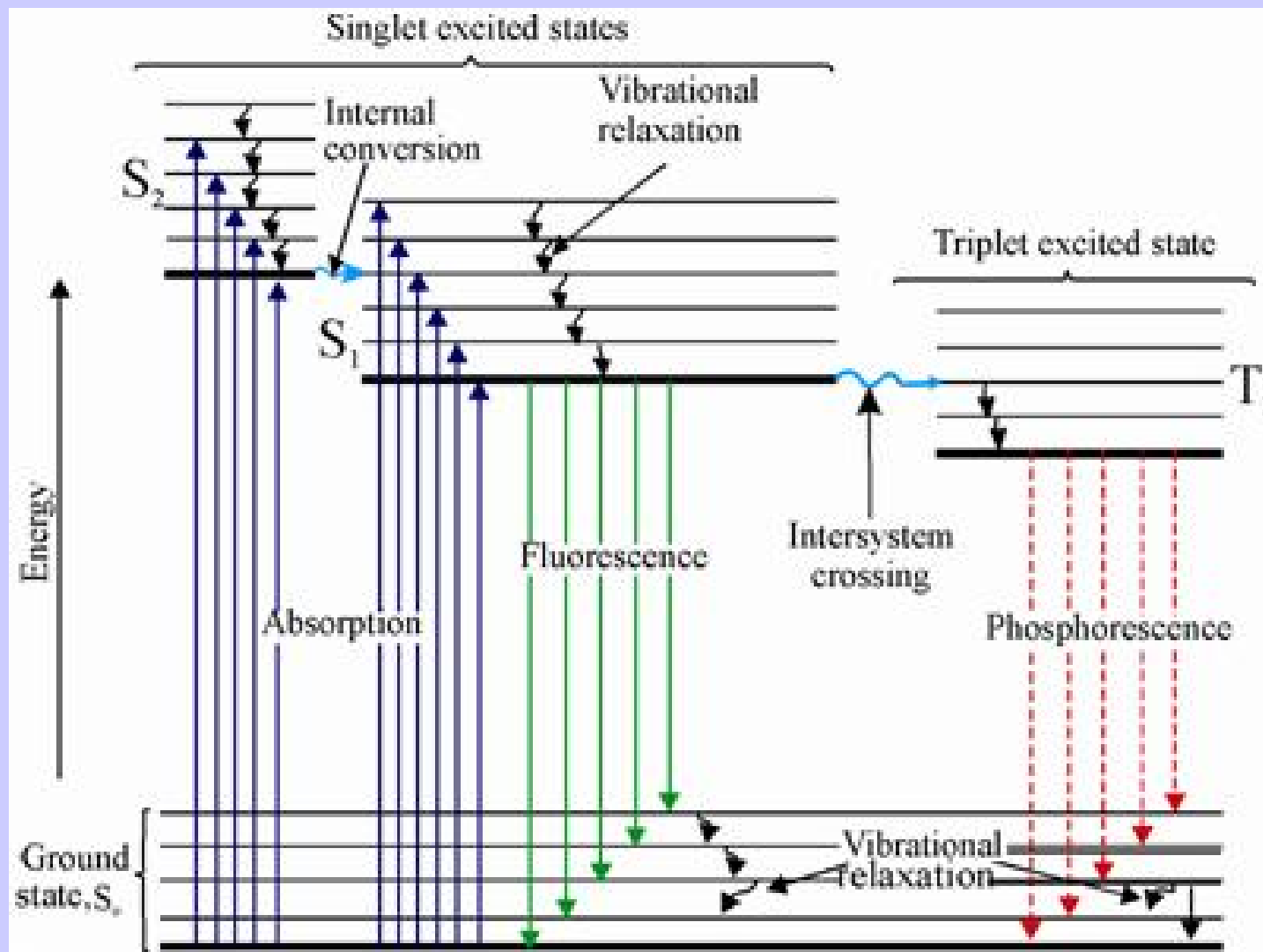
- **Απορρόφηση (Absorption)**
- **Αυθόρμητη Εκπομπή (Spontaneous Emission)**
- **Εξαναγκασμένη Εκπομπή (Stimulated Emission)**
- **Σκέδαση Raman (Raman Scattering)**



ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΕΣ ΣΤΑΘΜΕΣ

- Οι ενεργειακές στάθμες των μορίων οφείλονται στην ενέργεια των ηλεκτρονίων που επιτρέπεται από την κβαντομηχανική και είναι χαρακτηριστικές για κάθε άτομο και μόριο (ηλεκτρονιακές στάθμες).
- Επιπλέον, τα μόρια μπορούν να έχουν ενέργεια λόγω δόνησης ή περιστροφής και κάθε ηλεκτρονιακή στάθμη «χωρίζεται» σε επιμέρους δονητικές στάθμες. Κάθε δονητική στάθμη χωρίζεται σε επιμέρους περιστροφικές στάθμες (ενέργεια λόγω περιστροφής του μορίου).
- Επιπλέον, λόγω του σπιν των ηλεκτρονίων έχουμε απλές (S) στάθμες ή τριπλές (T) στάθμες. Στα περισσότερα μόρια η θεμελιώδης ηλεκτρονιακή στάθμη είναι η απλή (S_0). Μια εξαίρεση είναι το μόριο του οξυγόνου όπου η θεμελιώδης στάθμη είναι τριπλή.
- Ας θεωρήσουμε ένα μόριο που βρίσκεται στη θεμελιώδη ενεργειακή στάθμη. Απορρόφηση φωτός οδηγεί το μόριο σε κάποια απλή διεγερμένη στάθμη (π.χ. S_2).
- Στην πράξη, πολύ λίγα μόρια μπορούν να αποδιεγερθούν εκπέμποντας φως από μια υψηλή διεγερμένη στάθμη.

ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΕΣ ΣΤΑΘΜΕΣ



ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΕΣ ΣΤΑΘΜΕΣ

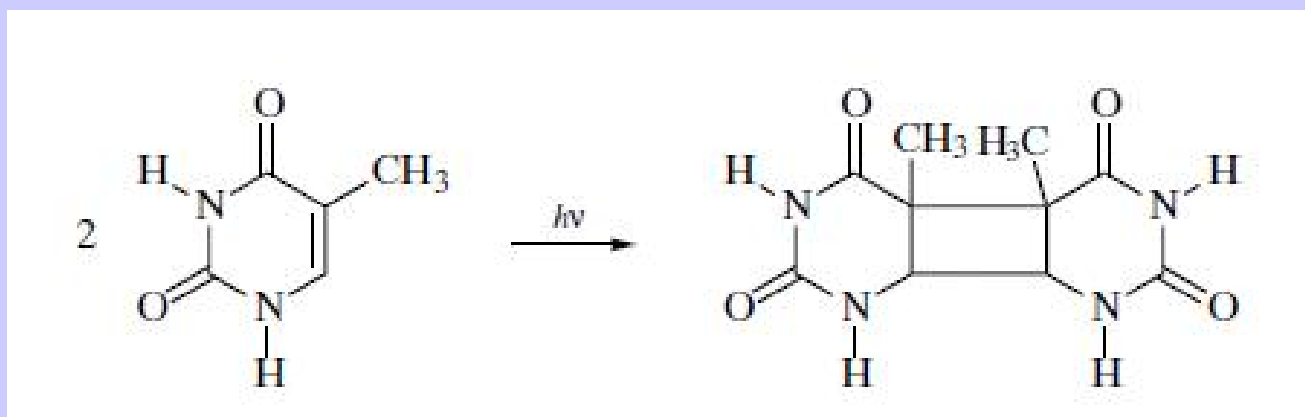
- Από την S_2 στάθμη το μόριο μεταπίπτει σε κάποια δονητική στάθμη της πρώτης διεγερμένης ηλεκτρονιακής στάθμης S_1 . Αυτή η διαδικασία ονομάζεται **Εσωτερική Μετατροπή** (IC – Internal Conversion).
- Κατόπιν, το μόριο μπορεί να μεταπέσει στην θεμελιώδη δονητική στάθμη της πρώτης ηλεκτρονιακής στάθμης (S_1). Η διεργασία αυτή ονομάζεται **Δόνηση Επαναφοράς** (Vibrational Relaxation). Η αντίστοιχη ενέργεια χάνεται με μη ακτινοβολητικό τρόπο (π.χ. θερμότητα)
- Κατόπιν, το μόριο μπορεί να μεταπέσει σε κάποια δονητική στάθμη της θεμελιώδους ηλεκτρονιακής στάθμης S_0 εκπέμποντας ακτινοβολία (φως). Η διεργασία αυτή ονομάζεται **Φθορισμός** (Fluorescence).
- Εναλλακτικά, το μόριο μπορεί να μεταπηδήσει στην πρώτη τριπλή διεγερμένη ηλεκτρονιακή στάθμη (T_1). Η διεργασία αυτή ονομάζεται **Εσωτερική Διασταύρωση** (ISC – Intersystem Crossing).
- Από την T_1 στάθμη μπορεί να υπάρξει αποδιέγερση στη θεμελιώδη στάθμη εκπέμποντας φως. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται **Φωσφορισμός** (Phosphorescence).
- Ο φωσφορισμός είναι πολύ πιο αργή διεργασία (~ms και πάνω) σε σύγκριση με το φθορισμό (~ns) και κατά κανόνα δεν είναι σημαντική σε βιολογικά συστήματα.
- Το φως που εκπέμπεται μέσω του φθορισμού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και χαρακτηρισμό βιοχημικών μορίων.

ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΦΩΤΟΣ

- Απορρόφηση φωτός από ένα μόριο μπορεί να οδηγήσει σε επανεκπομπή φωτός μέσω **φθορισμού** ή **φωσφορισμού**.
- Υπάρχουν όμως κι άλλες διάφορες δυνατές διεργασίες ανάλογα με το φως, το μόριο, και το περιβάλλον του:
- Ιονισμός του μορίου ή μεταφορά ηλεκτρονίου σε άλλο μόριο ή άτομο.
- Αποδιέγερση του μορίου με μεταφορά ενέργειας σε άλλο άτομο ή μόριο το οποίο οδηγείται σε κάποια διεγερμένη ενεργειακή στάθμη.
- Αλληλεπίδραση με άλλο μόριο ή άτομο για τη δημιουργία διεγερμένου διμερούς (Excimer ή Exciplex).
- Αποδιέγερση μέσω συγκρούσεων οπότε η ενέργεια μετατρέπεται σε θερμική.
- Μια σειρά από διάφορες φωτοχημικές διεργασίες είναι επίσης δυνατές όπως π.χ. φωτοδιάσπαση, συνένωση μορίων, ισομερισμός κ.α.

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Συνένωση μορίων (Photoaddition). Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η παραγωγή διμερών θυμίνης στο DNA. Είναι γενικά ανεπιθύμητη διεργασία γιατί συνεπάγεται βλάβες και ανωμαλίες στο γενετικό υλικό.

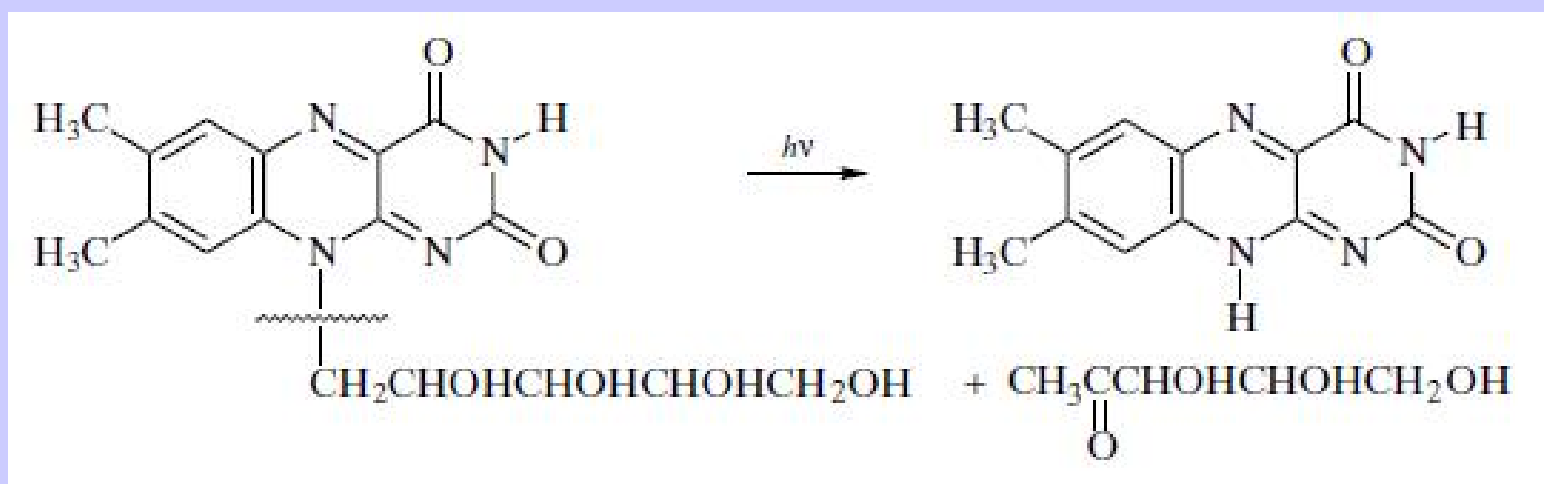


Η αντίδραση μπορεί να γίνει υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV).

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Διάσπαση μορίων (Photofragmentation). Ένα μόριο διασπάται σε μικρότερα μόρια ύστερα από απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας και σπάσιμο ενός χημικού δεσμού. Αυτή η αντίδραση είναι αρκετά συνηθισμένη σε διάφορα βιομόρια.

Παράδειγμα: Φωτοδιάσπαση ριβοφλαβίνης

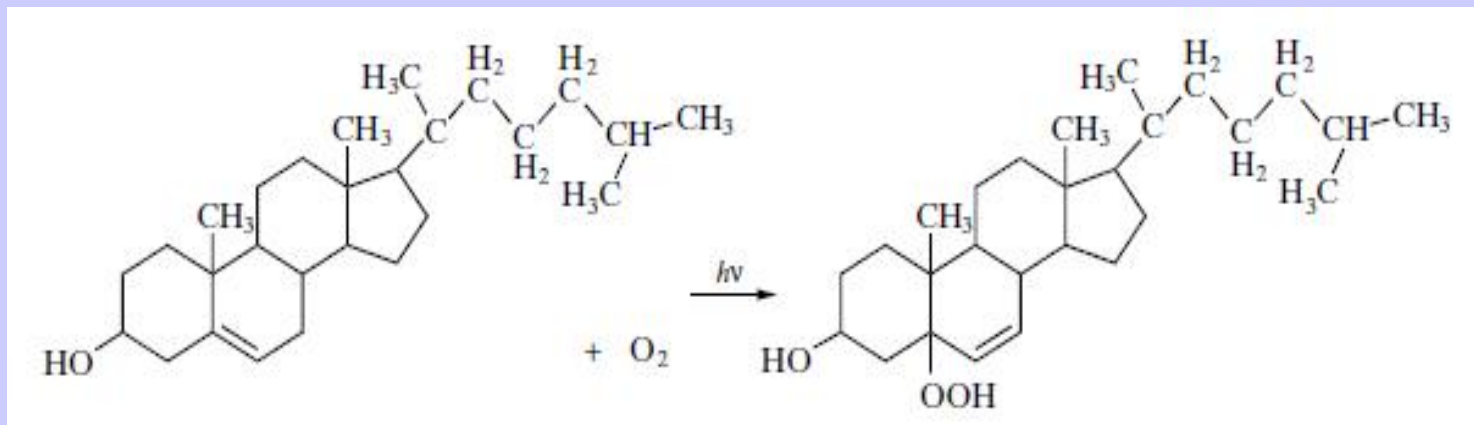


ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

- **Προσθήκη O_2 .** Κατά την αντίδραση αυτή ένα μόριο οξυγόνου από το περιβάλλον του μορίου προστίθεται στο μόριο.

Παράδειγμα:

Προσθήκη ενός μορίου οξυγόνου στο μόριο της χοληστερίνης.



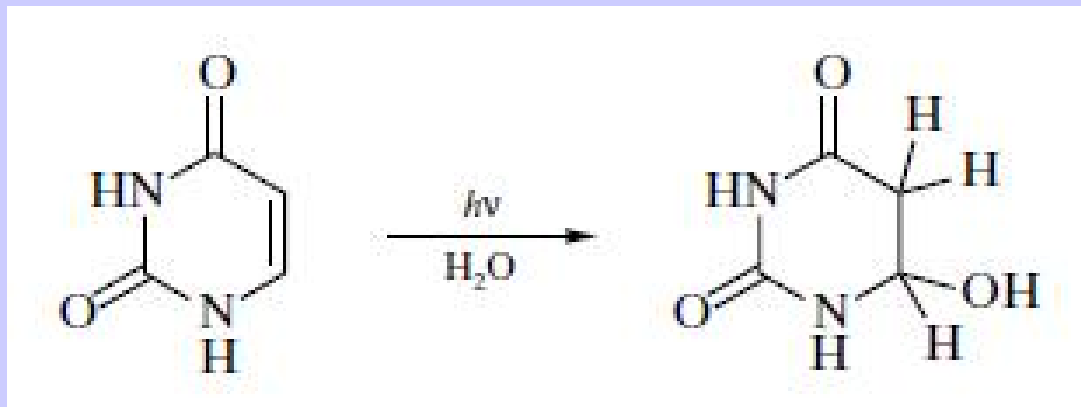
ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

- Προσθήκη μορίου νερού (Photohydration).

Αυτή είναι μια αντίδραση που μπορεί να προκαλέσει βλάβες στο DNA.

Παράδειγμα:

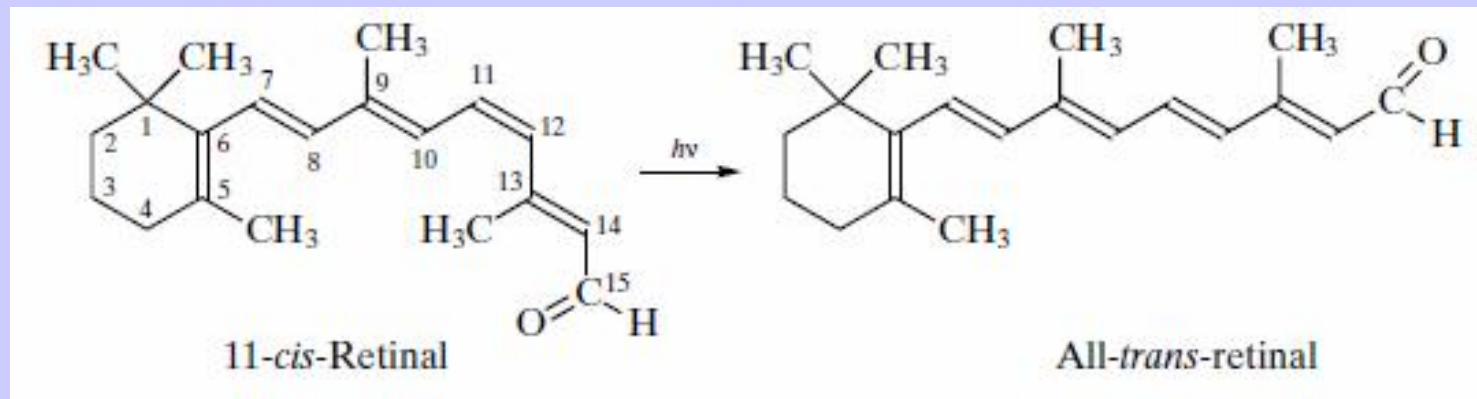
Προσθήκη ενός μορίου νερού στη βάση ουρακίλη του RNA.



ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

- **Μετατροπή μορίου από το ένα ισομερές στο άλλο (Photoisomerization).**
Σ' αυτή την περίπτωση το μόριο μεταβαίνει σε μια άλλη στερεοϊσομερή μορφή.

Ένα σημαντικό παράδειγμα συναντάμε στη λειτουργία του ματιού (ισομερισμός ρετινάλης).

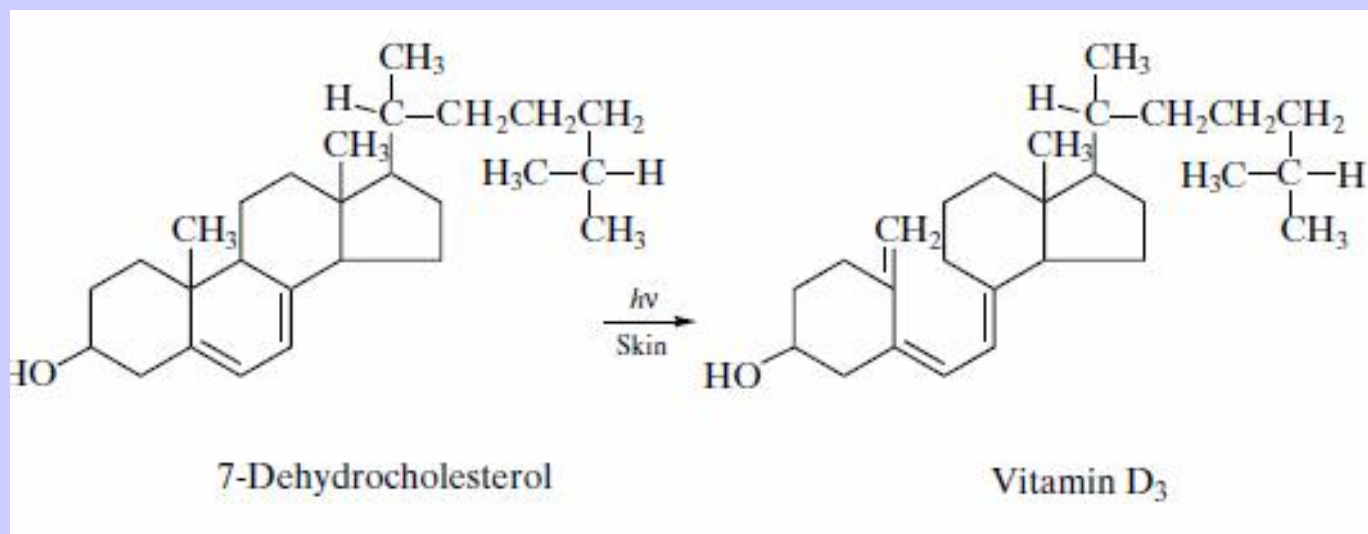


ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

- **Αναδιοργάνωση του μορίου (Photorearrangement).** Σ' αυτή την περίπτωση το μόριο δεν αλλάζει χημική σύσταση αλλά υπάρχει αναδιοργάνωση χημικών δεσμών.

Παράδειγμα:

Μετατροπή 7-δευδροχοληστερόλης σε βιταμίνη D₃ στο δέρμα.



ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

Άλλες Αλληλεπιδράσεις: Πέρα από τη φωτοχημική δράση μπορούμε να έχουμε μια πληθώρα από άλλες αλληλεπιδράσεις με αντίστοιχα χαρακτηριστικά όπως τα παρακάτω. Το είδος της αλληλεπίδρασης εξαρτάται από την ένταση του φωτός και την διάρκεια της ακτινοβολήσης που μπορεί να είναι πολύ μικρή (έως και fs).

Θερμικά αποτελέσματα: το απορροφημένο φως μέσω μιας σειράς διεργασιών όπως εσωτερική μετατροπή και δόνηση επαναφοράς μεταφέρει την ενέργεια του σε θερμική ενέργεια με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας η οποία με τη σειρά της μπορεί να δημιουργήσει φαινόμενα, πήξης (coagulation, $T > 60\text{ }^{\circ}\text{C}$), τήξης (melting), εξάτμισης (vaporization, $T > 100\text{ }^{\circ}\text{C}$), και εξανθράκωσης (carbonization, $T > 150\text{ }^{\circ}\text{C}$).

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

Photoablation: με τον όρο αυτό εννοούμε την αφαίρεση μέρους του βιολογικού ιστού/υλικού σαν αποτέλεσμα της απορρόφησης φωτός από αυτό. Οι μοριακοί δεσμοί σπάνε επιλεκτικά και το υλικό χάνει την δομή και συνοχή του με αποτέλεσμα την εύκολη αφαίρεση τμημάτων από αυτό (ablation). Η διεργασία παρατηρείται σε εντάσεις 10^7 - 10^{10} W/cm² και με παλμούς φωτός διάρκειας 10-20 ns. Μια τυπική εφαρμογή είναι στην οφθαλμολογία για τη θεραπεία της μυωπίας και γενικότερα για επεμβάσεις στον κερατοειδή χιτώνα του ματιού.

Plasma Ablation: Αυτή η διεργασία παρατηρείται σε υψηλότερες εντάσεις φωτός (π.χ. 10^{11} W/cm²). Το ηλεκτρικό πεδίο του φωτός είναι τόσο ισχυρό ώστε απελευθερώνει τα ηλεκτρόνια από τα άτομα και δημιουργεί έτσι μια υψηλή συγκέντρωση ελεύθερων ηλεκτρονίων και θετικών ιόντων (πλάσμα). Το τελικό αποτέλεσμα είναι πάλι εύκολη αφαίρεση υλικού.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

Φωτομηχανικές διεργασίες (Photodisruption): κατά τις διεργασίες αυτές έχουμε ακόμη υψηλότερες εντάσεις που δημιουργούν πλάσμα αλλά και ωστικά κύματα (shock waves) τα οποία αλλοιώνουν την δομική συνοχή και συνέχεια του υλικού με μηχανικό τρόπο. Σαν αποτέλεσμα έχουμε πιο εκτεταμένες αλλοιώσεις και αφαίρεση υλικού σε σχέση με την απλή δημιουργία πλάσματος. Συχνά παρατηρούνται ταυτόχρονα και οι δύο διεργασίες (plasma ablation και photodisruption) και επίσης συχνά δεν μπορούμε να διακρίνουμε τη μια από την άλλη.

- Για παλμούς φωτός της τάξης ns μπορούμε να ξεχωρίσουμε τις φωτομηχανικές διεργασίες.
- Η διεργασίες αυτές έχουν διάφορες εφαρμογές στην χειρουργική με lasers όπως στην εγχείρηση καταρράκτη ή την λιθοτριψία στην ουρολογία.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

Διάφορες διεργασίες αλληλεπίδρασης φωτός με βιολογικά υλικά σαν συνάρτηση της διάρκειας του παλμού του φωτός και της έντασης του φωτός

