

Laserinduzierte thermische Gewebseffekte mit mikroskopischer und makromolekularer Präzision?

G. Hüttmann, R. Birngruber

Medizinisches Laserzentrum Lübeck

Zusammenfassung

Der Einsatz von gepulster Laserstrahlung erlaubt es, das Ausmaß des Gewebeschadens zu begrenzen und Strukturen, die natürlicherweise oder durch Anfärbung mit einem Kontrastmittel eine höhere Absorption als ihre Umgebung besitzen, selektiv zu schädigen. Dieses Verfahren, die selektive Photothermolyse, wird unter anderem mit Pulslängen von einigen hundert Mikrosekunden bis Millisekunden erfolgreich zur selektiven Zerstörung von Gefäßen angewandt. Ob es auch möglich ist, einzelne Zellen, Zellbereiche oder sogar Makromoleküle thermisch selektiv zu zerstören, ist zur Zeit nicht geklärt.

Zur Beantwortung dieser Frage wurde die Temperatur in der Umgebung einzelner absorbierender Partikel mit Größen von 1 nm bis 1 µm für verschiedene Pulslängen berechnet. Die für thermische Schäden notwendigen Temperaturen wurden mittels der Arrheniusgleichung abgeschätzt. Diese Rechnungen zeigen, daß auch Strukturen im Submikrometerbereich selektiv zerstört werden können, falls sich die Gültigkeit des Arrheniusgesetzes bis in den Zeitbereich von Mikro- bis Pikosekunden erstreckt.

Schlüsselwörter: Lasermedizin, thermische Gewebseffekt, Proteindenaturierung, Mikroabsorber

Summary

Pulsed laser irradiation allows a selective photothermolysis by confining thermal damage to the absorbing structures. For example, laser pulses with micro- and millisecond duration are used for a selective targeting of blood vessels. However, at the moment it is not clear, whether also single cells, cell organelles or even macromolecules can be selectively destroyed by thermal laser effects.

Therefore the temperature which can be achieved by laser irradiation of particles and absorbing spherical volumes with diameters ranging from 1 nm to 1 µm were calculated using Mie theory and an analytical solution of the equations for heat diffusion. The temperatures which are necessary for selective thermal effects in these small volumes were estimated by the Arrhenius equation. Calculations show that selective thermal effects with nanometer precision could be possible, if the Arrhenius equation is still valid on a time scale from micro- to picoseconds.

Keywords: Laser medicine, thermal tissue damage, protein denaturation, microscopic absorber

Einführung

Laserstrahlung ermöglicht eine Materialbearbeitung mit höchster Präzision. Dies macht auch die Stärke des Lasers bei medizinischen Anwendungen aus: Hautschichten können präzise abgetragen werden. Kleine Gefäße lassen sich selektiv veröden und die Oberfläche der Hornhaut kann in ihrer Krümmung mit Mikrometerpräzision verändert werden. Um die Laserenergie in das gewünschte Zielgebiet zu bringen, sind grundsätzlich zwei Verfahren möglich. Entweder wird

ein fein gebündelter Laserstrahl auf das Zielgebiet fokussiert, oder aber es wird eine stärkere Absorption des Zieles benutzt, um die Bestrahlungsenergie zu deponieren. Im ersten Fall wird die gute Fokussierbarkeit (räumliche Kohärenz) des Laserlichtes ausgenutzt, die es zum Beispiel erlaubt, unter einem Mikroskop in Zellen Strukturen mit einer Genauigkeit unter einem Mikrometer zu schneiden. Der zweite Ansatz nutzt die Eigenschaft des Lasers aus, Energie in einem schmalen spektralen und zeitlichen Fenster zu konzentrieren, so daß in dem Wellenlängenbereich, in dem sich die Absorp-

tion des Zielgebietes von der des umgebenden Gewebes unterscheidet, ausreichend Energie deponiert werden kann. Beispiele für dieses Verfahren sind die selektive Zerstörung von Blutgefäßen mit gepulsten Farbstofflasern [5] oder die Entfernung von Pigmentflecken und Tätowierungen mit gütegeschalteten Lasern [13].

Eine Gewebezzerstörung kann durch verschiedene physikalisch-chemische Mechanismen bewirkt werden [10]. Photochemische Reaktionen, thermische Gewebedenaturierung, Disruption oder Schäden durch Stoßwellen sind abhängig von den Laserparametern möglich. Die Zerstörung von Gewebe ist in der Zielregion erwünscht, allerdings werden in der Regel je nach Mechanismus auch umgebende Strukturen geschädigt. Dadurch wird die räumliche Präzision limitiert.

Thermische Gewebeschäden

Wird Gewebe eine ausreichende Zeit einer erhöhten Temperatur ausgesetzt, so entstehen Schäden an Zellen oder der interzellulären Matrix. Experimentelle Untersuchungen zeigen, daß das Ausmaß thermischer Gewebeschäden von der Temperatur und der Dauer, die das Gewebe der erhöhten Temperatur ausgesetzt ist, abhängt. Dies wird allgemein durch ein Ratenmodell erklärt, bei dem angenommen wird, daß der Schaden auf der thermischen Zerstörung wichtiger Biomoleküle beruht [19]. Eine Reihe von experimentellen Ergebnissen legen nahe, daß vor allem Proteine für thermische Zellschäden verantwortlich sind [15]. Bei einer gegebenen Temperatur T werden diese Proteine innerhalb der Bestrahlungszeit τ mit einer temperaturabhängigen Rate geschädigt. Ist ein bestimmter Anteil der Proteine irreversibel zerstört, tritt Zellnekrose oder Apoptose ein. Mathematisch kann das Ausmaß der thermischen Schäden durch das Schadensintegral Ω beschrieben werden [2]:

$$\Omega = \int_0^{\tau} k(T) dt \tag{1}$$

Die Schädigungsrate $k(T)$ ist stark temperaturabhängig und kann in Näherung durch das Arrheniusgesetz

$$k(T) = A_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \tag{2}$$

berechnet werden. Der Parameter A_0 und die Aktivierungsenergie E_a sind charakteristische Größen für den thermischen Schaden. R bezeichnet die allgemeine Gaskonstante. Experimentell zeigt sich eine gute Übereinstimmung des Arrheniusgesetzes mit der Temperaturabhängigkeit der Denaturierung von Proteinen und thermischen Gewebeschäden in einem Zeitbereich von Minuten bis Millisekunden [2,11]. Die Aktivierungsenergien E_a liegen dabei im Bereich von 200 bis 800 kJ/Mol. Daher führt schon eine Temperaturerhöhung von wenigen Kelvin zu einer Verdoppelung der Schädigungsrate. Da das Schadensintegral linear von A_0 abhängt, wird dieser

Parameter im allgemeinen so gewählt, daß bei Erreichen eines vorher in geeigneter Form festgelegten Schadenskriteriums, das Schadensintegral Ω gleich eins ist. Mit den Gleichungen 1 und 2 können die Temperaturen abgeschätzt werden, die notwendig für eine thermische Schädigung innerhalb einer bestimmten Zeit sind (Abb. 1).

Die räumliche Präzision thermischer Schäden wird durch die Wärmeleitung in das umgebende Gewebe begrenzt. Abhängig von der thermischen Diffusivität α des Mediums breitet sich die erhöhte Temperatur während der Bestrahlungszeit τ ungefähr über eine Strecke von

$$r_{diff} = \sqrt{4 \alpha \tau} \tag{3}$$

aus (Abb. 1). Durch Verwendung kurzer Bestrahlungszeiten kann die thermische Diffusionsstrecke r_{diff} verringert werden. Ist r_{diff} sehr viel kleiner als der Radius des durch die Bestrahlung erhitzten Volumens, so fließt während der Bestrahlung so gut wie keine Energie in die Umgebung ab und die Temperaturerhöhung hängt nur von der absorbierten Energie ab. Ist diese Bedingung des thermischen Einschlusses oder auch des adiabatischen Grenzfalles nicht erfüllt, so sinkt die mit einer bestimmten Bestrahlung erreichbare Temperatur um so mehr, je kleiner der Radius des Volumens im Vergleich zu r_{diff} ist (Abb. 2). Gleichzeitig wird auch die Umgebung des Absorbers erhitzt.

Für ein effektives Aufheizen sollten die Partikel ungefähr den Radius r_{diff} besitzen. Wird der Radius von r_{diff} auf die

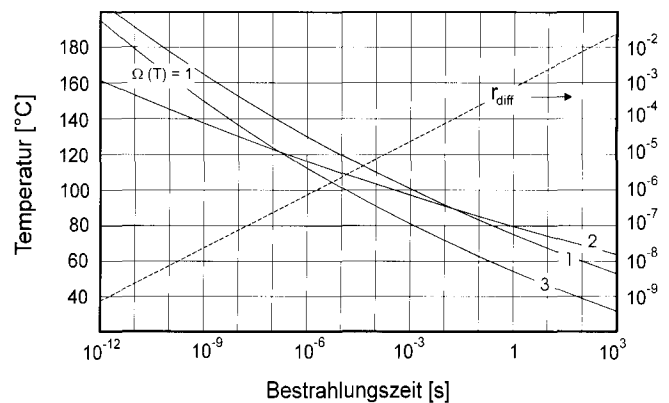


Abbildung 1 Abschätzung der Temperaturen, die notwendig sind, um in verschiedenen Bestrahlungszeiten thermische Schäden zu erzeugen. Da für den Zeitbereich von Mikro- bis Nanosekunden keine experimentellen Daten vorliegen, wurde das Arrheniusgesetz (Gl. 2) extrapoliert. Für die Parametern A_0 und E_a wurden Werten aus Messungen thermischer Netzhautschäden (1), der Denaturierung von Aortagewebe (2), und der Denaturierung des Proteins Chymotrypsin (3), die im Zeitbereich von Minuten bis Millisekunden experimentell bestimmt wurden [19,20], verwendet. Zum Vergleich wurde die thermische Diffusionslänge r_{diff} für die jeweilige Bestrahlungszeit eingezeichnet (---, rechte Achse).

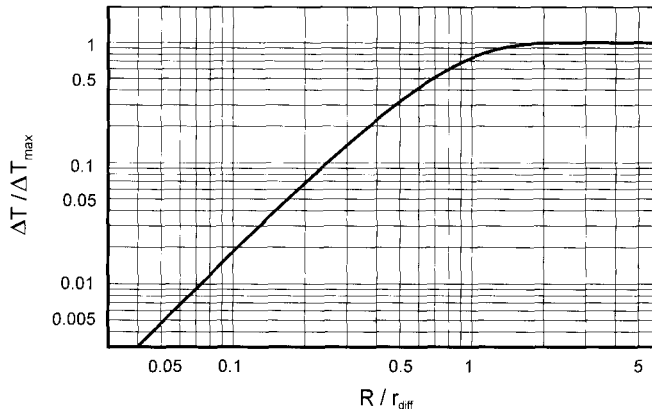


Abbildung 2 Maximaltemperatur im Zentrum eines kugelförmigen Absorbers in Abhängigkeit von dessen Größe. Durch Normierung des Kugelradius R auf die thermische Diffusionszeit $r_{diff} = \sqrt{4 \alpha \tau}$ und der Temperaturerhöhung ΔT auf die im Falle des thermischen Einschlusses maximal erreichbare Temperaturerhöhung ΔT_{max} werden die berechneten Werte unabhängig von der Bestrahlungszeit τ und der verwendeten Bestrahlungsenergie.

Hälfte reduziert, so sinkt auch die Temperatur bei gleicher Bestrahlung ungefähr auf die Hälfte. Durch Anpassung der Bestrahlungszeiten an die räumlichen Dimensionen der Zielstruktur werden also auf der einen Seite thermische Nebenwirkungen minimiert, und auf der anderen Seite wird auch das Aufheizen kleinerer Strukturen verhindert. Dies ermöglicht eine größenselektive thermische Zerstörung von absorbierenden Strukturen [1]. Bei der interstitiellen Thermotherapie, bei der Tumoren mit Durchmessern im Zentimeterbereich koagulierte werden, kann die Bestrahlung über etliche 10 Minuten ausgedehnt werden. Gefäße, die einen Durchmesser bis $100 \mu\text{m}$ besitzen, können mit Pulslängen von einigen Millisekunden selektiv zerstört werden. Eine thermische Zerstörung einzelner Zellen verlangt dagegen Pulsdauern im Mikrosekundenbereich (Abb. 1).

Noch ungeklärt ist die Frage, welche räumliche Präzision mit thermischen Effekten maximal möglich ist, und ob einzelne Zellen, Zellorganellen oder sogar Makromoleküle mit Abmessungen von weniger als 10 nm gezielt geschädigt werden können. Je kleiner die Zielstrukturen desto kürzer müssen die Heizzeiten sein. Damit stehen für eine thermische Schädigung mit hoher Ortsauflösung nur noch kurze Zeiten erhöhter Temperatur zur Verfügung. Dies muß nach Gleichung 2 durch eine höhere Temperatur ausgeglichen werden. Für thermische Effekte mit makromolekularer Präzision dürfen die Heizzeiten nur Nano- bis Pikosekunden betragen. Daraus folgt: Das Zielvolumen muß eine ausreichende Absorption für die notwendige Temperaturerhöhung besitzen und es muß möglich sein, innerhalb von Nano- und Pikosekunden eine thermische Schädigung des Gewebes zu bewirken.

Material und Methoden

Zur Abschätzung der mit exogenen Absorbern im Gewebe erreichbaren Temperaturen wurde für Rechteckpulse verschiedener Länge die Temperaturerhöhung auf der Oberfläche sphärischer Gold- und Melaninpartikel sowie eines mit einem Farbstoff eingefärbten, kugelförmigen Volumens berechnet. Im Größenbereich unterhalb einiger Mikrometer kann das Lambert-Beer'sche Gesetz nicht mehr angewandt werden. Der Absorptionsquerschnitt σ_a wurde deshalb nach der Mie-Theorie für Radien r von $0,5 \text{ nm}$ bis $1,5 \mu\text{m}$ unter der Annahme, daß das umgebende Medium die Brechzahl von Wasser besitzt, berechnet [8].

$$\frac{\sigma_a}{\pi r^2} = \frac{2}{(2\pi r/\lambda)^2} \left(\sum_{k=1}^{\infty} (2k+1) \text{Re}(A_k + B_k) - \sum_{k=1}^{\infty} (2k+1) \text{Re}(|A_k|^2 + |B_k|^2) \right) \quad (4)$$

Die Koeffizienten A_k und B_k sind abhängig vom Radius r der Partikel, der Wellenlänge λ und der komplexen Brechzahl n und lassen sich mit Hilfe von Riccati-Bessel-Funktionen berechnen. n beträgt $0,78 - i2,2$ für Gold [8] sowie $1,6 - i0,1$ für Melanin [22]. Für die nach Anfärbung mit einem Farbstoff erreichbaren Temperaturerhöhungen wurde die komplexe Brechzahl nach der Gleichung

$$n = 1,33 - i \frac{\mu_a \lambda}{4\pi} \quad (5)$$

aus dem Absorptionskoeffizient μ_a unter Annahme einer Wellenlänge von 532 nm berechnet.

Die Temperatur auf der Oberfläche der absorbierenden Volumina wurde mit einer Lösung der Wärmeleitungsgleichung für eine Kugel, die über die Zeit τ räumlich homogen aufgeheizt wird, berechnet [3,6]. Das umgebende, unendlich ausgedehnte Volumen besaß die thermischen Eigenschaften von Wasser. Für Melanin und den Farbstoff wurden für das absorbierende Volumen ebenfalls die Dichte, Wärmeleitfähigkeit und Wärmekapazität von Wasser benutzt. Für die Goldpartikel wurden die entsprechenden Werte für makroskopisches Gold eingesetzt. Die Annahme einer homogenen Wärmeproduktion in dem absorbierenden Volumen wird für die Goldpartikel durch ihre im Vergleich zu Wasser hohe Wärmeleitfähigkeit gerechtfertigt, die einen sehr schnellen Ausgleich der Temperatur in dem Partikel bewirkt. Für große Farbstoffvolumina oder Melaninpartikel, ist bei sehr hoher Absorption die Verteilung der absorbierten Energie in dem sphärischen Volumen nicht mehr homogen. Das Modell liefert dann nur eine Abschätzung für die Oberflächentemperatur.

Zur Berechnung der Temperatur in verschiedenen Abständen von einem einzelnen Farbstoffmolekül wurde die Lösung der Wärmeleitungsgleichung für eine Punktquelle, die sich in einem unendlich ausgedehnten Medium befindet, benutzt.

Für jeden Abstand wurde jeweils die maximale Temperatur nach der Bestrahlung berechnet.

Alle Rechnungen wurden mit Mathematica 4.0 auf einem PC durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

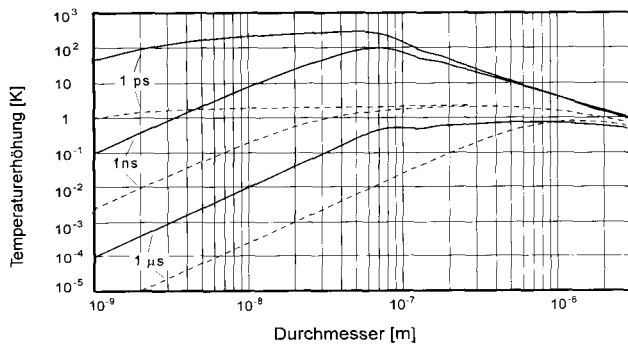
Abbildung 3a zeigt die für 1 mJ/cm^2 berechneten Oberflächentemperaturen für Gold und Melanin bei Laserpulslängen von einer Pikosekunde, einer Nanosekunde und einer Mikrosekunde. Wie erwartet hat die Bestrahlungsdauer nur einen geringen Einfluß auf die Spitzentemperatur, solange der Partikeldurchmesser deutlich größer als die thermische Diffusionsstrecke r_{diff} ist, die bei den zugrundegelegten Puls-

längen 0,7 nm, 24 nm und 740 nm beträgt. Wegen der starken Absorption der Goldpartikel im grünen Spektralbereich – der Absorptionsquerschnitt beträgt bei einem Durchmesser von 70 nm mehr als das Dreifache des geometrischen Querschnittes – ermöglichen Pikosekundenpulse mit 1 mJ/cm^2 eine Erhöhung der Oberflächentemperatur um mehr als 200 K. Auch mit einer Pulslänge von einer Nanosekunde wird noch eine Temperaturerhöhung von mehr als 80 K pro mJ/cm^2 erreicht.

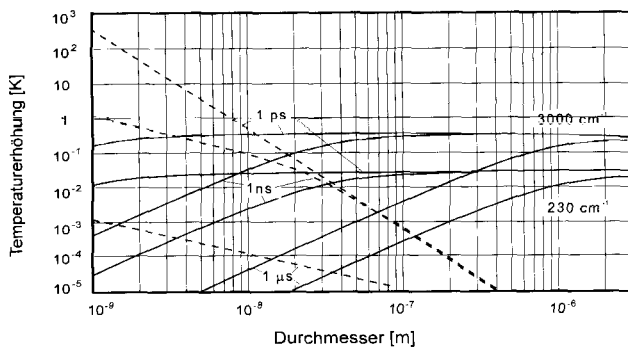
Die Absorption der Melaninpartikel ist deutlich geringer. Der Imaginärteil der Brechzahl entspricht einem makroskopischen Absorptionskoeffizienten von nur $1,8 \mu\text{m}^{-1}$. Deshalb ist der Absorptionsquerschnitt im Nanometerbereich deutlich kleiner als der geometrischen Querschnitt und die Temperaturerhöhungen fallen verglichen mit Gold ein bis zwei Größenordnungen geringer aus. Erst oberhalb von einem Mikrometer Durchmesser erreicht Melanin mit Gold vergleichbare Oberflächentemperaturen. Dennoch sind mit Bestrahlungen von 100 mJ/cm^2 bei Verwendung von Nano- und Pikosekundenpulsen Temperaturerhöhungen von 100 K möglich. Die erforderlichen Bestrahlungsstärken liegen mit 100 MW/cm^2 beziehungsweise 100 GW/cm^2 noch unterhalb der Schwellen für den optischen Durchbruch in Wasser, die 45 und 850 GW/cm^2 für Nano- bzw. Pikosekundenpulse betragen [18].

Zellstrukturen im Submikrometerbereich, die mit einem Farbstoff eingefärbt sind, lassen sich nicht so effizient erhitzen. Reicht zum Beispiel ein Farbstoff, der einen molaren Extinktionskoeffizienten ϵ von $10^6 \text{ Liter/Mol/cm}$ besitzt, mit einer vergleichsweise hohen Konzentration von $10^{-4} \text{ Mol/Liter}$ an, so liegt der Absorptionskoeffizient nur bei 230 cm^{-1} . Selbst im Falle des thermischen Einschusses werden für 100 K Temperaturerhöhung Bestrahlungen im Bereich von 5 J/cm^2 benötigt (Abb. 3b). Zum Vergleich wurde auch die Temperaturerhöhung für einen Absorptionskoeffizienten von 3000 cm^{-1} , der der maximalen Absorption des Blutes bei 400 nm entspricht, berechnet.

Zur Abschätzung der Möglichkeit einer thermischen Schädigung durch einzelne Farbstoffmoleküle, ist auch die Berechnung der Temperatur, die in einem bestimmten Abstand von einem einzelnen Farbstoffmolekül erreicht werden kann, interessant. Das Farbstoffmolekül wurde hierbei als mathematisch punktförmige Wärmequelle angenommen. Abbildung 3b zeigt die Temperatur auf Kugelschalen verschiedener Durchmesser in deren Mittelpunkt sich das Molekül befindet. Es wurde ein sehr hoher molarer Extinktionskoeffizient des Farbstoffmoleküls von $10^6 \text{ Liter/Mol/cm}$ und ein Bestrahlung von 1 mJ/cm^2 angenommen. 1,5 nm von dem Mittelpunkt des Moleküls entfernt sind bei 1 ps Pulslänge 10 mJ/cm^2 für 100 K Temperaturerhöhung notwendig. Für diese Temperaturerhöhung muß das Molekül 100 Photonen innerhalb einer Pikosekunde absorbieren. Neben einer sehr schnellen Thermalisierung der absorbierten Energie ist daher auch eine extreme Photostabilität des Moleküls notwendig. Beide Bedingungen werden in der Regel von Farbstoffmolekülen nicht erfüllt. Selbst sehr schnelle strahlungslose Übergänge haben noch Lebenszeiten im Pikosekundenbereich. Es ist zwar im



a)



b)

Abbildung 3 Berechnung der maximalen Temperatur auf der Oberfläche eines absorbierenden sphärischen Volumens in Abhängigkeit vom Durchmesser bei einer Bestrahlung von 1 mJ/cm^2 für Pulslängen von 1 ps, 1 ns und 1 μs .

a) Goldpartikel (—), Melaninpartikel (---)

b) Sphärisches Volumen mit Absorptionskoeffizienten μ_a von 230 cm^{-1} (—) und 3000 cm^{-1} (---).

Zum Vergleich wurde die maximale Temperatur berechnet, die durch ein Farbstoffmolekül mit dem Extinktionskoeffizienten $\epsilon = 10^6 \text{ Liter/Mol/cm}$ im Abstand des halben angegebenen Durchmessers erzeugt wird (---).

Prinzip auch möglich durch Absorption der angeregten Zustände, Energie in dem Molekül zu deponieren, doch in der Regel entstehen bei derartigen Multiphotonanregungen Radikale, die den Farbstoff und umgebende Biomoleküle photochemisch zerstören [16]. Thermische Effekte mit makromolekularer Präzision sind deshalb aller Wahrscheinlichkeit nach nur mit makromolekularen Absorbern oder Festkörperabsorbern wie z. B. Gold oder Melanin möglich, die eine hohe Absorption, schnelle Thermalisierung der absorbierten Energie und eine hohe Photostabilität aufweisen.

Die für thermische Gewebeschäden in Nano- und Pikosekunden notwendigen Temperaturen sind zur Zeit nicht bekannt. Deshalb wurde zur Abschätzung das Arrheniusgesetz in diesen Zeitbereich extrapoliert. Wie Abbildung 1 zeigt, sollten Temperaturen noch unter 200 °C ausreichen, um Schädigungszeiten im Pikosekundenbereich zu erzielen. Diese Temperaturen können, wie die Berechnungen gezeigt haben, leicht auf der Oberfläche von Gold- oder Melaninpartikel erreicht werden. Allerdings wird die Oberflächentemperatur durch Sieden des umgebenden Wassers begrenzt. Die hierdurch entstehenden, rasch expandierenden Dampfblasen zerreißen das umgebende Gewebe [17,12]. Schon bei Pulsdauern von 10 µs, die eine selektive Schädigung einzelner Zellen erlauben, sind Temperaturen um 100 °C notwendig (siehe Abb. 1). Laserinduzierte Blasenbildung, die durchaus auch lokalisierte Schäden an einzelnen Zellen erzeugen kann [14], begrenzt daher die maximale Temperatur, die für rein thermische Gewebeschäden genutzt werden kann.

Schäden durch thermoelastische Stoßwellen [4] können dagegen weitgehend vermieden werden, da bis zu einem Durchmesser von 2 nm die Pulsdauern für den thermischen Einschluß über denen für einen akustischen Einschluß liegen.

Das Modell eines Ratenprozesses impliziert, daß die Schäden rasch aufeinanderfolgender Temperaturerhöhungen additiv sind. Die Annahme ist dabei, daß innerhalb einer bestimmten Zeitspanne das Protein oder das Gewebe mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit thermisch zerstört wird. In dem Ratenmodell ist diese Wahrscheinlichkeit, die durch die Schädigungsrate k beschrieben wird, nur von der Temperatur abhängig. Wird das Gewebe oder das Makromolekül mehrfach mit einem zeitlichen Abstand, der ein vollständiges Abkühlen erlaubt, erhitzt, so addieren sich die Wahrscheinlichkeiten einer Schädigung. Deshalb kann durch Verwendung von Mehrfachpulsen die notwendige Spitztemperatur gesenkt werden, ohne dadurch räumliche Präzision einzubüßen. Eine Serie von 1000 Pulsen mit einer Dauer von einer Mikrosekunde und ein Millisekundenpuls sollten bei gleicher Spitztemperatur die gleiche thermische Schädigung bewirken. Eine Additivität thermischer Effekte wurde vielfach experimentell bestätigt [7,21].

Bei erhitzten Volumina mit einer Größe unterhalb von 10 µm erhöht die Oberflächenspannung des Wassers den Siedepunkt. Zur Bildung von Dampfblasen sind Nukleationskeime notwendig. Sind diese nicht vorhanden, kann es zu einer starken Überhitzung des Wassers kommen. Experimentell

wurden in sehr reinen Proben bis zu 280 °C erreicht, theoretisch sollen 300 °C möglich sein [12]. Hat sich an einem Nukleationskeim eine kleine Wasserdampfblase gebildet, so muß der Dampfdruck des erhitzten Wassers höher sein als der Innendruck in der Gasblase, damit diese weiter wachsen kann. Der Innendruck p_i setzt sich aus dem Umgebungsdruck p_0 und einem zusätzlichen Anteil, der durch die Oberflächenspannung σ des Wassers erzeugt wird, zusammen.

$$p_i = p_0 + 4 \frac{\sigma}{d} \quad (6)$$

p_i nimmt unterhalb eines Durchmessers d von 10 µm deutlich zu und beträgt bei 2 µm bereits 2 bar. Hierdurch steigt die Temperatur, bei der laserinduzierte Blasen entstehen, an (Abb. 4). Ein Vergleich der Abbildungen 1 und 4 zeigt, daß unterhalb von 1 µm die Siedetemperatur sogar stärker ansteigt als die nach dem Arrheniusgesetz notwendige Temperatur für thermische Schäden. Bei 100 nm liegt sie bereits bei über 200 °C. Experimentell wurde an Melaninpartikeln mit 1 µm Durchmesser eine Siedetemperatur von 150 °C bestimmt [12]. Daher sollte es in kleinen Volumina möglich sein, ohne Blasenbildung Temperaturen weit über 100 °C zu erzeugen, wie sie für thermische Effekte mit Nanometer-Präzision notwendig sind.

Zusammenfassung und Ausblick

Obwohl kurze Bestrahlungszeiten, die für eine hohe räumliche Präzision thermischer Effekte notwendig sind, in der Regel mechanische Gewebeschäden bewirken [10], zeigen die vorgestellten Temperaturrechnungen und Abschätzungen, daß thermische Schäden mit einer räumlichen Ausdehnung im

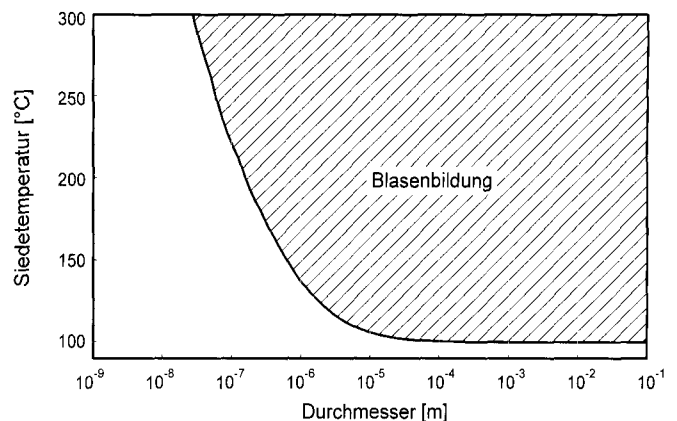


Abbildung 4 Abschätzung der Erhöhung der Siedetemperatur in Volumina mit verschiedenen Durchmessern durch die Oberflächenspannung des Wassers, die zu 0,059 N/m angenommen wurde.

Nanometerbereich möglich sind, falls sich die Schädigungsraten von Biomolekülen auch im Temperaturbereich von 100–200 °C, das heißt im Zeitbereich von Mikro- bis Pikosekunden so verhalten, wie es durch das Arrheniusgesetz vorhergesagt wird. Für Absorber mit einer Größe im Submikrometerbereich sollte es demnach ein neues Fenster geben, in dem die thermische Zerstörung von Zellorganellen oder Biomolekülen mit räumlicher Präzision im Nanometerbereich möglich ist. Auch die Verwendung von Pulsserien erlaubt es, die Spitztemperatur zu senken und damit mechanische Schäden durch Blasenbildung zu vermeiden.

Zum experimentellen Nachweis einer thermischen Denaturierung innerhalb von Piko- bis Mikrosekunden können Modellsysteme aus stark absorbierenden Gold- und Eisenoxydpartikeln mit Durchmessern von 10 nm bis 5 µm, an die verschiedene Proteine gekoppelt sind, verwendet werden. Eine Denaturierung kann bei Verwendung katalytisch wirksamer Proteine leicht durch Messung ihrer biochemischen Aktivität nachgewiesen werden. Die Denaturierungskinetik dieser Proteine kann aber auch in einem Temperatursprungexperiment mit einer Zeitauflösung bis zu einer Mikrosekunde direkt gemessen werden. Dies erlaubt eine direkte experimentelle Verifizierung des Arrheniusgesetzes bis in diesen Zeitbereich [9]. Diese Experimente werden zur Zeit durchgeführt, konklusive Ergebnisse liegen aber noch nicht vor.

Die Frage nach den Grenzen der selektiven Photothermolyse führt zu dem Konzept laserinduzierter Nanoeffekte, die mittels zielspezifischer exogener Absorber erzeugt werden sollen. Diese Konzept könnte, falls es sich realisieren läßt, völlig neue medizinische oder biologische Anwendungen ergeben, bei denen absorbierende Nanopartikel mittels geeigneter Hilfssysteme, wie z.B. Antikörper oder Lipoproteine, an entsprechende Zielstrukturen gebracht werden. Die Beeinflussung subzellulärer Strukturen eröffnet Möglichkeiten, Zellen gezielt in ihrer Funktionen zu modifizieren.

Literatur

- [1] Anderson, R. R., Parrish, J. A.: Selective photothermolysis: Precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation. *Science* **220** (1983) 524–527
- [2] Birngruber, R.: Thermal modeling in biological tissues. In Hillenkamp, F., Pratesi, R., Sacchi, C. A. (Hrsg.): *Lasers in Biology and Medicine*, Plenum Press, New York, (1980), pp. 77–97
- [3] Carslaw, H.S., Jaeger, J.C.: *Conduction of heat in solids*. 2. Aufl., Oxford University Press, London (1959)
- [4] Doukas, A. G., Flotte, T. J.: Physical characteristics and biological effects of laser-induced stress waves. *Ultrasound in Med. & Biol.* **22** (1996) 151–164
- [5] van Gemert, M. J. C., Welch, A. J., Pickering, J. W., Tan, O. T.: Laser treatment of port wine stains. In Welch, A. J., van Gemert, A. J. (Hrsg.): *Optical-thermal response of laser-irradiated tissue*. Plenum Press, New York (1995) 789–829
- [6] Goldenberg, H., Tranter, C. J.: Heat flow in an infinite medium heated by a sphere. *Brit. J. Appl. Phys.* **3** (1952) 296–298
- [7] Ham, W. T. Jr, Mueller, H. A., Wolbarsht, M. L., Sliney, D. H.: Evaluation of retinal exposures from repetitively pulsed and scanning lasers. *Health Phys.*, **54**, (1988) 337–344.
- [8] van de Hulst, H. C: *Light scattering by small particles*. Dover Publications Inc., New York, (1981)
- [9] Hüttmann, G., Birngruber, R.: On the Possibility of high-precision photothermal microeffects and the measurement of fast thermal denaturation of proteins. *IE J. Selec. Topics Quant. Electr.*, **5**, (1999) 954–962
- [10] Jacques, S. L.: Laser-tissue interactions. Photochemical, photothermal, and photomechanical. *Surg. Clin. North Am.* **72** (1992) 531–558
- [11] Johnson, F. H. and Eyring, H. and Stover, B. J.: *The theory of rate processes in biology and medicine*. Wiley, New York, (1974)
- [12] Kelly, M. W.: Intracellular cavitation as a mechanism of short-pulse laser injury of the retinal pigment epithelium. Promotion an der Tufts University, Boston, USA (1997)
- [13] Kilmer, S. L.: Laser Treatment of Tattoos. *Dermato. Clin.* **15** (1997) 409–417
- [14] Latina, M.A., Park, C.: Selective targeting of trabecular meshwork cells: In vitro studies of pulsed and cw laser interactions. *Exp. Eye. Res.*, **60**, (1995) 359–372
- [15] Lepock, J. R. , Frey, H. E. , Senisterra, G. A. , Heynen, M. L. P.: Mechanisms of Thermal Damage. In Hagen, U., Harder, D., Jung, H., Streffer, C. (Hrsg.): *Radiation Research 1895–1995*, 10th Intern. Congress of Radiation Research (1995) 955–964
- [16] Liao, J. C., Roeder, J., Jay, D. G.: Chromophore-assisted laser inactivation of proteins is mediated by the photogeneration of free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **91** (1994) 2659–2663
- [17] Lin, C. P., Kelly, M. W.: Cavitation and acoustic emission around laser-heated microparticles. *Applied Phys. Lett.* **72** (1998) 1–3
- [18] Noack, J.: Optischer Durchbruch in Wasser mit Laserpulsen zwischen 100 ns und 100 fs. Promotion an der Medizinischen Universität Lübeck (1998)
- [19] Pearce, J., Thomsen, S.: Rate process analysis of thermal damage. In Welch, A. J., van Gemert, A. J. (Hrsg.): *Optical-thermal response of laser-irradiated tissue*. Plenum Press, New York (1995) 561–606
- [20] Pohl, F. M.: Einfache Temperatursprung-Methode im Sekunden- bis Stundenbereich und die reversible Denaturierung von Chymotrypsin. *European J. Biochem.* **4** (1968) 371–377
- [21] Roeder, J., Traccoli, J., Michaud, N., Flotte, T., Anderson, R., Birngruber, R.: Selektiver Gefäßverschluß durch repetierende kurze Laserpulse. *Ophthalmologie* **91** (1994) 274–279
- [22] Vitkin, I. A., Wilson, B. C., Anderson, R. R., Prahl, S. A.: Pulsed photothermal radiometry in optically transparent media containing discrete optical absorbers. *Phys. Med. Biol.* **39** (1994) 1721–1744

Eingegangen am 17.02.2000; zum Druck angenommen am 10.07.2000

Korrespondenzanschrift:

Gereon Hüttmann
 Medizinisches Laserzentrum Lübeck
 Peter-Monnik-Weg 4
 D-23562 Lübeck