

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ  
Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования  
«ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**Г.С. Евтушенко, А.А. Аристов**

**ЛАЗЕРНЫЕ СИСТЕМЫ  
В МЕДИЦИНЕ**

Рекомендовано в качестве учебного пособия  
Редакционно-издательским советом  
Томского политехнического университета

Издательство  
Томского политехнического университета

2003

## ВВЕДЕНИЕ

Современная промышленность активно использует последние достижения в физике и технике. Это в полной мере относится и к успехам науки в области лазерной физики и техники. Понятие "лазер" прочно вошло в современный обиход, хотя и прошло немного лет со дня создания первых лабораторных образцов этих приборов. К чести Российской науки у истоков лазерной физики стояли, наряду с иностранными, и наши ученые. В первую очередь, Фабрикант, Бутаева, Прохоров, Басов и др. Именно Басов и Прохоров вместе с американским ученым Таунсом стали лауреатами Нобелевской премии 1964г. за исследование и создание лазеров.

Лазер - понятие американское. В отечественной литературе ранее фигурировало понятие Оптический Квантовый Генератор (ОКГ), но сейчас оно практически не используется, уступив место иностранному понятию. Дословно, в переводе с английского "LASER" - Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation - означает: "Усиление света под действием вынужденного излучения". В ранней литературе по лазерам можно встретить и понятие "Мазер" - "MASER" - "Microwave Amplification", поскольку одним из первых был запущен лазер на молекуле аммиака с генерацией в микроволновой области спектра. Сразу вслед за созданием первых лабораторных образцов лазеров началось их активное внедрение в различные области науки, техники, а затем и в быт (лазерные принтеры, компакт-диски и т.д.). Не осталась в стороне и медицина. Хотя здесь все более сложно. Ведь основной постулат медицины - "не навреди". А здесь излучение, да не обычное, а с рядом особенностей:

- когерентность;
- монохроматичность;
- высокая спектральная яркость;
- возможность получения, как непрерывного излучения, так и сверхкоротких световых импульсов и т.д. [1].

При этом, главное, что отличает лазеры от других источников света, заключается в том, что они позволяют концентрировать энергию излучения в пространстве, времени и спектре в очень узкие интервалы. Как-то будет оно воздействовать на организм непосредственно, в первом, втором и далее поколениях. Ведь лазерам менее 40 лет. Этот вопрос и сегодня не снят в полной мере с повестки ряда представительных конференций с участием ученых как медиков, так и физиков, техников. Тем не менее и здесь, во внедрении лазеров в медицинскую науку и практику, отечественные ученые, пожалуй, сделали больше, чем их иностранные коллеги. Одним из первых в нашей стране обратил внимание медиков на широкие возможности применения лазеров в практической медицине А.А. Вишневецкий. Большой вклад внесли в развитие новой области - лазерной медицины

О.К. Скобелкин, С.Д. Плетнев, Н.Ф. Гамалея и др. [2-9]. Уже не первый год в Москве успешно функционирует Институт лазерной хирургии, сотрудники которого не только изучают воздействие лазерного излучения на организм человека, но и разрабатывают методики применения лазеров в практической медицине. Отделения лазерной хирургии и терапии теперь присутствуют в большинстве НИИ АМН России, клиниках медвузов, в больницах и поликлиниках Минздрава. Практическая медицина в настоящее время является самым массовым потребителем лазерной техники. Так, только в 1992 г. объем производства лазерной аппаратуры для медицины превысил 530 млн. долларов.

Конструирование и создание медицинских лазерных установок, с одной стороны, принято считать стандартной задачей электронного приборостроения. С другой стороны, из-за определенного специфического характера взаимодействия лазерного излучения с биологическими молекулами, тканями и органами в целом, разработчикам необходимы некоторые сведения из биофизики, биохимии, физиологии, цитологии и т.д. Данное замечание справедливо и по отношению к тем специалистам, которые проводят техническое обслуживание лазерных установок в НИИ и клиниках медицинского профиля. Обеспечить серьезное изучение этих дисциплин в рамках программы обучения в техническом вузе сложно и вряд ли целесообразно. Поэтому в рамках этого курса мы постараемся дать и некоторые начальные представления о физических основах применения лазеров в медицине с учетом специфики биообъектов.

## **1. ЛАЗЕР И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА**

### **1.1. Объекты лазерного воздействия**

Лазерная медицина позволяет осуществлять коррекцию здоровья человека на различных уровнях его организма: молекулярном, клеточном, органном и организменном. Как показано в работе [10], основные объекты лазерного воздействия можно условно разделить на три класса.

К первому из них относятся объекты непосредственного облучения: патогенные, рефлексогенные, внутрисосудистые, внутрисосудистые зоны и поля, биологически активные точки, включая точки акупунктуры. Эти объекты как бы являются прицельными точками для лазерного луча. Очевидно, что их выбор должен быть хорошо обоснован.

Ко второму классу относят объекты, представляющие собой специфические фотоакцепторы: ряд ферментов (каталаза, супероксидаза, цитохром-оксидный комплекс), молекулярный и синглетный кислород, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты и т.д. Специфические фотоакцепторы

связаны с процессами поглощения лазерного излучения на конкретных резонансных частотах, что приводит, в конечном итоге, к устойчивым терапевтическим эффектам (если мощности или энергии лазерного излучения не столь высоки, чтобы привести к разрушению).

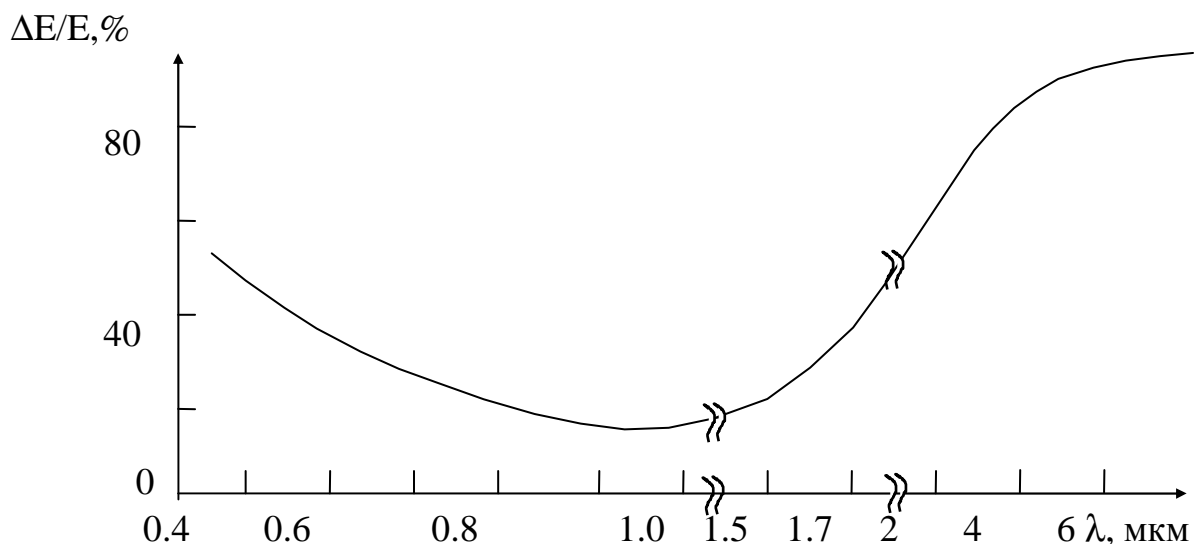
К третьему классу относятся объекты, представляющие собой неспецифические фотоакцепторы: белки, ферменты, аминокислоты, пигменты и биожидкости (плазма, лимфа, внутриклеточная вода), механизм поглощения излучения в которых до конца не изучен.

Фотоакцепторы обоих типов являются инициаторами запуска в живом организме фотобиологических реакций, продукты деятельности которых способствуют стимуляции важнейших органов и систем, обеспечивающих резистентность и регенеративные возможности. В результате стимуляции происходит дополнительное синтезирование белков, биологически активных элементов и биологических веществ, что обуславливает реализацию терапевтических эффектов - бактерицидного, противовоспалительного, обезболивающего, десенсибилизирующего, противоотечного, иммунокорректирующего и т.д. В последнее время появились работы, указывающие на противоопухолевый эффект лазерного излучения. Под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения нормализуется содержание В-лимфоцитов, снижается уровень ЦИК, повышается фагоцитарная активность нейтрофилов, содержание лизоцима и уровень комплемента. При исходно низком уровне естественных клеток-киллеров - происходит возрастание их активности в 1,5 - 3 раза.

## 1.2. Проникновение излучения в биоткань

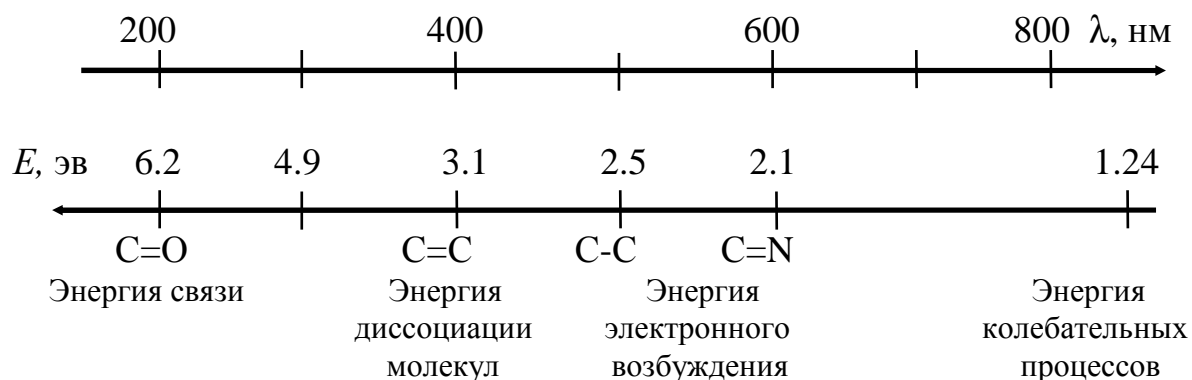
Очевидно, что излучение лазера, падающее на биообъект, частично отражается, рассеивается, поглощается приповерхностным слоем кожи и, только часть его, проникает внутрь. Поглощающая способность биологической ткани очень сильно зависит от длины волны излучения. На рис.1 показана типичная зависимость коэффициента поглощения биоткани от длины волны излучения. Энергии фотонов и энергия химических связей биосубстрата соотносятся между собой так, как показано на рис.2.

Как можно видеть, ультрафиолетовое излучение (УФ), сильно поглощаясь белками, практически не проникает в биоткань. При поглощении фотонов в этой области спектра (при длине волны 200 нм энергия фотона составляет 6,2 эВ) происходит диссоциация отдельных молекул. Так, например, разрушаются ковалентные связи между углеродом и кислородом (энергия связи равна 6,3 эВ). В видимой области спектра энергии квантов лазерного излучения меньше, но достаточны для возбуждения, диссоциации и фотохимических превращений. Так, при длине волны 600 нм энер-



**Рис. 1. Типичный спектр поглощения биоткани**

гия кванта 2,06 эВ близка к энергии связи углерода и азота. Свет в этой области спектра преимущественно поглощается хромофорными группами в белковых молекулах, отчасти кислородом. Наиболее важная роль здесь принадлежит таким веществам, как гемоглобин, меланин. Но видимое и ближнее инфракрасное (ИК) излучение слабо поглощается и довольно глубоко проникает в биоткань. Излучение с длиной волны около 1 мкм (ближний ИК-диапазон) проникает в ткани на глубину более 1 см. Свет в области спектра (от 0,75 до 3 мкм) преимущественно поглощается содержащимся в белке кислородом, а в дальнем ИК-диапазоне спектра (более 3 мкм) - молекулами воды, кислорода и углекислоты. В результате сильного поглощения излучение ИК-диапазона слабо проникает в ткани.



**Рис 2. Энергии фотонов и энергия химических связей биосубстрата**

Естественно, что фотобиологической активностью обладает лишь тот свет, который поглотился системой. При этом важны два фактора: 1 - общее количество поглощенной энергии (число квантов) в единицу времени и 2 - величина поглощенного кванта (квантовая энергетика).

Рассеяние света биотканями также играет важную роль при выборе источника излучения для проведения медицинских процедур. Оно также зависит от длины волны излучения и от природы ткани. В тканях с сильным поглощением в УФ-области спектра - рассеяние мало. В видимой области процессы рассеяния соизмеримы с процессами поглощения. В ближней ИК-области, рассеяние превалирует над процессом поглощения. Частный случай рассеяния - рассеяние "назад" - не что иное, как отражение. В ближней ИК-области спектра для кожных покровов оно может составлять до 60% от падающего излучения.

Из-за многослойной структуры кожного покрова взаимодействие излучения с тканями носит весьма сложный характер. Роговой слой кожи отражает около 5-7% падающего излучения. Вследствие микроскопической неоднородности границы раздела "воздух - роговой слой", коллимированный пучок света превращается при отражении в диффузный. Для ближнего УФ, видимого и ближнего ИК-излучения большая часть отраженного кожей света формируется за счет обратного рассеяния разными слоями кожи (эпидермисом и дермой). Спектральный анализ отраженного сигнала может дать количественную информацию о содержании билирубина в ткани или крови, степени оксигенации крови или содержании определенных лекарственных препаратов, что является основой для ряда методов диагностики различных заболеваний. С другой стороны, значительное проникновение света в области длин волн так называемого "терапевтического окна" (0,6 - 1,5 мкм) вглубь организма и послужило основой для фототерапии.

При анализе рассеяния и поглощения света биотканями обычно предполагают равномерное распределение рассеивающих и поглощающих центров. В большинстве случаев реализуются три предельных случая:

1. Ослабление лазерного пучка происходит в основном за счет френелевского отражения и поглощения. Интенсивность прошедшего света определится законом Бугера-Ламберта-Бера

$$I = I_0 \cdot e^{-kl}, \quad (1.1)$$

где  $k$  - коэффициент экстинкции,  $k = a + s$ ,  $a$  - коэффициент поглощения,  $s$  - коэффициент потерь за счет рассеяния ( $k$  и  $s$  измеряются в  $\text{см}^{-1}$ ,  $l$  - в см).

2. Анизотропное рассеяние характеризуется ярко выраженной направленностью рассеяния, которое для большинства биотканей совпадает с направлением распространения падающего излучения. Точное матема-

тическое описание процесса распространения света в мутной среде может быть сделано с использованием уравнений Максвелла. Менее точно, но проще - с помощью теории переноса излучения (для случая малых концентраций рассеивающих частиц - режим однократного рассеяния), либо с помощью метода Монте-Карло, основанного на численном моделировании процесса транспорта фотонов в рассеивающей среде (с учетом многократного рассеяния - случай большого числа рассеивающих центров).

3. В условиях изотропного рассеяния, когда рассеяние превалирует над поглощением, распределение лазерного излучения в биоткани не описывается законом Бугера-Ламберта-Бера, поэтому коэффициенты поглощения и рассеяния не могут быть определены отдельно на основании измерений ослабления пучка. В этом случае они находятся с помощью измерений диффузного отражения и диффузного пропускания тонких образцов тканей.

Характер взаимодействия излучения с биотканью необходимо учитывать при расчетах доз поглощенной энергии и организации защитных мероприятий, в частности обслуживающего персонала. Более подробные сведения можно получить из рекомендуемой литературы [ 5-8, 11, 12 ].

## 2. ЛАЗЕРЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

В этом разделе рассмотрены основы физики и техники лазеров, подробно рассмотрены наиболее часто используемые в медицинской оптоэлектронике типы лазеров и светоизлучающих диодов. При написании этого раздела использованы работы [ 1, 13-23 ].

### 2.1. Классификация лазеров по физико-техническим параметрам

Лазеры можно классифицировать различным образом.

#### 1. По типу рабочего вещества (активного тела):

- газовые (на атомах и ионах инертных и других газов, паров металлов, эксимерных молекулах и т.д.);
- жидкостные (в основном, на растворах органических соединений);
- твердотельные (прежде всего, на иттрий-алюминиевом гранате, сапфире с титаном, стекле с неодимом и т.д. и в том числе полупроводниковые).

#### 2. По режиму работы:

- непрерывного, либо квазинепрерывного действия;
- импульсного, в том числе импульсно-периодического действия.

#### 3. По способу накачки:

- газоразрядные, т.е. возбуждение активной среды осуществляется в газовом разряде. Это один из наиболее широко используемых типов накачки. Практически все газовые лазеры используют этот тип накачки как основной;
- лазеры с оптической накачкой. Этот тип накачки используется, преимущественно при накачке твердотельных лазеров;
- лазеры с пучковой накачкой (электронами и тяжелыми частицами);
- химические, т.е. такие, в которых накачка осуществляется в процессе химической реакции.

Существуют и другие виды накачки, например осколками ядерных реакций и т.д.

Встречаются классификации и другого типа, в частности, по спектральному диапазону действия: в УФ, видимой и ИК-областях спектра. Типичные мощности, снимаемые в настоящее время с лазеров, лежат в диапазоне от единиц мВт до нескольких кВт - для непрерывного режима, а энергии в импульсе могут достигать тысяч Дж. Коэффициент полезного действия, типичный от сотых долей до единиц процентов для генерации в видимой области спектра и до десятков процентов в ближней ИК-области.

Согласно градации лазерного излучения по его энергетике, применительно к медицине, данной в работах [2-7], в тех случаях, когда плотность потока мощности превышает  $10 \text{ Вт/см}^2$  - мы имеем дело с мощными



лазерами. К лазерам средней энергетики авторы выше указанных работ, относят те, с помощью которых создаются потоки от 0,4 до 10,0 Вт/см<sup>2</sup>. Те же, которые обеспечивают плотности менее 0,4 Вт/см<sup>2</sup> - принято считать низкоэнергетическими. Конечно, эта градация в определенной мере условна, поскольку с мощного лазера всегда можно снять как всю мощность (либо энергию), так и малую его часть, либо просто ослабить излучение внешними устройствами. В то же время даже относительно маломощный лазер при хорошей фокусировке пучка излучения способен обеспечить более 10 Вт/см<sup>2</sup>.

## 2.2. Физические основы лазерной техники

Лазерная физика и техника являются составными частями науки - "Квантовая электроника". Часто под термином "Квантовая электроника" понимают совокупность радиотехнических и оптических устройств - генераторы, усилители, преобразователи частоты электромагнитных волн, действие которых основано на явлении вынужденного (индуцированного) излучения. Вынужденное излучение вещества возникает в результате согласованного по частоте и направлению почти одновременного испускания электромагнитных волн огромным количеством атомов или молекул под действием внешнего электромагнитного поля. Вынужденное излучение может происходить в диапазонах радиоволн, инфракрасного излучения, видимого света и ультрафиолетового излучения (рис.3).

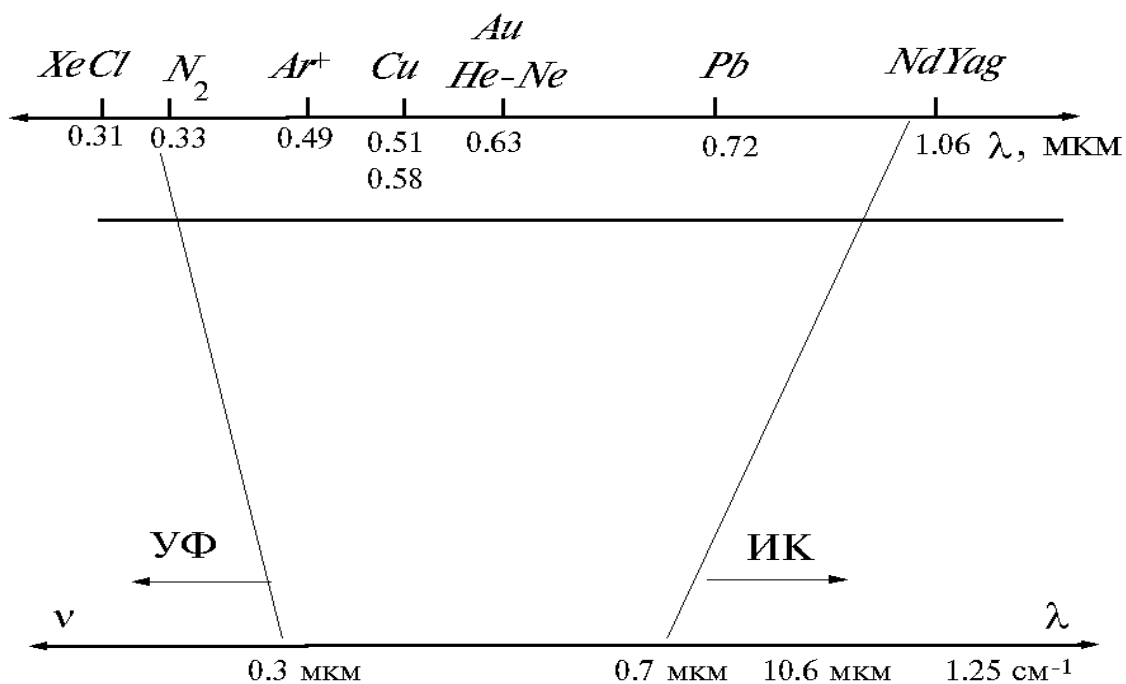


Рис.3. Спектр электромагнитных волн и некоторые из лазеров

Перечисленные устройства называются квантовыми (квантовый усилитель, квантовый генератор (лазер) и т.д.) потому, что принцип действия их так или иначе связан с движением электронов и других частиц, движение которых подчиняется законам квантовой механики. В обычных же генераторах и усилителях, изучаемых "классической" электроникой, работают свободные электроны, движение которых описывается законами классической механики, с достаточной степенью точности.

### 2.2.1. Излучение и поглощение электромагнитных волн веществом

Согласно законам квантовой механики, энергия электрона, связанного в атоме, а следовательно, и энергия атома в целом, произвольна. Она может иметь лишь ряд дискретных определенных значений  $E_0, E_1, E_2, \dots, E_n$ , называемых уровнями энергии. Набор таких уровней называют энергетическим спектром атома. Для каждого атома имеется только его спектр энергий. Самый нижний уровень принято называть основным. При этом энергия атома - наименьшая. Остальные - более высоко расположенные уровни принято называть возбужденными. Им соответствуют более высокие энергии атома (рис. 4).



**Рис.4. Упрощенная схема уровней атома водорода**

При переходе атомного электрона с более высокого на более низкое состояние атом будет излучать (а с более низкого на более высокое - поглощать) электромагнитное излучение с частотой  $\nu_{ki}$

$$\nu_{ki} = (E_k - E_i) / h, \quad (2.1)$$

где  $h$  - постоянная Планка ( $6.62 \cdot 10^{-27}$  эрг·с<sup>-1</sup>),  $E_k$  - верхний уровень,  $E_i$  - нижний.

Чем больше разность энергий уровней, между которыми происходит переход, тем больше частота электромагнитной волны, излучаемой (либо

поглощаемой) при таком квантовом переходе. Разность энергий между уровнями внешних валентных электронов атома соответствует энергии излучения видимого света. Разность энергий между уровнями внутренних электронов больше и соответствует рентгеновскому излучению. Спектр излучения (поглощения) атомов, следовательно, дискретен и набор частот электромагнитных волн оказывается тесно связанным с энергетическим спектром атома (в молекулярных спектрах, спектрах твердых тел присутствуют и полосы поглощения - уровней энергий больше, разность энергий между уровнями, обусловленными колебаниями атомов значительно меньше, и мы имеем "частокол" линий в ИК-области спектра, практически сплошные полосы).

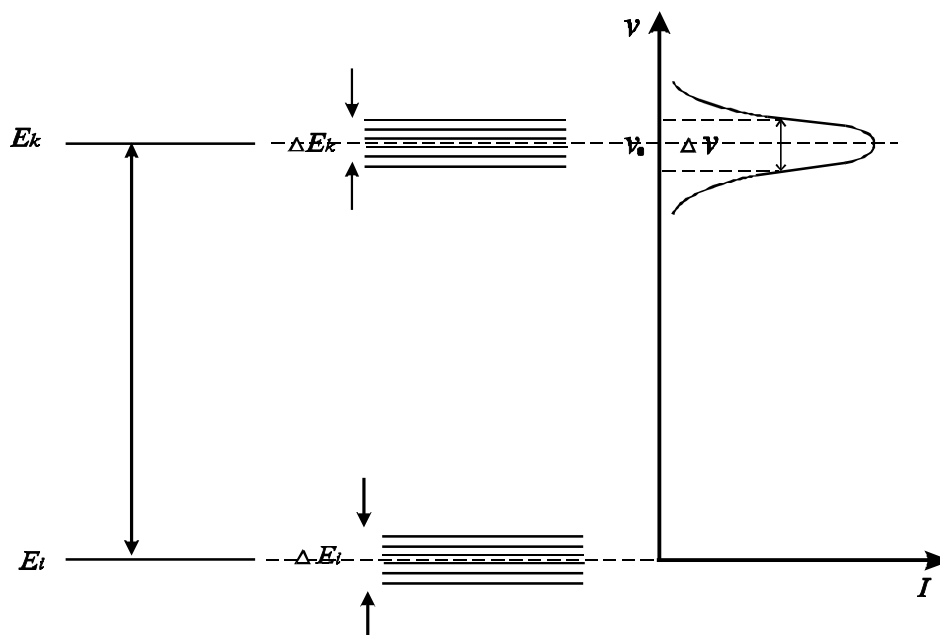
Излучение и поглощение электромагнитной энергии атомом происходит отдельными порциями энергии - квантами (фотонами), величина которых равна  $h\nu$ . При поглощении фотона атом переходит в более энергетическое состояние (с  $i$  на  $k$ ) и приобретает дополнительную энергию  $h\nu_{ki}$ , при излучении он теряет долю энергии. Формула (2.1) выражает закон сохранения энергии при элементарных актах излучения и поглощения фотонов атомами.

#### 2.2.1.1. Спонтанное и вынужденное излучение

Если атом в данный момент времени находится в одном из возбужденных состояний ( $E_k$ , например), то такое состояние неустойчиво, даже если на него не влияют другие частицы. И через определенное время, как правило, очень малое -  $\sim 10^{-8}$  с, атом перейдет на более низкое и более устойчивое состояние ( $E_i$ , либо  $E_o$ ), испустив при этом фотон  $\nu_{ki}$ . Такой самопроизвольный переход называют "спонтанным" излучением. Естественно, процесс такого перехода носит вероятностный характер. Соответственно, каждому переходу в спектре каждого атома присуще свое значение вероятности перехода. Обычно вероятность перехода обозначают  $A_{ki}$ . Величина, обратная вероятности перехода  $t \sim 1/A_{ki}$  - время жизни уровня  $k$ , относительно перехода в состояние  $i$  (рис. 5).

Случайность спонтанных переходов приводит к тому, что различные атомы вещества излучают неодновременно и независимо, поэтому фазы электромагнитных волн, излучаемых отдельными атомами, не согласованы друг с другом. Случайный характер имеет не только момент испускания атомом фотона, но и направление распространения излучаемого фотона и его поляризация (направление электрического поля  $E$  в электромагнитной волне). Частота излучения  $\nu_{ki}$  также будет иметь некоторый энергетический разброс  $\Delta\nu$ . В результате этого суммарное спонтанное излучение вещества всегда является некогерентным (понятие "коге-

рентность" будет введено ниже). Однако наряду с вероятностью спонтанного перехода из состояния  $k$  в состояние  $i$  присутствует и вероятность вынужденного перехода под действием внешней электромагнитной волны, если только частота колебаний в этой волне достаточно близка к частоте перехода  $\nu_{ki}$ . Переходы под действием внешнего электромагнитного поля называют "вынужденными" или "индуцированными". Естественно, что вероятность такого перехода пропорциональна квадрату амплитуды электрического поля или числу фотонов  $n$ . В терминах волновой теории при вынужденном излучении атом всегда отдает энергию электромагнитному полю, амплитуда которого увеличивается (или в терминах корпускулярной теории увеличивается число фотонов). Важная особенность вынужденного излучения состоит в том, что "новорожденный" фотон ничем не отличается от первичных, которые и вызвали существование нового фотона, он имеет то же направление движения, те же частоту и фазу, ту же поляризацию. Именно эта особенность вынужденного излучения позволяет использовать его для усиления электромагнитных волн и создания генераторов монохроматического и направленного излучения, т.е. "когерентного".



**Рис. 5. Размытие энергетических уровней и ширина линий излучения:  
I - интенсивность излучения**

### 2.2.1.2. Спектральные линии и их ширины

Выше мы говорили, что частота спонтанного излучения при переходе с уровня  $k$  на  $i$  имеет несколько меняющееся значение, т.е. энергии излучаемых фотонов -  $h\nu_{ki}$  несколько отличны на  $\Delta\nu$ . Дело в том, что реально уровни энергий атомов (молекул и т.д.) несколько размыты. Причин несколько. Так, в газах уровни энергии атомов "размазаны" из-за соударений атомов друг с другом и стенками сосуда. Поэтому ширина линии излучения  $\Delta\nu$  растет с увеличением давления газа - так называемое "Уширение давлением". Но и в разреженных газах уширение присутствует из-за "Эффекта Допплера", вызываемого тепловым движением частиц. В твердых телах ширина линии излучения - "Ширина спектральной линии" связана с тепловыми колебаниями атомов около положения равновесия, которая также растет с увеличением температуры тела. Энергия атома зависит и от величины электрического поля, окружающего атом. Соответственно, возникает уширение под действием поля - "Штарковское уширение". Но даже в идеальном случае, для полностью изолированного атома ширина линии не является бесконечно узкой, вследствие "Соотношения неопределенностей" - фундаментального понятия в квантовой механике.

Согласно этому принципу, если  $\Delta t$  - время жизни атома в возбужденном состоянии, то значение энергии этого состояния  $E$  характеризуется неопределенностью

$$E \sim h / \Delta t . \quad (2.2)$$

При поглощении и вынужденном излучении "размытость" уровней приводит к тому, что атом поглощает либо испускает фотоны не только с энергией  $h\nu = E_k - E_i$ , но и фотоны с энергией, отличающейся на  $\Delta E$ . Максимальная же вероятность поглощения (испускания) будет в центре спектральной линии, убывая по величине при удалении от центра ( т.е. при росте  $\Delta E$ ). Это обстоятельство принципиально важно для получения монохроматического лазерного излучения.

### 2.2.1.3. Инверсия активной среды как необходимое условие генерации

Лазерное излучение рождается на переходах между атомными (молекулярными) уровнями, которые принято называть рабочими (рис. 6).

Отнесенные к единице объема активной среды заселенности рабочих уровней обозначим через  $N_1$  (нижний рабочий уровень) и  $N_2$  (верхний рабочий уровень). Разность заселенностей ( $\text{см}^{-3}$ )

$$\Delta N = N_2 - (g_2 / g_1)N_1 , \quad (2.3)$$

называют "плотностью инверсной заселенности" рабочих уровней. Здесь  $g_1$  и  $g_2$  - статистические веса или кратности вырождения соответствующих уровней, т.е.  $g_1/g_2$  - некая константа для определенного перехода. Для простоты рассуждений можно положить ее равной 1, а среду будем считать пространственно-однородной. Если выполняется условие  $\Delta N > 0$ , то это означает, что имеет место инверсия активной среды. В общем случае  $\Delta N$  - есть функция времени и пространственных координат. Поэтому понятие "инверсия" может относиться к определенным временным интервалам и областям пространства активной среды. В тех же случаях, когда инверсия реализуется постоянно, то говорят, что мы имеем дело со "стационарной" инверсией. Понятно, что реализовать стационарную (непрерывную во времени) инверсию сложнее, чем импульсную (в конкретный промежуток времени).

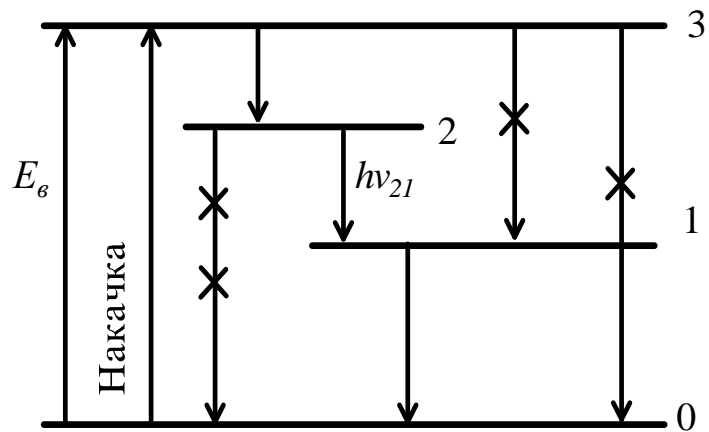


Рис. 6. Четырехуровневая модель активной среды

В термодинамически равновесной среде величина  $\Delta N$  всегда отрицательна, т.е. инверсия отсутствует и заселенность верхнего рабочего уровня меньше заселенности нижнего. И для создания инверсии необходимо среду перевести в неравновесное состояние. Обеспечение инверсии активной среды - необходимое (но не достаточное) условие получения режима генерации.

Коэффициент усиления для пространственно-однородной среды можно записать в виде

$$\chi = \sigma \Delta N, \quad (2.4)$$

где  $\sigma$  - сечение вынужденных переходов между рабочими уровнями ( $\text{см}^2$ ).

Величину  $\sigma$  можно связать с вероятностью вынужденного перехода по аналогии с тем, как это можно показать для случая обычного спонтанного излучения:

$$n_0 n_e \langle \sigma v \rangle = n_i A_{ki}, \quad (2.5)$$

где  $v$  - скорость возбуждающей частицы (например электрона),  $n_e$  - концентрация электронов ( $\text{см}^{-3}$ ),  $n_0$  - концентрация частиц в нормальном (не-

возбужденном) состоянии или заселенность нулевого (или основного) уровня атома,  $\sigma$  - здесь сечение возбуждения электронным ударом из нулевого в некоторое  $i$ -е состояние.

Для вынужденного перехода вместо вероятности спонтанного излучения  $A_{ki}$  будет  $B_{ki}$  - вероятность вынужденного (индуцированного) перехода и  $\sigma$  - сечение этого перехода. Выражение (2.5) - типичное уравнение баланса частиц.

Возвращаясь к выражению (2.4), можно заметить: факт существования усиления предполагает, что инверсия в среде получена, т.е.  $\Delta N > 0$ . Необходимость обеспечения инверсии физически очевидна, т.к. только при  $\Delta N > 0$  (т.е. при  $N_2 > N_1$ ) процессы индуцированного испускания будут превалировать над встречными процессами поглощения излучения на рабочем переходе.

Для создания инверсии используют различные способы возбуждения активной среды (или еще говорят способы накачки). Классифицируя лазеры на классы, мы об этом говорили (накачка газовым разрядом, в результате химической реакции, пучком электронов и т.д.).

#### 2.2.1.4. Квантовый выход и коэффициент полезного действия лазера

Выбор схемы уровней рабочей среды (будь то атомная, молекулярная) и метода накачки в существенной степени определяет коэффициент полезного действия (КПД) лазера.

Предположим, что рабочая среда описывается схемой из четырех уровней (рис. 6). Кстати, из реальных лазеров в указанную схему укладывается хорошо известный гелий-неоновый лазер.

На рисунке: 0 - основной уровень, 1 - нижний рабочий, 2 - верхний рабочий, 3 - уровень, через который осуществляется накачка (возбуждение) активной среды. Для простоты объяснения будем считать, что мы имеем дело с простой атомной системой. Допустим также, что вся мощность накачки сосредоточена на переходе 0 - 3 и затем уровень 3 спонтанно разрушается только на верхний рабочий уровень 2. В этом идеальном случае КПД лазера будет максимальным и равен

$$\eta = h\nu / E_{\text{возб}}. \quad (2.6)$$

Величину  $\eta$  называют "квантовым выходом" лазера. В действительности, не вся мощность накачки "закачивается" в рабочий переход. Часть мощности рассеивается, часть уходит на возбуждение других, более высоких состояний и т.д., т.е. в выражении (2.6) надо поставить некий коэффициент  $\gamma < 1$ . Далее, часть энергии накачки, вложенная в заселение уровня 3, перейдет на уровень 2, часть пойдет сразу на уровень 1, минуя

уровень 2, другая - на уровень 0, т.е. в основное состояние. Таким образом, надо еще поставить коэффициент  $\mu < 1$ . Ну и наконец, далеко не все атомы, оказавшиеся в состоянии 2, перейдут только по каналу 2 - 1. Часть из них уйдет либо излучательным, либо безызлучательным путем в основное состояние - 0. Значит появится еще один коэффициент  $f < 1$ . Тогда выражение (2.6) примет вид

$$\eta = Y\mu fh\nu / E_{\text{возб}}. \quad (2.7)$$

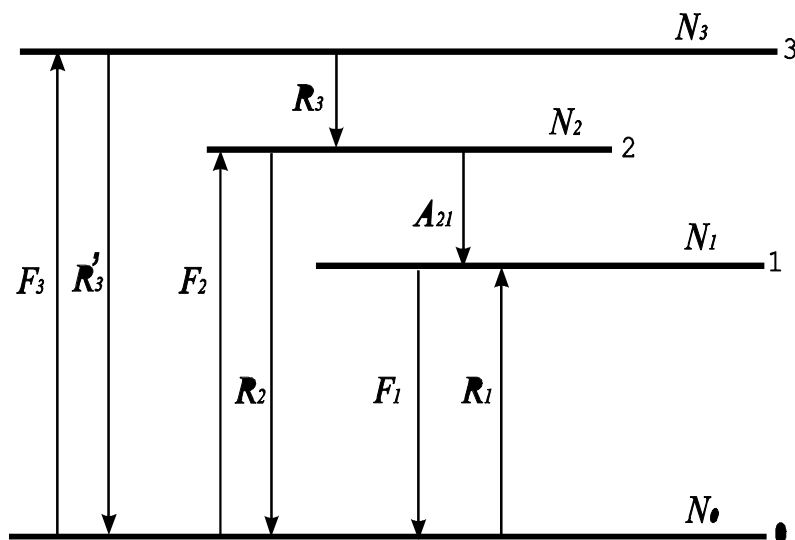
### 2.2.1.5. Условие инверсии для четырехуровневой модели (стационарная накачка)

На рис. 7 снова приведена схема четырехуровневой модели лазера, но здесь уже показаны те переходы, которые принимаются во внимание. Отнесенные к единице времени вероятности переходов обозначены буквами  $A, R, F$  с соответствующими индексами. Поскольку генерация пока отсутствует, то в рабочем канале 2-1 учитывается только спонтанное излучение ( $A_{21}$  - коэффициент Эйнштейна для спонтанного излучения, или иначе - вероятность излучения (испускания)). Уравнения баланса для случая стационарной инверсии имеют следующий вид:

$$\text{для уровня возбуждения (3) } F_3 N_0 - (R_3 + R_3)N_3 = 0, \quad (2.8.1)$$

$$\text{для верхнего раб.уровня (2) } R_3 N_3 + F_2 N_0 - (R_2 + A_{21})N_2 = 0, \quad (2.8.2)$$

$$\text{для нижнего раб. уровня (1) } F_1 N_0 + A_{21}N_2 - R_1 N_1 = 0. \quad (2.8.3)$$



**Рис.7. Инверсия в четырехуровневой модели лазера**

Поясним уравнения (2.8.1-2.8.3). Например, для (2.8.1) скорость возрастания заселенности уровня 3 равна числу переходов 0 - 3 в единицу времени в единице объема, т.е. равна  $F_3 N_0$ . Скорость убывания данной заселенности равна сумме чисел переходов 3 - 2 и 3 - 0, т.е. равна



$(R_3 + R'_3)N_3$ . В случае стационарной инверсии скорости убывания и возрастания должны компенсировать друг друга. Аналогично и для уравнений (2.8.2) и (2.8.3).

Введем обозначения  $N_0 / N_1 = x$ ,  $N_2 / N_1 = y$ ,  $N_3 / N_1 = z$  и перепишем уравнения баланса в новых переменных:

$$\begin{aligned} F_3 &= (R_3 + R'_3) z, \\ F_2 x + R_3 z &= (R_2 + A_{21}) y, \\ F_1 x + A_{21} y &= R_1. \end{aligned} \quad (2.9)$$

Условие инверсии ( $\Delta N > 0$ ) означает, что

$$y > 1. \quad (2.10)$$

Получая из (2.9) выражение для  $y$  и подставляя его в (2.10), приходим к следующему неравенству:

$$R_1 > A_{21} + F_1 (A_{21} + R_2) / [F_2 + F_3 R_3 / (R_3 + R'_3)]. \quad (2.11)$$

Отношение  $R_3 / (R_3 + R'_3)$  - есть относительная вероятность того, что находящийся на уровне 3 атом перейдет на уровень 2. А  $F_3 R_3 / (R_3 + R'_3)$  - полная вероятность заселения уровня 2 через уровень 3. Полная же вероятность заселения уровня 2 (с учетом канала 0 - 2) равна

$$F = F_2 + F_3 R_3 / (R_3 + R'_3). \quad (2.12)$$

Полная вероятность очистки верхнего рабочего уровня 2 будет иметь вид

$$R = A_{21} + R_2. \quad (2.13)$$

С учетом (2.12) и (2.13) условие инверсии примет вид

$$(R_1 - A_{21}) / R > F_1 / F. \quad (2.14)$$

#### 2.2.1.6. Общие принципы создания инверсии

Проанализируем выражение (2.14), прежде всего, разность  $(R_1 - A_{21})$  должна быть величиной положительной, т.е.

$$R_1 > A_{21}. \quad (2.15)$$

Следовательно, вероятность очистки нижнего рабочего уровня 1 должна быть больше вероятности его заселения спонтанным излучением с верхнего рабочего уровня 2. Из (2.14) также следует, что желательно выполнение и следующих неравенств:

$$F \gg F_1, \quad (2.16)$$

$$R_1 \gg R. \quad (2.17)$$

Полная вероятность заселения верхнего рабочего уровня 2 должна значительно превосходить вероятность заселения нижнего рабочего уровня 1. Вероятность же очистки нижнего рабочего уровня должна быть существенно больше, чем полная вероятность разрушения верхнего рабочего уровня 2 (следует иметь здесь в виду, что мы пока не говорим о вынужденном излучении).

Таким образом, для создания инверсии принципиально необходимо "селективно" заселять (верхние) и разрушать (нижние) рабочие уровни в активной среде лазера.

На практике редко выполняются оба неравенства (2.16 и 2.17). И инверсия реализуется либо за счет селективной накачки верхнего уровня, либо за счет хорошей (быстрой) очистки нижнего рабочего уровня. Кратко рассмотрим возможные механизмы заселения (возбуждения) и очистки (разрушения) уровней.

#### 2.2.1.7. Заселение уровней

**Поглощение света (оптическая накачка)** - это высокоселективный процесс, особенно если для накачки используется лазер-накачки. Тогда линия его излучения очень узкая (в спектральном смысле) и большая часть энергии вкачивается селективно на одно из рабочих состояний рабочей среды (это в случае, когда  $F \gg F_1$ ). Это очень удобный для поиска новых активных сред способ накачки. Недостаток для практических применений есть - необходимо иметь либо мощную лампу-вспышку ("вырезав" фильтрами лишь часть света), либо иметь предварительный лазер. Следовательно, получение высокого КПД задача здесь непростая.

**Неупругие столкновения со свободными электронами.** Свободные возбуждающие электроны могут создаваться либо в разряде, либо в ускорителях (возбуждение релятивистским пучком электронов - электроионизационная накачка), есть вариант получения ускоренных до единиц-десятков кэВ электронов и непосредственно в активной среде лазера. В этом случае добиться селективности накачки трудно и, как правило, неравенство (2.16) не выполняется, т.е.  $F < F_1$ . Исключения составляют так

называемые "самоограниченные" переходы. О них мы поговорим, подробнее рассматривая импульсные лазеры.

**Неупругие соударения, приводящие к передаче возбуждения от других атомов (молекул).** Они носят, как правило, резонансный характер (т.е. разница между энергией частицы, передающей возбуждения, и энергией верхнего уровня атома рабочей среды пренебрежимо мала). Такой механизм накачки обеспечивает высокую селективность накачки верхних рабочих уровней ( $F \gg F_1$ ).

**Химическая накачка** - возбуждение уровней в процессах химических реакций - тоже высокоселективный процесс ( $F \gg F_1$ ).

**Рекомбинационная накачка** - это заселение верхних рабочих состояний при рекомбинации заряженных частиц, предварительно созданных либо в газовом разряде, либо пучком быстрых электронов. О селективности накачки здесь, конечно, говорить не приходится ( $F \sim F_1$ ).

**Тепловая накачка** осуществляется просто нагревом активной среды. Здесь очевидно ( $F < F_1$ ).

#### 2.2.1.8. Очистка уровней (механизмы релаксации)

Разделение на механизмы возбуждения уровней и механизмы очистки (девозбуждения, релаксации) весьма условно. Поскольку, как правило, один и тот же механизм приводит к возбуждению одного состояния и девозбуждению другого.

*Радиационная очистка* осуществляется по разрешенным и (в меньшей степени) по запрещенным переходам между уровнями. Чем больше энергия испущенного кванта спонтанного излучения, тем выше вероятность радиационной очистки. Этот механизм может характеризоваться высокой селективностью, если переход  $2 - 0$  (рис. 7) оптически запрещен, согласно правилам отбора, а переход  $1 - 0$  оптически разрешен и вероятность этого перехода велика.

*Неупругие соударения со свободными электронами* чаще называют электронным девозбуждением. При соударении возбужденного атома (в состоянии  $1$  - рис. 7) внутренняя энергия атома переходит в кинетическую энергию электрона. Избирательностью этот процесс не отличается.

*Неупругие столкновения с атомами (молекулами) вспомогательного вещества* - при этом если внутренняя энергия от одной тяжелой частицы переходит во внутреннюю энергию другой, то процесс имеет резонансный характер. Избирательность его будет велика и  $R_1 \gg R$ . Если же процесс носит газокинетический характер (энергия переходит в кинетическую энергию другой тяжелой частицы), то селективностью такой процесс не обладает.

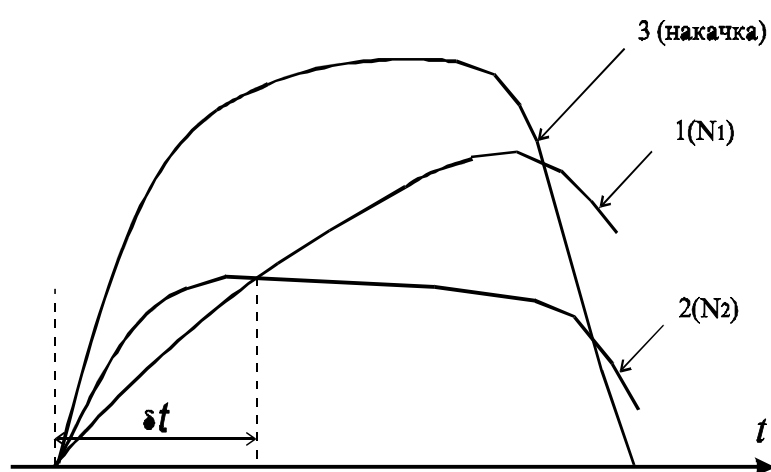
*Снятие возбуждения при адиабатическом расширении газовой активной среды.* При этом энергия возбуждения активных частиц превращается в кинетическую энергию расширяющегося газа. Избирательно может очищаться нижнее рабочее состояние ( $R_1 \gg R$ ).

*Химическое девозбуждение.* Здесь также возможна хорошая избирательность процесса разрушения уровней.

Конечно, этот перечень возможных механизмов очистки, как впрочем и накачки, далеко не полный, и это следует иметь в виду, изучая и используя в практических приложениях конкретный лазер.

### 2.2.1.9. Импульсная накачка и ее преимущества перед стационарной

При импульсной накачке, когда инверсия реализуется лишь в течение некоторого промежутка времени, быстрая очистка нижнего рабочего уровня может стать не столь обязательным требованием, как это необходимо для создания стационарной инверсии. Предположим, что при включении импульса накачки с крутым передним фронтом ( $\sim 10^{-8}$  с) скорость заселения верхнего рабочего уровня выше, чем скорость заселения нижнего. Такой случай имеет, например, место, когда верхний уровень оптически связан с основным, а нижний рабочий уровень имеет запрет на оптическую связь с основным уровнем атома. На рис. 8 представлена графически картина возникновения импульсной инверсии.



**Рис. 8. Реализация импульсной инверсии**

Кривые 1 и 2 описывают изменение населенностей нижнего и верхнего рабочих состояний, а кривая 3 - импульс накачки (например, произведение  $I(t) * U(t)$ ). Из рис.8 видно, что инверсия реализуется в начале импульса возбуждения - в течение промежутка времени  $\delta t$ . Тогда релаксация нижнего лазерного уровня 1 не существенна для реализации инверсии (для первого импульса накачки). Иначе обстоит дело, если мы имеем дело с импульсно-периодической накачкой. Тогда условия для последующего импульса реализуются через некоторое время  $t$ , необходимое для релаксации уровня 1. И чем скорость релаксации будет выше,

линии инверсии (для первого импульса накачки). Иначе обстоит дело, если мы имеем дело с импульсно-периодической накачкой. Тогда условия для последующего импульса реализуются через некоторое время  $t$ , необходимое для релаксации уровня 1. И чем скорость релаксации будет выше,

тем частоту повторения импульсов накачки можно будет поддерживать на более высоком уровне. Соответственно, и средняя мощность генерации будет выше. Типичный пример подобных систем - лазеры на "самоограниченных переходах". О них мы поговорим подробнее ниже.

#### 2.2.1.10. Генерация излучения. Резонатор Фабри-Перо

Выше, в разделе 2.1.1, мы сказали, что необходимым (но не достаточным !) условием для реализации лазерного излучения является инверсия населенностей рабочих уровней, или что то же самое – необходимость усиления, а не поглощения излучения в среде на определенной длине волны. Теперь поговорим о том, чем надо дополнить это условие, чтобы действительно реализовать эффект генерации вынужденного излучения.

Очевидно, чтобы от режима усиления перейти к режиму генерации, необходимо реализовать положительную обратную связь (по аналогии с радиотехникой). В оптическом диапазоне спектра это достигается установкой **резонатора**, в простейшем случае открытого плоскопараллельного, или, как его иначе называют, **резонатора Фабри-Перо**. Активная среда размещается внутри резонатора. Резонатор Фабри-Перо состоит из пары зеркал, установленных строго перпендикулярно оси излучения (рис. 9) и отражающих излучение, выходящее из среды назад. Коэффициенты отражения зеркал различны. Как правило, заднее зеркало – плотное, т.е. коэффициент отражения близок к 100% (реально до 99.9%). Выходное зеркало – частично прозрачное для излучения на данной длине волны (менее 99%), с тем чтобы часть излучения выходила из активного объема.

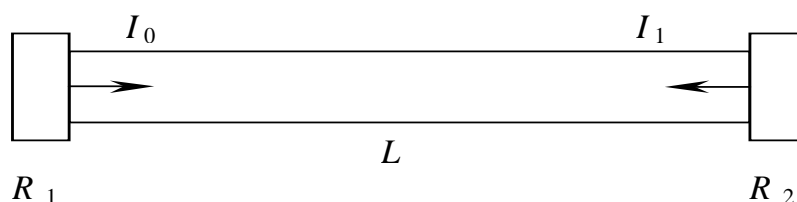


Рис. 9. Формирование излучения в резонаторе Фабри-Перо

Выведем требование на величину порогового коэффициента усиления активной среды, т. е. такого, при котором возникает эффект генерации излучения.

С учетом того, что среда – активная, то коэффициент усиления –  $G > 0$ . Для простоты будем считать, что среда изотропная, т.е. однородна в аксиальном и радиальном направлениях, а расстояние между зеркалами резонатора равно длине активной среды ( $L$ ). Ограничимся одномерным представлением. Наряду с усилением (естественно, мы подразумеваем, что на определенной длине волны), в среде присутствует ослабление излуче-

ния. Оно, в частности, может быть вызвано наличием различных примесей в среде и, как следствие, поглощением и рассеянием излучения. Обозначим коэффициент потерь в среде через  $G_{\text{пот}}$ . Введем понятие меры излучения, например через **интенсивность**  $I$ . Предположим, что в точке  $L_0$  возникло излучение  $I_0$ , совпадающее по направлению с осью  $L$  (нас интересует только эта составляющая излучения, поскольку излучение в любом другом направлении не будет возвращаться в среду зеркалами резонатора). Приращение интенсивности на единице длины активной среды составит:

$$dI_0 = I_0 * (G - G_{\text{пот}}) dL. \quad (2.18)$$

Величина интенсивности у зеркала 2 составит:

$$I_1 = I_0 * e^{(G - G_{\text{пот}}) L}. \quad (2.19)$$

Величина отраженного сигнала составит:

$$I_1 = R_2 I_0 * e^{(G - G_{\text{пот}}) L}. \quad (2.20)$$

После прохождения среды (вновь) и отражения от зеркала 1 величина интенсивности составит:

$$I_1 = R_2 I_0 \cdot e^{(G - G_{\text{пот}}) L} \cdot R_1 \cdot e^{(G - G_{\text{пот}}) L},$$

$$I_2 = I_0 \cdot R_1 R_2 \cdot e^{2(G - G_{\text{пот}}) L}. \quad (2.21)$$

Условие порога будет

$$I_2 = I_0. \quad (2.22)$$

Соответственно, при этом  $G = G_{\text{пор}}$ .

Таким образом

$$1 = R_1 R_2 e^{2(G_{\text{пор}} - G_{\text{пот}}) L}. \quad (2.23)$$

Логарифмируя это выражение, получаем искомую величину порогового коэффициента усиления:

$$G_{\text{пор}} = G_{\text{пот}} + 1/2L * \ln 1/R_1 R_2. \quad (2.24)$$

**Следовательно, для реализации генерации лазерного излучения необходимо не только реализовать активную среду (иметь усиление),**

**необходимо также преувеличить потери излучения в среде и на зеркалах резонатора.**

Очевидно, что в тех активных средах, где коэффициент усиления мал, нужно иметь очень плотный резонатор (с большими коэффициентами отражения зеркал).

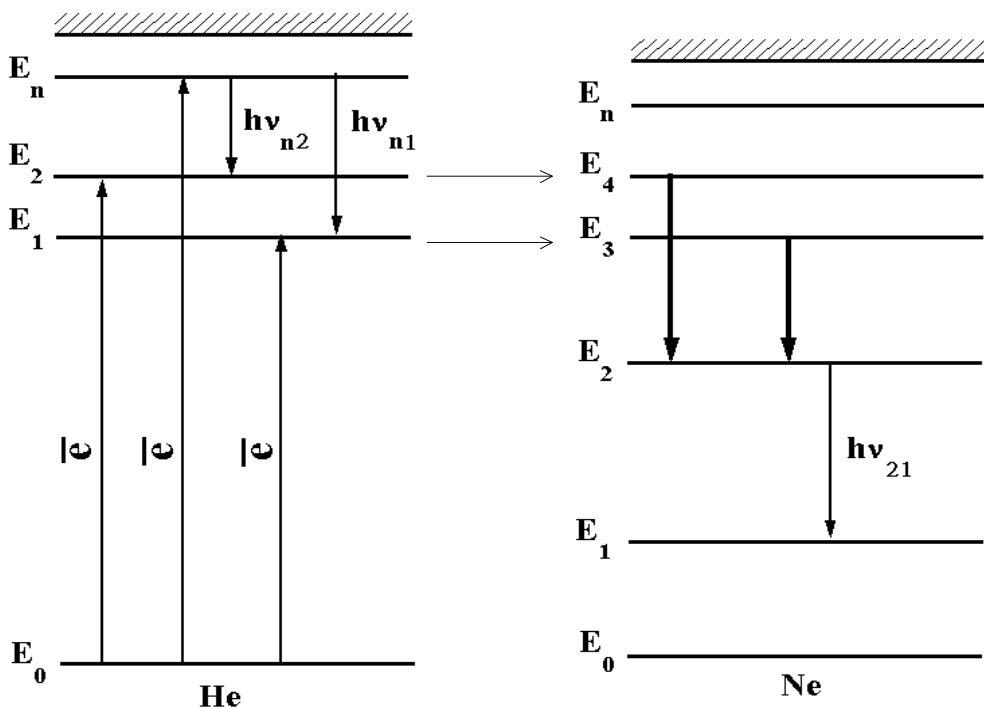
### 2.3. Некоторые из лазеров

В этом разделе мы рассмотрим принципы работы и технические характеристики некоторых, наиболее известных и применяемых в различных приложениях (в том числе в медицине), лазерах.

#### 2.3.1. Гелий-неоновый лазер

В гелий-неоновом лазере рабочим веществом являются атомы неона. В электрическом разряде часть атомов неона из основного - 0 переходит в возбужденные состояния 2,3,4,5 и т.д. (рис. 10). Инверсия может достигаться вследствие большой скорости накачки уровней 3,4 по сравнению с меньшей скоростью накачки уровней 1,2. Однако в чистом неоне инверсию получить невозможно, поскольку населенность долгоживущего (метастабильного) уровня 1 значительно превышает населенности уровней 3,4. Эту трудность впервые преодолели Джаван, Беннет и Херриот в 1960 г., используя смесь газов - гелия и неона. Энергии двух метастабильных (а следовательно, и сильно заселенных) уровней гелия близки к энергиям уровней 3 и 4 атома неона. Поэтому при столкновениях возбужденных атомов гелия (в состояниях 1 и 2  $HeI$ ) с невозбужденными атомами неона - последние переходят в состояния 3 и 4  $NeI$ . Эти состояния и использованы как верхние рабочие уровни лазера. Потому он и назван как гелий-неоновый.

Выбором условий разряда (давлений гелия и неона, напряжения и тока стационарного разряда) можно добиться преимущественной накачки уровня 4 неона (тогда реализуется генерация на длине волны 632,8 нм), либо уровня 3 (излучения в ближней ИК-области спектра - 1,15 и 3,39 мкм). Нижний рабочий уровень у них общий - 2. Это состояние является короткоживущим и разрушается спонтанными переходами на уровень 1, а те, в свою очередь, разрушаются в соударениях атомов в состоянии 1 со стенкой газоразрядной трубки (с переходом в основное состояние - 0). Поэтому диаметр трубок лазера обычно мал и составляет единицы мм, а мощности излучения составляют единицы-десятки мВт. Для получения больших мощностей - до сотен мВт приходится увеличивать рабочий объ-



**Рис. 10. Упрощенная схема уровней атомов гелия и неона**

ем лазера за счет длины трубки (до 1-2 м). В действительности уровни 2,3 и 4 ( $2p$ ,  $2s$ ,  $3s$  - в обозначениях Пашена) представляют собой полосы из большого числа близко расположенных уровней. Поэтому спектр генерации лазера может содержать несколько десятков спектральных линий, генерирующих в красной и ближней ИК- областях спектра.

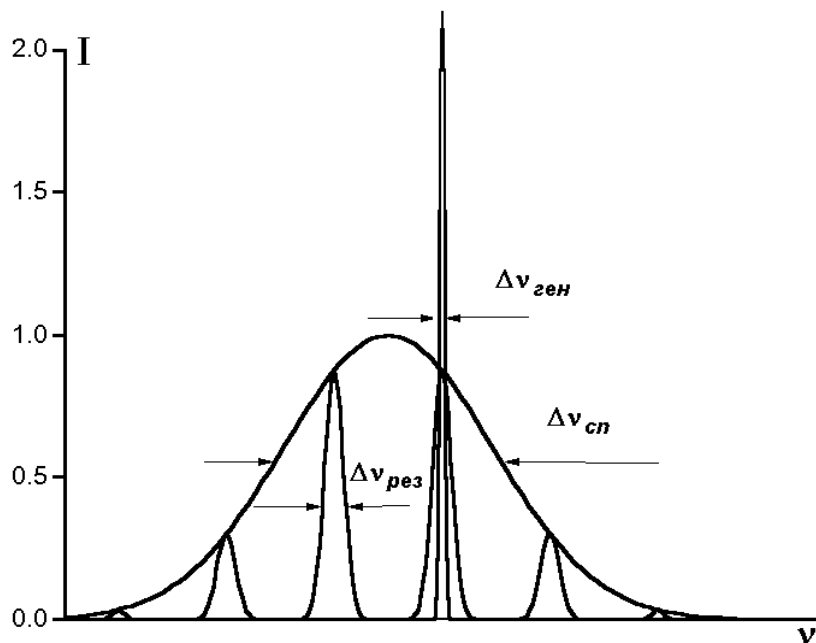
Поскольку соотношение длины трубки к диаметру велико, а коэффициент усиления лазера мал, то в плотном резонаторе (одно из зеркал - "глухое", практически со 100% отражением, а другое более 90%) излучение, многократно пройдя внутри резонатора, на выходе из него имеет высокую степень направленности. Расходимость луча определится соотношением

$$Q \sim (\lambda/L), \quad (2.18)$$

где  $\lambda$  - длина волны, а  $L$  - длина резонатора. Реально получаются расходимости менее 1 мрад (порядка 1 угловой минуты). Это первое достоинство гелий-неонового лазера - высокая степень направленности.

Далее. Ширина спектральных линий неона узкая даже для спонтанного излучения. Но из этой линии резонатор, состоящий из двух параллельно расположенных зеркал (резонатор Фабри-Перо), вырезает гораздо более узкие линии, соответствующие собственным частотам резонатора (рис. 11).





**Рис. 11. Форма и ширина спектральных линий излучения гелий-неонового лазера:**

$\Delta \nu_{сп}$  - ширина спектральной линии  $NeI$ ,  
 $\Delta \nu_{рез}$  - ширина линии резонатора (генерации)

Так как линии генерации, в основном, определяются собственными частотами оптического резонатора, то и стабильность излучаемых частот напрямую оказывается связанной с жесткостью конструкции резонатора. Лучшая стабильность лазера (по частоте) составляет  $10^{-14}$ .

Таким образом, следующие достоинства - узость спектрального состава (высокая монохроматичность) излучения и стабильность частоты. Именно благодаря этим качествам (несмотря на малую мощность - десятки-сотни мВт и КПД - около сотых долей процента) этот лазер находит широкое применение в измерительных приборах, бытовой технике, включая компакт-диски, принтеры, связь по оптическим волокнам и т.д. В медицине он получил широкое распространение как источник излучения для низкоинтенсивной терапии.

### 2.3.2. Газовые лазеры на ионах благородных газов

Рабочими веществами в этих лазерах являются ионизированные инертные газы (неон, аргон, криптон, ксенон). Поскольку генерация осуществляется в ионном спектре, здесь необходима высокая степень ионизации газа. Поэтому для эффективной накачки верхнего состояния необходимо вначале затратить большую долю энергии на ионизацию частиц и только потом на возбуждение верхних рабочих состояний затратить энергию накачки. Бывают и исключения, когда возбуждение верхних ионных уровней осуществляется напрямую из основного состояния атома с одновременной ионизацией, но эффективность такого процесса на два-три по-

рядка ниже. Нижний же рабочий уровень эффективно разрушается радиационным путем.

Для создания высокой степени ионизации, как правило, используют разряд в капилляре с высокой плотностью тока. Поэтому, с одной стороны, КПД этих лазеров мал и составляет сотые-десятые доли процента, с другой стороны, интенсивная бомбардировка стенок капилляра ионами приводит к разрушению вакуумнопрочного разрядного канала. Естественно необходимость снятия тепла с наружной стенки капилляра требует интенсивного (зачастую жидкостного) охлаждения.

*Достоинства этих лазеров:*

- так же, как и гелий-неонового лазера, высокая монохроматичность излучения;
- генерация в видимой и ближней УФ-области спектра;
- стационарное излучение с выходной мощностью - типичной единицы Вт, в экспериментальных образцах до сотен Вт (аргоновый лазер Донины, г.Новосибирск).

Данные лазеры активно используются в научных и технологических установках для накачки лазеров на красителях, с целью получения плавно перестраиваемого по длинам волн излучения. Известны примеры использования в лазерной навигации - посадки самолетов и проводки судов в сложных метеоусловиях в ограниченных пространствах (малые размеры ВПП, узости и каналы). В медицине аргоновый лазер используется для коагуляции внутренних кровотечений, в дерматологии, известны примеры использования его для хирургических целей (длина волны 0.48 - 0.51 мкм). Криптоновый лазер применялся (правда не массово) для фотодинамической терапии злокачественных образований.

### 2.3.3. Лазер на углекислом газе (CO<sub>2</sub>-лазер)

Этот лазер был первым лазером, генерирующим на переходах в спектре молекулы. Запущен в 1964 г. Р. Пателом - США. Схема переходов в CO<sub>2</sub>-лазере приведена на рис. 13. Здесь, как и в гелий-неоновом лазере, накачка верхних рабочих состояний осуществляется опосредованно через возбуждение молекул азота с последующей передачей возбуждения молекулам углекислого газа. Обычно в рабочую смесь добавляют и инертный газ - гелий, задача которого уменьшить тепловое заселение нижних рабочих уровней, вследствие своей хорошей теплопроводности. Этот лазер работает как в непрерывном, так и в импульсном режимах. Недостатков у этого лазера практически нет. Правда область спектра, где он генерирует не очень интересна - около 10 мкм (ближний ИК-диапазон) и расходимость излучения несколько выше, чем у гелий-неонового и аргонового

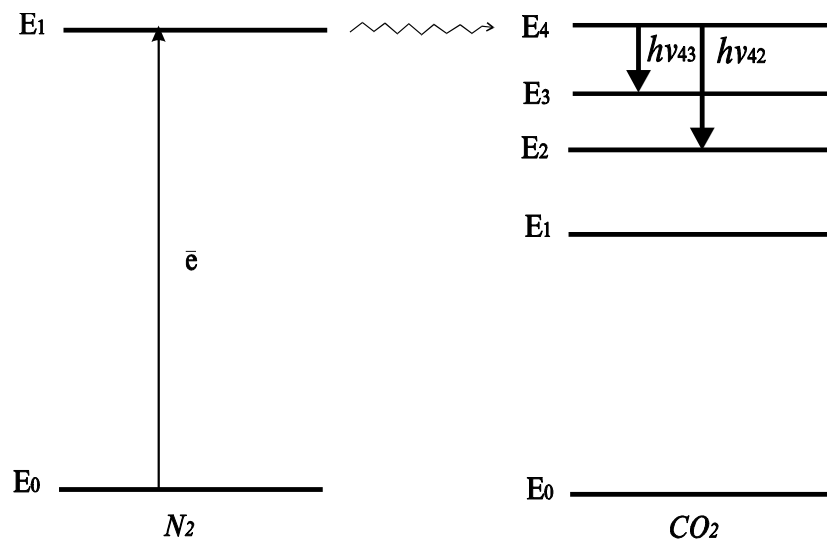


Рис. 13. Схема колебательных уровней молекул  $\text{CO}_2$  и  $\text{N}_2$

лазеров. Высокая мощность излучения создает сильную нагрузку на зеркала резонатора и здесь были серьезные технологические проблемы, часть из которых актуальна и сегодня.

*Достоинства  $\text{CO}_2$ -лазера:*

- Высокая мощность излучения (до 10 кВт и выше в непрерывном режиме);
- Высокий КПД (до 40%);
- Большой ресурс работы активного элемента и лазера в целом (более 1000 часов).

Лазер на углекислом газе - типичный представитель лазеров, широко используемых в технологических целях. Прежде всего, благодаря высокой средней мощности излучения. Это сварка и резка различных материалов, вплоть до металлов, лазерное травление и очистка поверхностей, лазерное зондирование атмосферы и т.д.

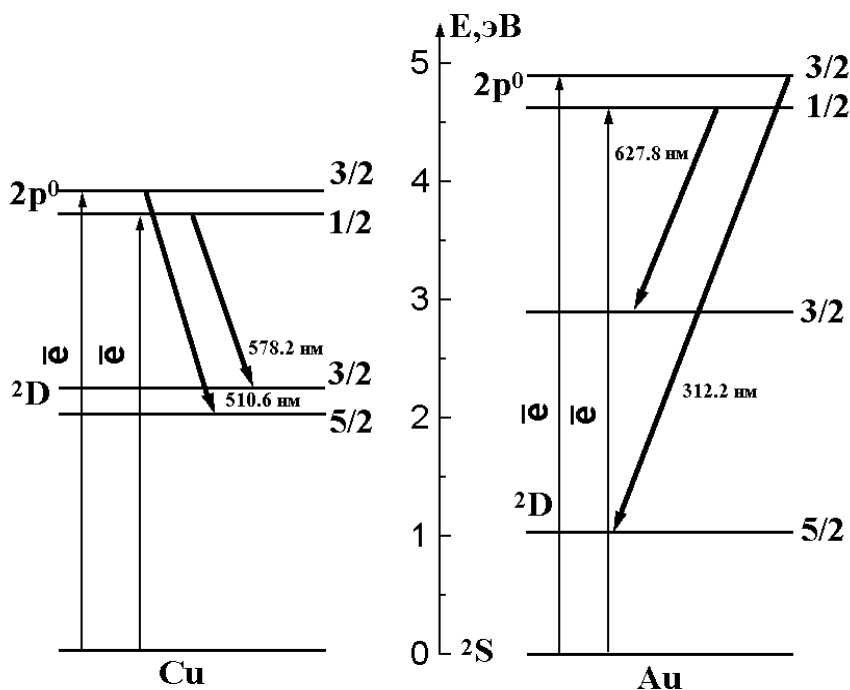
В медицине - это, прежде всего, "лазерный скальпель" на базе 100 Вт  $\text{CO}_2$ -лазера. В частности, такая установка используется в клинике НИИ онкологии г.Томска.

#### 2.3.4. Лазеры на парах металлов. Лазер на парах меди

Лазер на парах меди является типичным представителем лазеров на парах металлов (меди, золота, свинца, марганца, бария и др.). Эти лазеры еще относят к так называемым лазерам на "самоограниченных переходах". Здесь инверсия создается (как правило) между первыми резонансными и

первыми метастабильными (долгоживущими) уровнями атомов. Схема переходов в атоме меди приведена на рис. 12. Верхние уровни  ${}^2P_{1/2}$  и  ${}^2P_{3/2}$  оптически связаны с основным состоянием и эффективно возбуждаются электронами на переднем фронте импульса накачки, длительность которого составляет десятки нс. Переходы с нижних уровней  ${}^2D_{3/2}$  и  ${}^2D_{5/2}$  в основное состояние запрещены и вероятность их заселения в соударениях атомов меди, находящихся в основном состоянии, быстрыми электронами очень мала. В результате этого на фронте импульса накачки создается инверсия сразу на двух переходах и, соответственно, генерация зеленой (510.5 нм) и желтой (578.2 нм) линиях. Генерация носит импульсный характер и существует до тех пор, пока вынужденные переходы по рабочему каналу не уравнивают заселенности верхних и нижних уровней. Именно поэтому генерацию называют "самоограниченной" либо говорят так - генерация на "самоограниченных переходах". Свободные атомы меди, необходимые для создания активной среды, могут создаваться различными способами, чаще всего простым нагревом, либо внешним независимым нагревателем, либо диссипацией части энергии импульсно-периодического разряда. Это так называемый режим "саморазогрева", реализованный впервые, кстати, русскими учеными Петрашом Казаряном, Исаевым из ФИ РАН г. Москва в 1972г. Использование этого режима работы сразу поставило этот лазер в один из самых мощных и эффективных лазеров видимого диапазона спектра [15].

*Достоинства лазера на парах меди*



**Рис. 12. Упрощенная схема переходов в лазерах на парах меди и золота**

Высокий коэффициент усиления на единицу длины активного объема, что позволяет получать генерацию в резонаторе, образованном одним плотным зеркалом и плоскопараллельной пластинкой, в качестве выходного зеркала. Возможно использование активной среды в качестве усилителя оптического сигнала, проекционной системы.

Высокая средняя мощность излучения (до сотен Вт).

Относительно высокий КПД (до нескольких процентов), что на два порядка выше, чем у лазеров видимого диапазона на ионах благородных газов (аргон, криптон).

Возможность одновременной, либо поочередной генерации на двух и более переходах.

Возможность получения генерации не только в парах меди, но и в других металлах, а также в смеси их паров позволяет получать генерацию в широком спектральном диапазоне (от ближнего УФ до ближнего ИК).

#### *Недостатки*

Технологически лазеры на парах металлов сложны, поскольку для создания необходимых плотностей паров металла требуются высокие рабочие температуры (1500-1700<sup>0</sup>С). В настоящее время эти проблемы решены и ресурс работы промышленных активных элементов составляет более 2000 часов.

Не в полном объеме удовлетворяют требованиям, используемые для коммутации энергии накачки тиратроны (типа ТГИ 1-1000/25 и др.). Зарубежные (английские) образцы компактнее и надежнее.

#### *Области применения лазера на парах меди (и других металлов)*

Активные оптические системы с проекционными усилителями яркости изображения используются в производстве микроэлектронной техники [24].

Лазеры на парах меди, золота, свинца, в том числе с преобразованием излучения в УФ-область спектра с помощью нелинейных кристаллов, находят применение в качестве источников излучения для лазерного зондирования атмосферы [25].

В медицине лазер на парах меди не нашел пока широкого использования, потому что, во-первых, промышленный выпуск этих лазеров освоен не так давно, во-вторых, он более сложен в эксплуатации, чем гелий-неоновый лазер. В-третьих, насколько известно, медицинской полностью аттестованной аппаратуры на базе лазера на парах меди пока нет. Вместе с тем, результаты исследований воздействия излучения лазера на парах меди на биологические объекты, животных, результаты клинических испытаний мелкосерийных установок на базе этого лазера в различных медицинских НИИ весьма обнадеживают. Так, в НИИ онкологии г. Томска в экспериментах на животных показано, что излучение лазера на парах меди (510.6 нм) тормозит рост злокачественных опухолей и процесс метастазирования. Эти результаты послужили основой для клинического приме-

ния излучения лазера на парах меди для лечения эмпиемы плевры, ускорения процесса заживления после радикальных операций по поводу рака легких и других органов, эффективного лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, как предраковых заболеваний [26].

### 2.3.5. Плазменные (рекомбинационные) лазеры на ионах щелочно-земельных металлов (стронций, кальций)

Процессы рекомбинации при столкновениях свободных электронов плазмы с положительно заряженными ионами в плазме могут приводить к эффективному накоплению атомов (либо ионов) в возбужденных состояниях, что может быть использовано для накачки верхних лазерных уровней. Рекомбинация протекает по схеме



либо для двукратноионизованных атомов



Эти реакции протекают тем быстрее, чем ниже энергия (температура) электронов. Таким образом, для эффективного заселения уровней необходимо, чтобы концентрации ионов (и соответственно) электронов были высоки, а температура электронов существенно ниже равновесной для данной концентрации заряженных частиц. Свойства плазмы в рекомбинационном режиме сильно отличаются от свойств плазмы, используемой, например, для создания инверсии в лазере на парах меди. В том случае мы имеем дело с так называемой ионизационной неравновесностью плазмы, а здесь с рекомбинационной неравновесностью. Лазеры, использующие принцип накачки верхних состояний в процессах рекомбинации заряженных частиц, принято называть рекомбинационными или плазменными [16].

Принципиальное отличие плазменного лазера от газоразрядного состоит в том, что в процессе работы газоразрядного лазера степень ионизации в ходе импульса тока нарастает, а в случае плазменного лазера инверсия достигается в конце или после импульса накачки, так что степень ионизации падает, то есть первый работает на переходе среды из газового состояния к плазме, а второй, наоборот - от плазмы к газу (в послесвечении разряда). И еще - для газоразрядной накачки характерно заселение снизу вверх по шкале энергий, а для рекомбинационного - сверху вниз, что уменьшает вероятность паразитного заселения нижних рабочих состояний. Очистка нижних уровней в плазменных лазерах осуществляется либо спонтанными переходами вниз, либо за счет столкновений с медленными электронами плазмы. Таким образом, эффективное охлаждение электро-

нов необходимо как для хорошей накачки верхних состояний, так и для быстрой релаксации нижних.

Типичными представителями рекомбинационных лазеров являются гелий-стронциевый и гелий-кальциевый лазеры. Генерация реализуется на переходах в спектрах ионов щелочно-земельных металлов, а гелий играет роль буферного газа. Импульс возбуждения длительностью менее 1 мкс с крутым задним фронтом накачки создает плазму с высокой концентрацией двукратных ионов стронция (кальция). Процессы рекомбинации приводят к образованию возбужденных однократных ионов, играющих роль активных лазерных центров. Генерация реализуется, как правило, в голубой и ближней УФ-области спектра. Так, для гелий-стронциевого лазера - 416 нм и 435 нм.

В литературе описаны примеры использования лазеров на парах стронция и кальция в проекционных усилителях яркости, в лазерах на красителях для их когерентной накачки, микроэлектронных технологиях. Лазер на парах стронция является одним из претендентов на создание цветного лазерного телевидения (образуя вместе с лазерами на парах меди и золота требуемые цвета: зеленый, красный, голубой).

В медицине лазер на парах стронция может быть использован для диагностики злокачественных образований. Гематопорфирины (органические красители), которые используются в фотодинамической терапии при введении в организм (кровь), локализуются преимущественно в опухолях и под воздействием голубого цвета флуоресцируют в зелено-голубой области спектра, обозначая пораженные опухолью ткани. А далее, в действие вступает более мощный лазер красного диапазона спектра (например на парах золота), который и разрушает опухоль. Но широкого распространения лазеры на парах стронция (кальция) пока не получили, возможно потому, что их серийный выпуск пока не налажен.

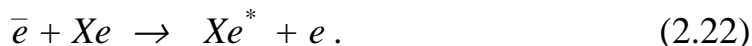
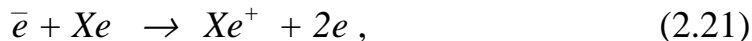
### 2.3.6. Эксимерные (эксиплексные) лазеры

Начнем с терминологии. Слово "эксимер" образовано сокращением двух английских слов *excited dimer* (возбужденный димер). Эксимер - это молекула, возникшая при связывании возбужденного атома (или молекулы) с атомом (или молекулой) в основном состоянии. Первоначально эксимером называли молекулу, образованную парой одинаковых атомов (например  $Xe_2^*$ ), в которой взаимодействие между атомами в основном состоянии было чисто отталкивательным, вследствие чего они просто разлетались. Затем сфера применения термина расширилась и эксимерными лазерами стали называть и лазеры на галогенидах благородных газов, у которых нижний лазерный уровень может быть как отталкивательным, так и частично связанным. На рис. 14 приведен, в качестве примера, вид потенциальной кривой молекулы  $XeF^*$  как функции расстояния  $R$  между яд-

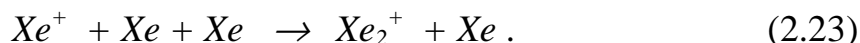
рами  $Xe$  и  $F$ . В возбужденных состояниях  $B$ ,  $C$ ,  $D$  при некотором расстоянии между ядрами потенциальная энергия минимальна. Поэтому молекулы в возбужденных состояниях устойчивы. В состояниях же  $A$ ,  $X$ , называемых разлетными, энергетического минимума в кривых нет. Расстояние  $R$  возрастает настолько, что атомы  $Xe$  и  $F$  начинают двигаться независимо.

Эксимерные лазеры иногда называют "эксиплексными", что в сокращенном переводе с английского "excited complex" означает возбужденный комплекс.

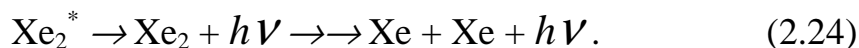
Рассмотрим каким образом в плазме могут образовываться эксимерные молекулы. Быстрые электроны  $\bar{e}$ , возбуждая и ионизируя газ, создают вторичные медленные электроны  $e$  [21]:



При высоких давлениях рабочего газа, а именно такие типичны для эксимерных лазеров, эффективно протекает трехчастичная реакция типа



Далее в процессе диссоциативной рекомбинации из молекулярного иона образуется нейтральная возбужденная молекула  $Xe_2^*$ . Переход из нижнего возбужденного состояния  $Xe_2^*$  в основное  $Xe_2$ , которое и является разлетным, вызывает диссоциацию молекулы на атомы



Таким образом, автоматически достигается эффективная очистка нижнего рабочего состояния, а поскольку лазерный переход реализуется в основное состояние, то этим обеспечивается высокий квантовый КПД эксимерного лазера.

*Основные достоинства эксимерных лазеров*  
Высокий квантовый КПД.

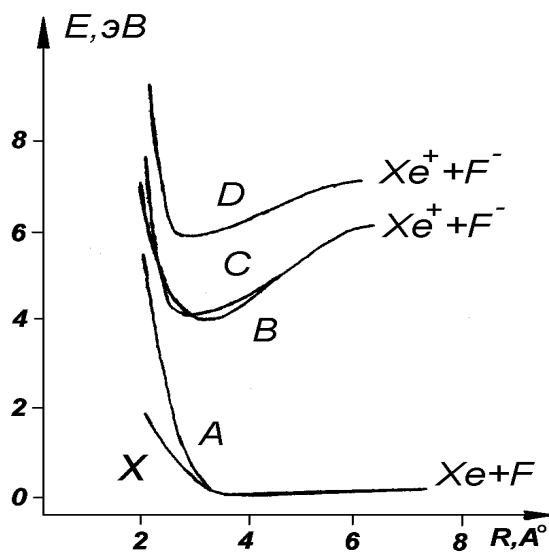


Рис. 14. Потенциальная энергия молекул  $XeF$  как функция расстояния  $R$  между ядрами



Генерация в ближней УФ-области спектра (табл. 1).

Высокая импульсная (несколько МВт) и средние (до сотни Вт) мощности излучения.

Возможность варьирования длительностью импульса генерации от единиц нс до единиц мкс.

Таблица 1

Длины волн и соотношение интенсивностей линий излучения  
эксимерных лазеров при различных способах накачки

Рабочая среда	Длина волны, нм	Накачка		
		Электронным пучком	Электрическим разрядом	Электрическим разрядом + инициир. пучком
$Xe_2^*$	172	сильная	-	-
$Kr_2^*$	146	сильная	-	-
$Ar_2^*$	126	сильная	-	-
$KrF^*$	248	очень сильная	сильная	сильная
$XeCl^*$	308	сильная	сильная	сильная
$XeF^*$	350	сильная	сильная	сильная
$ArF^*$	193	сильная	сильная	-
$KrCl^*$	222	сильная	сильная	-

На практике же для того, чтобы получить эффективную генерацию эксимерного лазера, приходится преодолевать серьезные технические трудности.

Лазеры работают при высоком давлении смеси - 5 атм. и выше. При этих давлениях имеются трудности с созданием однородной плазмы в рабочем объеме лазера.

Смеси с галогенидами чрезвычайно вредны и требуются специальные меры, обеспечивающие максимальную защиту обслуживающего персонала. Химическая активность рабочих сред приводит и к быстрому разрушению рабочих камер лазеров, снижая их ресурс.

Вредность (хим. активность) эксимерных лазеров существенно повлияла на размах их применений. На сегодня, при всей привлекательности по техническим параметрам, в стране практически отсутствует серийное производство эксимерных лазеров. Вместе с тем, ряд малых фирм у нас в стране и за рубежом наладили их выпуск для различных приложений. Наиболее широко этими лазерами пользуются исследователи, накачивая ими лазеры на красителях, производя оптическую накачку других активных сред. Известны примеры использования эксимерных лазеров в производстве микроэлектронной техники, в частности, для изготовления фотошаблонов печатных плат и т.д.

В медицине эти лазеры используются для разрушения бляшек в кровеносных сосудах, что предотвращает закупорку сосудов, для безболез-

ненного вскрытия зубов, снятия зубного камня. Но широкому использованию их здесь в еще большей мере, чем где-либо, препятствует агрессивность рабочих смесей. И второе - УФ-излучение само по себе весьма опасно для биологических объектов, особенно если длины волн излучения оказываются менее 300 нм.

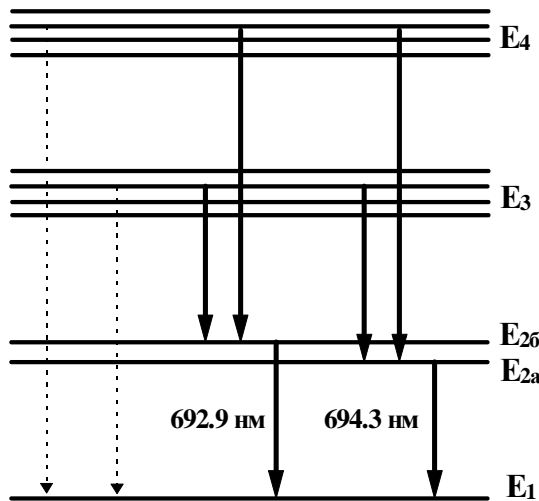
### 2.3.7. Твердотельные лазеры

Широкий класс лазеров составляют лазеры на основе конденсированных сред. К ним относят лазеры твердотельные, полупроводниковые и жидкостные. Впрочем этих лазеров так много, что их обычно выделяют в отдельные классы. Вот и мы поговорим отдельно о твердотельных, полупроводниковых и жидкостных.

Впервые стимулированное излучение в оптическом диапазоне спектра (красной области - 0.69 мкм) с твердым телом - рубином получено в 1960 г. Мейманом [27]. В основе работы рубинового лазера лежит принцип работы трехуровневой схемы. Мы говорили о четырехуровневой, так здесь уровни 1, 2, 3 присутствуют, но уровень 1 является основным, в таких случаях говорят о генерации в основное состояние.

Рубин - это твердое кристаллическое вещество. Основой его является корунд - диэлектрический кристалл окиси алюминия ( $Al_2O_3$ ). Рубином он становится тогда, когда небольшую часть атомов  $Al$  в этом кристалле заменяют ионы хрома -  $Cr^{3+}$ . Содержание атомов  $Cr$  в кристалле невелико (0.05%). В рубине, обычно употребляемом для лазеров, на каждый  $см^3$  кристалла приходится около  $10^{19}$  атомов  $Cr$ . Это составляет  $10^{-4}$  от полного числа атомов. И тем не менее, именно при добавлении хрома кристалл принимает красный, свойственный рубину цвет, что обусловлено расположением энергетических уровней хрома в рубине. Структура уровней хрома показана на рис. 15.

Из рисунка видно, что имеется основное состояние  $E_1$  и два возбужденных состояния  $E_{2a}$  и  $E_{2b}$ . Это узкие уровни: переходы между ними и уровнем  $E_1$  и используются для генерации света. Основной уровень  $E_1$  в действительности обладает сложной структурой, но мы не будем об этом говорить. Наряду с узкими уровнями  $E_1$ ,  $E_{2a}$  и  $E_{2b}$ , имеются две сравнительно широкие полосы энергий  $E_3$  и  $E_4$ . Длина волны излучения, соответствующая переходам между уровнями  $E_2$  --  $E_1$ , около 700 нм. Это красный свет. Переходы между уровнями полосы  $E_3$  и уровнем  $E_1$  лежат в зеленом интервале спектра, а переход  $E_4$  --  $E_1$  - в голубом.



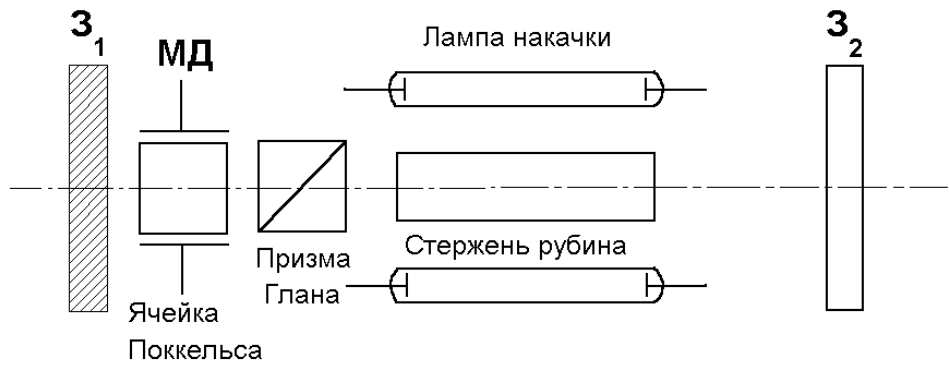
**Рис. 15. Энергетический спектр примесных атомов хрома в рубине**

$E_{2a}$  и  $E_{2b}$ . На уровнях  $E_2$  атом "живет" около 1 мс, что по атомным понятиям является очень большим временем. Такое большое время жизни позволяет накапливать атомы на уровнях  $E_2$ . И если достаточно быстро и эффективно осуществлять накачку с уровня  $E_1$  на уровни  $E_3$  и  $E_4$ , то на уровнях  $E_2$  окажется более половины всех атомов хрома. то есть реализуется инверсия между уровнями  $E_2$  и  $E_1$ .

Накачку осуществляют внешней лампой, которую так и называют - лампа накачки, которая работает в импульсном режиме с длительностью около 1 мс. В соответствии с этим рубиновый лазер излучает импульс когерентного света, длительностью несколько меньшей 1 мс, так как нужно некоторое время для создания инверсной населенности и преодоления порога, вызванного потерями в резонаторе. Генерация будет длиться до тех пор, пока интенсивность света лампы-вспышки не станет меньше пороговой величины. На самом деле лазерный импульс имеет сложную структуру, состоящую из множества отдельных импульсов генерации длительностью 1 мкс каждый, следующих с интервалом 1 - 10 мкс. Скорость повторения вспышек лампы-накачки определяется временем, необходимым для охлаждения лазерного рубинового стержня, и составляет обычно несколько импульсов в секунду. Типичные импульсные мощности рубинового лазера в этом режиме составляют десятки кВт со стержня длиной 20-25 см и диаметром 1,5 см. Основным рабочим переходом является переход с длиной волны 694,3 нм.

В качестве резонатора использован самый распространенный ныне резонатор Фабри-Перо с двумя плоскопараллельными зеркалами (другое название - "резонатор открытого типа"). На рис. 16 приведена типичная схема твердотельного лазера.

Если атом хрома возбудить, переведя его из основного состояния в полосу  $E_3$  или  $E_4$ , то за очень короткое время ( $10^8$  с) он перейдет из этих полос на один из уровней  $E_2$ . При переходе на уровень  $E_2$  атом хрома не излучает. Его энергия тратится на возбуждение колебаний кристаллической решетки рубина. Возможность возвращения атома из полос  $E_3$  и  $E_4$  снова на уровень  $E_1$  хотя и существует, но вероятность этого перехода очень мала по сравнению с вероятностью переходов на уровни



**Рис. 16. Блок-схема рубинового лазера**

На этом рисунке *МД* - модулятор добротности резонатора, позволяющий получать короткие импульсы с высокой импульсной мощностью. В настоящее время такие режимы наиболее широко используются. В состав модулятора добротности входит ячейка Поккельса (оптический затвор), которая оптически закрыта до определенных плотностей потока световой энергии, а при превышении порога - открывается. При снижении интенсивности ниже порога - она вновь оптически непрозрачна. Вторым элементом модулятора добротности является призма Глана (поляризатор), выделяющая одну из компонент. При отсутствии *МД* - реализуется обычный режим моноимпульсной генерации. Существуют еще режимы с синхронизацией мод (в том числе с самосинхронизацией), режим усиления и т.д.

Рубиновый лазер в настоящее время используется не так активно, как ранее. Его заменили с большей эффективностью другие твердотельные и полупроводниковые лазеры. Вместе с тем в задачах оптики атмосферы, в том числе и нашем Институте оптики атмосферы, этот лазер до сих пор используется для зондирования паров воды. В медицине этот лазер широко применяется в офтальмологии, в частности, с его помощью приваривают сетчатку глаза. Несколько таких установок работают в клиниках г.Томска.

Вторым типом твердотельных лазеров был лазер на основе неодимового стекла с длиной волны излучения 1,06 мкм, созданный в 1961 г. Снитцером [28]. Здесь в обычное стекло введены атомы неодима. И если рубиновый лазер излучает красный свет (0,69 мкм), то неодимовое стекло дает ИК- излучение с длиной волны 1,06 мкм. Неодимовое стекло обладает рядом преимуществ перед рубином - изготовить однородный стержень из неодимового стекла проще, чем из рубина. Его можно сделать существенно больших размеров как по длине, так и по сечению. Известны стержни с длиной до метра и толщиной до 5 см. Большая у него по сравнению с рубином и оптическая прозрачность, что важно для оптической накачки. Но в то же время прочность рубина существенно больше. Принцип работы лазера на стекле с неодимом тот же, что и рубинового лазера. Работать

лазер может как в импульсном, так и непрерывном режимах. Мощность излучения в непрерывном режиме достигает сотен Вт, а энергия в импульсе тысяч джоулей.

Этот лазер относят к классу, так называемых технологических лазеров. Он широко используется в лазерной сварке и резке различных материалов, для оптической накачки других активных сред. Наряду с газовым  $\text{CO}_2$  лазером, неодимовый лазер используется в "силовой" медицине как основа лазерного скальпеля.

### 2.3.8. Полупроводниковые лазеры

К полупроводниковым лазерам относятся лазеры, в которых используются оптические переходы с участием свободных носителей тока в кристаллах (рис. 17). Первые полупроводниковые (п/п) лазеры были созданы в 1962 г. почти одновременно несколькими группами исследователей (в том числе русским учеными) на основе р-п - перехода арсенида галлия ( $\text{Ga-As}$ ). Впоследствии были использованы и другие полупроводниковые материалы ( $\text{GaSb}$ ,  $\text{InSb}$ ,  $\text{InAs}$ ,  $\text{PbS}$ ,  $\text{PbSe}$ ,  $\text{PbTe}$ ).

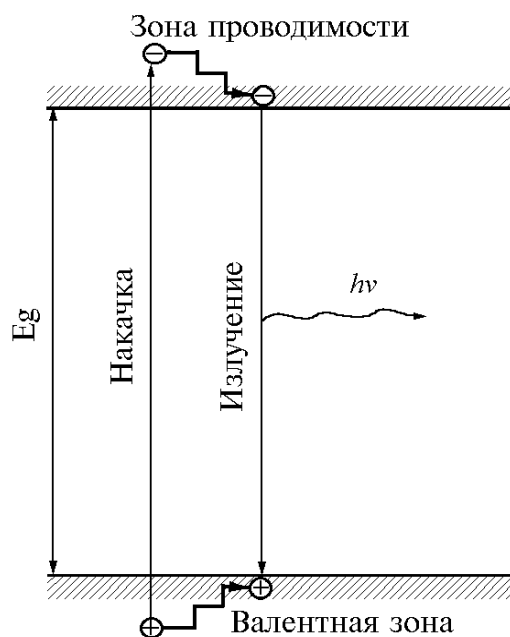
По способу накачки полупроводниковые лазеры делятся на следующие виды:

- инжекционные;
- с оптической накачкой;
- с электронной накачкой.

Первыми лазерами были лазеры инжекционного типа. Их так называют, поскольку методом возбуждения является инжекция носителей тока через р-п- переход. Этот способ накачки является и сегодня основным для полупроводниковых лазеров.

Обычно в п/п лазерах используют плоскопараллельные резонаторы, образованные параллельными гранями самого кристалла - тот же резонатор Фабри-Перо. Типичные вещества, используемые в полупроводниковых лазерах -  $\text{GaAs}$ ,  $\text{InP}$ ,  $\text{GaSb}$ ,  $\text{InAs}$ ,  $\text{PbS}$ ,  $\text{PbSe}$ ,  $\text{PbTe}$ .

Главное отличие светоизлучающих диодов от п/п лазеров состоит в том, что они используют спонтанное излучение, а не вынужденное. Соот-



**Рис. 17. Энергетические диаграммы междузонных оптических переходов**

ветственно, для вывода излучения не требуется установка резонатора, а спектральная полоса излучения у них несколько выше, чем у п/п лазеров.

#### 2.3.8.1. Элементарные сведения о физике п/п лазеров. Отличительные особенности полупроводниковых лазеров

Говоря выше о газовых лазерах, мы имели дело с переходами со строго дискретных на другие дискретные состояния атомов (молекул), то есть имели дело с квантовыми явлениями в связанных состояниях. Время жизни атома (молекулы) в связанном состоянии определяется временем спонтанного распада, соответственно, линии излучения получаются предельно узкие. В условиях внешних воздействий электрон в атоме оказывается менее связанным, время жизни атома в возбужденном состоянии уже в меньшей степени определяется временем радиационного распада. Происходит уширение линий излучения и усиления. Эти явления имеют место в твердотельных лазерах, лазерах на красителях, молекулярных лазерах высокого давления (несколько атмосфер). И тем не менее, можно говорить, что в целом мы имели дело с лазерами, активные центры которых характеризуются наличием относительно узких дискретных уровней энергии.

Однако получение инверсии возможно и в тех случаях, когда в энергетическом спектре активных центров имеются широкие энергетические зоны разрешенных состояний, отделенные друг от друга запрещенными зонами. Примерами таких активных сред являются полупроводниковые кристаллы. Энергетические зоны в данных кристаллах возникают вследствие расщепления уровней энергии валентных электронов атомов, составляющих кристаллическую решетку кристаллов, в поле собственных атомов. Говоря образно, в сильном периодическом поле валентные электроны "теряют родственную связь" с конкретными атомами, происходит обобществление валентных электронов в кристалле. Коллективные движения обобществленных электронов в разрешенных энергетических зонах полупроводникового кристалла обеспечивают электропроводность кристаллов.

В идеальном полупроводниковом кристалле при температуре абсолютного нуля все электроны находятся в валентной зоне (она полностью занята электронами). Зона же проводимости полностью свободна от электронов. В этом случае полупроводник не способен проводить электрический ток и является изолятором. В реальности, при ненулевой температуре часть электронов за счет теплового движения переходит из валентной зоны в зону проводимости. В результате в валентной зоне образуется вакансия - "дырка", эквивалентная частице с положительным зарядом. Если те-

перь к полупроводнику приложить напряжение, то через него потечет ток. Таким образом, носителями тока в полупроводниках являются электроны - в зоне проводимости и дырки - в валентной зоне. Следует отметить, что в идеальном полупроводниковом кристалле число электронов в зоне проводимости всегда уравновешено таким же числом "дырок" в валентной зоне.

В полупроводнике, у которого часть атомов исходного вещества заменена атомами других - "примесных" элементов, заметную роль начинают играть примесные атомы, хотя их и существенно меньше, чем атомов исходного вещества. Здесь, кроме валентной зоны и зоны проводимости, появляются дополнительные энергетические уровни, лежащие в пределах запрещенной зоны. Примеси и соответствующие им уровни энергии делят на донорные и акцепторные. Доноры - это примеси, энергетические уровни которых располагаются близко к зоне проводимости. Поэтому доноры легко отдают свои электроны в зону проводимости. Акцепторы - примеси, энергетические уровни которых располагаются вблизи валентной зоны. Они легко захватывают электроны из валентной зоны, оставляя там дырки. Тем самым в примесных полупроводниках проводимость определяется, в основном, примесями. Если примесь донорного типа, то основными носителями тока будут электроны в зоне проводимости, и такие полупроводники принято называть полупроводниками n-типа. В полупроводниках с акцепторной примесью основными носителями тока будут дырки. Такие полупроводники относят к p-типу. Предположим теперь, что внешним воздействием (накачкой) созданы избыточные, по отношению к равновесным значениям, концентрации электронов в зоне проводимости и дырок - в валентной зоне. Возвращение системы к равновесию происходит через рекомбинацию избыточных электронов и дырок, что может протекать излучательным путем на переходе зона - зона. Вероятность таких переходов довольно велика. Вообще говоря, энергия, освобождающаяся при рекомбинации, может пойти на нагрев кристаллической решетки, увеличение кинетической энергии свободных носителей и образование фотона (этот канал излучательной рекомбинации нас и интересует). Излучательная рекомбинация имеет место как в чистых полупроводниках, так и имеющих примеси. Причем во втором случае рекомбинация может протекать через донорные и акцепторные уровни.

#### 2.3.8.2. Условие существования отрицательной температуры (инверсии) в полупроводниках

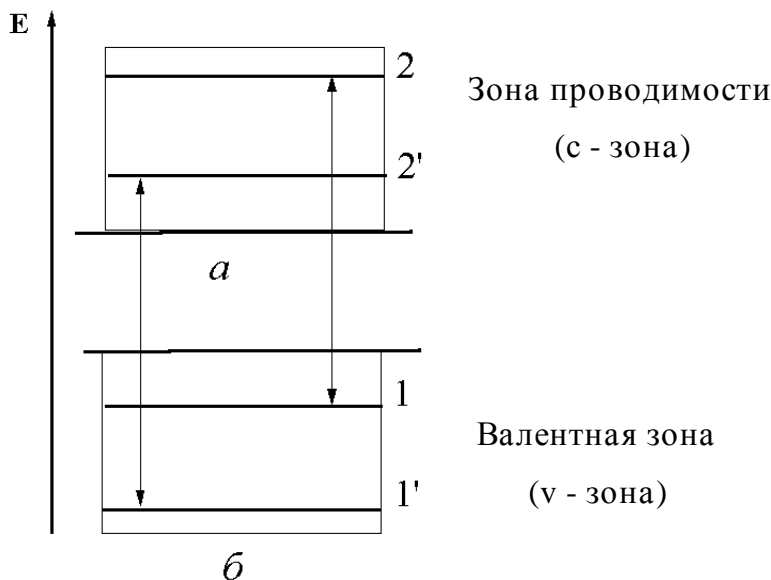
Рассматривая активные среды на атомных переходах, мы говорили, для того, чтобы среда обладала усилительными свойствами, необходимо

реализовать инверсию заселенностей уровней (отрицательную температуру распределения атомов по возбужденным состояниям). Отличительной чертой полупроводниковых сред является то, что в процессе взаимодействия с электромагнитным излучением могут принимать участие не только два дискретных уровня энергии (как в газовых лазерах, например), но и целый спектр энергетических уровней.

Обратимся к рис. 18 и рассмотрим процесс усиления электромагнитного излучения частоты  $\nu$  (фотонов с энергией  $h\nu$ ) при межзонных переходах [20]. На рисунке показаны два энергетических состояния: одно из них в валентной зоне (1) и другое (2) - в зоне проводимости. Расстояние между ними по частоте -  $\nu$  ( $h\nu$  - по энергии). Введем функцию распределения электронов по энергиям -  $f(i)$ , которая изменяется от 0 до 1, соответственно, число фотонов с энергией  $h\nu$  в полупроводнике обозначим через  $N_{f\nu}$ . Тогда для изменения числа фотонов  $N_{f\nu}$ , за счет взаимодействия только с состояниями 1 и 2, можно записать следующее выражение:

$$dN_{f\nu}/dt = w_{21} * N_{c(2)} * N_{v(1)} * f_{c(2)} * [1 - f_{v(1)}] * N_{f\nu} - w_{12} * N_{v(1)} * N_{c(2)} * f_{v(1)} * [1 - f_{c(2)}] * N_{f\nu}, \quad (2.25)$$

где цифра в круглой скобке показывает состояние, для которого берется значение функции распределения;  $N_{c(2)}$  и  $N_{v(1)}$  - плотности состояний 2



**Рис. 18. К условию существования инверсии ( отрицательной температуры ) в полупроводнике**



и 1, а индексы  $c$  и  $v$  обозначают, что эти величины относятся либо к зоне проводимости -  $c$  (conductivity), или к валентной зоне -  $v$ .

Проанализируем записанное выражение. Слева у нас записана скорость изменения числа фотонов (во времени). Эта скорость определяется скоростью поступления фотонов в результате индуцированного излучения (первый член правой части выражения) и скоростью поглощения фотонов в полупроводнике (второй член). Очевидно, что скорость изменения числа фотонов за счет индуцированного излучения для перехода  $2 - 1$ , пропорциональна вероятности заселения состояния 2 в зоне проводимости электроном из распределения  $fc(2)$ , вероятности отсутствия электрона в состоянии 1 в валентной зоне  $[1 - fv(1)]$ , плотностям (заселенности) состояний 2 и 1, т.е.  $Nc(2)$  и  $Nv(1)$  и числу фотонов на частоте  $\nu$  -  $Nf\nu$ . С другой стороны, скорость изменения числа фотонов за счет поглощения (переход  $1 - 2$ ) пропорциональна вероятности нахождения электрона в состоянии 1 в валентной зоне  $fv(1)$ , вероятности отсутствия электрона в состоянии 2 в зоне проводимости  $[1 - fc(2)]$ , плотностям состояний 1 и 2, т.е.  $Nv(1)$  и  $Nc(2)$  и числу фотонов  $Nf\nu$ , т.е. пропорциональна произведению

$$Nf\nu * Nv(1) * Nc(2) * fv(1) * [1 - fc(2)] . \quad (2.26)$$

В уравнении (2.25) каждый из членов правой части имеет также множитель пропорциональности  $w_{21}$ , который одинаков для обоих членов (некая константа для данного перехода, определяемая матричным элементом перехода). Условием усиления будет требование

$$dNf\nu/dt > 0 \quad (2.27)$$

или

$$w_{21} * Nf\nu * Nc(2) * Nv(1) * \{fc(2) * [1 - fv(1)] - fv(1) * [1 - fc(2)]\} > 0. \quad (2.28)$$

Следовательно,

$$Nc(2) * Nv(1) * [fc(2) - fv(1)] > 0 \quad (2.29)$$

или

$$fc(2) - fv(1) > 0. \quad (2.30)$$

На рис. 18 показан и другой переход ( $2' - 1'$ ), для которого расстояние по частоте (энергии) между уровнями 2 и 1 тоже равно  $\nu$  ( $h\nu$ ). Усиление на этом переходе запишется аналогичным выражением. Реально же в

процессе взаимодействия с электромагнитным излучением частоты  $\nu$  принимает участие большое число состояний в валентной зоне и зоне проводимости. И следовательно, в правой части исходного уравнения (2.25) необходимо проводить суммирование по всем этим состояниям  $(i, j)$ :

$$w_{21} * N_{fv} \sum_{j, i} N_c(i) * N_v(j) * [f_c(i) - f_v(j)] d. \quad (2.31)$$

Очевидно, что для случая усиления выражение (2.31) будет  $> 0$ :

$$N_c(i) * N_v(j) * [f_c(i) - f_v(j)] > 0. \quad (2.32)$$

Выражение, стоящее под знаком суммы - есть (с точностью до константы) коэффициент усиления полупроводника. Из физики полупроводников известно, что функция распределения электронов -  $f(i)$  по собственным состояниям при тепловом равновесии определяется распределением Ферми-Дирака:

$$f(w) = [\exp (E - E_f) / kT + 1]^{-1}, \quad (2.33)$$

где  $E$  - энергия собственного состояния;  $E_f$  - уровень Ферми;  $k$  - постоянная Больцмана;  $T$  - абсолютная температура.

Используя выражение (2.33) и учитывая, что  $E_2 > E_1$ , переписываем (2.30) в виде:

$$f_c - f_v = \frac{1}{1 + \exp \frac{E_2 - E_f}{kT}} - \frac{1}{1 + \exp \frac{E_1 - E_2}{kT} \exp \frac{E_2 - E_f}{kT}} > 0. \quad (2.34)$$

Для выполнения условия усиления необходимо, чтобы второй член в скобке был меньше первого. Следовательно,  $\exp (E_1 - E_2) / kT > 1$ . А так как  $E_2 > E_1$ , и  $E_1 - E_2 < 0$ , то  $T < 0$ . Таким образом, создание отрицательной температуры для всей совокупности состояний приводит к выполнению условия усиления электромагнитной волны на частоте  $\nu$ .

Обратимся к полупроводнику, в котором создано неравновесное распределение носителей. Из-за сильного взаимодействия с решеткой распределения электронов и дырок, взятые отдельно, быстро приходят в состояние теплового равновесия с кристаллической решеткой, но равновесие же между электронами и дырками нарушено. В этом случае распределение

носителей по энергиям, как и при равновесном распределении, можно описывать также распределением Ферми-Дирака. Но здесь вместо уровня Ферми  $E_f$  необходимо ввести два разных квазиуровня:  $E_{fe}$  - для электронов и  $E_{fp}$  - для дырок. Тогда функции распределения электронов в зоне проводимости  $f_c$  и в валентной зоне -  $f_v$  будут иметь вид

$$f_c = \frac{1}{1 + \exp \frac{E_c - E_{fe}}{kT}}, \quad f_v = \frac{1}{1 + \exp \frac{E_v - E_{fp}}{kT}}, \quad (2.35)$$

а условие существования отрицательной температуры (2.30) будет выполняться, если

$$\frac{E_c - E_{fe}}{kT} < \frac{E_v - E_{fp}}{kT} \quad (2.36)$$

или

$$E_{fe} - E_{fp} > E_c - E_v. \quad (2.37)$$

Энергия излучаемых фотонов -  $h\nu$  равна расстоянию между рассматриваемыми состояниями в зонах, т.е.

$$h\nu = E_c - E_v. \quad (2.38)$$

Поэтому условием существования отрицательной температуры (инверсии) в полупроводнике при межзонных переходах является

$$E_{fe} - E_{fp} > h\nu. \quad (2.39)$$

Так как при межзонных переходах минимальная энергия излучаемого фотона равна ширине запрещенной зоны ( $E_g$ ), то иногда это условие записывают в виде

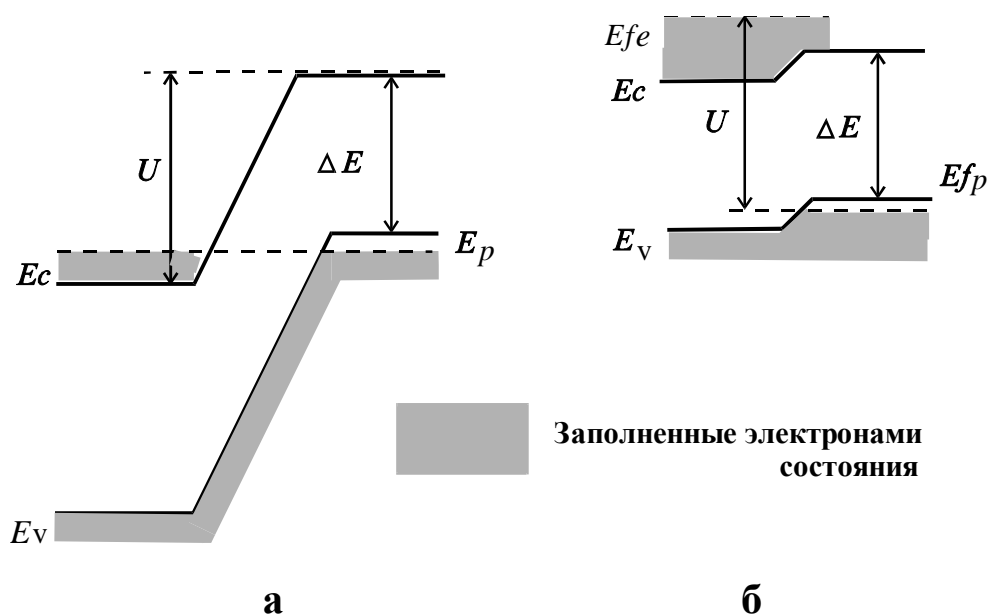
$$E_{fc} - E_{fp} > E_g. \quad (2.40)$$

Это условие определяет минимальное расстояние между квазиуровнями Ферми, при котором в полупроводнике может возникнуть отрицательная температура (инверсия населенностей состояний). Если электронный квазиуровень Ферми лежит в зоне проводимости, а дырочный - в валентной зоне, то расстояние между ними больше ширины запрещенной зоны, и в полупроводнике возникает отрицательная температура. Такое расположение квазиуровней Ферми реализуется при инжекции носителей тока через вырожденный p - n переход.



### 2.3.8.3. Инжекция носителей тока через р-п - переход

Наиболее распространенными из полупроводниковых лазеров на сегодня являются инжекционные лазеры, когда инжекция неравновесных носителей тока происходит через р-п-переход. Пусть в полупроводнике концентрации доноров и акцепторов меняются так, что в какой-то области образца тип проводимости изменяется с электронной на дырочную. По одну сторону от этой области полупроводник будет n-типа, а по другую - р-типа. Переходная область носит название р-п-перехода. Концентрации электронов и дырок по обе стороны перехода различны; как только образуется р-п-переход, то через него начинается диффузия электронов из n-области в р-область и дырок из р-области в n-область. Поэтому р-область вблизи границы перехода получает отрицательный объемный заряд, а n-область - положительный. Заряды создают электрическое поле, которое препятствует диффузии носителей тока через р-п-переход, а затем и приостанавливает ее вообще. Объемные заряды приводят также к смещению электронных уровней. Результирующая энергетическая диаграмма вырожденного р-п-перехода показана на рис. 19 как в отсутствии внешнего поля (а), так и в его присутствии (б). Слева в n-области заштрихованы энергетические состояния, занятые электронами. Потенциальный барьер не дает электронам проникать в р- область.



**Рис. 19. Энергетическая диаграмма вырожденного р-п перехода:**

- а) внешнее напряжение ( $U$ ) отсутствует,
- б) внешнее напряжение приложено в прямом направлении

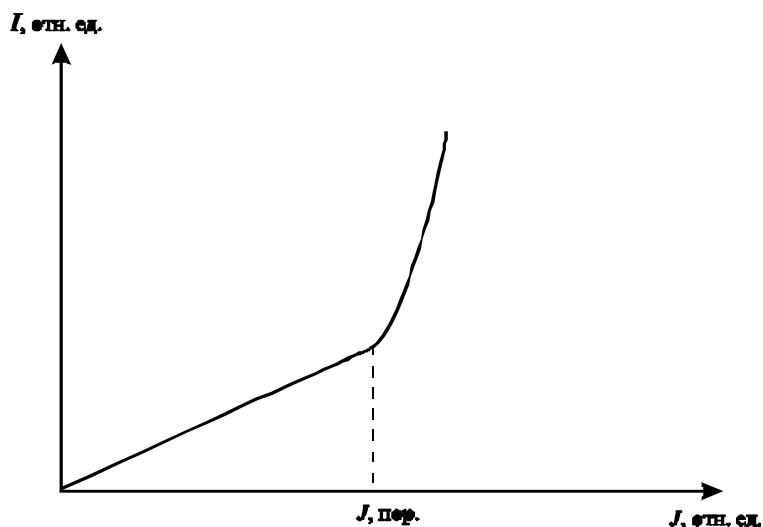
Если к образцу прикладывается внешнее напряжение в прямом направлении, т.е. напряжение, создающее поле, противоположное направлению контактного поля, то потенциальный барьер уменьшается. При доста-

точно большой величине приложенного внешнего напряжения энергетическая диаграмма вырожденного р-п-перехода принимает вид, показанный на рис. 19,б.

Теперь электронный квазиуровень Ферми в n-области лежит выше дна зоны проводимости в р-области. Поэтому электроны из n-области могут переходить в зону проводимости р-области, то есть происходит инжекция электронов в р-область. Затем инжектированные электроны рекомбинируют с дырками в валентной зоне, излучая фотоны с энергией, равной ширине запрещенной зоны. Естественно, может происходить и переход дырок из р-области через р-п-переход в n-область. Тогда рекомбинация происходит в n-области р-п-перехода.

Если прикладываемое напряжение невелико и, следовательно, токи малы (мало инжектируется носителей тока через р-п-переход), то и число рождаемых в рекомбинации фотонов будет мало. На выходе из полупроводника мы будем наблюдать линию люминесценции (со спектральной шириной порядка  $kT$ ). Это типичное спонтанное излучение со слабой направленностью. Этот случай реализуется в полу-

проводниковых светоизлучающих диодах (СИДах). С увеличением плотности тока инжекции (рис. 20) интенсивность свечения плавно нарастает, вплоть до некоторого порогового значения  $j_{пор.}$ . Затем же следует резкое возрастание интенсивности и направленности излучения, а спектральная ширина линии резко уменьшается. Мы наблюдаем возникновение генерации излучения лазерным диодом.

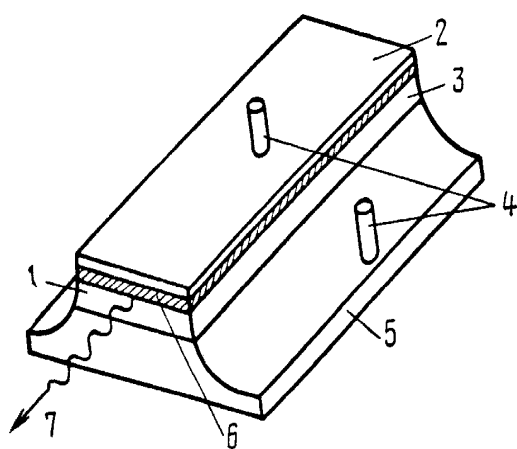


**Рис. 20. Интенсивность излучения как функция плотности тока инжекции через р-п переход диода**

#### 2.3.8.4. Инжекционный лазер на основе арсенида галлия

Арсенид галлия (GaAs) явился первым полупроводниковым материалом, на котором был запущен п/п лазер, с длиной волны порядка 0,84 мкм. Сейчас эти лазеры, или как их еще называют лазерные диоды, также широко распространены [1].

Арсенид галлия - серый хрупкий кристалл, с температурой плавления 1510 К. Показатель преломления 3,6. В GaAs p-n-переход может создаваться несколькими способами. Обычно плавные p-n-переходы создают путем диффузии акцепторных примесей (Zn, Cd и т.д.) в материал, легированный донорными примесями (Te, Se и др.). Как лазерный материал GaAs характеризуется большой вероятностью излучательной рекомбинации, что и позволило реализовать на нем первый п/п лазер. Отличительной чертой п/п лазеров вообще (и GaAs, в частности) является высокий коэффициент усиления излучения. Именно поэтому удается реализовать требуемые условия для генерации излучения при очень малых размерах активной среды (от долей до единиц мм). На рис. 21 схематически изображен GaAs-лазерный диод.



**Рис. 21. Схематическое изображение Ga-As лазера:**

1. Полированная торцевая поверхность;
2. p - область;
3. n - область;
4. Электроды;
5. Полированная пластина, покрытая слоем золота;
6. Область p-n перехода;
7. Выходящее излучение.

Две боковые грани (торцы), перпендикулярные к плоскости p-n-перехода, тщательно полируются и служат зеркалами резонатора лазера. Как правило, без дополнительного покрытия коэффициент отражения составляет 35% от падающего на грань излучения. Две другие грани кристалла, перпендикулярные к плоскости p-n-перехода, сознательно делаются с некоторым углом, чтобы генерация в этом направлении не возникала. Представленная геометрия лазерного диода не единственная, есть и другие, в частности цилиндрическая.

Рассмотрим характеристики излучения GaAs-лазерного диода. На рис. 22 показано спектральное распределение излучения диода. Типичные размеры активной области лазера составляют 1 мкм. Эффективная же ширина излучающей области существенно больше (около 10 мкм). Таким образом, для лазера с линейными размерами  $0,3 \times 0,3 \text{ мм}^2$  при толщине активной области  $10^{-4} \text{ см}$  объем активного вещества составит  $10^{-7} \text{ см}^3$ , что во много раз меньше объема лазера в целом. Расходимость излучения лазера несколько выше дифракционного предела, который составляет  $\lambda/R$ , где  $\lambda$  -

длина волны излучения, а  $R$  - характерный размер излучающей области. Стандартное значение расходимости составляет в плоскости р-п-перехода 3 градуса.

Выведем зависимость плотности порогового тока от параметров лазера. Пороговый коэффициент усиления лазера (т.е. такой, при котором достигается режим генерации) составляет

$$G_{пор.} = G_n + \ln r/L, \quad (2.41)$$

где  $G_n$  - коэффициент потерь в активной среде,  $r$  - коэффициенты отражения зеркал (они равны для обеих граней),  $L$  - длина резонатора (расстояние между торцевыми гранями кристалла).

Будем считать, что генерация в лазере определяется инжекцией электронов в р-область. Тогда коэффициент усиления должен быть пропорционален плотности инжектируемых электронов, т.е. плотности инжекционного тока. Следовательно,

$$G_{пор.} = \beta \times j_{пор.}, \quad (2.42)$$

где  $\beta$  - некая константа, тогда

$$j_{пор.} = 1/\beta * [G_n + \ln r/L]. \quad (2.43)$$

Типичные значения входящих в это уравнение параметров следующие:  $G_{пор.} = 10-20 \text{ см}^{-1}$ ,  $\beta = 1.4-2.5 * 10^{-2} \text{ см/А}$ , для температуры кристалла 77К и сильно зависит от температуры. На рис. 23 приведены зависимости пороговой плотности тока и величины  $1/\beta$  от температуры.

Видно, что в области температур порядка 100К начинается резкое возрастание порогового тока и величины  $1/\beta$ . Плотности токов достигают значений  $10^5 \text{ А/см}^2$ . Поэтому при комнатных температурах лазер может работать без перегрева активной среды лишь в импульсном режиме.

В новых лазерных структурах, использующих так называемые гетероструктуры, пороговые токи удается резко уменьшить, что допускает их работу в непрерывном режиме, даже при комнатной температуре (300К).

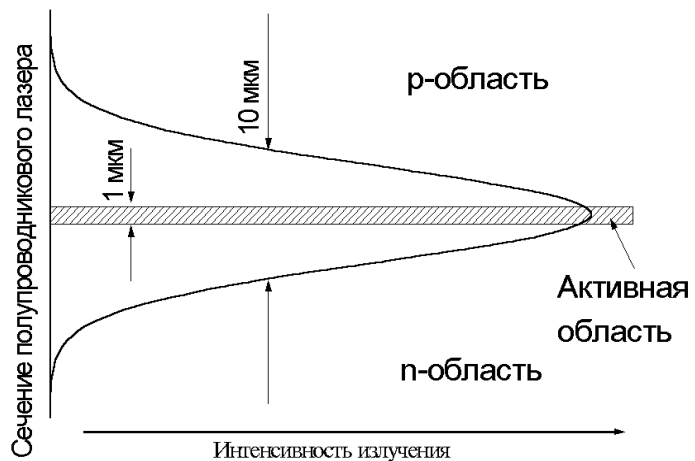


Рис. 22. Распределение фотонов по энергиям в излучении инжекционного Ga-As лазера



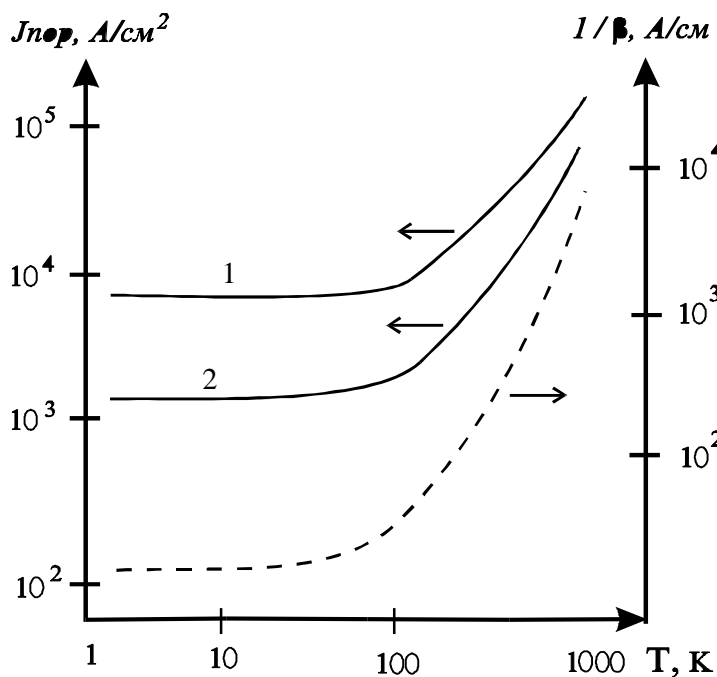


Рис. 23. Зависимость пороговой плотности тока и величины  $1/\beta$  от температуры для GaAs лазера (р-п переход создан диффузией цинка  $N_d=5 \cdot 10^{18} \text{ см}^{-3}$ ) для лазерных диодов различной длины:

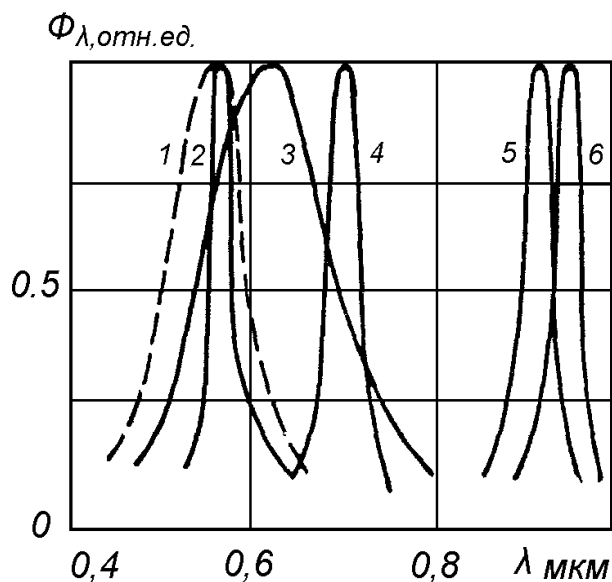
1 - 0,008 см,  
2 - 0,02см

#### 2.4. Светоизлучающие диоды (СИДы)

Созданию полупроводниковых лазеров предшествовало появление светоизлучающих диодов. В 1923 г. русский ученый Лосев О.В. обнаружил, что при прохождении тока через кристаллы карборунда наблюдается зеленоватое свечение. Позднее это явление было связано с излучательной рекомбинацией в р-п-переходах при инжекции носителей тока через р-п-переход. При приложении к р-п-переходу напряжения в прямом направлении инжектируемые носители (электроны и дырки), попадая в область перехода, где они не являются основными, рекомбинируют с основными носителями. Межзонные переходы, как правило, сопровождаются испусканием квантов света с энергией, близкой к ширине запрещенной зоны (см.2.3.8). На основе этого явления и было создано семейство приборов - светоизлучающих диодов (СИДов). Возвращаясь к рис. 17, можем говорить, что СИДы работают в той области токов инжекции, когда не достигнут порог генерации вынужденного излучения и мы имеем дело с чисто спонтанным излучением.

Таким образом, светоизлучающим диодом мы будем называть полупроводниковый диод, предназначенный для преобразования электрической энергии в энергию некогерентного светового излучения. Энергия кванта, испущенного при акте излучательной рекомбинации, как известно, близка к ширине запрещенной зоны  $h\nu = E_g$ , или длина волны  $\lambda = hc/E$ , где  $c$  - скорость света.

Видимый диапазон спектра составляет от 0,4 до 0,7 мкм, что соответствует  $E_g > 1,8$  эВ. Этому условию удовлетворяют следующие полупроводниковые материалы: фосфид галлия (GaP), карбид кремния (SiC), твердые растворы - галлий-мышьяк-фосфор (GaAsP), галлий-мышьяк-алюминий (GaAsAl), а также нитрид галлия (GaN), который имеет наибольшую ширину запрещенной зоны ( $E_g = 3.4$  эВ). А это уже фиолетовая область спектра - около 0,37 мкм. Путем добавления в полупроводниковый материал атомов веществ-активаторов можно изменять в некоторых пределах цвет излучения диодов. Так на основе фосфида галлия, легированного малым количеством цинка, кислорода или азота, получают приборы зеленого, желтого и красного диапазона спектра излучения. Возможно создание приборов с управляемой цветностью свечения, от зеленого до красного. На рис. 24 приведены спектры излучения некоторых светодиодов.



**Рис. 24. Спектры излучения светодиодов:**

- 1 - Кривая видности.
- 2 - Ga P (зеленое свечение).
- 3 - Свечение в  $\alpha$ SiC, легированного бором и азотом.
- 4 - GaP, легированный цинком, теллуром и кислородом (красное свечение).
- 5 - Свечение в GaAs, легированном цинком и теллуром.
- 6 - Свечение в GaAs, легированном кремнием и теллуром.

Наиболее широкое использование получили СИДы ближнего ИК-диапазона спектра, основу которых составляют соединения на основе GaAs. Обычно СИДы делят на два класса приборов: СИДы для индикации (индикаторные) с выходной мощностью - десятые доли - единицы мВт. Второй класс составляют СИДы для использования их излучения в различных применениях (в частности в медицине, оптических линиях связи и т.д.). Это СИДы большой мощности излучения (десятки мВт и выше).

Коэффициент полезного действия СИДов довольно высок и достигает единиц процентов, а определяется он соотношением между излучательными переходами и безызлучательными, поскольку акты рекомбинации электронов и дырок далеко не всегда связаны только с излучением, но и могут приводить к выделению энергии в виде элементарных квантов тепловых колебаний кристаллической решетки (фононов).

Часть СИДов работает на двойном преобразовании энергии: электрической - в ИК, с последующим преобразованием его в видимое излучение. Первое преобразование, как правило, осуществляется с помощью GaAs-структуры, а следующий этап преобразования осуществляется с помощью антистоксова люминофора (т.е. такого, который смещает длину волны излучения в область более коротких волн), покрывающего излучающую поверхность диода. Достоинством таких приборов является высокая стабильность цветности при изменении тока инжекции. Недостатки - низкий КПД и малый срок службы, что связано со старением и высвечиванием люминофора.

Номенклатура выпускаемых СИДов непрерывно возрастает. В табл. 2 представлены некоторые из выпускаемых светодиодов, часть из них производит НПП НИИПП г.Томска.

Таблица 2

Краткий перечень промышленно выпускаемых СИДов

Марка	Полупр. материал	Назначение (либосила света)	Диап. спектра	Выходная мощность, мВт
АЛ102	фосфид галлия	индикаторн.	красный (зеленый)	(0.04-4.0)
ЗЛ341	фосфид галлия	индикаторн.	кр.(зел.,желт.)	(0.15-0.50)
ЗЛ130	галлий-кремний-мышьяк	мощный	ИК (0.95 мкм)	до 350
АЛ107	арсенид галлия	ср. мощности	ИК (0.95 мкм)	до 10
АЛС367	галлий-фосфор-мышьяк	индикаторн.	красный	до 70/один эл.) (200 элементов)

Основными параметрами промышленных СИДов являются:

*сила света* - излучаемый диодом световой поток, приходящийся на единицу телесного угла в направлении, перпендикулярном плоскости излучающего кристалла. Указывается для заданного значения прямого тока инжекции и измеряется в канделлах (кд);

*яркость* - величина, равная отношению силы света к площади светящейся поверхности. Измеряется в канделлах на квадратный метр (кд/м<sup>2</sup>) при заданном значении тока через диод;

*постоянное прямое напряжение* - значение напряжения на светодиоде при протекании постоянного прямого тока (В);

*максимально допустимый постоянный прямой ток* - максимальное значение прямого тока, при котором обеспечивается заданный ресурс диода (А);

*максимально допустимое обратное постоянное напряжение* - т.е. такое, при котором обеспечивается заданный ресурс (В);

*максимально допустимое обратное импульсное напряжение* - т.е. максимальное пиковое значение обратного напряжения на светодиоде, включая как однократные, так и периодически повторяющиеся выбросы (В);

*спектральная характеристика и максимум спектрального распределения (нм, мкм);*

Характеристикой СИДа является также зависимость яркости (либо силы света) от величины прямого тока.

Излучение диода характеризуется и диаграммой направленности, которая определяется конструкцией СИДа, наличием линзы, оптическими свойствами защитного слоя, нанесенного на полупроводник.

Светодиоды, как правило, обладают хорошим быстродействием ( $10^8$  с). Однако в устройствах отображения информации (индикации) этот параметр не столь важен, и он не приводится в паспортных данных, что, впрочем, жаль, ведь эти СИДы можно использовать и в других целях.

Конструктивно выпускаемые промышленностью СИДы подразделяются на приборы:

- а) в металлических корпусах (часто со встроенной стеклянной линзой для получения направленного излучения);
- б) в пластмассовых корпусах из оптически прозрачного, зачастую цветного компаунда, создающего рассеянное излучение;
- в) бескорпусные приборы.

При старой системе обозначений (а эти приборы имеются и сейчас) индикаторные СИДы обозначались двумя буквами: первая указывала на исходный материал, вторая являлась признаком прибора-индикатора. В качестве примера, светодиод АЛ102 расшифровывается так: А - арсенид (или фосфид) галлия; Л - индикатор из единичного излучающего диода; 102 - порядковый номер разработки. Если индикатор состоит из матрицы светодиодов, то в обозначении добавляется еще одна буква.

По ОСТ 11.339.015-81, в связи с расширением ассортимента приборов, введена новая классификация (с помощью восьми элементов обозначения): первый элемент И - индикатор; второй - П - полупроводниковый; третий - Д - единичный СИД; четвертый - номер разработки (от 01 до 69 - приборы без схемы управления, от 70 до 99 - со схемой управления); пятый - обозначение группы, к которой относится прибор; шестой - цифра, указывающая число диодов в индикаторе (может опускаться); седьмой - буква, обозначающая цвет свечения (К - красный, Л - зеленый, Г - голубой, Ж - желтый, Р - оранжевый, С - синий, М - многоцветный; восьмой - цифра, обозначающая модификацию прибора (так 5 - это бескорпусной). Более подробную информацию о конкретных типах светоизлучающих диодов и их параметрах можно найти в соответствующих справочниках.

При построении оптоэлектронных приборов с СИДами следует иметь в виду, что:

их параметры сильно зависят от температуры окружающей среды (так их яркость практически линейно уменьшается с ростом Т);

СИДы имеют большой разброс параметров от образца к образцу.

## 2.5. Краткий перечень наиболее известных лазеров

В заключение раздела по лазерам приведем краткую сводку основных типов лазеров, используемых в медицинских приборах, оптоэлектронных устройствах, бытовой технике, других применениях (табл. 3).

Таблица 3

Основные типы лазеров, используемых в медицине

Название	Длина волны, мкм.	Режим работы	КПД, %	Мощность, Вт (средн.)	Ресурс, час.
1. Гелий-неоновый (He-Ne-лазер)	0,63; 1,15 3,39 и др.	непрерывный	< 0,1	< 0.2	>10000
2. Аргоновый (Ar <sup>+</sup> -лазер)	0,49; 0,51 и др.	непрерывный	< 0,1	> 500	300
3. Лазер на парах меди (Cu-лазер)	0,51; 0,58	импульсно-периодический (f=1-100 кГц)	> 1	> 500	1000
4. Гелий-кадмиевый (He-Cd-лазер)	0,44; 0,32	непрерывный	< 0,1	< 0.2	1000
5. CO <sub>2</sub> -лазер	10,6	непрерывный импульсный	> 30	>1000	500
6. Эксимерный XeCl-лазер	0,3	импульсный	> 1	> 100	300
7. Неодимовый Nd <sup>+</sup> -лазер	1,06	импульсный непрерывный	> 1	> 100	500
8. Полупроводниковые лазеры	0,6 - 40 (дискретно)	непрерывный импульсный	> 70	> 1	1000
9. Лазеры на красителях (Dye- лазеры)	0,3 - 0,8 (плавно)	непрерывный импульсный	> 10	> 100	300

### 3. ПРИМЕНЕНИЕ ЛАЗЕРОВ В МЕДИЦИНЕ

Применению лазеров в медицине посвящены более десятка монографий и большое количество оригинальных статей в периодической печати. Чтобы не утруждать читателя в этом пособии цитируются лишь наиболее известные и доступные из них [ 2-9 ]. В использовании лазеров в медицине отчетливо прослеживаются три направления.

**Лазерная хирургия**, использующая лазеры большой мощности. Иногда это направление называют "Силовой лазерной медициной".

**Лазерная терапия**, использующая лазеры как источники низкоинтенсивного излучения. Сюда же можно отнести и аппаратуру, создаваемую на основе светоизлучающих диодов большой мощности (СИДы с выходной мощностью десятки-сотни мВт). Термин терапия применяют к такому направлению, как "Фотодинамическая терапия", которая имеет дело с лазерами средней мощности (единицы Вт) и скорее больше примыкает к "силовой лазерной медицине".

**Лазерная диагностика**, использующая как лазеры малой мощности (в неразрушающих методах диагностики), так и мощные лазеры (как правило, импульсного действия) - в методах, предполагающих разрушение малой доли биообъекта, с целью установления элементного состава.

#### 3.1. Лазерная хирургия

Хирурги, а именно офтальмологи, первыми из медиков стали использовать лазеры как скальпели. Глаз кролика и стал первым объектом, на котором проводились первые эксперименты по хирургии сетчатки. При этом хрусталик играл роль объектива, фокусирующего излучение рубинового лазера в заданную область. Предварительная настройка оптической системы осуществляется с помощью маломощного He-Ne-лазера, установленного в одну общую оптическую ось с твердотельным лазером.

Таким способом сейчас осуществляются операции, в частности, по "приварке" отслоившейся сетчатки глаза человека. В дальнейшем, лазерные скальпели на базе твердотельных и мощных  $CO_2$ -лазеров прочно вошли в широкую хирургическую практику. Следует еще раз подчеркнуть основные специфические особенности лазерного скальпеля - абсолютная стерильность, высокое пространственное разрешение, что особенно важно в микрохирургии, коагуляция мелких кровеносных сосудов, что важно при операциях на кровенаполненных органах (например на печени). Следует также отметить, что механизмы лазерной хирургии на сегодня более понятны, чем лазерной терапии.

### 3.1.1. Физические процессы в лазерной хирургии

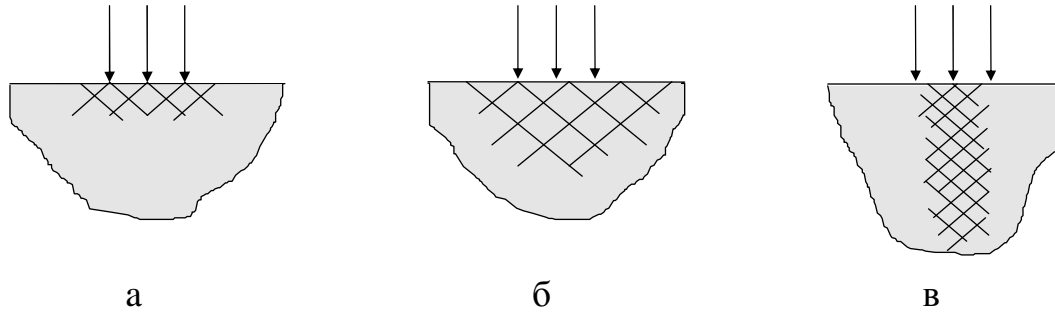
Применение лазеров в хирургии основано на разрушении, т.е. на иссечении, испарении и коагуляции биологических тканей лучом лазера. Основным механизмом действия лазерного излучения, как говорилось выше, является поглощение излучения. При этом основная доля энергии лазерного излучения преобразуется в тепло. Поскольку коэффициент поглощения зависит от длины волны падающего излучения необходимо подбирать длину волны в соответствии с биологическим объектом, поглощающим данное излучение. Так, если для проведения операций воспользоваться излучением лазеров видимого диапазона спектра, то необходимо иметь в виду, что данное излучение может проникать на большие глубины (в биоткани), что может приводить к повреждению нижележащих тканей и органов. Поэтому для рассечения биотканей обычно используют лазеры с длиной волны около 1 мкм (например, неодимовый лазер с длиной волны 1,06 мкм). В этом случае поглощение лазерного излучения водой и другими внутриклеточными субстанциями гарантирует строгую локализацию зоны разреза и безопасность тканей за пределами этой зоны.

Излучение неодимового лазера с длиной волны 1,06 мкм весьма удобно для пользователя, поскольку позволяет передавать излучение не только по жесткому оптико-механическому тракту, но и по кварцевым моноволокнам. Это позволяет просто манипулировать скальпелем. Вместе с тем, проникая в биоткань на глубину около 1 см, это излучение дает довольно широкую линию разреза и повышенную зону некроза вследствие рассеяния части излучения. Поэтому широкого применения в хирургии эти лазеры не нашли.

Более удобными для практики оказались лазеры среднего ИК-диапазона спектра (в частности  $CO_2$ -лазер, с длиной волны 10,6 мкм). Излучение среднего ИК-диапазона практически полностью преобразуется в тепло в достаточно тонком поверхностном слое биоткани.

В зависимости от оптических характеристик тканей (поглощения, рассеяния) возможны различные случаи распределения поглощенной энергии излучения в ткани [29]. При слабом проникновении излучения в ткань практически вся энергия пучка выделяется в слое толщиной десятки-сотни мкм (рис. 25, а). Если излучение проникает глубоко и сильно рассеивается внутри ткани, то размеры нагреваемого объема могут превысить диаметр пучка излучения (рис. 25, б). При малом же рассеянии и меньшем поглощении излучение может проникать довольно глубоко (рис. 25, в).

Для лазерной хирургии наиболее типичный случай (а). Случаи (б) и (в) более пригодны для световой (фотодинамической) терапии злокачественных опухолей.



**Рис. 25. Проникновение излучения в биоткань**

В настоящее время в хирургии наиболее широко используются  $CO_2$ -лазеры с длиной волны 10,6 мкм. При мощности лазера 5 Вт (что для  $CO_2$  лазера является малой мощностью - типичные мощности составляют десятки-сотни Вт) и времени воздействия  $10^{-3}$  с на поверхности ткани нагревается объем не более  $10^{-5}$  см<sup>3</sup>. В результате того, что время перехода поглощенного излучения в тепло составляет величину  $10^{-12}$  с, что намного меньше характерного времени, определяемого теплопроводностью биотканей, температура облучаемого объема повышается на 100 и более градусов. Для испарения объема  $10^{-5}$  -  $10^{-6}$  см<sup>3</sup> требуется энергия 0.003 - 0.03 Дж. Этот объем определяется, как объем цилиндра высотой  $h = k_\lambda^{-1}$  и площадью основания, равной сечению лазерного пучка -  $d$ ,

$$V = 0.25 \pi d^2 k_\lambda^{-1}, \quad (3.1)$$

где  $k_\lambda$  - коэффициент поглощения излучения с длиной волны  $\lambda$  данной биоткани (для  $CO_2$ -лазера  $k = 500$  см<sup>-1</sup>),  $d$  - диаметр сечения на границе среда-ткань.

Для испарения ткани необходимо, чтобы время отвода тепла  $\tau$  из нагреваемого объема  $V$  было больше времени излучения лазером энергии, равной энергии испарения нагреваемого объема  $\tau \gg t$

$$\tau = h^2 / 4\alpha, \quad t = \rho v \chi, \quad (3.2)$$

где  $\rho$  - плотность биоткани 1.2 г/см<sup>3</sup>,  $\alpha$  - температуропроводность,  $\chi$  - удельная энергия испарения объема биоткани.

Приравнявая  $\tau = t$ , можем оценить пороговую мощность излучения в зоне взаимодействия луча с биотканью

$$P = 4\alpha\rho V\chi / h^2 = 4\alpha\rho * 0.25\pi d^2 k_\lambda^{-1} / h^2. \quad (3.3)$$

Пороговая плотность мощности излучения, испаряющего биоткань, определяется:

$$q = P / S = \alpha\rho\pi d^2 k_\lambda^{-1} \chi / h^2 \pi d^2 = \alpha\rho\chi k_\lambda^{-1} / h^2. \quad (3.4)$$



Для  $CO_2$  - лазера пороговая плотность составляет 4 - 7,5 кВт/см<sup>2</sup>. При меньших плотностях мощности излучения в результате испарения воды из поверхностного слоя биоткани образуется высушенная и коагулированная ткань толщиной 0,2 мм, которая при дальнейшем облучении стабилизируется по форме и размерам и остается устойчивой к дальнейшему воздействию лазерного излучения. Если же плотность мощности значительно превосходит пороговое значение, то мгновенное испарение воды приводит к разрушению облучаемого объема биоткани и выносу отдельных фрагментов и клеток ткани. Вместе с этим, создается значительное реактивное давление на нижележащие ткани, которое достигает величины 100 кПа (более 1 атм., т.к. 133 Па = 1 мм рт. ст.). Реактивное давление приводит к деформации мелких нижележащих кровеносных сосудов. Мелкие сосуды будут рассекаться, и вследствие термической коагуляции будет происходить остановка кровотока. Именно поэтому лазерный скальпель незаменим при проведении операций на кровенаполненных органах (почка, печень, селезенка).

Минимальное время рассечения биоткани толщиной  $H$  и длиной  $L$  в фокусе излучения (конечного диаметра  $d$ ) определяется выражением

$$t_p = \chi H d L / P, \quad (3.5)$$

а скорость разреза будет

$$v = P / \chi H F \theta, \quad (3.6)$$

где  $F$  - фокусное расстояние объектива,  $\theta$  - расходимость лазерного излучения. Соответственно, при большей плотности пучка в зоне разреза (а она прямо пропорциональна мощности излучения и обратно пропорциональна расходимости), скорость иссечения тканей будет выше.

Наряду с  $CO_2$  лазером, в хирургии находит применение и  $CO$ -лазер с длиной волны излучения в диапазоне 5,1 - 5,6 мкм (средний ИК-диапазон). Излучение этого лазера проникает в ткань несколько глубже (около 100 мкм), чем более длинноволновое излучение  $CO_2$ -лазера. Вследствие этого улучшается коагуляция нижележащих кровеносных сосудов. В частности, в опытах на кроликах и собаках было показано, что удается надежно останавливать кровотечение при иссечении сосудов диаметром до 2,5 мм. Коэффициент поглощения излучения  $CO$ - лазера равен 100-150 см<sup>-1</sup>, а пороговая плотность мощности для рассечения 1 кВт/см<sup>2</sup>. В этом преимущества  $CO$ -лазера по сравнению с  $CO_2$ , но мощностные и эксплуатационные параметры этого лазера ниже, чем у  $CO_2$ , поэтому и применяется он реже.

Определенные перспективы применения в микрохирургии связывают с эксимерными лазерами импульсного действия ближнего УФ-

диапазона спектра: *ArF* (193 нм), *KrCl* (222 нм), *Kr F* (248 нм), *XeCl* (308 нм), *XeF* (351 нм). Малая глубина проникновения УФ-излучения позволяет осуществлять послойный разрез тканей. Лазерные скальпели на основе *ArF*- лазера с плотностью мощности около 5 Дж/см<sup>2</sup> позволяют проводить надрезы роговицы глубиной до 0,3 мм, что вполне приемлемо для большинства офтальмологических операций. При этом края надрезов не подвергаются нагреву и разрушению. Благодаря большой мощности излучения и возможности его транспортировки по оптическим моноволоконкам такие лазеры находят применение для проведения таких операций, как разрушение камней в почках и желчных протоках. Так желчные камни разрушаются излучением *KrF*-лазера при пороговой плотности энергии 0,5 Дж/см<sup>2</sup>.

Аналогичные операции по разрушению атеросклеротических бляшек внутри кровеносных сосудов получили название "лазерной ангиопластики". Целью таких операций является разрушение новообразований на стенках кровеносных сосудов для восстановления нормального кровотока. Важно при этом точно определить зону воздействия излучения, его мощность, чтобы не повредить стенку самого сосуда. Для решения этой задачи наиболее подходит *XeCl*-лазер с плотностью энергии 1 - 8 Дж/см<sup>2</sup>. Он эффективно разрушает как фиброзные, так и кальцинозные бляшки.

Еще одно применение лазеров средней мощности (единицы Вт) - сварка кровеносных сосудов. Здесь наибольшее распространение получил аргоновый лазер непрерывного действия (длина волны 0,48 - 0,51 мкм). Оптимальная мощность лазера при сварке вен 0,3 - 0,7 Вт, а при сварке артерий - 0,5 - 0,9 Вт (плотность мощности - 5 - 10 Вт/см<sup>2</sup>). Требуемая плотность мощности может быть снижена за счет введения в ткани специальных органических красителей, эффективно поглощающих излучение данной длины волны. Длина шва может достигать единиц мм. Перспективным для решения этой задачи является лазер на парах меди с длиной волны 0,51 мкм (и 0,58 мкм) импульсно-периодического действия. Во-первых, КПД этого лазера на порядок выше, чем аргонового и, во-вторых, импульсно-периодический характер излучения, как отмечено в ряде работ, более эффективен при сварке.

### 3.1.2. Хирургические лазерные установки

Сформулируем основные технические и эксплуатационные требования, которые должны предъявляться к лазерным хирургическим установкам.

1. Соответствие техническим характеристикам, обеспечивающим надежное выполнение основной функции - иссечение тканей, органов (по

средней мощности, либо энергии излучения, длине волны генерации лазера, по расходимости и диаметру пучка, способу доставки излучения к оперируемому органу с минимальными потерями и т.д.).

2. Соответствие эксплуатационным требованиям, включающим аттестацию данной установки и наличие разрешения Минздрава России на ее применение в клинической практике (в отдельных случаях допускается использование экспериментальных установок, не имеющих разрешения по решению Ученых Советов НИИ - в клиниках НИИ Российской академии медицинских наук). Хирургические установки должны быть надежными в работе (т.е. обладать большим общим ресурсом работы и ресурсом до первого отказа, непрерывностью работы, как правило, не менее 8 часов), простыми в управлении и эксплуатации.

Большая часть лазерных хирургических установок создана на базе  $CO_2$ -лазера со средней мощностью до 100 Вт (часть из них приведена в табл. 4). Излучение с длиной волны 10,6 мкм сильно поглощается в кварцевых моноволокнах, поэтому транспортировать данное излучение приходится с помощью оптико-механических устройств (весьма громоздких). Такими устройствами оборудованы, в частности, серийно выпускаемые установки "*Ромашка-1*", "*Ромашка-2*", "*Скальпель-1*" (табл. 4). Могут быть использованы и полые металлические волноводы из алюминиевой или медной фольги, обладающие высоким коэффициентом отражения в среднем ИК-диапазоне спектра. Типичные величины потерь при передаче излучения  $CO_2$ -лазера составляют около 1 дБ/м. Поэтому установки на базе  $CO_2$ -лазера применяются обычно при поверхностных операциях в ожоговой и гнойной хирургии, полостных операциях, операциях на кровенаполненных органах, мягких тканях.

В основе установок "*Радуга-1*" и "*Ятаган*" лежат  $Nd^{+}$ -YAG-лазер (длина волны 1,06 мкм) и рубиновый лазер (0,69 мкм). Режим работы лазеров импульсный. Проблем с доставкой излучения видимого и ближнего ИК-диапазонов спектра существенно меньше. Это излучение слабо поглощается в кварцевых моноволокнах, поскольку окно прозрачности плавленого кварца лежит в диапазоне длин волн 0,3 -2,0 мкм, соответственно поглощение составляет десятые доли дБ/м. Излучение 1,06 мкм мощностью 50 Вт передается по волокну длиной 4 м с эффективностью 90,6%. Практически без потерь передается по волокнам и излучение рубинового лазера. Установка "*Радуга-1*" используется для проведения эндоскопических операций при лечении острых кровоточащих язв желудка, двенадцатиперстной кишки и т.д. Установка "*Ятаган*" – в офтальмологии при проведении микрохирургических глазных операций, в частности приваривание отслоившейся сетчатки.

Следует, однако, отметить, что с применением волоконной оптики в лазерной хирургии остается неудовлетворительно решенной проблема

повреждения "подгорания" торцов световодов как на входе лазерного излучения, так и на выходе. Это происходит в том случае, если торец световода загрязняется продуктами распада (тканей при ангиопластике, камней при их дроблении и т.д.). Эта проблема решается отводом продуктов распада, например отсосом, но лишь частично.

Таблица 4

Лазерные хирургические установки

№ п/п	Наименование	Тип лазера	Длина волны, мкм	Мощность,Вт (энергия, Дж)	Применение
1	<i>Скальпель-1 (Ульяновск)</i>	$CO_2$	10,6	20	Хирургические операции на обильно кровоточащих органах и тканях
2	<i>Ромашка-1</i>	$CO_2$	10,6	20,40,60,80	Полостные хирург. операции. Поверхностн. операции в ожоговой и гнойной хирургии
3	<i>Ромашка-2</i>	$CO_2$	10,6	15	Микрохирургия, нейрохирургия и т.п. Операции внутриполых органов
4	<i>Радуга-1</i>	$Nd^+ - YAG$	1,06	10,20,30, 40,50	Хирургические и эндотерапевтические операции при лечении острых кровоточащих язв желудка, ДПК и т.п.
5	<i>Ятаган</i>	Рубиновый	0,69	(1-15мДж) длит. имп. 50-70 нс.	Микрохирургические операции на переднем и заднем отделах глаза
6	<i>ЛЛТ-1 Литотрипор (Казань)</i>	$Nd^+ - YAG$	1,06	до 0,3 Дж на выходе световода	Для разрушения камней в почках

## 3.2. Низкоинтенсивная лазерная терапия

В настоящее время низкоинтенсивное лазерное излучение (НЛИ) более эффективно используется в медицине, чем мощное излучение. Причин здесь несколько. Во-первых, возможные побочные эффекты здесь будут существенно ниже. Во-вторых, используемые здесь лазеры, в основном гелий-неоновые, компактны, просты в управлении, относительно дешевы, ресурс их работы исчисляется тысячами часов. В-третьих, излучение этих лазеров лежит в видимой области спектра, а значит практически без потерь транспортируется по световодам. Наконец, в-четвертых, на основе большого экспериментального и клинического материала установлено, что НЛИ обладает отчетливым биостимулирующим действием на кровь, ткани, органы и организм в целом.

### 3.2.1. Механизмы взаимодействия низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ) с биообъектами

Использование низкоинтенсивного лазерного излучения для лечебных целей, несмотря на тридцатилетний мировой опыт, не имеет на сегодня, как это ни странно звучит, надежного научного обоснования. Несмотря на значительный экспериментальный материал, механизмы взаимодействия НЛИ с биообъектами однозначно не установлены. Отчасти это связано с большой противоречивостью экспериментальных данных, накопленных в различных научных коллективах. В большей же степени, это следствие сложности биосистемы и процессов, протекающей в ней.

Итак, что же происходит с биообъектом при облучении его НЛИ? В чем проявляются специфические свойства лазерного излучения: высокая пространственная и временная когерентность, поляризация, малая расходимость и высокая спектральная яркость излучения?

В настоящее время нет убедительных доказательств проявления этих особенностей лазерного излучения при его взаимодействии с биообъектом. Так, при однофотонном поглощении скорость "создания когерентности" составляет  $0,03 - 0,003 \text{ с}^{-1}$ . Скорость же "потери когерентности" за счет расфазировки волновых функций молекул –  $10^{11} - 10^{12} \text{ с}^{-1}$ . Такое громадное различие скоростей создания и потери когерентности исключает влияние когерентных свойств излучения при его взаимодействии с биологическими объектами.

Также маловероятным кажется, что распространяясь в изотропных биологических тканях, излучение сохранит поляризацию, тем более если излучение передается к объекту через волоконную оптику, где происходит дополнительная деполяризация. Вместе с тем, эксперименты по поглоще-

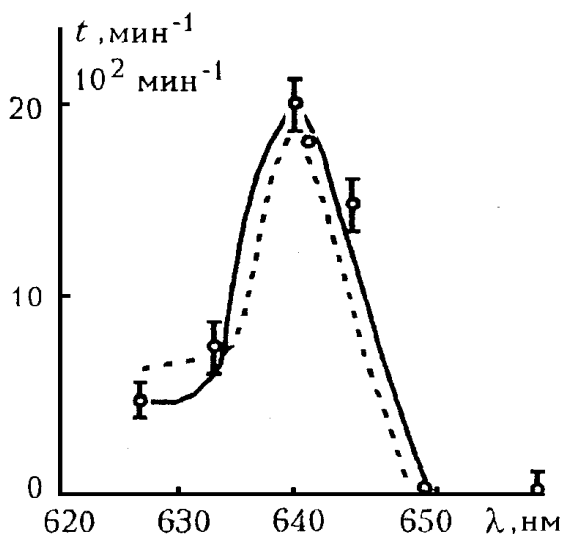
нию излучения лазерного и лампы накаливания с той же мощностью и длиной волны свидетельствуют, что лазерное излучение поглощается в тканях сильнее. Имеются и отдельные данные, свидетельствующие о том, что большее биостимулирующее действие лазерного излучения обеспечивается именно поляризацией света.

Какова роль высокой спектральной яркости (т.е. монохроматичности) излучения? По мнению ряда исследователей, эта характеристика не имеет принципиального значения, так как полосы поглощения биомолекул широкие. Однако есть исследователи, отстаивающие теорию резонансного взаимодействия излучения с веществом, более того введен даже термин "резонансная фототерапия". Эти работы, в частности, активно ведутся красноярскими физиками и медиками. Согласно этой теории, благодаря высокой монохроматичности и когерентности, лазерное излучение способно возбуждать отдельные степени свободы движения молекул, не затрагивая других возможных колебаний. В таком случае молекула приобретает способность вступления в определенную химическую реакцию.

Рассмотрим один из конкретных примеров воздействия НЛИ на кровь. В экспериментах было показано, что при облучении красных клеток крови (эритроцитов) излучением гелий-неонового лазера за процесс клеточной биостимуляции отвечает реакция фотогенерации синглетного кислорода (ФГСК) [30]:



В данной реакции участвует кислород, растворенный во внеклеточном пространстве. Причем этот механизм, как было показано, работает только в нескольких узких спектральных интервалах, расположенных в видимой и ближней ИК-диапазонах спектра. На рис. 26 приведены спектр действия лазерного излучения на кровь и спектр поглощения кислорода, растворенного во фреоне. Они практически совпадают.



**Рис. 26.** Спектр действия лазерной терапии в диапазоне 627 - 660 нм (сплошная линия) и спектр поглощения растворенного во фреоне молекулярного кислорода

Таким образом, при проведении внутривенной лазерной терапии, например при лечении ишемической болезни сердца с использованием гелий-неонового лазера с длиной волны 632,8 нм, наблюдаемый терапевтический эффект обусловлен поглощением фотонов молекулярным кислородом, растворенным в крови.

### 3.2.2. Области применения НЛИ. Лазерные терапевтические устройства

В большинстве случаев низкоинтенсивная лазерная терапия (НЛТ) осуществляется с помощью различных гелий-неоновых лазеров. Многочисленными экспериментальными и клиническими данными установлено, что излучение этого лазера (непрерывное, с длиной волны 632,8 нм) укрепляет иммунную систему организма, влияет на активацию окислительно-восстановительных ферментов. Под воздействием данного излучения идет ускоренное заживление ран, язв, подавляются воспалительные процессы, при воздействии излучения более эффективно идет медикаментозное лечение.

Все области медицины, где используется гелий-неоновый лазер, перечислить трудно, назовем лишь основные. В кардиологии - это лечение ишемической болезни сердца, профилактика после инфаркта, как правило, с помощью внутривенного облучения крови. В пульманологии - лечение пневмонии, бронхита, бронхиальной астмы, респираторных инфекций. В дерматологии - лечение экзем, нейродермитов, герпеса, псориаза и т.д. В стоматологии - лечение парадонтита, перностатита, стоматита, кариеса. В гинекологии и акушерстве - лечение воспалительных заболеваний влагалища, крауроза вульвы (атрофия половых органов), эрозии шейки матки, послеобортных осложнений, дородовой профилактике слабости родовой деятельности, профилактике послеродовых последствий и т.д. В андрологии - лечение простатита. В ряде случаев, наряду с лазерными источниками излучения, могут успешно применяться источники излучения на базе светоизлучающих диодов (СИДы). Более подробно с областями применения НЛИ в терапии можно ознакомиться в цитируемой литературе (в частности монографии М.З.Креймана и И.Ф. Удалого "Низкоинтенсивная лазеротерапия"[ 6 ]).

В настоящее время в практической медицине используются пять основных методик проведения терапевтических процедур:

- 1) прямое воздействие лазерного излучения на открытые раневые и воспаленные поверхности, в том числе с использованием эффекта сканирования луча;
- 2) лазерное облучение патологических очагов через кожные покровы;

- 3) лазерная светопунктура (акупунктура) и рефлексотерапия;
- 4) лазерная световодная терапия, в том числе с применением эндоскопов;
- 5) облучение жидкостей, в том числе крови.

Очевидно, что каждая из перечисленных методик обладает своей спецификой. Вместе с тем, все они могут выполняться с помощью одной лазерной установки при наличии соответствующего комплекта сервисных устройств. Так наружное облучение может проводиться как непосредственно с выхода лазера, так и через посредство оптического световода с рассеивателем пучка на конце. Для лазерной акупунктуры нужна, наоборот, концентрация излучения и т.д.

Основные принципы лечения НЛТ заключаются в правильном выборе соответствующей методики лечебной процедуры, определении доз облучения, числа сеансов. Для различных методик они, естественно, различны. Укажем диапазон используемых плотностей мощности, времен экспозиции и числа сеансов. Плотности излучения - 0.1 - 100 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиции - десятки с - десятки мин. Количество сеансов (как правило, ежедневных) - 5 - 20. Отсюда и вытекают основные требования к лазерной терапевтической аппаратуре: надежность, большой ресурс, наличие комплекта сервисных устройств, автоматическая отработка сеанса облучения. Сводка некоторых терапевтических установок (в основном лазерных) приведена в табл. 5.

Таблица 5

Некоторые терапевтические установки

№ п.п	Название	Тип излучателя	Длина волны, мкм	Мощность, мВт	Применение
1	<i>УФЛ-1</i> (Рязань)	<i>He-Ne</i> ЛГ-75	0,63	20	Лечение гнойных ран, трофических язв, дерматозов, ожогов и т.п.
2	<i>АФЛ-1,</i> <i>АФЛ-2</i> (Львов)	<i>He- Ne</i> ЛГ-75-1	0,63	20 7-на выходе световода	То же, что и для УФЛ-1 и эндоскоп. облучение язв желудка
3	<i>Раскос</i>	<i>He-Ne</i>	0,63	15	Лечение слизистой полости рта
4	<i>Алок-1</i> (Рязань)	<i>He-Ne</i>	0,63	1-на выходе световода	Для внутрисосудистой терапии (инфаркт, ИБС и т.п.)
5	<i>Рация</i>	<i>CO<sub>2</sub></i>	10,6	плотность мощности 0.1-1.0 мВт/см <sup>2</sup>	Лечение вялотекущих и длительно не заживающих ран, трофических язв и т.п.



Продолжение табл. 5.

№ п.п	Название	Тип излучателя	Длина волны, мкм	Мощность, мВт	Применение
6	<i>АЛТМ</i> (Казань)	Полупров. лазеры	0,89; 1,32	2-200	Для рефлексотерапии, стоматологии, лечения язвы желудка
7	<i>Лазтер-03</i> (Томск)	<i>He-Ne</i> ЛГ-101	0,63	20	Широкопрофильный прибор
8	<i>Лазтер-05</i> (Томск)	<i>He-Ne</i>	0,63	1	Для внутривенного облучения
9	<i>ЛТ-92</i> (Томск)	<i>He-Ne</i>	0,63	12-на выходе световода	Для наружного и внутреннего облучения
10	<i>ЛТ-95</i> (Томск)	Полупров. СИДы	0,66 0,85	0-10 0-20	Широкопрофильный прибор
11	<i>Ярило</i> (Казань)	<i>He-Ne</i>	0,63	4-на выходе световода	Для применения в урологии (цистит, простатит и т.п.)
12	<i>Лазтер-07</i> (Томск)	Медный	0,51 0,58	до 1000 на выходе световода	Для наружного и эндоскопического применения
13	<i>Малахит</i> (Томск)	Медный	0,51 0,58	до 500 на выходе световода	Для применения в онкологии и др.
14	<i>Геска</i> (Томск)	Полупров. СИДы	0,66 0,87	0 - 10 0 - 20	Широкопрофильные приборы

### 3.2.3. Дозировка низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ)

Терапевтическое воздействие НЛИ на биологические объекты определяется, как мы сказали выше, длиной волны излучения, его мощностью (вернее плотностью энергии), временем воздействия.

Плотность потока мощности, приходящаяся на единицу поверхности, может быть рассчитана из простых соображений:

$$p = W/S, \quad (3.8)$$

где  $p$  - плотность потока мощности,  $W$  - выходная мощность лазера,  $S$  - площадь облучаемого участка. Плотность потока мощности измеряется в Вт/см<sup>2</sup>. Разовая доза облучения будет равна

$$D = p*t, \quad (3.9)$$

где  $t$  - время воздействия. Соответственно, доза облучения будет измеряться в Дж/см<sup>2</sup>. Для оценки суммарной дозы облучения, полученной пациентом за полный курс лечения, разовая доза облучения умножается на число процедур. В качестве примера: время облучения больных с эрозией шейки матки определяется по формуле

$$t = D / p = D * S / W . \quad (3.10)$$

Для излучения гелий-неонового лазера со средней мощностью 5 мВт экспериментально установленная разовая доза ( $D$ ) составляет 0,024 Дж/см<sup>2</sup>. При площади облучаемой поверхности 5 см<sup>2</sup> получаем

$$t = 0.024 \text{ Дж/см}^2 * 5 \text{ см}^2 / 0,005 \text{ Вт} = 24 \text{ с}. \quad (3.11)$$

С учетом потерь энергии при транспортировке по моноволокну, при расфокусировке излучения с помощью специальных насадок время воздействия составляет порядка 1 мин.

### 3.3. Лазеры в фотодинамической терапии (ФДТ)

Метод фотодинамической терапии является более молодым чем НЛТ. Основное на сегодня его применение - лечение злокачественных образований, в первую очередь, в том случае, когда хирургическое вмешательство и лечение жестким облучением (например бетатронным) противопоказанны, а возможности химиотерапии уже исчерпаны. В ФДТ используются, как правило, лазеры со средним уровнем мощности (единицы Вт) видимого диапазона спектра.

#### 3.3.1. Механизм фотодинамического воздействия на биообъект

Метод ФДТ основан на

- а) факте избирательного накопления определенного красителя-фотосенсибилизатора опухолевыми клетками;
- б) поглощении лазерного излучения с определенной длиной волны (красной области видимого спектра) этим сенсбилизатором с последующим разрушением опухолевых клеток за счет поглощенной энергии лазерного излучения [29,31].

Краситель-сенсбилизатор вводится внутривенно (зачастую) или внутримышечно. Через некоторое время фотосенсбилизатор локализуется, в основном, в опухолевых зонах так, что его концентрация в пораженных клетках превышает таковую в здоровых в 3 - 5 раз. При облучении

места локализации опухоли (что также достигается с помощью вспомогательного лазера, как правило, голубой области видимого спектра) основным лазером в результате сложных фотохимических реакций происходит преобразование красителя с появлением токсичных для клеток тканей продуктов фотораспада.

Таким образом, под действием света за счет цитотоксического эффекта гибнут, в основном опухолевые клетки, при незначительном повреждении здоровых.

Такова общая схема метода ФДТ. Но многие физико-химические аспекты данного метода остаются к настоящему времени невыясненными. Не определены, например, субклеточные структуры и макромолекулы, которые являются "мишенями" для фотосенсибилизаторов. Относительно преобразования энергии лазерного излучения в тканях в химическую, есть только разумные гипотезы. Одна из них - генерация синглетного кислорода, который обладает повышенной реакционной способностью и отвечает за разрушение клеток опухоли. Синглетный же кислород образуется в процессе передачи энергии, накопленной в долгоживущих состояниях фотосенсибилизатора, молекулярному кислороду, растворенному в тканях. На рис. 27. приведена схема поглощения и передачи энергии при ФДТ.

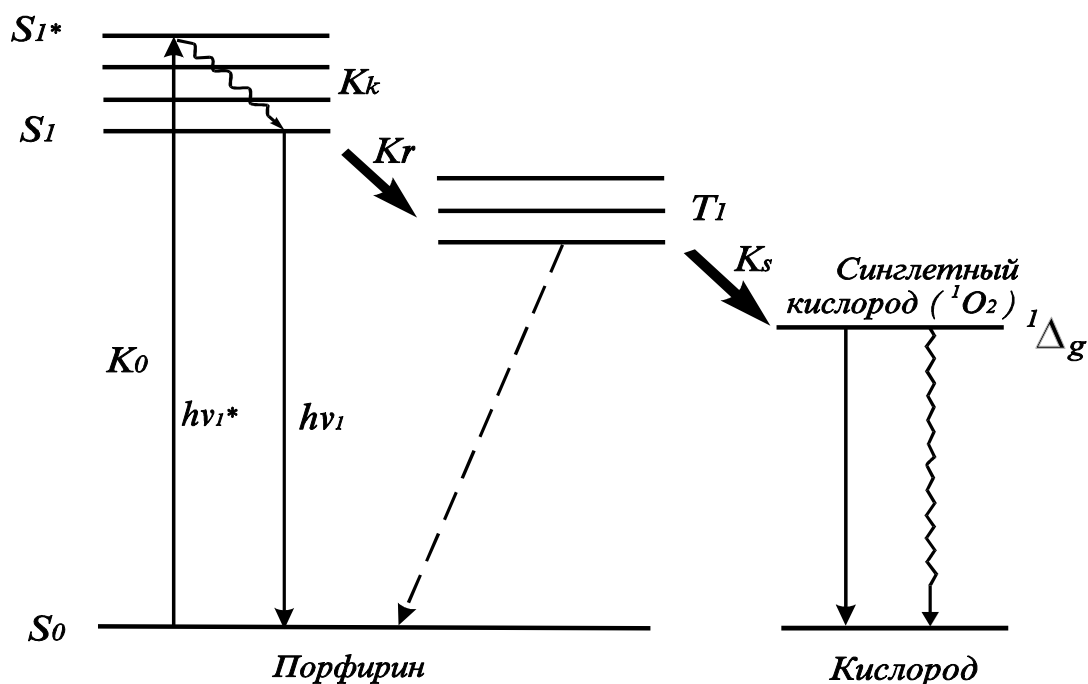
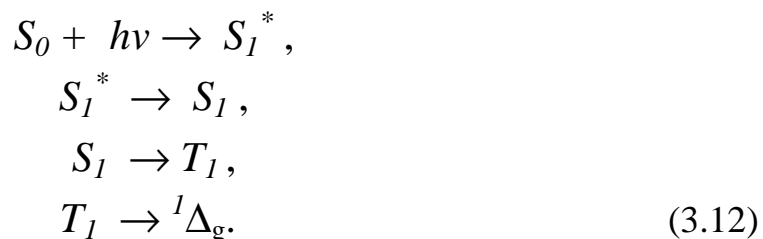


Рис. 27. Схема поглощения и передачи энергии при ФДТ

Как видим, на первом этапе происходит поглощение кванта света, краситель переходит в возбужденное короткоживущее состояние, затем безызлучательным путем в долгоживущее, откуда и возможна передача

энергии молекулам кислорода, так что кислород переходит на один из синглетных уровней.



### 3.3.2. Лазеры для ФДТ

Основные параметры излучения для ФДТ подбирались в процессе экспериментов эмпирически и не являются жестко установленными. Так оптимальная доза облучения варьируется от 50 до 200 Дж/см<sup>2</sup> (для длины волны 630 нм). Плотность мощности при этом должна составлять по одним данным 10-100 мВт/см<sup>2</sup>, по другим - до 1 Вт/см<sup>2</sup>. В принципе, подобные плотности энергии (и дозы излучения) могут быть реализованы и с некогерентными источниками излучения (например лампами накаливания). Вместе с тем, до настоящего времени предпочтение отдается именно лазерным источникам, способным с большим КПД обеспечить необходимую плотность мощности в заданном интервале спектра.

Идеальным источником света для ФДТ на первый взгляд представляется гелий-неоновый лазер (излучение лежит в нужном диапазоне спектра, прост и удобен в работе). Даже самый мощный из гелий-неоновых лазеров не способен создать необходимые, в большинстве случаев, плотности энергии. Удобными для проведения экспериментов и первых клинических испытаний стали лазеры на органических красителях, накачиваемые либо импульсными лампами, либо другими лазерами, в частности аргоновым (0,51 мкм), твердотельными - например на алюмоитриевом граните (1,064 мкм) с преобразованием во вторую гармонику (0,53 мкм), азотным (0,34 мкм), лазером на парах меди (0,51 и 0,58 мкм). Главное их достоинство - возможность плавной перестройки длины волны (в красной области спектра), что позволяет селективно возбуждать фотосенсибилизатор. В решении исследовательских задач перестраиваемые лазеры на красителях хороши, но для практической медицины мало пригодны, поскольку обладают малым КПД, громоздки, дороги и сложны в эксплуатации. Поэтому в настоящее время, в основном, используют лазеры на красителях с жестко фиксированной длиной волны, накачиваемые второй гармоникой Nd<sup>+</sup>-YAG. Более перспективным является лазер на парах золота, излучение которого не требует преобразования, поскольку лежит в нужном спектральном диапазоне (627,8 нм), а средняя мощность излучения достигает

9 Вт [15,25]. Перспективными в ближайшее время могут стать и полупроводниковые лазеры и мощные светоизлучающие диоды красного диапазона спектра.

### 3.3.3. Фотосенсибилизаторы для ФДТ

Фотосенсибилизаторы, используемые в ФДТ, должны удовлетворять следующим требованиям:

- 1) обладать высокой селективностью расположения в опухолевых зонах, по сравнению с нормальными тканями;
- 2) обладать высоким коэффициентом поглощения в заданной спектральной области (600 - 900 нм);
- 3) быть просты и дешевы в изготовлении и иметь постоянный состав;
- 4) иметь малую токсичность;
- 5) быть устойчивыми при хранении;
- 6) максимально выводиться из организма после проведения сеанса ФДТ.

В настоящее время наибольшее распространение получили производные гематопорфиринов. Такие, как ППП и "Фотогем" (Россия), "Фотофрим 1" и "Фотофрим 2" (США), "Фотосан" (Германия). Спектральные свойства гематопорфиринов хорошо изучены. Интересно, что порфирины, связанные опухолевыми клетками, обладают полосой люминесценции, сдвинутой относительно несвязанных. Этот эффект лег в основу лазерной диагностики опухолевых зон флуоресцентным методом. Правда, если для ФДТ необходимы красители с высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода, то для диагностики опухолей – с высоким квантовым выходом люминесценции. И еще одно замечание. Удовлетворить в полной мере указанным требованиям в полном объеме трудно. Стоимость одной порции "Фотогема" составляет не менее 20 USD, число же сеансов - 5-10. С учетом стоимости лазерного комплекса, ФДТ оказывается весьма дорогим средством лечения, но иногда единственным.

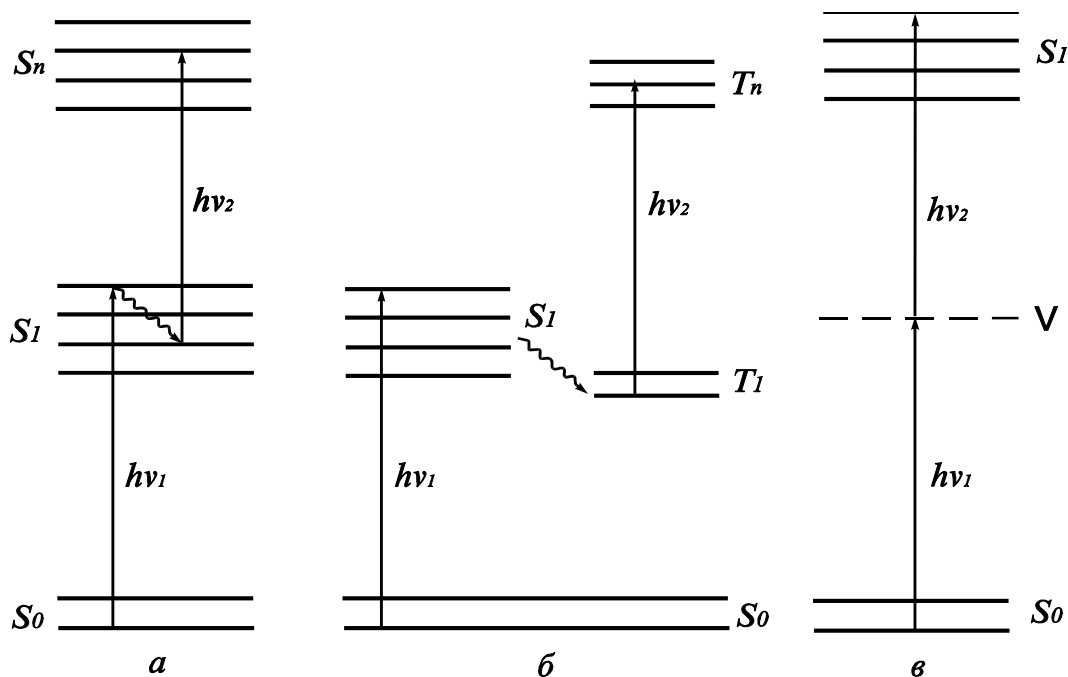
### 3.4. Побочные негативные эффекты взаимодействия лазерного излучения с биообъектами

Лазерной медицине уже около 30 лет. С одной стороны, это большой срок. Накоплен большой экспериментальный и клинический материал по использованию лазеров в хирургии, терапии, других разделах медицины. Вместе с тем, возможные побочные эффекты, в том числе негативные, рассматриваются далеко не всегда. Как известно, лазеры позволяют достигать высоких плотностей энергии, вплоть до  $10^8 - 10^{12}$  Вт/см<sup>2</sup>. При этом возможны нелинейные эффекты взаимодействия излучения с биообъек-

том. В качестве примера рассмотрим возможности двухквантового поглощения излучения [29]. Оно возможно и с некогерентными источниками света. В случае двухступенчатого поглощения молекула последовательно поглощает два кванта излучения, переводя молекулу из нормального (невозбужденного состояния) вначале на один возбужденный промежуточный уровень, а затем в более высокое возбужденное состояние (или ионизуя, либо диссоциируя молекулу, если энергии для этого достаточно).

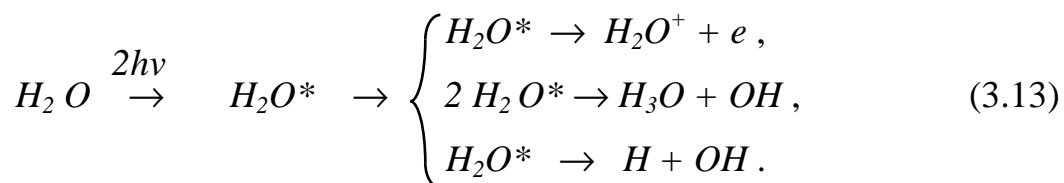
На рис. 28 приведена схема двухступенчатого поглощения излучения гипотетической молекулой с использованием синглетных (рис. 28, а) (хорошо возбуждаемых, но короткоживущих состояний) и триплетных (рис. 28, б) (слабовозбуждаемых и долгоживущих) состояний молекулы.

Двухфотонное поглощение света возможно при одновременном поглощении двух когерентных квантов излучения и характерно только для взаимодействия мощного лазерного излучения с веществом. При этом переход в возбужденное состояние происходит через виртуальный (фантомный) уровень (рис. 28, в). К чему могут приводить указанные процессы? Допустим, что в хирургических целях применяется эксимерный  $XeCl$ -лазер. Длина волны генерации этого лазера 308 нм, что соответствует энергии кванта 4 эВ. При двухквантовых процессах возможно получение энергии молекулой 8 эВ, что превышает энергию ионизации большинства биоорганических молекул (6 - 7 эВ). В результате поглощения такого УФ-излучения белком происходит фотоионизация ароматических аминокислотных остатков, что приводит к потере белком его основных функций. В экспериментах на клеточном уровне установлено, что под действием УФ-



**Рис. 28.** Упрощенная схема двухступенчатого и двухфотонного поглощения излучения

излучения происходит нарушение функционирования мембранных структур, в первую очередь. Под действием УФ-излучения возможна ионизация и диссоциация молекул воды (порог ионизации около 6 эВ, диссоциации около 5 эВ) по схеме



Образующиеся радикалы воды взаимодействуют с растворенными биомолекулами и запускают каскад реакций, аналогичным реакциям при гамма-радиолизе, с вытекающими печальными последствиями. Известны и другие негативные последствия воздействия лазерного излучения. В НИИ онкологии Томского научного центра РАМН, при нашем участии в создании экспериментальной базы в экспериментах на животных (мышах) было показано, что облучение излучением гелий-неонового лазера приводит к росту злокачественных (ранее искусственно привитых опухолей) и увеличению числа метастазов. В то же время излучение лазера на парах меди тормозит рост опухоли и процесс метастазирования [26]. Не перечисляя других примеров негативного влияния лазерного излучения, отметим, что особую опасность, прежде своей неизученностью, представляют возможные генетические последствия воздействия лазерного излучения на живой организм. А они могут проявиться в n-ом поколении.

### 3.5. Лазерная диагностика в биологии и медицине

В этом разделе кратко даны физические основы применения лазеров для диагностики биообъектов. Рассмотрены как широко используемые, так и новые перспективные методы диагностики. Среди них методы, использующие эффекты поглощения и рассеяния света, голографические, флуоресцентные. Представлены примеры медицинской диагностической аппаратуры. При написании этого раздела использована монография [6] и оригинальные статьи, цитируемые по тексту.

#### 3.5.1. Основные принципы лазерной диагностики

При использовании лазеров в диагностике особенности лазерного излучения проявляются ярче и используются более эффективно, чем в лазерной терапии. Принципиальным становится тот факт, что расходимость лазерного пучка мала (единицы мрад или меньше). Это позволяет сфокусировать пучок в пятно малых размеров (порядка длины волны):

$$d = F\theta, \quad (3.14)$$

где  $F$  - фокусное расстояние линзы, а  $\theta$  - расходимость пучка.  
При этом глубина резкости будет

$$\Delta = d^2 / \lambda, \quad (3.15)$$

т.е. также порядка длины волны. Эта особенность лазерного излучения используется в лазерной микроскопии.

Другой замечательной особенностью лазеров является возможность генерировать импульсы очень короткой длительности (пико- и фемтосекундные). Типичные времена фотопроцессов в биообъектах составляют несколько пикосекунд. Таким образом, имея в качестве источника излучения лазер с длительностью импульса генерации в десятые доли пикосекунды (и регистрирующую аппаратуру с таким же временным разрешением), можно в реальном времени изучать фотопревращения в биообъекте.

Высокая монохроматичность лазерного излучения и возможность перестройки длины волны позволяют

- а) селективно возбуждать, либо ионизовать практически любые состояния биомолекул и отдельных ее фрагментов;
- б) создавать лазерные спектрометры сверхвысокого разрешения. А ведь спектр любого объекта, в том числе и биообъекта, - его своеобразный паспорт.

Теперь несколько слов о возможности использования когерентных свойств лазерного излучения в диагностике. При облучении какой-либо поверхности (с микрошероховатостями) когерентным пучком света рассеянный свет состоит из хаотического скопления темных и светлых пятен (спеклов). Это вызвано сложной интерференцией вторичных волн от небольших рассеивающих центров, расположенных на поверхности биообъекта. Тем самым появляется дополнительная возможность изучения поверхностных свойств биообъектов.

Методы (и средства) лазерной диагностики биообъектов можно условно разбить на два больших класса:

- 1) микродиагностические - когда диагностика ведется на уровне атомов и молекул;
- 2) макродиагностические - здесь диагностика проводится на уровне клеток и органов.

При микродиагностике используют методы линейной и нелинейной лазерной спектроскопии, а при макродиагностике - методы рассеяния, интерферометрию, голографию.



### 3.5.2. Некоторые из методов макродиагностики

В основе методов лазерной макродиагностики лежат, как было сказано выше, замечательные свойства лазерного излучения (монохроматичность, когерентность, направленность).

Голографические и интерферометрические методы позволяют получать трехмерное изображение биообъекта, но пока не нашли широкого применения в медицине. В дальнейшем они существенно дополняют результаты рентгеноскопии, ультразвуковой и тепловой томографии.

#### 3.5.2.1. Методы макродиагностики, использующие эффекты светорассеяния

В данном параграфе мы кратко рассмотрим методы диагностики биообъектов, использующие упругое рассеяние света. Методы упругого рассеяния обычно используют для исследования различных форменных образований в биожидкостях (например эритроцитов, лейкоцитов крови), бактерий, тканей глаза и т.д. Эти объекты характеризуются различными формами (простейшие из них - сферы, цилиндры, диски, эллипсоиды и т.д.) и размерами, типичными в диапазоне 0.1 - 100 мкм, т.е. соизмеримыми с длинами волн оптического спектра излучения.

Решение задачи о рассеянии света с учетом формы, микроструктуры, полидисперсности, спектральной зависимости показателей поглощения отдельной частицы дает теория Ми. В простейшем случае дифракции плоской электромагнитной волны на однородной сферической частице радиуса  $a$  теория Ми дает выражение для интенсивности светорассеяния под углом  $\theta$  следующего вида:

$$I(\theta) = I_0(a^2 / 2\rho^2 R)(i_1 + i_2), \quad (3.16)$$

где  $I_0$  - интенсивность света, падающего на объект,  $\rho = 2\pi a/\lambda$  - приведенный (к длине волны) размер частицы,  $R$  - расстояние от точки наблюдения до частицы,  $i_1$  и  $i_2$  - коэффициенты Ми, содержащие функции Бесселя и полиномы Лежандра.

Таким образом процесс рассеяния приводит к угловой зависимости интенсивности рассеянного света от параметров рассеивающих частиц. Соответственно, точное решение обратной задачи должно давать информацию о рассеивающих объектах. Для этого надо измерить индикатрису рассеяния и иметь некоторую априорную информацию об объекте. Анализ индикатрис упругого рассеяния лазерного излучения позволяет исследовать слабопоглощающие биообъекты, например ткани глаза.

Измерение индикатрисы рассеяния (т.е.  $I(\theta)$ , где  $\theta$  - угол светорассеяния) заключается в освещении объекта пучком света и регистрации

интенсивности рассеянного света под различными углами. Приборы такого типа называются нефелометрами. Источником излучения в нем служит лазер с малой угловой расходимостью излучения, а приемник рассеянного излучения может быть ориентирован под различными углами. В частности, нефелометрическим методом измеряют деформируемость эритроцитов. Этот метод, получивший название экмацитометрии, применяется для диагностики ряда заболеваний.

При экмацитометрии лазерный луч пропускают через суспензию эритроцитов, помещенных между вращающимися прозрачными цилиндрами, и наблюдают на экране дифракционную картину, вид которой зависит от формы эритроцитов. При этом недеформированные эритроциты дают картину рассеяния в виде концентрических окружностей, а деформированные - в виде эллипсов. Если в исследуемой пробе содержится достаточное число недеформированных частиц, то наблюдается наложение двух картин, и для оценки концентрации используется так называемый индекс недеформированных эритроцитов, представляющий собой отношение числа деформированных ( $N$ ) к числу недеформированных ( $N_0$ ) эритроцитов:

$$I_n = N / N_0 = I / (I_0 - I), \quad (3.17)$$

где  $I_0, I$  - интенсивности рассеянного излучения на краю дифракционной картины от покоящихся эритроцитов и при действии напряжения сдвига, соответственно. Экспериментально установлено, что при

- анемии плазматических клеток (ПК)  $I_n = 1,3-2,3$ ;
- наследственном сфероиде (НС)  $I_n = 2,7$ ;
- нормальные образцы (НО)  $I_n = 0,7-1,4$ .

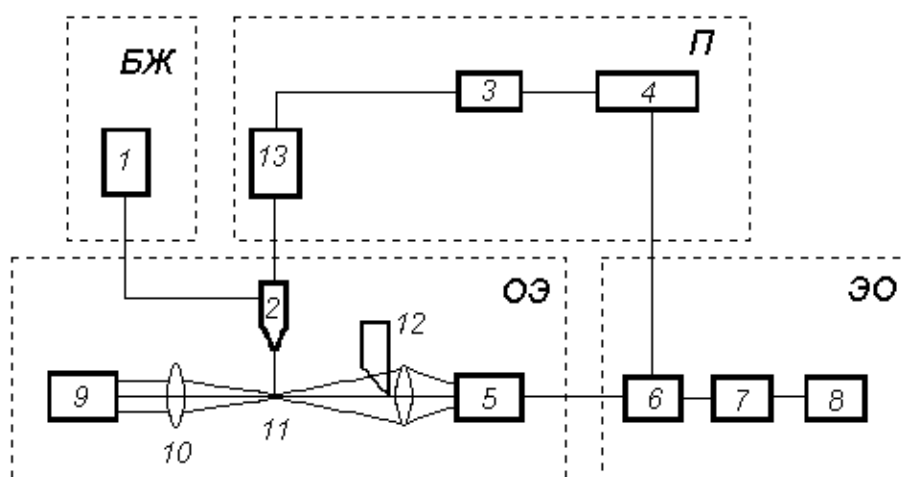
Сильная зависимость индикатриссы рассеяния от размеров эритроцитов, имеющая место в диапазонах углов рассеяния  $0,5 - 35^\circ$ , позволяет восстановить функцию их распределения по размерам. В то же время неровности поверхности патологических эритроцитов с высокой точностью определяются по значительному возрастанию интенсивности рассеяния лазерного излучения на большие углы (более  $90^\circ$ ).

Примером аппаратуры, использующей эффект светорассеяния, является индикатор иммунологических реакций ИРЛ-010, предназначенный для массовых эпидемиологических обследований. В этом приборе последовательно измеряется интенсивность рассеянного под фиксированным углом ( $90^\circ$ ) излучения гелий-неонового лазера (с длиной волны  $632,8$  нм) от пробирок с суспензиями антигена, антител и со смесью антиген-антитело. Установлено, что реакция антиген-антитело произошла, если величина

$$K = 10(I_1 + I_2) / I_3 \quad (3.18)$$

лежит в интервале 0-8, где  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$  - интенсивности рассеянного света антигена, антитела и смеси антиген-антитело, соответственно.

Прибор ИРЛ-010 состоит из оптико-механического блока, блока наблюдения и управления. В приборе предусмотрено управление по жесткой программе работой микронасоса для взятия проб, запись информации, промывка измерительной кюветы. Объем исследуемой суспензии составляет 80 мкл. Данный прибор предназначен для использования в санитарно-эпидемиологической службе, судебно-медицинской экспертизе, клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.



**Рис. 29. Блок-схема анализатора АМПЛ-1**

Другим примером подобной серийно выпускаемой аппаратуры является анализатор микрочастиц проточный лазерный (АМПЛ-1). Его действие основано на определении размеров микрочастиц по интенсивности рассеяния излучения 632,8 нм на малые углы. Прибор предназначен для определения концентрации микрочастиц в суспензиях и анализа их по размерам с помощью встроенной микроЭВМ. Функциональная схема прибора приведена на рис. 29.

На этом рисунке БЖ - устройство ввода буферной жидкости, П - ввода пробы, ОЭ - оптико-электронный блок, ЭО - система электронной обработки информации. Исследуемый препарат подается посредством шприца - 13, вместе с буферной жидкостью из емкости 1 в проточную камеру - 2. Луч *He-Ne*-лазера (9) фокусируется линзой 10 в измерительный счетный объем 11 диаметром 100 мкм, через который пролетают частицы, генерируя импульсы светорассеяния. Прямое нерассеянное излучение подавляется фильтром-ножом Фуко 12. Сигнал с фотоприемника 5 поступает на вход многоканального анализатора амплитуды импульсов 7 и далее на микроЭВМ - 8 системы ЭО. Управление режимом анализа пробы осуществляется с помощью блока сопряжения 6, сигнал с которого управляет двигателем привода 3 дозатора 13 с помощью специальной

электронной схемы 4 блока ввода пробы (П). Объем анализируемой пробы составляет 20-500 мм<sup>3</sup>, при расходе буферной жидкости 1 см<sup>3</sup>/с. Диапазон размеров измеряемых частиц составляет от 0,5 до 100 мкм, при максимальной скорости счета – 10 с. Естественно, что основные погрешности такого прибора будут иметь место при размерах частиц, соизмеримых с длиной волны излучения, т.е. в диапазоне 0,5 - 1,0 мкм (так как длина волны - 0.63 мкм). Поэтому при работе в этом диапазоне необходимо иметь априорную информацию об объекте и использовать калибровочные графики.

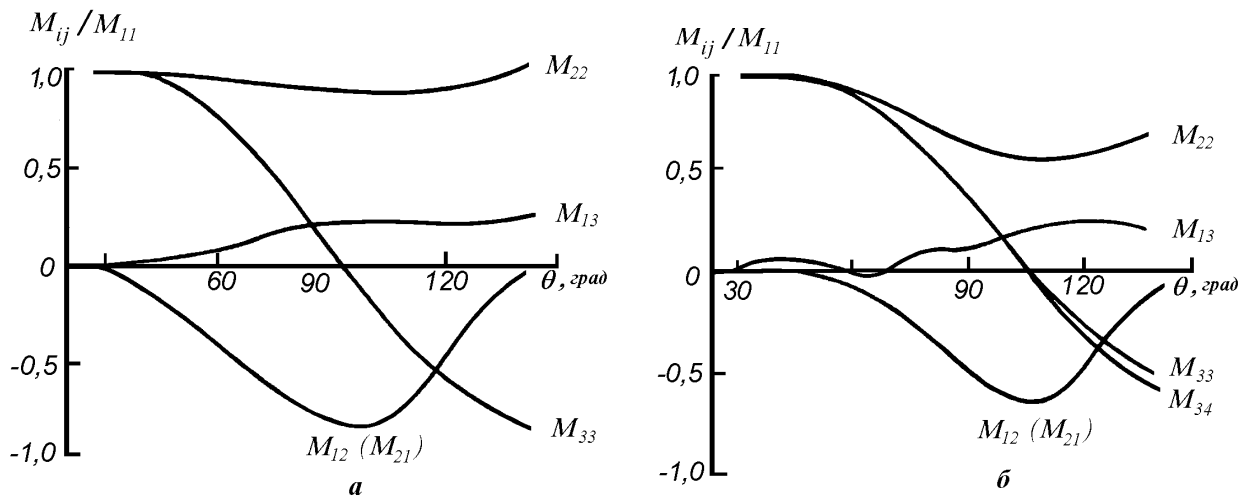
Уже находят применение лазерные анемометры (приборы для измерения малых скоростей движения крови в сосудах, подвижности бактерий, сперматозоидов и т.д.). Метод лазерной анемометрии основан на измерении доплеровского сдвига частоты излучения лазера при обратном рассеянии света от движущихся частиц микронного размера.

### 3.5.2.2. Лазерная поляризационная нефелометрия

Итак, распространение света в рассеивающей среде сопровождается как ослаблением мощности зондирующего пучка, так и появлением рассеянного света. Соответственно, количественно эти явления будут характеризоваться с помощью коэффициентов поглощения, сечения рассеяния и индикатрисы рассеяния. Следует иметь в виду и изменение состояния поляризации при рассеянии, если изначально зондирующий пучок был поляризован.

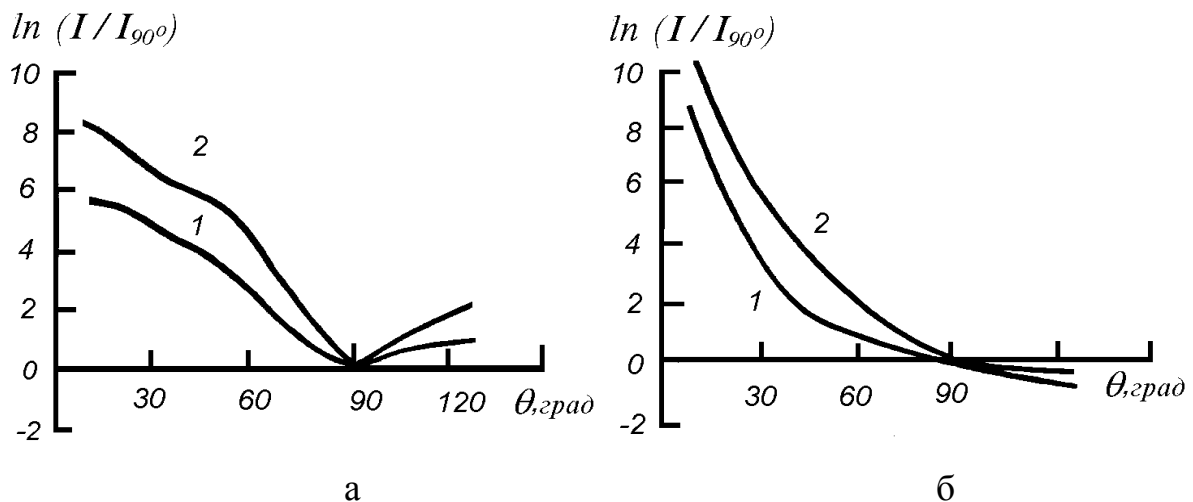
Наиболее полное описание рассеяния с учетом поляризации делают с помощью специальной матрицы рассеяния света (МРС) - матрицы Мюллера, каждый из 16 элементов которой является функцией длины волны, размера, формы и состава рассеивающих частиц. Измерения полной МРС сопряжены с определенными трудностями, да и не все ее элементы достаточно изучены. Тем не менее один из способов измерения всех элементов матрицы связан с использованием оптических элементов, размещаемых перед и за рассеивающей средой. Такими элементами являются поляризаторы, компенсаторы, анализаторы. Измеряя интенсивности света при определенном наборе и положении оптических элементов нефелометра, с помощью специальных вычислений определяют все элементы МРС. В этом случае мы имеем дело с поляризационным нефелометром. В качестве источника излучения такого нефелометра используют, как правило, маломощный *He-Ne*-лазер с практически полностью поляризованным излучением.

Изучение поляризационных характеристик рассеянного излучения дает дополнительную информацию об объекте исследования. На рис. 30 представлены индикатриссы элементов МРС для нормального (а) и мутного (б) хрусталика глаза человека.



**Рис. 30. Индикатриса элементов МРС нормального (а) и мутного (б) хрусталика глаза человека**

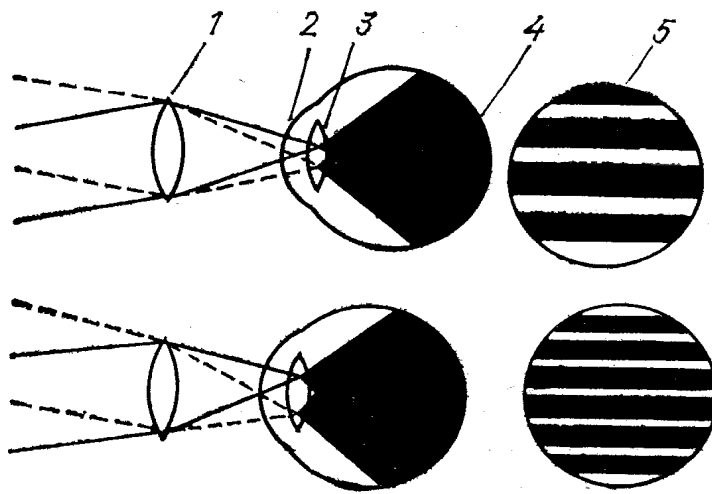
Рассмотренным способом проводят раннюю диагностику катаракты. Экспериментально установлено, что водянистая влага и стекловидное тело, встречающиеся на пути зондирующего глаз поляризованного излучения, не изменяют поляризационных характеристик прямо прошедшего излучения. И изменения в поляризационных характеристиках можно полностью приписать хрусталику. На рис. 31 представлены индикатриссы рассеяния излучения с вертикальной и горизонтальной поляризацией, нормированные к единицы для угла рассеяния, равного  $90^\circ$ .



**Рис. 31. Индикатриссы рассеяния нормального хрусталика (а) и хрусталика пораженного катарактой (б)**

### 3.5.2.3. Лазерная интерферометрия

Классические методы исследования функции зрения человека сводятся к определению остроты зрения и поля зрения, которые в значительной степени зависят от состояния прозрачных сред глаза. От этого требования избавлен метод определения ретиальной остроты зрения (РОЗ), позволяющий определять разрешающую способность сетчатки. При лазерной ретинометрии пучок делят на два приблизительно равной интенсивности и направляют в глаз таким образом, чтобы они перекрывались на сетчатке. В результате наложения когерентных пучков на сетчатке образуется интерференционная картина в виде полос (рис. 32).



**Рис. 32. Фокусировка лазерных пучков при ретинометрии для двух случаев ширины интерференционных полос на глазном дне:**

- 1 - объектив,
- 2 - роговая оболочка глаза,
- 3 - хрусталик,
- 4 - сетчатка,
- 5 - изображение на глазном дне

Расстояние между двумя соседними максимумами интерференционной картины на сетчатке определяется по формуле

$$L = D\lambda / 2l, \quad (3.19)$$

где  $2l$  - расстояние между двумя источниками в узловой плоскости глаза,  $D$  - среднее расстояние от узловой плоскости до сетчатки,  $\lambda$  - длина волны лазерного излучения.

Нормальная острота зрения определяется как угловая разрешающая способность глаза. В данном случае она характеризуется плотностью интерференционных линий на градус угла зрения

$$N = [\arcsin(\lambda / 2l)]^{-1}. \quad (3.20)$$

Угловое разрешение глаза в 1 угл. мин принимают за остроту зрения равной 1.

Пусть  $a_1$  - угловое расстояние между полосами,  $S$  - угловая ширина полосы, тогда плотность полос на градус угла зрения  $N = 1/a_1$ , а острота зрения в предположении одинаковой ширины светлых и темных полос  $V = 1/S = 2a_1$ . Таким образом, при остроте зрения, равной 1,  $S = 1$ , плотность полос на угол зрения составляет одну линию на 2 угл. мин или

30 полос на градус, что соответствует нормальной остроте зрения, определяемой по таблице опто типов (33 полосы на градус зрения).

Одним из приборов, работающим по данной схеме, является анализатор АРОЛ-1 (анализатор ретинальной остроты лазерный), использующий в качестве источника излучения также *He-Ne*-лазер. Этот прибор реально применяется в практической медицине для диагностики функциональной способности глаза, даже в случае слабых помутнений глаза.

#### 3.5.2.4. Голографическая диагностика

Голографические методы, как и интерферометрические, наиболее широко будут внедрены в офтальмологии. Но здесь еще до практической медицины дело не дошло. Эти методы находятся в стадии экспериментов. В частности, в опытах на глазах животных ведутся работы по получению изображения внутреннего объема глаза. К сожалению, первые эксперименты показали, что голографические методы обладают сравнительно низкой разрешающей способностью (около 100 мкм) и невысокой контрастностью получаемых изображений (2:1), что объясняется присутствием спекл-структуры, замазывающей микроструктуру основного изображения.

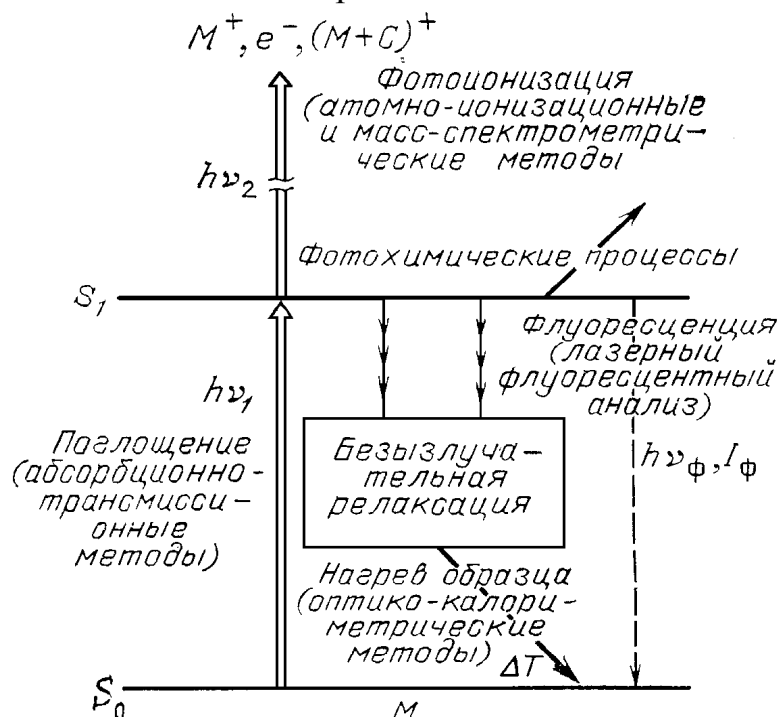
Существенное повышение качества объемных изображений может быть достигнуто за счет введения раствора люминесцирующего красителя. Использование такой процедуры позволяет получить голографические изображения сосудов диаметром до 10 мкм и с контрастом 25:1. Повидимому, в дальнейшем голографические методы получат новое развитие.

#### 3.5.3. Методы и средства микродиагностики

Традиционными на сегодня (в ряду микродиагностических методов) являются методы и средства спектрального анализа, например определение следовых концентраций вредных, либо отравляющих веществ в токсикологии. Присутствие солей таллия (страшный яд) может быть однозначно установлено по спектральному анализу состава волос (стандартный метод в криминалистике). И если нелазерные источники света позволяют детектировать более  $10^{10}$  атомов (либо молекул), то лазерные методы спектрального анализа позволяют детектировать отдельные атомы вещества.

Одним из таких методов является метод резонансной фотоионизации. Суть этого метода заключается в следующем. С помощью перестраиваемого лазера на красителе производится фотоионизация атомов строго одного элемента (и даже изотопа), например атомов алюминия в крови

человека. Затем с помощью масс-спектрометра ионы этого элемента детектируются (по величине ионного тока). Таким методом удастся регистрировать до  $10^{-14}$  грамм. Схематическое представление этого и других методов микродиагностики дано на рис. 33.



**Рис. 33. Схематическое представление некоторых методов микродиагностики**

Жесткая фокусировка мощных лазерных пучков позволяет испарять с поверхности (в том числе биообъекта) малые количества вещества (до  $1 \text{ мм}^3$ ) и проводить либо обычный спектральный анализ, либо масс-спектральный (лазерная микроаналитическая масс-спектрометрия).

### 3.5.3.1. Абсорбционные методы и средства

Также в ряду классических, находятся способы микродиагностики, использующие абсорбционные методы (методы поглощения излучения при прохождении через среду - в данном случае через биоткань, жидкости и т.д.). Иногда эти методы называют еще абсорбционно-трансмиссионными. Причем в последнее время - это, в первую очередь, методы с хорошим временным разрешением (порядка  $10^{-12}$  с).

Вплотную к абсорбционным методам примыкают методы лазерно-флуоресцентной ( в том числе пикосекундной) спектроскопии. В основе этого метода лежит способность возбуждать с помощью внешнего излучения (желательно перестраиваемого) составные части биообъекта (атомы,



молекулы, комплексы) с последующим изучением флуоресцентных свойств данного биообъекта. Но мы их рассмотрим ниже, поскольку лазерно-флуоресцентный анализ занимает особое место в ряду диагностических методов.

Подробнее рассмотрим абсорбционные методы. В общем случае к абсорбционным относятся как методы, непосредственно основанные на измерении интенсивностей падающего, проходящего и поглощенного света, так и методы, основанные на измерении поглощенной энергии в биообъекте (так называемые оптико-калометрические методы).

#### *Метод спектрофотометрии.*

Измерение спектров пропускания различных биообъектов - классическая, довольно рутинная задача спектрофотометрии. Данный метод давно и успешно применяется в биологии и медицине. Он прост, надежен, универсален, обладает неплохой чувствительностью и точностью. Измерение спектров пропускания основано на регистрации интенсивности падающего света  $I_0$  и интенсивности прошедшего света  $I$  через поглощающую среду в направлении  $x$  в зависимости от длины волны ( $\lambda$ )

$$I(\lambda, x) = I_0(\lambda) \exp[-a(\lambda)x], \quad a(\lambda) = \sigma(\lambda)N, \quad (3.21)$$

где  $a(\lambda)$  - коэффициент поглощения (измеряется в  $\text{см}^{-1}$ ),  $\sigma(\lambda)$  - эффективное сечение поглощения частиц ( $\text{см}^2$ ),  $N$  - концентрация поглощающих частиц ( $\text{см}^{-3}$ ).

Выражение (3.21) уже фигурировало в разделе 1 и носит название закона Бугера-Ламберта-Берра.

В нелазерных спектрофотометрах (например отечественный прибор СФ-26, немецкий "Спеккорд") используются широкополосные источники излучения (лампы накаливания, ртутные лампы). Перестройка же по длинам волн осуществляется поворотом оптической призмы прибора, либо его дифракционной решетки. Предельная чувствительность нелазерных спектрофотометров достигает  $(I - I_0)/I_0 \geq 10^{-4} - 10^{-5}$ .

Использование лазеров в качестве источников излучения (желательно перестраиваемых с узкой линией излучения) кардинально улучшило, а в чем-то и упростило метод спектрофотометрии.

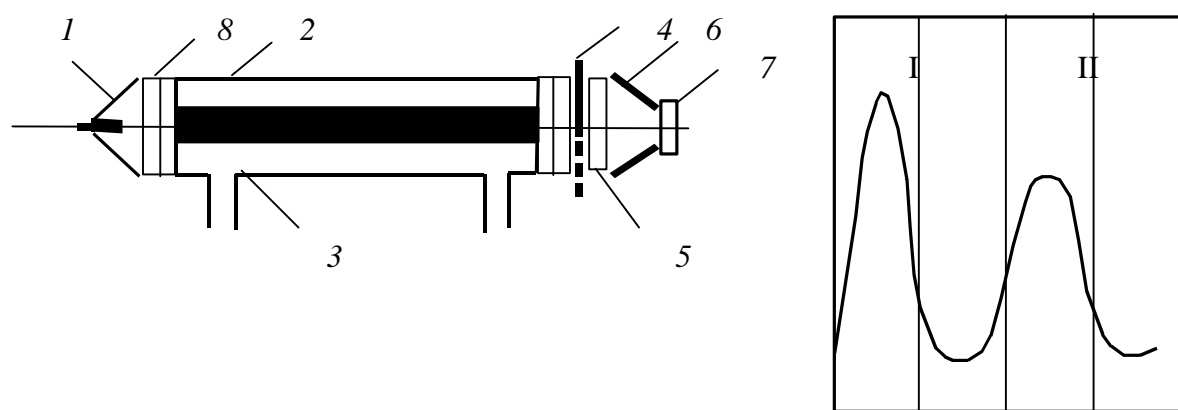
Отпала необходимость в спектральном приборе - монохроматоре.

Существенно повысилась спектральная разрешающая способность, а следовательно и надёжность метода, появилась возможность находить форму и тонкую структуру линий поглощения вещества (биомолекул).

Высокая спектральная яркость и направленность излучения позволили улучшить соотношение сигнал/шум, а следовательно и чувствительность прибора, использовать многоходовые кюветы, либо так называемые внутрирезонаторные методы для измерения предельно малых коэффициентов поглощения. Предельная пороговая чувствительность достигает ве-

личины  $a_{\text{мин}} = 3 \cdot 10^{-10} \text{ см}^{-1}$ , при этом чувствительность метода возрастает (по отношению к нелазерным методам спектрофотометрии в  $10^2 - 10^5$  раз).

Типичным примером прибора, использующего принцип абсорбции (поглощения) излучения, является капнограф - прибор для измерения содержания  $\text{CO}_2$  (углекислого газа) в выдыхаемом человеком воздухе [ 32,33 ]. А количество выдыхаемого углекислого газа, частота и глубина дыхания - напрямую связаны со здоровьем человека. В основу принципа действия этого прибора положено поглощение углекислым газом ИК-излучения в полосе поглощения с максимумом в области 4.3 мкм [ 1 ]. Блок-схема прибора приведена на рис. 34.



**Рис. 34. Оптическая схема измерителя концентрации  $\text{CO}_2$ :**

1 - излучатель, 2 - эталонная кювета, 3 - измерительная кювета, 4 - модулятор излучения, 5 - интерференционный фильтр, 6 - собирающее зеркало приемника, 7 - пироэлектрический приемник, 8 - сапфировые окна. I - Эталонная кювета открыта, II - Измерительная кювета открыта

В качестве источника излучения может использоваться нихромовая спираль, нагреваемая постоянным током, а необходимая (узкая) полоса излучения будет обеспечена интерференционным фильтром (такой простой вариант построения системы избрали авторы [ 32 ]). Для улучшения светосбора приемник и излучатель размещаются в параболических фокусирующих зеркалах. Между излучателем и приемником установлены две кюветы (рабочая-измерительная и контрольная-эталонная, с известной концентрацией  $\text{CO}_2$ ). Модулятор сконструирован так, что поочередно пропускает на приемник излучение от одной из кювет. Концентрация  $\text{CO}_2$  в исследуемой кювете определяется по отношению величин световых потоков, прошедших через рабочую и эталонную кюветы. При этом полагается, что поглощение в среде линейно и описывается формулой Бугера-Ламберта-Берра.

Прибор относительно прост в изготовлении и работе. Но возможности его (прежде всего по чувствительности и точности) ограничены, что

связано с выбором теплового источника ИК-излучения. Полоса пропускания фильтра - около 40 нм и в этой полосе, наряду с полосой поглощения  $\text{CO}_2$ , будут поглощаться и другие газы, в частности  $\text{N}_2\text{O}$  [ 1 ]. И чувствительность, и точность измерения  $\text{CO}_2$  на порядки будут выше при использовании в качестве излучателя полупроводникового лазера (или СИДа).  $\text{CO}_2$  имеет ряд полос поглощения в ближней ИК-области спектра и подобрать "достойную" пару "излучатель-полоса поглощения" - вполне реально.

Теперь кратко остановимся на *оптико-калориметрических* методах диагностики. В основе этих методов (как видно из рис.32.) лежит эффект поглощения света с возбуждением безызлучательных состояний молекул биообъекта, с последующей их безызлучательной релаксацией, приводящей к нагреву биообъекта. В этом случае изменение температуры биообъекта под действием излучения ( $\Delta T$ ) и будет служить информационным параметром. Калориметрические (термические) методы хорошо работают тогда, когда исследуемые среды практически непрозрачны (их называют оптически плотными) и обладают слабой флуоресценцией. Здесь возможны методы непосредственного измерения температуры с помощью контактных термодатчиков, либо методы оптико-термической радиометрии, основанные на измерении интенсивности теплового ИК-излучения, нагретого лазерным излучением биообъекта.

Одним из таких методов является метод визуализации теплового излучения с помощью приборов-тепловизоров, с выводом информации на экран телемонитора. Этот метод может работать и без дополнительной подсветки внешним излучением. Тепловизионная томография успешно используется для диагностики заболеваний различных органов, поскольку любое отклонение от нормального функционирования приводит к изменению температуры данного органа.

Широкое распространение в последнее время получил оптико-акустический (ОА) метод. Суть его заключается в преобразовании тепловых колебаний в исследуемой кювете в акустические, которые могут регистрироваться микрофоном, либо пьезоэлектрическим преобразователем [34]. Благодаря своей высокой чувствительности этот метод особенно хорошо работает при анализе загрязняющих атмосферу газов, анализе выдыхаемого воздуха человеком и растениями [35]. Незаменим ОА-метод и при исследовании крови, поскольку методы простой абсорбции здесь плохо работают, вследствие большого светорассеяния в плазме крови. Так ОА-метод позволяет диагностировать заболевание лейкемией, различными сердечно-сосудистыми заболеваниями. Рис. 35 демонстрирует такую возможность.

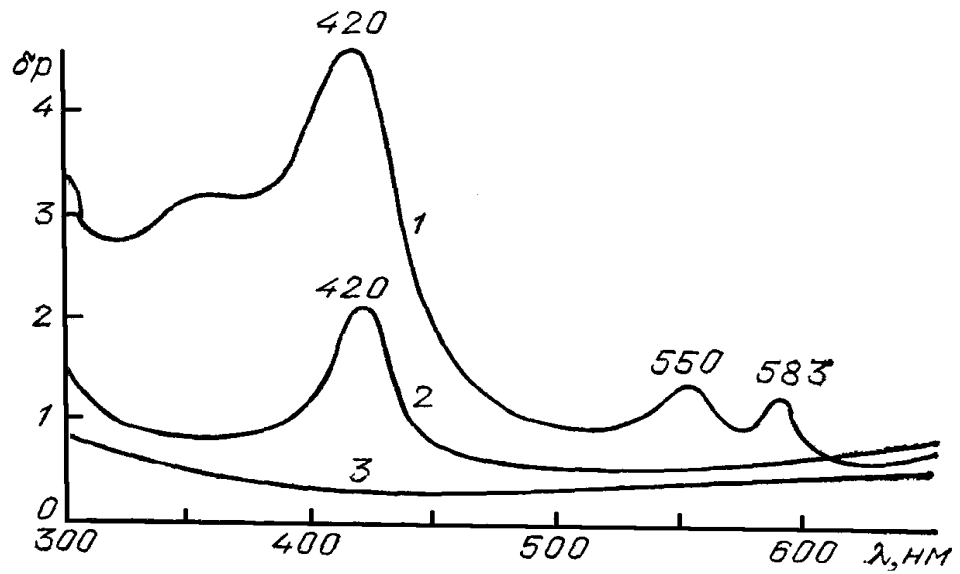


Рис. 35. ОА-спектры цельной крови здорового человека(1), больных лейкозией (2,3)

Важным классом диагностических задач в биологии и медицине является анализ движущихся газовых и жидких сред (дыхание, кровотоки, счет одиночных движущихся биочастиц). Некоторые примеры динамических калориметрических измерений приведены на рис. 36.

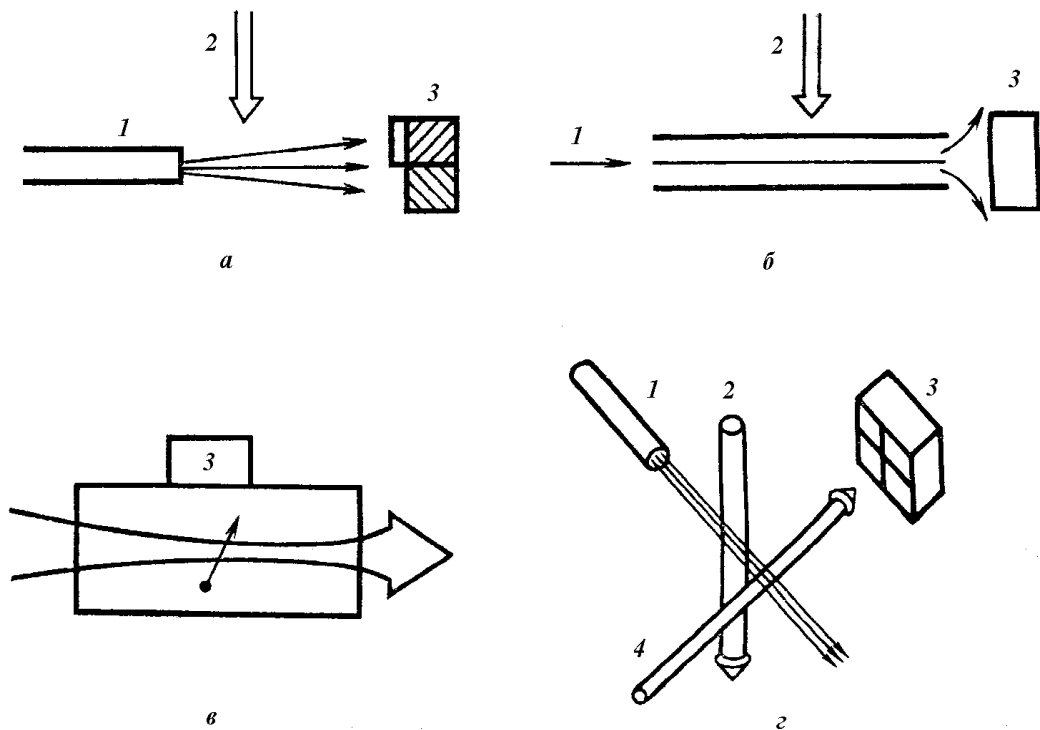


Рис. 36. Примеры динамических калориметрических систем  
1 - поток жидкости, 2 - возбуждающий лазерный пучок, 3 - ОА-приемник

Выбор оптимального соотношения между скоростью потока, частотой модуляции света и расстоянием между зонами возбуждения и регистрации позволяет в схеме а) достичь пороговой чувствительности по поглощению на уровне  $10^{-7} \text{ см}^{-1}$ . Схема б) предназначена для применения в жидкостной хроматографии. Здесь приемником излучения служит пьезодатчик. С помощью схемы в) можно детектировать отдельные частицы, которые, влетая в зону жесткой фокусировки лазерного пучка, скачком увеличат амплитуду ОА-сигнала.

### 3.5.3.2. Лазерный флуоресцентный анализ

Применение люминесцентного анализа в медико-биологических исследованиях стало нормой сегодняшнего дня. Люминесценция активно используется для диагностики различных физиологических процессов, процессов поступления и вывода лекарств, диагностики заболеваний, в том числе и рака, контроля пищевых продуктов и окружающей среды [36,37].

Применение лазерной техники в люминесцентном анализе не только ускоряет процесс диагностики, но и позволяет использовать принципиально новые методы и средства, свойственные лазерным методам.

В основе методов лазерно-флуоресцентного анализа лежит способность молекул, поглощая световую энергию, испускать более длинноволновое излучение при переходе из электронно-возбужденного состояния в основное (рис. 37).

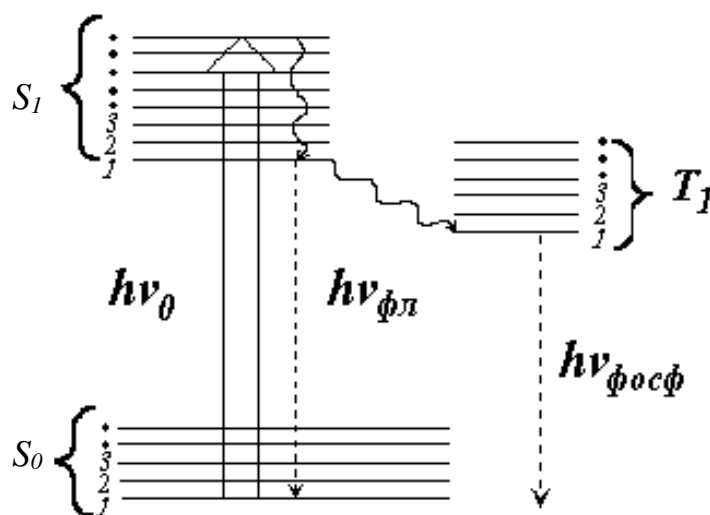


Рис. 37. Упрощенная схема переходов в молекуле

Возбуждение атомов и молекул при лазерном флуоресцентном анализе обычно производится видимым, либо УФ-излучением, с энергией кванта в несколько единиц эВ. Возбуждение происходит преимущественно в синглетные (оптически связанные с основным) состояния - так называемые S- состояния. Реакция молекулы на поглощение кванта очень быстрая и составляет около  $10^{-15}$  с. Далее, поскольку в конденсированной фазе

(жидкости) находится много молекул в единице объема, то в процессах столкновений молекула из состояния  $S_{1n}$  быстро реагирует в нижнее колебательное состояние  $S_{11}$  (за времена порядка  $10^{-11}$  -  $10^{-12}$  с.). Спонтанный (самопроизвольный) переход в состояние  $S_0$  сопровождается испусканием квантов света с меньшей энергией (или, что то же самое с большей длиной волны). Типичные времена такого процесса, который назвали флуоресценцией, составляют  $10^{-8}$  с.

Впрочем, есть вероятность и другого процесса - фосфоресценции. Этот процесс имеет место тогда, когда определенная часть молекул не успев "высветиться" в основное состояние, перейдет в долгоживущее (триpletное -  $T_1$ ) состояние и затем уже перейдет в основное, излучив квант энергии. Фосфоресценция - менее вероятный (или, иначе говоря - более длительный) процесс. Типичные времена фосфоресценции -  $10^{-2}$ - $10^{-3}$  с. Фосфоресценция имеет и большую длину волны излучения, чем флуоресценция. Фосфоресценция может играть значительную роль в твердых телах, в жидких же средах она менее вероятна, чем флуоресценция, и мы ограничимся рассмотрением лишь флуоресцентных методов и средств диагностики.

Многие биологические объекты обладают собственной (естественной) флуоресценцией. Так, белки поглощают эффективно свет в области 280 нм (ближний УФ-диапазон спектра) и затем флуоресцируют в области длин волн 300-350 нм. Около 90% всей флуоресценции обеспечивает присутствующая в белках ароматическая аминокислота триптофан. Флуоресцируют в белках также и другие аминокислоты (тирозин, фенилаланин, цистеин, цистин). Естественной флуоресценцией обладают ферменты, витамины, гормоны и т.д. Флуоресценция в красной области спектра (при возбуждении видимым излучением) вызвана наличием в клетках порфиринов.

Иногда естественных флуоресцентных свойств биообъекта бывает недостаточно для надежной диагностики. В таких случаях прибегают к искусственному введению в биообъект флуорофоров (веществ с хорошими флуоресцентными свойствами). Такие методы иногда называют зондовыми, а вводимые вещества - зондами. В разделе 2.4. мы уже говорили об использовании таких зондов (производных гематопорфиринов) в фотодинамической терапии.

Эксперименты с использованием лазерно-флуоресцентного анализа сводятся

- а) к селективному возбуждению флуоресценции биообъекта;
- б) к измерению параметров испущенного излучения (флуоресценции).

К таким параметрам относятся

*интенсивность флуоресценции*, т.е. число излучаемых фотонов  $dN_\phi$  в полосе излучения  $d\lambda_\phi$ , с максимумом излучения на длине волны  $\lambda$ , т.е.  $I_\phi = dN_\phi / d\lambda_\phi$ ;

*спектры возбуждения и флуоресценции*, т.е.  $I_{\text{в}} = f(\lambda)$  и  $I_{\text{ф}} = f(\lambda)$ ;

*квантовый выход флуоресценции* - отношение числа излучаемых фотонов к числу поглощенных, т.е.  $k_{\text{ф}} = N_{\text{ф}} / N_{\text{п}}$ ;

*характерное время жизни* (затухания, высвечивания) флуоресценции, такое время ( $\tau$ ), за которое интенсивность флуоресценции уменьшается в  $e$ -раз, т.е.  $I_{\text{ф}} = I_{\text{ф0}} e^{-t/\tau}$ , где  $I_{\text{ф0}}$  значение интенсивности флуоресценции в максимуме;

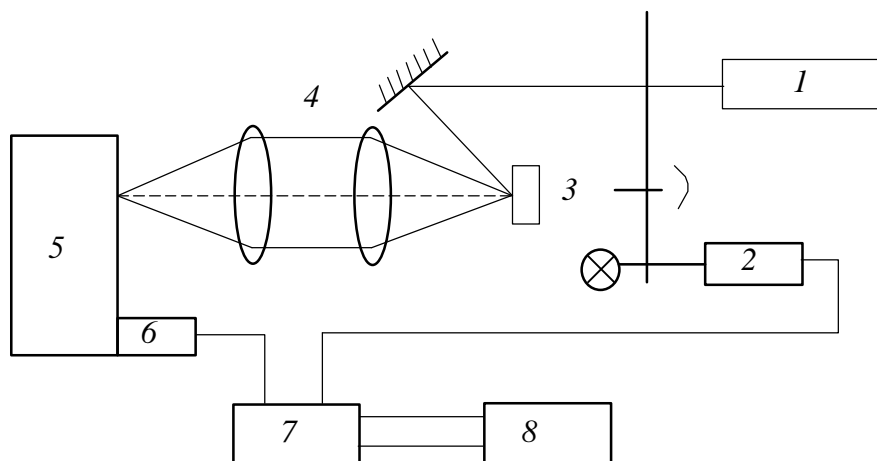
*степень поляризации флуоресценции*, так как флуоресцентное излучение всегда частично поляризовано.

В результате измерение спектров флуоресценции, времен жизни, квантовых выходов, поляризации (анизотропии) флуоресценции несет информацию о процессах, протекающих в биообъектах.

В качестве примера использования лазерно-флуоресцентной диагностики рассмотрим задачу определения ионов кальция  $\text{Ca}^{2+}$  внутри живых клеток. Эта задача решается с помощью лазерного микрофлуориметра с применением флуоресцентного зонда - красителя индо-1. Этот краситель в комплексе с  $\text{Ca}^{2+}$  имеет максимум поглощения на длине волны 331 нм, а максимум флуоресценции приходится на длину волны 398 нм, с квантовой эффективностью 0,56. Возбуждение флуоресценции осуществляется *He-Cd*-лазером ( $\lambda = 325$  нм) с мощностью зондирующего излучения 1 мкВт. Концентрация ионов кальция определяется из сравнения интенсивностей флуоресценции от рабочего объекта с интенсивностью флуоресценции от калиброванного (эталонного) раствора красителя. Использование такой установки позволило впервые определить концентрацию ионов кальция (100-300 нмоль/л) в живых клетках с точностью  $\pm 10$  нмоль/л, с пространственным разрешением 2 мкм за время менее 0,5 с. Более подробно рассмотрим лазерно-флуоресцентный метод ранней диагностики опухолевых заболеваний.

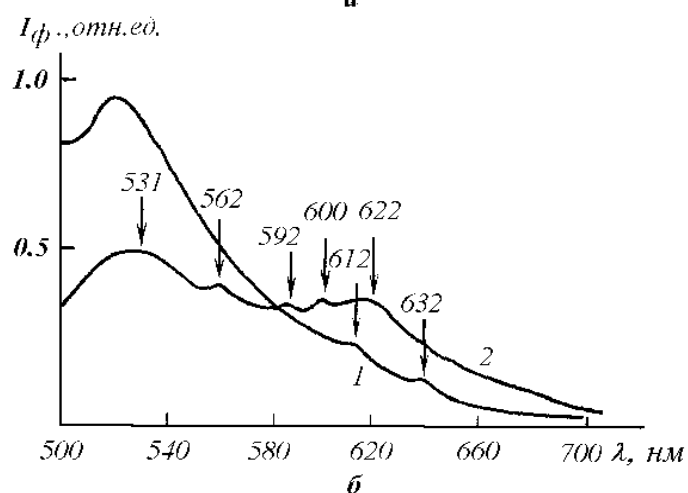
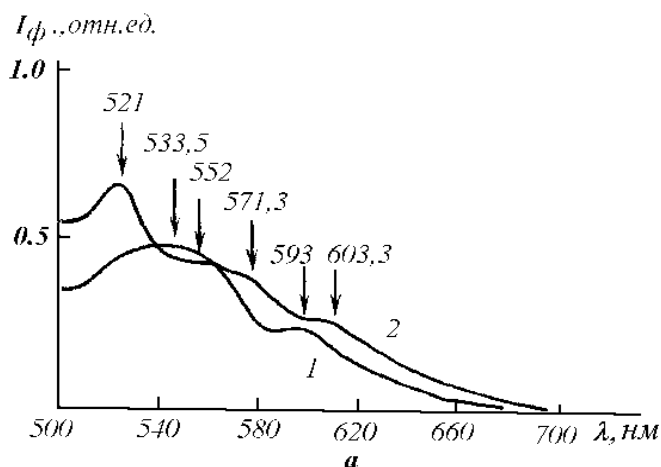
Задолго до применения лазеров в медицине было установлено, что спектры флуоресценции от нормальных и опухолевых тканей различны. На рис. 38 приведена и блок-схема лазерного флуориметра. На рис. 39 приведены спектры флуоресценции, полученные от здоровой и опухолевой почки и предстательной железы экспериментальной крысы.

Видно, что спектры существенно различаются, что и является основой для диагностики рака. В качестве источника излучения в данном флуориметре использован  $\text{Ar}^+$ -лазер, с длиной волны излучения 488 нм, с мощностью 100 мВт. Излучение лазера модулировалось механическим прерывателем с частотой 200 Гц и сфокусированное в пятно диаметром 100 мкм, направлялось на поверхность исследуемой ткани. Флуоресцентное излучение оптической системой заводилось в монохроматор, с помощью которого (и ФЭУ с усилителем, настроенным на частоту 200 Гц) прописывался спектр флуоресценции на самописце.



**Рис. 38. Схема лазерного флуориметра:**

1 - Ar<sup>+</sup>-лазер, 2 - модулятор, 3 - объект, 4 - оптическая фокусирующая система, 5 - монохроматор, 6 - ФЭУ, 7 - усилитель, 8 - самописец

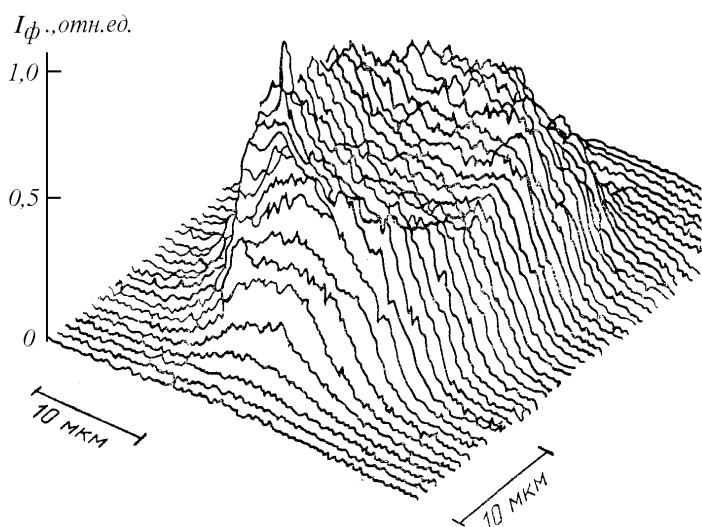


**Рис. 39. Спектры флуоресценции от почки (а) и предстательной железы (б) крысы:**

1- здоровый орган, 2 - опухолевый



Использование флуоресцентного зонда существенно расширяет возможности флуоресцентной диагностики опухолей, что основано на способности злокачественных клеток и тканей накапливать флуоренты в большей степени, чем здоровые клетки и ткани. Так препарат "флюоренат" обеспечивает контрастность наблюдения опухоли на фоне флуоресценции от здоровых тканей 50/1, при возбуждении флуоресценции излучением *He-Cd*-лазера (основной переход 441,6 нм попадает в максимум полосы поглощения флюорената). На рис.40 приведен пример измерения распределения интенсивности флуоресценции по раковой клетке человека после 1-часового содержания ее в растворе одного из ППП (производные гематопорфиринов).

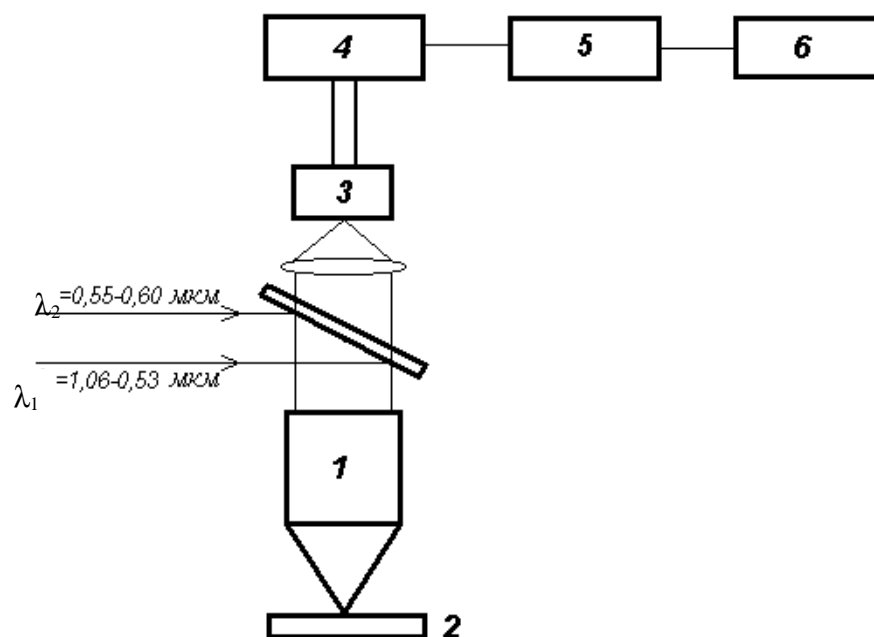


**Рис. 40. Распределение интенсивности флуоресценции по раковой клетке человека, сенсibilизированной ППП**

Концентрация красителя составляла 50 мкг/см<sup>3</sup>, плотность мощности излучения непрерывного аргонового лазера на поверхности клетки была 0,4 мВт/см<sup>2</sup>. Измерения проведены на лазерном флуоресцентном микроскопе, оборудованном высокочувствительной системой регистрации, цифровой обработкой полученной информацией и представлением ее в виде изображения на экране дисплея.

Достоверность диагностики существенно возрастет при использовании временных (кинетических) характеристик флуоресценции, что автоматически предполагает использование импульсных лазеров с нано- и пикосекундной длительностью генерации, генерирующими в видимой и ближней УФ-областях спектра (в частности вторая гармоника *Nd+YAG*-лазера - 532 нм, зеленая линия лазера на парах меди - 510,6 нм, золота - УФ-переход 312,2 нм). Блок-схема пикосекундного флуоресцентного микроскопа, приведена на рис. 41. В данном приборе используется две длины волны: первая (либо вторая) гармоника твердотельного лазера ( $\lambda_1$ ) и плавнопереключаемое излучение лазера на красителе ( $\lambda_2$ ).

Использование лазеров в рассмотренном методе является принципиальным, так как только лазер способен создать необходимую спектральную плотность возбуждающего флуоресценцию излучения, а также использовать волоконную оптику для доставки излучения к внутренним



**Рис. 41. Схема пикосекундного флуоресцентного микроскопа:**  
 1 - фокусирующие линзы, 2 - объект, 3 - монохроматор, 4 - ФЭУ, работающее в режиме счета фотонов, 5 - счетчик фотонов, 6 - микроЭВМ, 7 - дихроичное зеркало (отражающее зондирующее излучение и пропускающее только флуоресценцию)

органам. По тому числу публикаций, которое в последнее время накоплено по апробации этого метода и сопутствующего метода лазерной фотодинамической терапии, следует ожидать, что они станут одними из основных в диагностике и лечении онкологических заболеваний.

Наряду с рассмотренными примерами использования лазернофлуоресцентного метода диагностики, возможна диагностика ишемической болезни сердца, атеросклероза, других заболеваний, дистанционное зондирование фотосинтезирующих организмов в естественных водоемах (например фитопланктона) и т.д.

Таким образом, лазерно-флуоресцентный анализ является одним из наиболее информативных методов микродиагностики и, что очень важно, неразрушающим методом. Хотя в современной диагностике еще широко используются и разрушающие методы такие, как методы лазерного микроспектрального анализа, лазерно-ионизационной спектроскопии, лазерной масс-спектроскопии.

Естественно, что лазерные методы диагностики не стоит противопоставлять традиционным методам, в тех случаях, когда они дают достаточную и достоверную информацию. Ведь лазерные методы весьма сложны и дорогостоящи. В тех же случаях, когда традиционные методы не

работают или дают большую погрешность, лазерные методы могут оказаться единственно возможными. В настоящее время и в ближайшем будущем, в связи с массовым внедрением лазеров в медицину, их роль будет нарастать.

### **Заключение**

Готовя к публикации данное учебное пособие, авторы не ставили своей целью охватить всевозможные применения лазеров в медицине. Да это и вряд ли возможно, поскольку, с одной стороны, их просто очень много и, с другой, далеко не все из них надежно апробированы. Кроме того, имеется довольно много монографий и оригинальных статей по применениям лазеров в медицине, часть из которых авторы приводят в цитируемой литературе, и при необходимости читатели могут ознакомиться с конкретными методиками более подробно. Смысл данного пособия авторы видели, прежде всего, в знакомстве будущих специалистов по медицинской электронике с основными направлениями использования лазеров в медицине и, в большей степени, с физическими и техническими аспектами применения лазеров в этой области.

## Инструкция по технике безопасности при работе с лазерами

### 1. Общие сведения

Лазерное излучение (прямое, отраженное либо рассеянное) при попадании в глаза, на кожный покров человека может вызвать их повреждение. Поглощаясь биологическими тканями, излучение лазера может приводить к необратимым процессам в живом организме. В частности, энергия лазерного излучения может превратиться в тепловую энергию, вызывая ожог кожи, либо коагуляцию сосудов. Под действием мощного излучения могут обесцвечиваться волосы и серьезно разрушаться кожный покров.

Действие лазерного излучения на биологические объекты зависит от мощности светового потока, длины волны облучения, режима работы лазера. Лазеры непрерывного действия малой мощности оказывают в основном тепловое воздействие, которое приводит к фотокоагуляции. Более мощные лазерные системы (в частности  $CO_2$ ,  $CO$  - лазеры способны разрезать ткани, что и используется в лазерной хирургии).

Импульсные лазеры с длительностью импульса от единиц нс до единиц мс и энергией в импульсе от единиц до тысяч Дж, кроме теплового воздействия, могут приводить к взрывным процессам в тканях.

Опытами на животных однозначно установлено, что лазерное излучение влияет и на нервную систему. Так при облучении головного мозга мышцей сфокусированным лазерным пучком развивался паралич и наступала смерть. Особенно опасно лазерное излучение для глаз, причем даже самых слабощных гелий-неоновых лазеров. Опытным путем на животных установлены допустимые плотности мощности и энергии (для случая импульсного воздействия) для органов зрения:

при непрерывном излучении -  $0.35 \text{ Вт/см}^2$ ;

при импульсном с длительностью около 30 мкс -  $0.27 \text{ Дж/см}^2$ .

Простые оценки показывают, что излучение слабощного гелий-неонового лазера при попадании в глаз может нарушить сетчатку. Проведем эту оценку. Пусть мощность лазера - 1 мВт. Оптическая система глаза представляет собой подобие собирающей (фокусирующей) линзы. Плотность мощности лазерного излучения в фокусе линзы  $p$  составляет:

$$p = (D/f\lambda)^2 P, \quad (1)$$

где  $P$  - мощность лазера,  $D$  - диаметр линзы (в данном случае входного зрачка),  $f$  - фокусное расстояние системы (для глаза  $f = 1,5 \text{ см}$ ),  $\lambda$  - длина волны излучения = 632,8 нм.  $D$  изменяется в зависимости от яркости облучения от 1 до 7 мм. Полагая для простоты  $D = 0,1 \text{ см}$ , получаем

$$p = (0.1 \text{ см} / 1.5 \text{ см} * 0.00006 \text{ см})^2 * 1 * 0.003 \text{ Вт} = 1.2 * 10^3 \text{ Вт/см}^2, \quad (2)$$

что значительно превышает допустимое значение ( $0.35 \text{ Вт/см}^2$ ).

Из формулы (1) очевидно, что существенное значение имеет диаметр зрачка, который меняется в зависимости от освещенности. Поэтому и рекомендуется работать с лазерами в хорошо освещенных помещениях, когда диаметр зрачка - минимальный. Впрочем, этому требованию при настроечных работах удовлетворить трудно - они проводятся в затемненном помещении.

Таким образом, прямое попадание в глаз излучения маломощного лазера, либо отраженного или рассеянного излучения мощного лазера опасно для обслуживающего персонала и пациентов. При больших мощностях и энергиях могут страдать, как отмечено выше, кожный и волосяной покровы, центральная нервная система.

Соответственно, необходим перечень защитных мероприятий.

1. Прежде всего, это определение предельно допустимых уровней мощностей (для непрерывных и квазинепрерывных) лазеров и энергий (для импульсных) для глаз, кожного покрова, нормального функционирования нервной системы и т.д. Как следствие - разработка требований к обслуживающему персоналу.
2. Разработка правил охраны труда в помещениях, где работают лазерные установки (требования к помещениям).
3. Разработка технических описаний и инструкций по эксплуатации (ТО и ИЭ) лазерных установок (конкретно к используемым).

Применительно к проведению исследовательских работ с лазерным излучением и разработке лазерной аппаратуры по п.1 и 2 - подробно можно ознакомиться в литературе [13,38], применительно же к использованию лазеров в практической медицине - в [39]. Здесь же перечислим основные.

К работе с лазерными установками допускаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинское обследование на предмет допуска к таким работам и аттестацию по охране труда и технике безопасности (ОТ и ТБ) - не менее 1 раза в год.

Площадь для кабинетов лазеротерапии следует определять из расчета  $6 \text{ м}^2$  на одну кушетку, но не менее  $12 \text{ м}^2$ , включая место для приема, осмотра и регистрации пациентов. При кабинете должно быть предусмотрено место для хранения ЗИПа, дополнительных насадок, проведения сервисного обслуживания и текущего ремонта лазерной аппаратуры. Пол, стены и потолки помещений, покрытия аппаратуры должны быть матовыми, так чтобы коэффициент отражения не превышал 0,4.

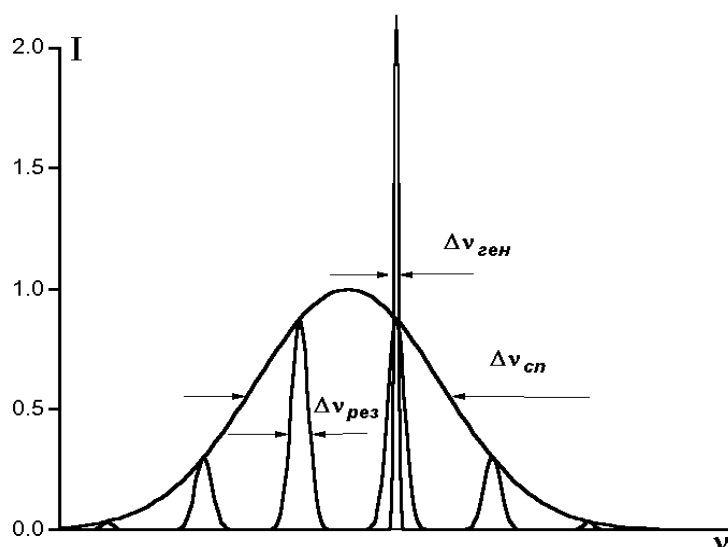
Кабинеты лазеротерапии в клиниках, больницах согласно СНП-11-69-68(б) отнесены к разряду физиотерапевтических и приравнены к кабинетам обычного светолечения. Однако объединять их не рекомендуется.

### Собственные частоты резонатора Фабри-Перо

Проведем оценки количества собственных частот резонатора Фабри-Перо (рис. 9 – рис. П.2.2 в гл. 2). Для простоты положим, что расстояние между зеркалами резонатора ( $L$ ) равно 0,5 м. На этом расстоянии должно укладываться четное число полуволин:

$$L = n (\lambda / 2) \quad (\text{П } 2.1)$$

где  $\lambda$ - “красная” длина волны равная 632,8 нм



**Рис. П 2.2 Форма и ширина спектральных линий излучения гелий-неонового лазера:**

$\Delta \nu_{сп}$  - ширина спектральной линии  $NeI$ ,  
 $\Delta \nu_{рез}$  - ширина линии резонатора (генерации)

С учетом того, что  $\lambda = c / \nu$ , расстояние между двумя соседними частотами  $\Delta \nu = (\nu_2 - \nu_1)$  с  $n_2 = (n + 1)$  и  $n_1 = n$ , составит  $c / 2L$ .

С учетом того, что  $L = 0.5$  м, а  $c$  – скорость света, имеем:

$$\Delta \nu = (\nu_2 - \nu_1) = 3 \cdot 10^8 \text{ м с}^{-1} / 2 \cdot 0.5 \text{ м} = 3 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1} = 300 \text{ МГц.}$$

Таким образом, расстояние между двумя собственными частотами резонатора составляет  $3 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1}$  (или 300 МГц - в частотной мере). Чаше полуширины спектральных линий и расстояния между ними измеряют в нм (или ангстремах,  $1 \text{ \AA} = 0,1 \text{ нм}$ ).

$$\Delta \lambda = c \Delta \nu / \nu^2 .$$

$$\text{Так как } \nu = c / \lambda = 3 \cdot 10^8 \text{ м с}^{-1} / 0.6 \cdot 10^{-6} \text{ м} = 5 \cdot 10^{14} \text{ с}^{-1} .$$

$$\Delta \lambda = c \Delta \nu / \nu^2 = 3 \cdot 10^8 \text{ м с}^{-1} \cdot 3 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1} / 25 \cdot 10^{28} \text{ с}^{-2} = 0,4 \cdot 10^{-12} \text{ м} = 0,4 \cdot 10^{-3} \text{ нм} = 0,4 \cdot 10^{-2} \text{ \AA} .$$

С учетом того, что типичная ширина спектральной линии составляет десятые доли ангстрема (для простоты положим  $0,4 \text{ \AA}$ ), получаем, что внутри спектральной линии уложится около ста собственных линий (частот) резонатора. Соответственно, ширина линии излучения лазера при генерации на одной частоте  $\Delta \nu_{рез}$  – менее  $0,4 \cdot 10^{-2} \text{ \AA}$ .

### Примеры тем для рефератов

1. Лазерные устройства для низкоинтенсивной терапии. Современное состояние и тенденции развития.
2. Современные лазерные хирургические установки на базе CO<sub>2</sub> и СО-лазеров.
3. Лазерный флуоресцентный анализ в ранней диагностике онкологических заболеваний.
4. Современное состояние мирового лазерного рынка (применительно к медицине).
5. Лазерная аппаратура для диагностики и контроля окружающей среды.
6. Вопросы лазерной безопасности.
7. Основы фотодинамической терапии (ФДТ).
8. Лазеры для ФДТ.
9. Современные проблемы ФДТ, красители для ФДТ.
10. Лазерная микрохирургия глаза.
11. Голографические методы диагностики глаза.
12. Методы лазерной диагностики глаза.
13. Основы низкоинтенсивной лазерной терапии (НЛТ).
14. Механизмы воздействия лазерного излучения на биообъект.
15. Лазерный флуоресцентный анализ в диагностике онкологических заболеваний.
16. Методы поглощения в лазерной диагностике.
17. Лазерная реканализация сосудов.
18. Световодная техника в медицине.
19. Современные твердотельные лазеры и их применение в медицине.
20. Атомно-абсорбционные методы диагностики (в частности ртути).
21. Воздействие лазерного излучения на кровь.
22. Лазерная рефлексотерапия.
23. НЛТ в лечении язв желудка и двенадцатиперстной кишки.
24. Лазерная биоэнерготерапия при травмах органов зрения.
25. Эритроцитарные эффекты фотооблучения крови.
26. Лазерные и светодиодные пульсоксиметры.
27. Анализ мирового рынка лазерной медтехники.
28. Современные лазерные диоды и СИДы для медицины.

Образец реферата, выполненного студентом группы 1М30

Кононовым М.В

**Взаимодействие низкоинтенсивного лазерного излучения с кровью***Первые исследования*

Первые исследования на отдельных клетках крови, облученных при длине волны 0,6943 мкм с использованием рубинового лазера, объединенного с микроскопом, были выполнены Бессисом и Тер-Погосяном [1] во Французском национальном центре по переливанию крови в 1964 г. Результаты взаимодействия наблюдались через телевизионную систему. Было обнаружено разрушение красных кровяных клеток на месте повреждения. Бессис и сотрудники облучали также белые кровяные клетки и тканевые культуры. Для избирательного облучения митохондрий применялось прижизненное окрашивание красителем янусом зеленым клеточных структур. Делалось несколько фотоснимков для наблюдения воздействия на облученные и прилежащие клетки, чтобы определить, ведут ли они себя индифферентно, притягиваются или отталкиваются.

В параллельных исследованиях *in vivo*, проведенных англичанином Файном и сотрудниками [1], изучалось действие лазерного излучения на сосудистые структуры. Для определения эффектов на отдельных элементах крови применяли лазер с длиной волны 0,6943 мкм, соединенный с микроскопом. Были исследованы тромбоциты, эритроциты и лейкоциты крови человека и аллигатора. Эритроциты человека обычно сморщиваются в клетки неправильной формы, имеющие ширину 2,5 мкм в различных направлениях, эритроциты аллигатора (эллиптической формы, размерами около 30×10 мкм) сжимаются в многодольчатые структуры с размерами от одной десятой до одной тридцатой исходных размеров. Если облучению подвергается часть клетки, не содержащая ядра, необлученная часть этой клетки остается практически неизменной.

При облучении такими уровнями энергии не наблюдалось изменений в морфологии или амебоидном движении гранулоцитов. Прибавление метиленовой сини (конечная концентрация 0,0001 %) не останавливало амебоидного движения, но заметно изменяло действие облучения. В зависимости от места и энергии облучения, белые кровяные клетки частично или полностью фрагментировались. Их амебоидное движение прекращалось, даже когда еще сохранялась видимая целостность структуры. Облучение тромбоцитов не показало видимых эффектов до прибавления метиленовой сини. В присутствии же последней, облучение тромбоцитов приводило к фрагментации с выделением (или образованием) гранулярного материала.



## *Внутривенное облучение крови*

В процессе проведения лабораторных опытов и накопления клинического материала о благотворном воздействии НЛИ (а точнее, излучения *HeNe*-лазера) с определенной дозировкой на кровь человека стала возможной реализация нового метода лазерной терапии - внутривенного облучения крови (первая публикация в 1981 г.) [2]. Авторы привели экспериментальные данные о значительном повышении выживаемости у животных с моделированными острыми нарушениями кровоснабжения ряда органов благодаря применению внутривенного облучения крови излучением *HeNe*-лазера с длиной волны 0,63 мкм и мощностью около 0,5 Вт в течение 30-60 мин. В 1983 г. те же авторы сообщают, что ими проведено уже около 1000 клинических наблюдений, показавших эффективность лазерного внутривенного облучения крови при острой ишемии ряда органов. В 1984 г. появились сообщения об успешном применении этого метода при лечении деструктивного панкреатита, для профилактики и лечения гнойно-септических осложнений, а также для предупреждения инфарктной смерти.

Перспективность метода внутривенной лазерной терапии, а также ряд особенностей его реализации обусловили целесообразность создания специализированного лазерного аппарата для внутривенного облучения крови *АЛОК-1* [2]. В качестве источника излучения в аппарате применен малогабаритный *HeNe*-лазер *ЛГН-208А* с выходной мощностью излучения не менее 2 мВт на длине волны 0,63 мкм. Лазерное излучение передается в кровеносный сосуд по светопроводу, выполненному на основе гибкого моноволоконного световода с наружным диаметром около 1 мкм. При проведении процедуры световод вводится либо в подключичную вену через катетер, либо в локтевую - через иглу. При этом используются типовые катетеры и иглы с достаточным для проведения световода внутренним диаметром. Для исключения вынужденных простоев аппарата на время стерилизации, составляющих не менее 45 мин, он комплектуется пятью сменными светопроводами. Конструкция оптического разъема позволяет производить смену светопроводов без дополнительной юстировки.

По истечению заданного времени облучения (30 или 60 мин) подача лазерного излучения в кровеносный сосуд автоматически прекращается. Кроме того, в связи со значительной продолжительностью процедуры предусмотрена цифровая индикация текущего времени облучения в минутах, а также световая индикация и звуковая сигнализация об истечении заданного времени облучения.

Конструкция лазера и оптического разъема для подключения светопровода обеспечивает достаточно малую нестабильность (не более  $\pm 10\%$ )

выходной мощности излучения. Благодаря этому исключена необходимость ее контроля перед каждой процедурой. Для периодической проверки выходной мощности в порядке технического обслуживания аппарата в нем предусмотрен стрелочный индикатор с обозначением зоны, в пределах которой мощность излучения достаточна для эффективного облучения крови.

Таблица 1

Технические характеристики аппарата *АЛОК-1*

Мощность излучения на выходе светопровода, мВт	не менее 1
Время облучения, мин	30 и 60
Мощность, потребляемая от сети питания 220 В, В · А	не более 45
Габариты, мм	410×265××115
Масса, кг	6.5

В процессе клинических исследований внутривенное облучение крови было проведено у 151 больного, из них инфаркт миокарда был у 20 больных, облитерирующие заболевания артерий конечностей- у 90 больных, острые заболевания органов брюшной полости- у 41 больного.

При инфаркте миокарда облучение проводилось в первые сутки. Время облучения от 30 до 60 мин, число сеансов от 1 до 3. По данным ЭКГ в 35 прекардиальных отведениях в результате облучения произошло отчетливое уменьшение периинфарктной зоны, что выражалось в суммарном уменьшении величины интервала *S-T* (в среднем от  $21,9 \pm 2,2$  до  $14 \pm 1,1$  мс при  $p < 0,01$ ). В результате уменьшились или исчезали боли, восстанавливался нормальный ритм.

При облитерирующих заболеваниях периферических артерий лечение было эффективным в 75%. Время облучения в этой группе 60 мин, число сеансов 12-15. Клиническое улучшение объективизировалось современными неинвазивными методами изучения кровотока (доплерография, реография и т. п.). В большинстве этих случаев патологические изменения в дистальных отделах конечностей были необратимы.

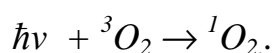
При острой хирургической патологии брюшной полости облучение крови проводилось только тем больным, у которых предшествовавшее общепринятое лечение в течение суток было малоэффективным, а показаний к операции не было. Время облучения 60 мин, число сеансов от 2 до 9 в зависимости от клинического эффекта.

По нозологическим формам больные с острой хирургической патологией брюшной полости распределялись следующим образом: острый панкреатит- 13 больных, острый холецистит- 20, перитонит- 8. Клинический эффект выражался в уменьшении болевого синдрома, появлении сон-

ливости, улучшении общего самочувствия. При биохимических анализах отмечено повышение активности некоторых ферментов в эритроцитах, усиление иммунных свойств крови, улучшение ее реологии.

Специфических осложнений при использовании внутривенного облучения крови не наблюдалось.

Ввиду неспецифического характера стимулирующего действия лазерного облучения крови на ее функции представляет интерес исследование этого метода при самых различных формах патологии. В экспериментах было показано, что при облучении красных клеток крови (эритроцитов) излучением гелий-неонового лазера за процесс клеточной биостимуляции отвечает реакция фотогенерации синглетного кислорода (ФГСК) [3]:



В данной реакции участвует кислород, растворенный во внеклеточном пространстве. Причем этот механизм, как было показано, работает только в нескольких узких спектральных интервалах, расположенных в видимой и ближней ИК-диапазонах спектра. Спектр действия лазерного излучения на кровь и спектр поглощения кислорода, растворенного во фреоне, практически совпадают.

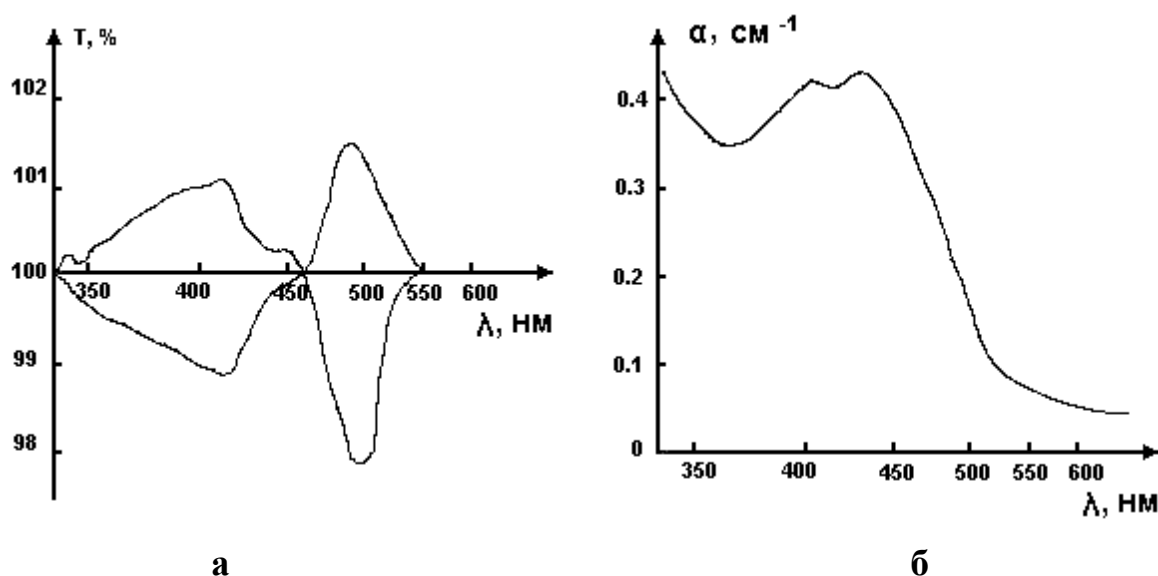
Таким образом, при проведении внутривенной лазерной терапии, например при лечении ишемической болезни сердца с использованием гелий-неонового лазера с длиной волны 632,8 нм, наблюдаемый терапевтический эффект обусловлен поглощением фотонов молекулярным кислородом, растворенным в крови.

#### *Изменение оптических свойств плазмы крови под действием НЛИ*

К настоящему времени большинство результатов по биостимуляции *in vitro* получено в экспериментах с клетками. На основании регистрации изменений клеточного метаболизма выдвигаются гипотезы о возможных механизмах действия света. Представляется чрезвычайно важным изучение эффектов на молекулярном уровне, так как очевидно, что первичным актом действия света на организм являются изменения в молекулах.

Несомненный интерес представляет изучение действия света на молекулы, способные его эффективно поглощать. В живых организмах таким свойством обладают в основном металлопротеины. В работе [4] изучалось действие излучения *HeNe*-лазера на один из представителей металлопротеинов- супероксиддисмутазу (СОД). Авторам удалось восстановить активность почти полностью ингибированной сдвигом рН в кислую область СОД за одну минуту облучения с плотностью мощности 20 мВт/см<sup>2</sup>. После прекращения облучения СОД релаксирует к исходному состоянию.

В качестве объекта исследований была выбрана плазма крови человека, в состав которой входит ряд металлопротеинов (в том числе гемоглобин, трансферрин и церулоплазмин). Регистрация изменений спектра поглощения плазмы производилась на двухканальном спектрофотометре «Спекорд М40». Во всех экспериментах применялись спектрофотометрические кюветы ( $L = 1$  см). В качестве источников света использовались аргоновый лазер ( $\lambda = 488$  нм), *HeCd*-лазер ( $\lambda = 441.6$  нм) и специально созданный на базе монохроматора *МСД-1* перестраиваемый узкополосный источник света. Излучение от источников доставлялось световодом в кюветное отделение спектрофотометра, что позволило регистрировать изменения спектра поглощения в реальном масштабе времени. На рис. 1, а приведен спектр поглощения плазмы. Минимум в области 455-460 нм обусловлен присутствием в плазме железонасыщенного трансферрина. Экспериментально установлено, что под действием низкоинтенсивного света изменяется спектр поглощения плазмы крови человека в области 350-550 нм (см. рис. 1, б), причем свет фиолетовой и зеленой областей оказывает разнонаправленное действие. Времена развития светоиндуцированных эффектов - порядка секунд (они зависят от интенсивности действующего света), времена релаксации спектра после прекращения облучения - порядка десятков минут (они зависят от фракционного состава плазмы).



**Рис. 1. Спектр поглощения плазмы (а) и изменение спектра поглощения плазмы (Т- коэффициент прохождения света) (б) в результате облучения в течение 5 мин светом с интегральной интенсивностью  $I = 50$  мкВт/см<sup>2</sup>,  $\lambda_{\text{max}} = 500$  нм,  $\Delta\lambda = 3$  нм (1) и  $\lambda_{\text{max}} = 410$  нм,  $\Delta\lambda = 15$  нм (2)**

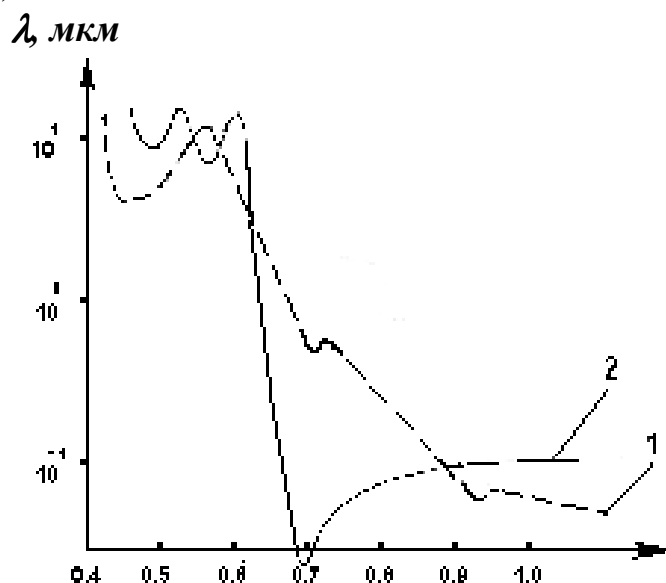
В настоящее время существуют сотни сообщений о благоприятных результатах применения низкоэнергетических лазеров для лечения раз-

личных заболеваний. Многочисленность клинических данных, не позволяющая сомневаться в реальности явления фотобиостимуляции, делает весьма настоятельной необходимость изучения процессов, лежащих в его основе.

Кроме терапевтического действия лазерное излучение широко используется в целях диагностики здоровья человека и его иммунной системы по различным параметрам элементов крови. Рассмотрим несколько таких диагностических методик.

### *Метод оптической оксигеметрии*

Проблема контроля насыщения крови кислородом в операциях с использованием аппаратов искусственного кровообращения стимулировала разработку целого класса приборов, основанных на оптическом принципе измерений. Использование оптической регистрации возможно, так как в процессе оксигенации происходят изменения в спектре поглощения гемоглобина (рис. 2).



**Рис. 2** Спектры поглощения гемоглобина (1) и оксигемоглобина (2)

Наряду с этим цельную кровь можно рассматривать как плотную, случайно-неоднородную рассеивающую и поглощающую среду ( $N \cong 40\%$ ) с эффективным радиусом рассеивателей, равным 2,6 мкм. Известны основные характеристики оксигенированных и неоксигенированных эритроцитов такие, как транспортное сечение  $\sigma_{tr}$ , сечение поглощения  $\sigma_a$  и рассеяния  $\sigma_s$ , средний косинус угла рассеяния  $\mu$ , коэффициент преломления  $n = n' + i \cdot n''$  (Табл. 2).

Таблица 2

## Основные оптические характеристики эритроцитов

StO <sub>2</sub> , %	$\lambda$ , мкм	$n'$	$n'' \cdot 10^4$	$\sigma_s$ , мкм <sup>2</sup>	$\sigma_a$ , мкм <sup>2</sup>	$\bar{\mu}$	$\zeta \cdot \sigma_{tr}$ , мкм <sup>-1</sup>
100	0,655	1,036	0,240	57,20	0,080	0,9951	0,747
	0,955	1,036	0,111	33,47	0,191	0,9925	0,666
0	0,655	1,036	2,203	56,58	0,542	0,9951	0,738
	0,955	1,036	0,052	33,54	0,090	0,9925	0,668

Все существующие приборы по принципу регистрации можно разделить на два типа. К первому относятся приборы, измеряющие оптическую плотность  $D$  предварительно гемолизированной крови в нескольких диапазонах длин волн, и по ее значениям рассчитывается концентрация оксигемоглобина. Представителем этого типа является гемоксиметр *OSM-2* фирмы «*Radiometer*» (Дания). К другому типу относятся приборы для измерения степени оксигенации *StO<sub>2</sub>* на цельной крови. В этих приборах регистрируется рассеянное на эритроцитах, а именно, отраженное от полубесконечного слоя крови излучение в двух спектральных диапазонах длин волн. Схема регистрации приведена на рис. 3. Из табл. 2 видно, что в процессе оксигенации происходят сильные изменения сечения поглощения  $\sigma_a$ , в то время как сечение рассеяния  $\sigma_s$  остается практически постоянным, что позволяет сопоставить изменения интенсивности отраженного излучения с процессом насыщения крови кислородом. Представителями этого типа приборов являются оксиметры фирмы «*Phisio-Control*» (США) и «*OxySAT Meter*» фирмы «*Bentley*» (США), отличающиеся тем, что первый снабжен волоконно-оптическим датчиком для внутрисосудистых измерений, а во втором регистрируется излучение, отраженное от кюветы с плоскопараллельной передней стенкой. Для этих приборов эмпирически установлено выражение для насыщения крови кислородом через ИК отражательную способность  $R_i$  и отражательную способность в красной области спектра  $R_r$ :

$$a = A \cdot B \cdot (R_i/R_r), \text{ где } A \text{ и } B - \text{ приборные константы.}$$

Надо отметить, что в описанных устройствах информативным, наиболее чувствительным к изменению *StO<sub>2</sub>*, является излучение в диапазоне 0,6-0,7 мкм, в то время как другой диапазон 0,8-0,9 мкм практически нечувствителен и служит для исключения воздействия прочих параметров (рН, скорости кровотока и др.) на отражательную способность крови, влияние которых в обоих диапазонах приблизительно одинаково.

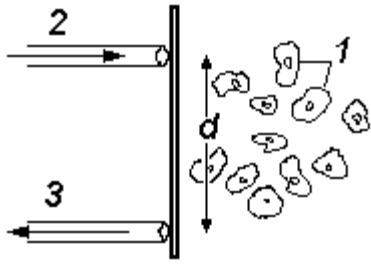


Рис. 3. Измерение отражения двумя волоконными световодами (1- эритроциты; 2, 3- волокна для передачи и приема излучения соответственно)

Авторами сообщения [5] создан бескюветный оксигемометр с характеристиками, не уступающими соответствующим мировым аналогам.

Поскольку кровь является плотной, случайно-неоднородной средой ( $H \cong 40\%$ ), то к ней применимо диффузное приближение теории переноса излучения. В рамках этого приближения задача о рассеянии излучения от точечного источника в неограниченной среде имеет решение диффузной интенсивности:

$$U_d = [(\rho \cdot \sigma_{tr} \cdot P_0 \cdot 3/4\pi) \cdot \exp(-\chi d \cdot r)] / 4\pi \cdot r, \quad (1)$$

где  $U_d$ - средняя диффузная интенсивность;

$\sigma_{tr} = \sigma_s \cdot (1 - \mu) + \sigma_a$  - транспортное сечение;

$\chi^2 d = 3 \cdot \rho \cdot \sigma_a \cdot \rho \cdot \sigma_{tr}$ ;  $\rho$  - концентрация рассеивателей;

$P_0$ - мощность источника;  $r$ - линейная координата точки.

Оценивается по этой формуле изменения диффузной интенсивности в двух спектральных диапазонах с центрами при  $\lambda_1 = 0,65$  мкм и  $\lambda_2 = 0,95$  мкм при изменении концентрации оксигемоглобина от 0 до 100%. Так, если в красном диапазоне длин волн при отношении величин  $U_d$  для оксигемоглобина **HbO2** и дезоксигемоглобина **HbR**  $U_d\text{-HbO2}/U_d\text{HbR}$ - 100%, то в **ИК** диапазоне эти изменения составят 380%. Из этих оценок следует, что, основываясь на регистрации диффузно рассеянного в крови излучения, принципиально возможно создание оксигемометра, превосходящего по чувствительности и точности существующие приборы, поскольку информативными являются оба канала регистрации. Практическое воплощение геометрии точечного источника в приборе медицинского назначения невозможно. В реальном оксигемометре целесообразно использовать коллимированный пучок света, рассматривая путь его распространения в толще крови как совокупность точечных источников. Благодаря этому исключается специальная кювета, поскольку диффузно рассеянное излучение может регистрироваться под любым углом по отношению к пучку, лишь бы было исключено попадание на фотодетектор когерентной компоненты.

Альтернативным подходом определения параметров эритроцитов может служить первое приближение теории многократного рассеяния ввиду относительной математической простоты ее описания. Условием его применимости является использование малой концентрации рассеивателей, чтобы некогерентная мощность была меньше когерентной.

В случае падения Гауссова пучка на слой толщиной  $d$ , содержащий дискретные рассеиватели, можно получить следующее выражение для ослабленной падающей интенсивности:

$$I_{ri} = F_0 \cdot \exp[-(2 \cdot \rho^2 / W_0^2) - \rho \cdot \sigma_t] \cdot \delta(\omega), \quad (2)$$

где  $\delta(\omega)$ - дельта-функция по телесному углу;

$\rho$ - концентрация рассеивателей;  $W_0$ - размер пучка;

$\sigma_t = \sigma_a + \sigma_s$ - полное сечение;  $F_0$ - интенсивность пучка.

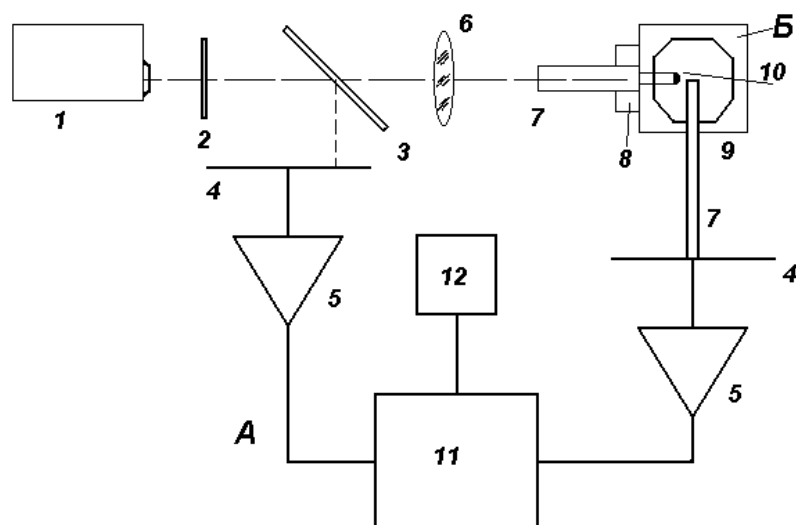
В случае изменения **StO2**  $\sigma_t$  пропорционально только изменяющемуся  $\sigma_a$  ( $\sigma_s = \text{const}$ ), поэтому на этом приближении также возможно создание оксиметра.

С другой стороны, используя это приближение и стабилизируя сечение поглощения  $\sigma_t$ , можно определить микроскопическое сечение  $\sigma_s$  и  $\mu$ .

Для табуляции значений оптических характеристик эритроцитов в зависимости от **StO2** можно использовать метод диффузного приближения теории переноса излучения. В работе [6] корректно решена обратная задача об излучении точечного источника в неограниченной среде и разработан алгоритм определения эффективных характеристик эритроцитов. Схема установки приведена на рис. 4.

Шарик, имитирующий точечный изотропный источник, помещался внутрь проточной кюветы диаметром  $d=24$  мм (рис. 4, Б). Герметичный ввод световода допускал его продольное перемещение. Часть диффузно рассеянного в суспензии излучения попадала на приемный световод и регистрировалась синхронным детектором. Эритроциты, полученные из донорской крови, сферулировались без изменения объема.





**Рис. 4. Схема экспериментальной установки:**

1- HeNe-лазер; 2- модулятор; 3- светоделительная пластина; 4- фотодетектор; формирователь импульсов; 6- микрообъектив; 7- световод; 8- микрометрический столик; 9- кювета; 10- шарик из молочного стекла; 11- синхронный детектор; 12- самописец; А- прибор; Б- самописец

Итогом проведенных исследований [5] явилось создание бесцветного оксигемометра, основанного на регистрации диффузно рассеянного в крови излучения в двух спектральных диапазонах длин волн по обе стороны от изобестической длины волны 0,8 мкм. В дальнейшем в качестве источников излучения использовались полупроводниковые инжекционные лазеры, излучающие в указанных диапазонах. Использование полупроводниковых лазеров вызвано, во-первых, монохроматичностью излучения, что обуславливает увеличение точности и расширение диапазона точных измерений при массовом производстве оксигемометров, во-вторых, высокой стабильностью мощности и длины волны генерации при работе в импульсном режиме, что важно при коммутации фотодетектора, регистрирующего излучение от нескольких источников.

Указанные преимущества полупроводниковых лазеров и реализованная геометрия регистрации диффузно рассеянного в крови излучения позволяют в дальнейшем перейти от полуэмпирического определения к прямому определению концентрации оксигемоглобина в крови и других параметров крови.

В табл. 3 приведены характеристики лазерного оксигемометра ОДЭР-АЛЬФА-L и существующих зарубежных аналогов.

Таблица 3

Основные технические характеристики лазерного оксигемометра  
ОДЭР- АЛЬФА-L и зарубежных аналогов

Оксигемометр, фирма изготовитель (страна)	Диапазон измерений StO <sub>2</sub> , %	Точность измерений, %	Время(с), необходимое для перехода измерений на другую кровь	Условия измерений
<b>In-vivo oximeter, «Phisio-Control» (США)</b>	20-100	3	10-10	внутрисосудистые измерения
<b>«OxySAT Meter», «Bentley» (США)</b>	40-100	3	10-10	измерения в специальной кювете
<b>Лазерный оксигемометр ОДЭР-АЛЬФА-L, ФИАН (Россия)</b>	40-100	2	10	измерения на прозрачных магистральных АИК

*Методы проточного анализа деформируемости эритроцитов с помощью лазера*

Эритроциты обладают уникальной способностью к упругим изменениям размеров и формы, что обеспечивает их возможность свободно проходить через микроциркуляторное русло. Свойства мембран эритроцитов при деформациях, по аналогии с гиперупругим твёрдым телом, определяются молекулярной организацией мембраны и физико-химическими свойствами образующих её молекул. Особая роль в обеспечении упругих способностей при сдвиговой деформации и поддержании формы дискоцита приписывается белковому цитоскелету мембран эритроцитов, формирование которого должно быть завершено к моменту выхода ретикулоцитов из костного мозга в кровь. Исследования последних лет позволяют говорить о наличии регуляторного контроля за функциональным состоянием белкового цитоскелета и, соответственно, способности эритроцитов к деформации, поэтому изучение молекулярной структуры белкового цитоскелета эритроцитов и его формирования на различных этапах дифференцирования эритроидных клеток имеет важное теоретическое и прикладное значение. Наиболее полную информацию о популяции дает дифференциальный клеточный анализ, который позволяет проводить исследования на ранних стадиях заболевания с относительно низким содержанием «жестких» эритроцитов, а также получать и анализировать гистограммы распределе-

ния эритроцитов по степени деформируемости. Существующие в настоящее время методы оценки деформируемости эритроцитов либо дают усредненную информацию о популяции в целом, либо являются крайне сложными и трудоемкими, а в ряде случаев уникальными. Особо значимо при проведении исследований подобного рода объективно оценить способность эритроцитов к упругой деформации. Одним из методов, отвечающих этому требованию, является компьютерная эктацитометрия [7]. Использование эктацитометрии в клинической гематологической практике создало новые возможности для успешной дифференциальной диагностики анемий, вызванных нарушениями мембран или цитоскелета эритроцитов.

В работе [7] описана разработка и создание лабораторной эктацитометрической установки для количественной оценки деформабильности эритроцитов, а также исследование способности эритроцитов к деформации в условиях нормального и напряжённого эритропоэза. Работа выполнена на беспородных белых крысах-самцах, массой 180-200 г. Подсчёт количества эритроцитов, ретикулоцитов, цитометрию эритроцитов, расчёт таких показателей, как средний объём эритроцитов, сферический индекс, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах проводили по общепринятым методам и формулам [7]. Гематокрит определяли на гематокритной микроцентрифуге (*AB LARS LJUNGBERG & CO Stockholm, Швеция*, 15000 г, 2 мин). Обработка и статистический анализ результатов, включающий в себя методы вариационной статистики, регрессионный анализ, дисперсионный и корреляционный анализ, осуществлялись при помощи компьютера.

Для исследования способности эритроцитов к деформациям использовали метод эктацитометрии, в основе которого лежит явление дифракции лучей *HeNe*-лазера на тонком слое эритроцитов, деформируемых потоком вязкой жидкости, что приводит к изменению дифракционной картины, по которым судят о деформабильности эритроцитов.

Была создана и апробирована эктацитометрическая установка для изучения реологических свойств эритроцитов в потоке. Основанием установки служит массивная металлическая плита, установленная горизонтально. Привод наружного цилиндра обеспечивает серводвигатель (*HSM 150, Чехословакия*). Скорость вращения может меняться в пределах от 0 до 400 об/мин и контролируется специальным электронным индикатором, датчиком которого служит оптронная пара. В качестве когерентного источника света используется *HeNe*-лазер *ЛНГ-208Б* (с длиной волны 632,8 нм и мощностью  $1,9 \cdot 10^{-3}$  Вт). Оба стакана выполнены из прозрачного для видимого света материала (оргстекло) и термостабилизированы. Наружный диаметр внутреннего цилиндра составляет 49 мм, внутренний диа-

метр наружного- 50 мм, так что ширина щели между стаканами составляет 0,5 мм. Исследуемые эритроциты, суспензированные в растворе *FICOLL-400*, вносились в зазор между этими цилиндрами, где подвергались деформирующему воздействию при вращении наружного стакана. При фиксированных значениях радиусов внутреннего и наружного стаканов, скорость сдвига зависит только от скорости вращения наружного стакана, а при постоянном значении динамической вязкости, усилие сдвига также определяется только скоростью вращения. Информация об основных константах установки была "защита" в программу компьютера и различные усилия сдвига достигались изменением скорости вращения. В качестве регистрирующего устройства использовалась твёрдотельная видеокамера, видеосигнал с которой поступал через аналого-цифровой преобразователь в компьютер. Для количественной оценки выявляемого среднечелюстного удлинения при сдвиге используется эктацитометрический показатель, или индекс удлинения  $ID=(A-B)/(A+B)$ , где **A** и **B**- большая и малая полуоси дифракционного эллипса, соответственно. Степень вынуждающего воздействия оценивается по напряжению (усилию) сдвига. Скорость сдвига зависит от скорости вращения **N** наружного цилиндра относительно покоящегося внутреннего и соотношения их диаметров **D** и **d**. Программа, позволяющая анализировать изображение, была написана на языке *Turbo Pascal* и получила название "*Scan*".

Проба крови вносилась в 20% раствор *FICOLL-400* (в пропорции 100 мкл цельной крови на 3 мл раствора). В результате разбавления, концентрация эритроцитов составляла 15107 клеток/мл. По количественным показателям индекса деформабильности **ID**, при различных усилиях сдвига, изменяющихся в диапазоне от 0 до 35 Н/м<sup>2</sup>, используя компьютер, строилась эмпирическая кривая, иллюстрирующая функциональную связь между изменениями в форме взвешенных в вязкой среде эритроцитов и приложенным к ним напряжением.

Деформация эритроцитов к кровеносному руслу осуществляется за счет сил напряжения сдвига со стороны смещающихся слоев плазмы крови. После прекращения воздействия деформирующей силы эритроциты восстанавливают прежние размеры и форму, таким образом, им присущи свойства упругого твердого тела. Способность эритроцитов к деформации получила название деформабильность (*deformability*). Следует различать понятия деформабильность эритроцита и деформабильность мембраны эритроцита. Мембрана эритроцита также обладает свойствами упругого твердого тела. Поведение мембраны эритроцита при действии деформирующей силы определяется ее молекулярной организацией и физико-химическими свойствами структурных молекул. Результаты анализа доступной нам литературы свидетельствуют о том, что метод эктацитометрии

является в настоящее время одним из основных, используемых в ведущих зарубежных гематологических центрах для оценки деформабильности эритроцитов [7].

Способность эритроцитов к деформации определяют следующие основные факторы: 1. Вязкоэластические свойства мембранного материала; 2. Форма клеток (отношение площадь поверхности к объёму); 3. Вязкость внутриклеточного содержимого относительно вязкости внеклеточного раствора. В том случае, когда нет изменений вязкоэластических свойств мембранного материала, максимальной деформабильностью клетки обладают в изоосмолярной среде, поскольку при этих условиях обеспечивается наибольшая величина отношения площади поверхности к объёму. Величина этого отношения зависит от осмоляльности суспензионного раствора. С увеличением концентрации гемоглобина в эритроцитах и, соответственно, увеличением вязкости внутриклеточного содержимого, изменяется отношение площади поверхности к объёму клеток, и как следствие этого снижается деформабильность эритроцитов, что достигается путём помещения последних в гиперосмолярную среду. В гипоосмолярной среде также снижается деформабильность эритроцитов и тоже по причине изменения отношения площади поверхности к объёму клеток [7]. Кривая зависимости индекса деформабильности **ID** эритроцитов от осмоляльности суспензионного раствора при условии постоянства усилия сдвига, получила название профиля осмотической деформабильности. На профиле осмотической деформабильности выделяют следующие точки: максимальное значение индекса деформабильности **IDmax**, **IDmin**- минимальное значение в гипоосмолярной области, в гиперосмолярной области- значение осмоляльности для **ID=1/2\*IDmax**. Анализируя значения осмоляльностей для **IDmin** и **ID=1/2\*IDmax**, где на профиле можно получить информацию о вязкоэластических свойствах мембран эритроцитов, о форме клеток, о соотношении площади поверхности к объёму и вязкости внутриклеточного содержимого.

Исследуя с помощью эктацитометрической техники деформабильность эритроцитов молодой и старой популяций, выделенных из крови интактных крыс, была выявлена достоверно более низкая способность к деформации старых эритроцитов в отличие от молодых клеток. Достоверные отличия наблюдались и между профилями осмотической деформабильности молодых и старых эритроцитов [7]. На профиле осмотической деформабильности эритроцитов старой популяции в отличие от профиля осмотической деформабильности для молодых клеток наблюдалось достоверное снижение величины **IDmax** и смещение **IDmax** в гипотоническую область, а также уменьшение ширины интервала значений осмоляльности суспензионной среды. Низкая деформабильность- в гиперосмолярной среде является следствием увеличения концентрации гемоглобина и роста

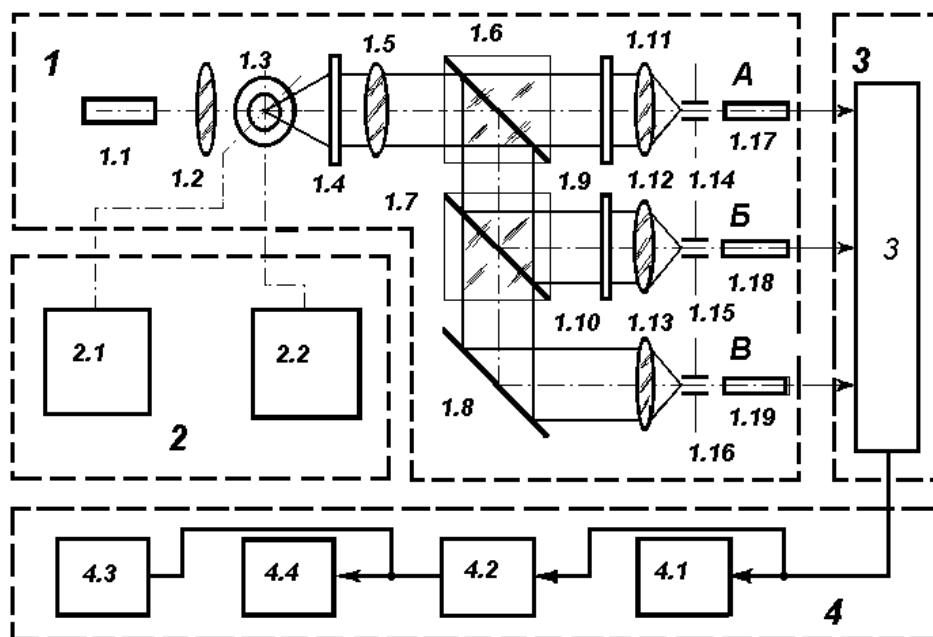
вязкости внутриклеточного содержимого в результате потери эритроцитами воды. В гипотоническом растворе, напротив, происходит поступление воды в эритроциты и вследствие этого увеличение их сферичности и уменьшение величины отношения площади поверхности к объёму, что также приводит к снижению деформабильности [7].

Одной из задач исследования [7] являлось изучение деформабильности эритроцитов молодой и старой популяций в условиях стимулированного эритропоэза после острой кровопотери. Для нормального эритропоэза характерно наличие эритроцитарного баланса, или соответствия между количеством эритроцитов поступающих из костного мозга в кровь и элиминируемых из кровеносного русла вследствие их разрушения. В результате количество эритроцитов в единице объема крови остается относительно постоянным. Интенсивность процессов эритропоэза в костном мозге определяется уровнем эритропоэтина в плазме крови. Увеличение ретикулоцитов в периферической крови после острой кровопотери, обусловленное их выходом из костного мозга, или так называемый распределительный ретикулоцитоз, наблюдается уже через 4-6 часов после острой кровопотери.

Таким образом, результаты данной работы [7] позволяют говорить о том, что в условиях нормального эритропоэза из костного мозга в кровь поступают ретикулоциты, имеющие высокую способность к деформации, и напротив, незрелые ретикулоциты, обладающие низкой деформабильностью, не могут пройти через поры стенок венозных синусов костного мозга. После острой кровопотери, в результате действия эритропоэтина на стенки венозных синусов костного мозга, этот механизм отбора ретикулоцитов по степени зрелости блокируется, что позволяет выбросить в циркуляцию костномозговой резерв ретикулоцитов и обеспечить экстренное восполнение дефицита эритроцитов в крови.

Рассмотрим подробнее техническую реализацию метода проточной цитометрии. В 1989 г. в Московском всесоюзном НИИ медицинской техники был разработан проточный анализатор, позволяющий регистрировать гистограммы распределения эритроцитов по степени деформируемости и имеющий следующие медико-технические характеристики: скорость анализа-  $5 \cdot 10^3$  клеток в секунду, объем пробы-  $5 \cdot 10^3$  мм<sup>-3</sup>, время анализа- не более 5 мин. [ 8].

Принцип действия установки заключается в регистрации пространственной асимметрии малоуглового светорассеяния лазерного излучения на каждой клетке при ее удлинении за счет прохождения через измерительный капилляр. Функциональная схема (рис. 5) состоит из оптоэлектронного блока 1, устройства ввода пробы 2, блока преобразования сигнала 3, системы обработки информации 4.



**Рис. 5. Функциональная схема анализатора деформируемости эритроцитов**

Луч лазера *1.1* (ЛГ-52-3, мощность 1 мВт, длина волны излучения 0,6328 мкм) линзой *1.2* (фокусное расстояние 120 мм) фокусируется на ось капилляра (диаметр 0,15 мм) проточной камеры ввода пробы *1,3* и формирует измерительный зонд (диаметр 0,1 мм). В проточную камеру *1,3* из блока ввода пробы *2,1* подается суспензия с эритроцитами, а из блока *2,2*- буферная жидкость, давление которой определяет режим течения в камере. При пересечении светового зонда эритроциты генерируют импульсы светорассеяния. Излучение светорассеяния собирается объективом *1,5* (фокусное расстояние 50 мм, относительное отверстие 1:1) и делительными кубами *1,6* и *1,7* и зеркалом *1,8* разделяется на три канала. Пространственным фильтром *1,4*, задерживающим излучение, распространяющееся под углом менее  $0,53^\circ$ , подавляется нерассеянное излучение лазера. В канал *А* пространственным фильтром *1,9* пропускается излучение, рассеянное под углами от  $0,5$  до  $1,5^\circ$  в горизонтальном направлении, в канале *Б* пространственным фильтром *1,10* пропускается излучение, рассеянное в том же диапазоне углов соответственно в вертикальном направлении, в канале *В* пропускается все рассеянное излучение. Рассеянное излучение в каналах собирается линзами *1,11-1,13* (фокусное расстояние 75 мм) в плоскость полевых диафрагм *1,14-1,16* (диаметр 0,5 мм) и регистрируется фотоприемниками *1,17-1,19* (ФЭУ-79). Сигналы с фотоприемников поступают на блок преобразования сигнала *3*, формирующий выходной импульс, амплитуда которого пропорциональна степени деформируемости эритроцитов.

Выходные импульсы контролируются осциллографом 4,1, подаются на многоканальный анализатор амплитуды импульсов 4,2, который строит гистограммы распределения импульсов по амплитуде. Гистограммы вводятся при помощи графопостроителя 4,3 и обрабатываются микро ЭВМ 4,4.

Задание сдвиговых напряжений, деформирующих эритроциты, и последовательная подача клеток в измерительный световой зонд обеспечиваются проточной камерой ввода пробы. В конструкции камеры использован принцип гидродинамической фокусировки потока с пробой двумя буферными потоками и ориентацией клеток.

В анализаторе использован измерительный капилляр диаметром 150 мкм, что для клеток с диаметром 6 мкм, находящихся в водной среде, позволяет обеспечить при скорости их движения 27 м/с максимальное напряжение сдвига 14 Па (140 дин/см<sup>2</sup>), достаточное для решения большинства задач с неразрушающим воздействием на эритроциты.

Эритроцит под влиянием сдвиговых усилий деформируется в течение конечного интервала времени. Длина измерительного капилляра должна быть достаточна для завершения процесса деформации. Оценка времени деформации для эритроцита - безъядерной клетки с динамической вязкостью внутриклеточной жидкости-  $7 \cdot 10^{-3}$  при напряжении сдвига 14 Па дает величины порядка 1 мс, что заведомо обеспечивается в измерительном капилляре анализатора длиной 30 мм.

Удлинение проходящего через оптический зонд эритроцита определяется путем регистрации пространственной асимметрии малоуглового светорассеяния на клетке. При малых углах светорассеяние на биологических клетках определяется в основном дифракцией. Можно сказать, что недеформированный эритроцит в перпендикулярном плоскости диска направлении имеет круглую форму, поэтому малоугловое светорассеяние может быть описано выражением для дифракции на круглом диске. При деформации эритроцит удлиняется. Известно, что если круглый объект симметрично расширяется в каком-либо направлении в  $m$  раз, то дифракционная картина Фраунгофера сжимается в том же направлении в  $m$  раз. Пространственные фильтры 1,9 и 1,10 (рис. 5) в каналах А и Б регистрации светорассеяния имеют вид вертикально и горизонтально расположенных щелей, пропускающих излучение, рассеянное под углами от 0,5 до 1,5° соответственно в горизонтальном и вертикальном направлениях, и до 20° в перпендикулярных направлениях. Машинный расчет по формулам дифракции для удлиненного диска и указанных углов светорассеяния дает возможность оценить соотношения между реальным коэффициентом деформируемости  $m$  и регистрируемым по соотношению интенсивности светорассеяния  $M$  для клеток различного размера, где под коэффициентом деформируемости  $m$  подразумевается отношение меньшего размера удлиненной клетки к большему. Для реальных



значений коэффициентов деформируемости от 0,3 до 1,0 для клеток размером не более 10 мкм используемая схема регистрации обеспечивает удовлетворительное для практических целей приближение не менее 30%, а для клеток, не превышающих 7 мкм, - 7%.

Для испытаний анализатора использовали венозную кровь, взятую на цитрат и разведенную в 2000 раз физиологическим раствором.

*Метод приготовления образцов при спектральных исследованиях воздействия лазерного излучения на кровь и костный мозг*

При исследованиях влияния лазерного излучения на кровь или костный мозг *in vitro* существенным является вопрос о различии процессов, происходящих в организме и в образце, взятом из него. Очевидно, что полного соответствия достичь невозможно, так как условия существования среды изменяются. Вследствие различной динамики распада в процессе хранения непрерывно меняется соотношение химических компонент образца. Меняются также условия воспроизводства и распада клеток. Все эти процессы искажают картину воздействия лазерного излучения на биологическую среду. Поэтому встает вопрос, если не о приближении условий существования среды к условиям организма, то хотя бы о стабилизации процессов, происходящих в ней.

Одним из методов стабилизации процессов, происходящих в биологической среде, является ее консервация. При этом процессы распада, происходящие в среде, замедляются настолько, что клетки сохраняют свою жизнеспособность в течение длительного времени. Эффективность хранения определяется в основном цитологическим анализом.

Но при спектральных методах исследования процессов взаимодействия лазерного излучения с биологическим веществом цитологического анализа оказывается недостаточно. Ввиду того, что спектр несет информацию о концентрациях химических веществ, содержащихся в образце, любое изменение их в процессе хранения приводит к изменению спектров поглощения или отражения света образцом. Таким образом, для спектральных исследований воздействия лазерного излучения на кровь или костный мозг необходимы также методы хранения образца, при которых спектральная картина не изменяется в процессе хранения. Возможен также контроль качества консервированной крови путем мониторинга ее спектральных параметров.

Стандартными способами хранения крови является применение антикоагулянтов с добавлением (или без) буферного или физиологического раствора. В работе [9] исследована динамика спектров поглощения крови и костного мозга в процессе хранения при различных соотношениях среда-консервант-буфер и различных консервантах. В качестве буфера использо-

вался изотонический раствор *NaCl*. Антикоагулянтами являлись цитрат натрия и трилон *Б*. Смеси приготавливались непосредственно после взятия материала, изменения спектров производились с постоянными интервалами в течение 4-10 сут. Спектры снимались на спектрофотометре *CARY 2415* с использованием интегрирующей сферы. Между измерениями образцы хранились при температуре 6°C.

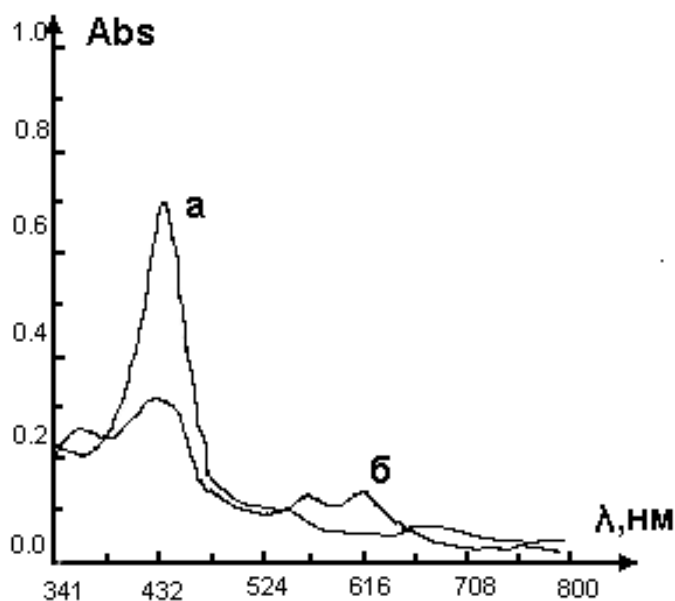
Исследования показали, что при разведении крови антикоагулянтами в концентрации ниже 1/10 спектральные полосы слабо разрешены и исследование изменений спектров затруднено. При разведении более 1/10 без добавления изотонического раствора имеет место гемолиз клеток. Следует отметить, что форма спектральных полос различна при равных концентрациях трилона *Б* или цитрата натрия. Если при использовании трилона уже при концентрации 1/10 получены характерные отчетливые полосы поглощения гемоглобина, то для цитрата натрия спектр плохо разрешен даже при соотношении кровь/цитрат натрия 1/100.

Основными факторами, влияющими на степень разрешения спектральных полос, являются высокое рассеяние света в образце и концентрация поглощающего вещества внутри клеток, главным образом гемоглобина в эритроцитах (эффект сита). При разбавлении смеси прозрачным раствором рассеяние несколько уменьшается, что приводит к улучшению степени разрешения полос. Однако изменение спектра за счет уменьшения рассеяния при использовании интегрирующей сферы незначительно, в то время как разрушение клеток, уменьшающее эффект сита, приводит к возникновению резких полос поглощения с высоким разрешением. Из этого следует вывод, что наличие отчетливых полос поглощения гемоглобина при использовании трилона *Б* говорит о том, что высокие концентрации трилона *Б* отрицательно влияют на сохранность клеток крови или костного мозга.

При разведении крови с трилоном *Б* изотоническим раствором изменение спектров приобретает менее отчетливый характер, и при концентрациях 1/50 полосы еще слабо разрешены. В то же время для цитрата натрия подобного изменения не наблюдалось. При хранении крови с изотоническим раствором спектры поглощения оставались неизменными в течение 4-5 дней при использовании как цитрата натрия, так и трилона *Б*. Исследование вторых производных спектров показало, что если при применении трилона *Б* спектры совершенно не изменяются, то в крови с цитратом натрия происходят изменения и вторые производные спектров, снятые через несколько дней, отличаются от производных исходных спектров.

Исходя из вышесказанного, в дальнейшем использовались образцы крови и костного мозга с трилоном *Б*, разведенные изотоническим раствором в концентрации 1/100. Были проведены предварительные эксперименты по изучению действия лазерного излучения на кровь и костный мозг. Серия из-

мерений показала высокую повторяемость полученных данных. В качестве примера на рис. 6 показано изменение спектра поглощения крови под воздействием лазерного излучения. Воздействие производилось при комнатной температуре излучением *HeNe*-лазера ( $\lambda=633$  нм) с мощностью 1 мВт. Плотность мощности излучения составляла  $0,25$  мВт/см<sup>2</sup>, толщина кюветы 1 мм, экспозиция 5 ч. Мониторинг спектральных параметров образца во время облучения не проводился. Контрольный эксперимент (образец, находящийся при тех же условиях, но без облучения лазером) показал отсутствие изменений спектра поглощения. Изменения в спектре при воздействии лазерного излучения позволяют говорить о деструкции гемоглобина. В спектре обнаруживаются только слабые полосы поглощения дезоксигемоглобина и метгемоглобина. Известно, что поглощение света гемоглобином вызывает такие события, как разрыв связи *Fe-O<sub>2</sub>*, изменение спинового состояния иона железа, перестройку белковой глобулы. Очевидно, что резкое уменьшение концентрации оксигемоглобина связано с поглощением лазерного излучения вследствие перекрытия его длины волны с длинноволновым краем полосы поглощения оксигемоглобина.



**Рис. 6. Спектры поглощения крови с триолеином *B* при разведении изотоническим раствором:**

**а-** непосредственно после приготовления,

**б-** после воздействия лазерного излучения (633 нм, 1 мВт, 5 ч).

Описанный метод позволяет исследовать только фотохимические, а не биологические процессы. Высокая стабильность спектров в процессе хранения говорит о том, что все биологические процессы в ней сильно заторможены. Это, конечно, не является нормальными условиями существования биологической среды. Поэтому при исследованиях биологических процессов необходимо воспользоваться современными методами поддержания жизне-

деятельности клеток, исследовать закономерности изменения спектров в процессе хранения, затем уже изучать влияние внешних воздействий.

*Влияние поглощения лазерного излучения гемоглобином крови на порог разрушения патологической ткани при лазерной ангиопластике*

Наличие порогового значения плотности мощности лазерного излучения на облучаемой поверхности, обусловленное требованием повышения скорости подвода тепловой энергии к зоне облучения над скоростью теплоотвода в окружающей ткани, является решающим фактором использования того или иного типа лазера в ангиопластике [10]. Соответствующие пороговые значения рассчитаны для наиболее употребительных в медицине типов лазеров как непрерывного, так и импульсного действия. Расчеты проводились в предположении, что торец световода находится вплотную к биоткани, т. е. что в пространстве между торцом световода и облучаемой поверхностью поглощения не происходит. Но в реальном случае в этом пространстве находится кровь, т. е. среда, обладающая достаточно сильным поглощением. Наличие поглощения кровью приводит к падению плотности мощности на выходе световода. Поскольку основным компонентом крови, поглощающим и рассеивающим излучение, является гемоглобин, в первом приближении достаточно учитывать только его воздействие, а прочими факторами можно пренебречь.

Исследования показали сильную спектральную зависимость поглощения гемоглобином. Кривая поглощения гемоглобином зависит от концентрации гемоглобина и степени его насыщения кислородом. На этом основана методика определения содержания кислорода в крови. Но как основа для количественных оценок эта кривая не может быть использована, так как для нее не указана ни степень насыщения гемоглобина кислородом, ни концентрация. В данном случае рассматривается не сам факт степени поглощения гемоглобином излучения той или иной длины волны, а необходимое превышение плотности мощности над порогом. Тогда можно было разрушать бляшки не только при непосредственном контакте с торцом световода, но и на определенном расстоянии между ним и облучаемой поверхностью.

#### Выводы [10]

1. Поглощение гемоглобином увеличивает пороговую плотность мощности лазерного излучения на выходе световода и наряду с расходимостью излучения определяет тот диапазон расстояний между облучаемой поверхностью и торцом световода, внутри которого возможно разрушение атеросклеротических образований (диапазон рабочих расстояний).

2. Для целей лазерной ангиопластики целесообразно употреблять световодные системы, имеющие числовую апертуру на выходе не более 0,2.
3. Для ионного аргонового лазера ( $\lambda = 0.488-0.514$  мкм) диапазон рабочих расстояний ограничивается величиной порядка 1 мм и определяется в основном поглощением излучения гемоглобином. Увеличение мощности практически не меняет этой величины.
4. Для твердотельного лазера на Nd:YAG ( $\lambda = 1.064$  мкм) диапазон рабочих расстояний ограничивается величиной порядка 1,5-2 мм и определяется расходимостью излучения на выходе световодной системы.

#### Литература к приложению 4

1. Файн С., Клейн Э. Биологическое действие излучения лазера.- М.: Атомиздат, 1968.- 104 с.
2. Гаусман Б. Я., Захарченко А. Я., Катаев М. И. и др. Лазерный аппарат для внутривенного облучения крови АЛОК-1 (первый опыт его клинического применения).- Мед. техника, 1990, №1.
3. Приезжев А.В., Тучин В.В., Шубочкин Л.П. Лазерная диагностика в биологии и медицине. М., "Наука", 1989 - 238 с.
4. Альтшулер В. М., Миронов Ю. М., Ханин Я. И. Изменение оптических свойств плазмы крови под действием монохроматического света // Квантовая электроника, 1992, т. 19, №3.
5. Перов С. Н., Коротков Н. П., Куземко В.В. и др. Принципы оптической оксигеметрии в системах экстракорпорального кровообращения // Мед. техника, 1992, №5.
6. Сторожок С.А., Белкин А.В. Эктацитометрическая характеристика деформабильности эритроцитов молодой и старой популяций в условиях нормального и напряженного эритропоэза.- Тюменская государственная медицинская академия, кафедра медицинской и биологической физики, 1996.
7. Добровольский Н. А., Арефьев И. М., Пешков А. В. и др. Лазерный проточный анализатор деформируемости эритроцитов // Мед. техника, 1989, №4.
8. Кочубей В. И., Медведев Б. А., Седова Ю. Г. и др. Метод приготовления образцов при спектральных исследованиях воздействия лазерного излучения на кровь и костный мозг // Оптика и спектроскопия, 1994, т.76, № 5.
9. Бекешко А. Н., Беляев А. А., Змиевской Г. Н. и др. Влияние поглощения лазерного излучения гемоглобином крови на порог разрушения патологической ткани при лазерной ангиопластике // Мед. техника, 1989, №1.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Справочник по лазерам: В 2-х т. / Под ред. А.М. Прохорова. - М.: Советское радио, 1978. - Т. 2, - 400 с.
2. Лазеры в хирургии. / Под ред. О.К. Скобелкина. - М.: Медицина, 1989. - 256 с.
3. Лазеры в клинической медицине. /Под ред. Плетнева С.Д. // М.: Изд. Медицина, 1981, 339с.
4. Кавецкий Р.Е., Чудаков В.Г., Сидорик Е.П. и др. Лазеры в биологии и медицине. - Киев: Наукова думка, 1969. - 231 с.
5. Илларионов В.Е. Основы лазерной терапии. - М.: Изд-во Респект, объедин. Инотекс-Прогресс, 1992. - 123 с.
6. Крейман М.З., Удачный И.Ф. Низкоэнергетическая лазеротерапия. Практическое пособие. - Томск: Изд. ТГУ, 1992. - 110 с.
7. Тютрин И.И., Удут В.В., Прокопьев В.Е. и др. Лазерная фототерапия (теория и практика). - Томск: Изд-во Граффити, 1994. - 252 с.
8. Еремеев Б.В. Селективное воздействие низкоинтенсивного лазерного ИК-излучения на эритроциты: Канд. диссерт. - М., ФИАН, 1989.
9. Приезжев А.В., Тучин В.В., Шубочкин Л.П. Лазерная диагностика в биологии и медицине. - М.: Наука, 1989. - 238 с.
10. Евтушенко В.А., Зырянов Б.Н., Карпов А.Б. Возможности низкоинтенсивного лазерного излучения в коррекции патологии организма человека // Оптика атмосферы и океана. - 1996. -т.9, N 2. - с. 277-280.
11. Илларионов В.Е. Техника и методики процедур лазерной терапии. (Справочник) - М.: 1994. -200 с.
12. Чередниченко Ю.Н., Азбель Д.И., Дерибас А.А. Практическое руководство по лазерной терапии в клинической практике (Методические рекомендации по низкоинтенсивным лазерным воздействиям). - Новосибирск: Изд. СО РАМН, 1995. - 105 с.
13. Довгий Я.О. Оптические квантовые генераторы (спецпрактикум). - Киев: Вища школа, 1977. - 300 с.
14. Квантовая электроника. Маленькая энциклопедия / Отв. ред. М.Е. Жаботинский. -М.: Советская энциклопедия, 1969. - 432 с.
15. Солдатов А.Н., Соломонов В.И. Газоразрядные лазеры на самоограниченных переходах в парах металлов. - Новосибирск : Наука, 1985. - 152 с.
16. Иванов И.Г., Латуш Е.Л., Сэм М.Ф. Ионные лазеры на парах металлов. -М.: Энергоиздат, 1990. - 255 с.
17. Справочник по лазерной технике /Под ред. Байбородина Ю.В. и др. - Киев: Изд-во Техника, 1978. - 288 с.
18. Тарасов Л.В. Физика процессов в генераторах когерентного оптического излучения. - М.: Радио и связь, 1981. - 440 с.

19. Якушенков Ю.Г. Основы оптико-электронного приборостроения. -М.: Советское радио, 1977. - 270 с.
20. Страховский Г.М., Успенский А.В. Основы квантовой электроники. -М.: Высшая школа, 1973. - 312 с.
21. Тарасенко В.Ф., Пойзнер Б.Н. Импульсные лазеры на плотных газах: Физика процессов и экспериментальная техника (Учебное пособие). Томск: Изд-во ТГУ, 1992. - 143 с.
22. Успенский А.В. Сборник задач по квантовой электронике. - М.: Высшая школа, 1976. - 176 с.
23. Гамалея Н.Ф. Лазеры в эксперименте и в клинике. - М.: Изд. Медицина, 1972. - 232 с.
24. Беспалов В.И., Пасманик Г.А., Земской К.И. и др. Оптические системы с усилителями яркости. - Горький: Изд-во ИПФ АН СССР, 1988. - 173 с.
25. Евтушенко Г.С. Лазеры на парах металлов и устройства на их основе для решения задач оптики атмосферы и других применений. Диссерт. д.т.н., Томск, 1994. -305с.
26. Zyryanov B.N., V.A.Evtushenko, G.S.Evtushenko et al. Copper-Vapor Low-Intensity Laser Therapy. Proc. SPIE, 1996. - Vol. 2728. - pp.100-107.
27. Meiman T.H. Stimulated optical radiation in ruby. "Nature", 1960. - Vol. 187, No 4736. - pp. 493-494.
28. Snitzer E. Optical maser action of Nd<sup>+3</sup> in barium crown glass. "Phys. Rev.Lett.", 1961. - Vol. 7, No 12. - pp. 444-446.
29. Лисицын В.Н. Мешалкин Ю.П. Физические основы применения лазеров в биологии и медицине (учебное пособие). - Новосибирск: Изд-во НГУ, 1993. - 41 с.
30. Захаров С.Д., Корочкин И.М., Солдатов А.Н. и др. Применение лазера на парах меди для идентификации первичного фотоакцептора при лазерной терапии // Оптика атмосферы и океана, 1996. - т. 9, N 2. - С. 281-286.
31. Странадко Е.Ф. Современные возможности, проблемы и перспективы фотодинамической терапии в онкологии. // Laser Market, 1993, ? 7-8. - С.22-23.
32. Гришин О.В., Грошев Д.Е., Макуха В.К., Гришин В.Г. Капнография в медицине // Труды 3 Междун. конф. "Актуальные проблемы электронного приборостроения" АПЭП-96: В 11 томах. - Новосибирск, 1996. - т.3 Мед.электроника. -С.9-11.
33. Грошев Д.Е., Макуха В.К., Сокол А.В. Оптимизация параметров датчика капнографа. // Труды 3 Междун. конф. "Актуальные проблемы электронного приборостроения" АПЭП-96: В 11 томах. - Новосибирск, 1996. - т.3 Мед.электроника. - С.12-15.
34. Жаров В.П., Летохов В.С. Лазерная оптико-акустическая спектроскопия. - М.: Наука, 1984. - 320 с.

35. Атипов А.Б., Капитанов В.А., Пономарев Ю.К. Сапожникова В.А. Оптико-акустический метод в лазерной спектроскопии молекулярных газов. - Новосибирск : Наука, 1984. - 128с.
36. Лазерная аналитическая спектроскопия / Под ред. В.С. Летохова. -М.: Наука, 1986. - 318с.
37. Барашков Н.Н. Люминесцентный анализ на службе здоровья. - М.: Наука, 1985-С.35-37.
38. Охрана труда в научных учреждениях академии наук СССР. -М.: Наука, 1972. - 575 с.
39. Илларионов В.Е. Техника и методики процедур лазерной терапии (Справочник). -М.: 1994. - 200с.



## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	3
1. Лазер и здоровье человека .....	4
1.1. Объекты лазерного воздействия .....	4
1.2. Проникновение излучения в биоткань .....	5
2. Лазеры для медицины .....	9
2.1. Классификация лазеров по физико-техническим параметрам ...	9
2.2. Физические основы лазерной техники .....	10
2.2.1. Излучение и поглощение электромагнитных волн веществом .....	11
2.2.1.1. Спонтанное и вынужденное излучение .....	12
2.2.1.2. Спектральные линии и их ширины .....	14
2.2.1.3. Инверсия активной среды как необходимое условие ге- нерции.....	14
2.2.1.4. Квантовый выход и коэффициент полезного действия лазера .....	16
2.2.1.5. Условие инверсии для четырехуровневой модели (ста- ционарная накачка) .....	17
2.2.1.6. Общие принципы создания инверсии .....	16
2.2.1.7. Заселение уровней .....	18
2.2.1.8. Очистка уровней (механизмы релаксации) .....	19
2.2.1.9. Импульсная накачка и ее преимущества перед стацио- нарной .....	20
2.2.1.10. Генерация излучения. Резонатор Фабри Перо .....	22
2.3. Некоторые из лазеров .....	24
2.3.1. Гелий-неоновый лазер .....	24
2.3.2. Газовые лазеры на ионах благородных газов .....	26
2.3.3. Лазер на углекислом газе (CO <sub>2</sub> -лазер) .....	27
2.3.4. Лазеры на парах металлов. Лазер на парах меди .....	28
2.3.5. Плазменные (рекомбинационные) лазеры на ионах щелочно-земельных металлов (стронций, кальций) .....	31
2.3.6. Эксимерные (эксиплексные) лазеры .....	32
2.3.7. Твердотельные лазеры .....	35
2.3.8. Полупроводниковые лазеры .....	38
2.3.8.1 Элементарные сведения о физике п/п лазеров. Отличительные особенности полупроводниковых лазеров .....	39
2.3.8.2. Условие существования отрицательной температуры. (инверсии) в полупроводниках .....	40

2.3.8.3. Инжекция носителей тока через p - n - переход .....	45
2.3.8.4. Инжекционный лазер на основе арсенида галлия .....	46
2.4. Светоизлучающие диоды (СИДы) .....	49
2.5. Краткий перечень наиболее известных лазеров .....	53
3. Применение лазеров в медицине .....	54
3.1. Лазерная хирургия .....	54
3.1.1. Физические процессы в лазерной хирургии .....	55
3.1.2. Хирургические лазерные установки .....	58
3.2. Низкоинтенсивная лазерная терапия .....	61
3.2.1. Механизмы взаимодействия низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ) с биообъектами .....	61
3.2.2. Области применения НЛИ. Лазерные терапевтические устройства.....	63
3.2.3. Дозировка низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ)...	65
3.3. Лазеры в фотодинамической терапии (ФДТ) .....	66
3.3.1. Механизм фотодинамического воздействия на биообъект .	66
3.3.2. Лазеры для ФДТ .....	68
3.3.3. Фотосенсибилизаторы для ФДТ .....	69
3.4. Побочные негативные эффекты взаимодействия лазерного излучения с биообъектами .....	69
3.5. Лазерная диагностика в биологии и медицине .....	71
3.5.1. Основные принципы лазерной диагностики .....	71
3.5.2. Некоторые из методов макродиагностики .....	73
3.5.2.1. Методы макродиагностики, использующие эффекты светорассеяния .....	73
3.5.2.2. Лазерная поляризационная нефелометрия .....	76
3.5.2.3. Лазерная интерферометрия .....	78
3.5.2.4. Голографическая диагностика .....	79
3.5.3. Методы и средства микродиагностики .....	79
3.5.3.1. Абсорбционные методы и средства .....	70
3.5.3.2. Лазерный флуоресцентный анализ .....	80
Приложение 1. Инструкция по технике безопасности при работе с лазерами.....	92
Приложение 2. Собственные частоты резонатора Фабри-Перо .....	94
Приложение 3. Примеры тем для рефератов .....	95
Приложение 4. Образец реферата .....	96
Литература .....	118
Содержание .....	121

