

03; 07

© 1991

ВОЗБУЖДЕНИЕ ОПТИКО-СТРУКТУРНОЙ
НЕУСТОЙЧИВОСТИ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ
НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ ИМПУЛЬСОМС.А. Скопинов, Е.Б. Вольф,
С.А. Курочкин

В последние годы активно обсуждаются возможные физические механизмы биологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения [1-3]. При этом существенное значение, наряду с проблемой первичного фотоакцептора [3-5], уделяется природе физических процессов, трансформирующих энергию поглощенных квантов света в функциональный отклик биожидкостей, клеток и тканей организма. В цикле работ на биологических жидкостях [6-8], суспензиях клеток [9] и модельных биомолекулярных растворах [10-12] показано, что воздействие излучения гелий-неонового лазера вызывает характерные однотипные изменения структурно-оптических характеристик этих жидких сред независимо от их молекулярного состава. Природа этих явлений до конца не ясна.

В настоящей работе установлена новая принципиально важная закономерность - отдаленная реакция биомолекулярных растворов на короткий импульс излучения.

В качестве объекта исследования использованы раствор альбумина (ЧСА-лиофилизированный производства фирмы *Reanal*) в изотоническом физиологическом растворе (0.9% NaCl производства фирмы *Polfa* - Польша) и сыворотка крови человека, полученная в результате свертывания крови стандартным методом. Источником излучения служил гелий-неоновый лазер ЛГ-75/1 (628.8 нм) с выходной мощностью до 30 мВт, плотность мощности нерасфокусированного луча составляла до 200 мВт/см². Исследуемая проба объемом до 1.5 мл помещалась в пластиковую кювету диаметром 1.3 см и облучалась в течение промежутка времени от 0.5 до 20 мин. Контрольный образец выдерживался в аналогичных условиях без облучения. В качестве регистрируемого параметра по аналогии с [9, 11, 12] использован показатель преломления исследуемого образца. Измерения производились путем отбора проб в количестве 40 мкл, как в контрольном, так и в опытном образце с интервалом от 0.5 до 1 мин на рефрактометр RL-3 (точность измерения $\pm 1 \cdot 10^{-4}$). Облучаемый образец и измерительная призма рефрактометра термостатировались в едином контуре при температуре 25 ± 0.5 С. Во всех случаях колебания n в контрольных образцах не превышали $2 \cdot 10^{-4}$ и в дальнейшем не приводятся.

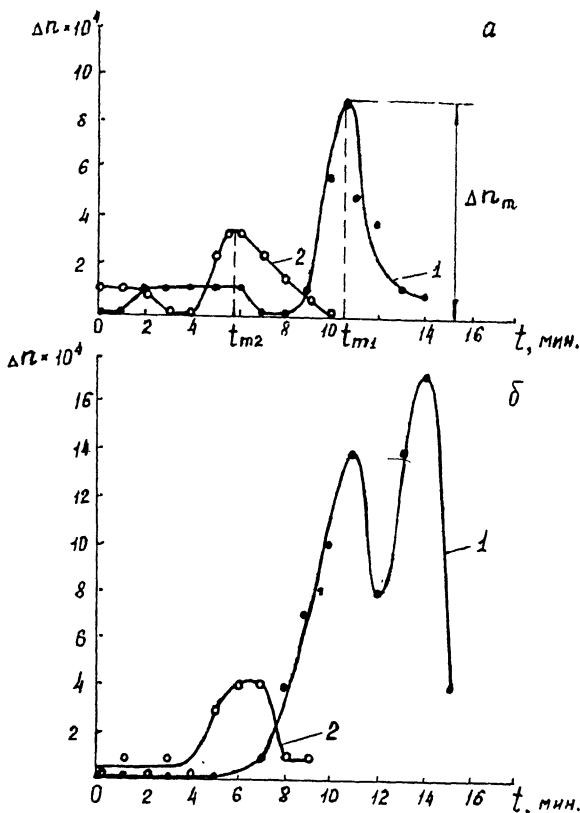


Рис. 1. Изменение показателя преломления (n) жидкости при непрерывном облучении (а) и облучении коротким единичным импульсом лазерного излучения (б); 1 - сыворотка крови, $P=15$ мВт/см², $t_g=15$ с; 2 - ЧСА, $P=45$ мВт/см², $t_g=2.5$ мин.

Основные результаты исследований, представленные на рис. 1, а, б и 2, заключаются в следующем:

1. Через интервал времени t_m после начала облучения (рис. 1, а, б) в растворе развивается характерная динамическая неустойчивость, имеющая вид кривой с максимумом.

2. Величина t_m^{-1} является линейной функцией мощности излучения (рис. 2), а угол наклона определяется особенностями исследуемого образца (для сыворотки крови индивидуальными особенностями донора), что согласуется с результатами, полученными ранее на суспензиях эритроцитов [9].

3. Экстремальное изменение функции $n(t)$, развивающееся на интервале до 10-15 мин, наблюдается как в случае непрерывного облучения (рис. 1, а), так и после воздействия короткого

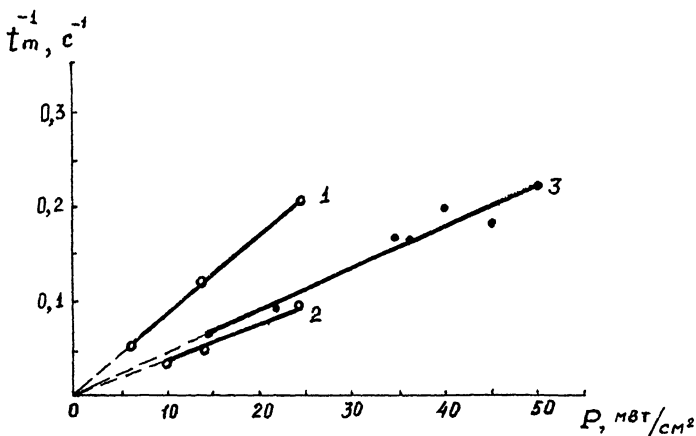


Рис. 2. Зависимость обратного времени экстремального изменения показателя преломления облученной жидкости (t_m^{-1}) от плотности мощности лазерного излучения (P); 1, 2 - сыворотки крови, 3 - ЧСА.

импульса излучения длительностью от 1-2 с и более (рис. 1, б). Если длительность импульса меньше некоторого предельного времени t_3 , то вне зависимости от мощности возбуждающего излучения величина $n(t)$ остается в пределах исходных значений. В большинстве проведенных экспериментов t_3 не превышало 1-5 с, однако в некоторых отдельных пробах (в частности, в растворе альбумина) достигало 60-120 с.

Оценим энергетические характеристики наблюдаемых эффектов. Изменение показателя преломления в максимуме (рис. 1) достигает величины $\Delta n_m = 1 \cdot 10^{-3}$, что соответствует изменению молярной рефракции $\Delta R_m = 5 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ [13]. Возрастание n на такую величину достигается, например, снижением температуры на 10 С [14], что требует затрат энергии ~ 6 Дж. При соотношении наблюдаемой величины Δn_m возможным возрастанием средней плотности водородных связей в среде [13], оценка затраченной энергии дает величину ~ 3 Дж.

За одну секунду облучения при средней мощности излучения 20 мВт через образец переносится световая энергия $2 \cdot 10^{-2}$ Дж. Как раствор белка, так и сыворотка крови являются достаточно прозрачными жидкостями, реально поглощенная ими энергия не превышает 10 %, что составляет не более $2 \cdot 10^{-3}$ Дж. Следовательно, между наблюдаемым оптическим откликом образца и возбуждающим его излучением существует энергетическое несоответствие, по крайней мере, в 2-3 порядка.

В работах [4, 15] на основе анализа спектров действия низкоинтенсивного лазерного излучения, полученных на суспензиях эритроцитов, выдвинуто предположение о прямом фотовозбуждении молекулярного кислорода из триплетного в синглетное состояние,

как о первичном механизме взаимодействия лазерного излучения с биологическими системами в диапазонах 630, 760 и 1260 нм. Эта модель хорошо согласуется с результатами экспериментов по исследованию фотоиндуцированной структурно-оптической неустойчивости в прозрачных и рассеивающих водных растворах, где отсутствуют другие фотоакцепторы, селективно поглощающие лазерное излучение в окрестности 630 нм [10-12]. В рамках этого подхода можно оценить [15], что при мощности излучения 20 мВт за время облучения 1 с генерируется не более 10^{10} молекул синглетного кислорода. Учитывая, что при безызлучательной деактивации молекулы $^1\text{O}_2$ на колебательные подуровни окружающих молекул передается энергия ~ 1 эВ, получим, что реальная энергия запуска фотоиндуцированного процесса не превышает 10^{-9} Дж. Таким образом, в ходе развития в среде структурно-оптической неустойчивости (рис. 1) исходное фотовоздействие должно быть усилено от 10^3 до 10^9 раз.

Зависимости, представленные на рис. 1, получены путем отбора микропроб ($\sim 0.03 \text{ см}^3$), которые в процессе измерения помещаются в тонкий капилляр ($d < 0.2 \text{ мм}$) между призмами рефрактометра. При этом значительная доля жидкости оказывается в непосредственном контакте с поверхностью призм. Исследуемые образцы (раствор альбумина и сыворотка крови) являются типичными коллоидными системами, насыщенными макромолекулярными глобулами с развитой поверхностью. Для таких систем характерно наличие широкого спектра метастабильных состояний, различающихся конформациями белковых глобул и структурой связанных с ними гидратных оболочек. Дополнительное, периодически вносимое в систему в процессе измерения, взаимодействие с твердой поверхностью призм рефрактометра, по-видимому, играет роль фактора, инициирующего переход между различными метастабильными состояниями биожидкости. Поскольку для перехода между метастабильными состояниями не требуется значительных затрат внешней энергии, а достаточно лишь формирования критического зародыша [16] новой фазы, то модель [17], связывающая эффекты лазерного облучения биосистем с фотоинициацией микроструктурных перестроек в жидких биосредах, качественно объясняет отмеченное выше несоответствие между энергиями возбуждения и регистрации эффекта.

Обнаруженная в настоящей работе реакция биологических жидкостей на короткие импульсы лазерного излучения позволяет поставить вопрос о пересмотре традиционных непрерывных режимов облучения при внутривенной лазерной терапии и создания более эффективных терапевтических лазерных установок с дозированной модуляцией излучения.

С п и с о к л и т е р а т у р ы

- [1] K a r u T.I. // IEEE J. Quant. Electron. 1987. V. OE-23. P. 1703-1707.

- [2] К р о в А.С., М о с т о в н и к о в В.А., Х о х - л о в И.В., С е р д т о в ч е н к о И.С. Терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения. Минск: Наука и техника, 1986. 231 с.
- [3] Д е в я т к о в Н.Д., З у б к о в а С.М., Л а п - р у н И.Б., М а н е е в а Н.С. // Успехи современной биологии. 1987. Т. 103. № 1. С. 31-43.
- [4] З а х а р о в С.Д., Е р е м е е в Б.В., П е р о в С.Н.// Краткие сообщения по физике. 1989. № 1. С. 15-16.
- [5] Г а м а л е я Н.Ф., Ш и ш к о Е.Д., Я н и н Ю.В. // ДАН СССР. 1983. Т. 273. С. 224-227.
- [6] М и н ц Р.И., С к о п и н о в С.А., Я к о в л е - в а С.В., Л и с и е н к о В.М., Д р о б и н и н а О.В.// Биофизика. 1989. Т. 34. № 6. С. 1060-1062.
- [7] М и н ц Р.И., С к о п и н о в С.А., Я к о в л е - в а С.В., Л и с и е н к о В.М., Д р о б и н и н а О.В.// Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1989. № 6. С. 35-37.
- [8] М и н ц Р.И., С к о п и н о в С.А., Я к о в л е - в а С.В. // Биофизика. 1990. Т. 35. В. 6. С. 998-999.
- [9] З а х а р о в С.Д., С к о п и н о в С.А., Ч у д н о в - с к и й В.М., П е р о в С.Н., П а н а с е н к о Н.А., В о л ь ф Е.Б., Е р е м е е в Б.В. // Изв. АН СССР. Сер. физич. 1990. Т. 54. № 8. С. 1629-1635.
- [10] С к о п и н о в С.А., Я к о в л е в а С.В. // Письма в ЖТФ. 1987. Т. 13. № 2. С. 68-71.
- [11] М и н ц Р.И., С к о п и н о в С.А., Я к о в л е в а С.В.// Письма в ЖТФ. 1988. Т. 14. В. 20. С. 1850-1853.
- [12] С к о п и н о в С.А., Я к о в л е в а С.В., Д е н и с о - в а Е.А., В а з и н а А.А., Ж е л е з н а я Л.А. // Молекулярная биология. 1989. Т. 23. № 2. С. 416-421.
- [13] Б а ц а н о в С.С. Структурная рефрактометрия. М.: Высшая школа, 1976. 303 с.
- [14] И о ф ф е Б.В. Рефрактометрические методы химии. Л.: Химия, 1983. 349 с.
- [15] З а х а р о в С.Д., Е р е м е е в Б.В., П е р о в С.Н., П а н а с е н к о Н.А. 1-я республиканская школа-семинар: Методы лазерной биофизики и их применение в биологии и медицине. Тарту, 1989. С. 23-60.
- [16] С к р и п о в В.П. Метастабильная жидкость. М.: Наука, 1972. 312 с.
- [17] З а х а р о в С.Д., М и н ц Р.И., С к о п и н о в С.А., Ч у д н о в с к и й В.М. Действие электромагнитного излучения на биологические объекты и лазерная медицина / Ред. Ильичев В.И. Владивосток: ДВО АН СССР. 1989. С. 41-52.

Поступило в Редакцию
22 октября 1991 г.