

*Н.П. МУСТЕЦОВ, канд. техн. наук, О.А. КАРАБАНОВА*

## **ВОЗМОЖНОСТИ ЛАЗЕРНЫХ МЕТОДОВ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ**

Бурное развитие микропроцессорной вычислительной техники и тесное сотрудничество клиницистов с инженерами делают применение точных и надежных биоанализаторов важнейшим условием постановки достоверного диагноза любого заболевания.

Кровь является "внутренней средой" организма, обеспечивающей его жизнедеятельность. Всякие отклонения от нормального функционирования организма приводят к изменению в составе всех структурных частей крови, поэтому ее исследование играет важную роль в диагностике заболеваний. При изучении этой биожидкости первенство принадлежит оптическим методам. Лазерная неразрушающая диагностика — одно из самых эффективных направлений применения лазерного излучения в медицине — пока не получила достаточного распространения. Это в некоторой степени объясняется большим числом физических явлений, лежащих в основе лазерных методов исследования, и сложностью аппаратуры.

В фотобиологическом отношении кровь представляет собой выраженную гетерогенную систему, что является главной причиной сложности ее оптических свойств. Выявлено, что поглощение цельной кровью видимого излучения обусловлено такими биомолекулами, как гемоглобин (максимумы его спектра поглощения соответствуют 415...430, 542, 576 нм), хлорофилл, флавины, каротиноиды, фибобилины и фитохром. При сравнении со спектром поглощения раствора гемоглобина видно, что в цельной крови длинноволновые полосы менее интенсивны. Полосы поглощения гемоглобина расположены в УФ-области оптического спектра (278 и 345 нм). В области с длиной волны 250...300 нм поглощают остатки ароматических аминокислот, входящие в состав гемоглобина, мембранных белков и свободные ароматические аминокислоты, находящиеся в плазме. В еще более коротковолновой области (длина волны менее 250 нм) поглощают остатки алифатических аминокислотных белков, свободные алифатические аминокислоты плазмы крови, липиды плазматических мембран, липиды плазмы, полисахариды и другие небелковые органические компоненты плазмы.

Высокая интенсивность полос поглощения цельной крови в области 230...280 нм и более коротковолновой области вызвана суммарным поглощением соответствующих компонентов плазмы и клеток

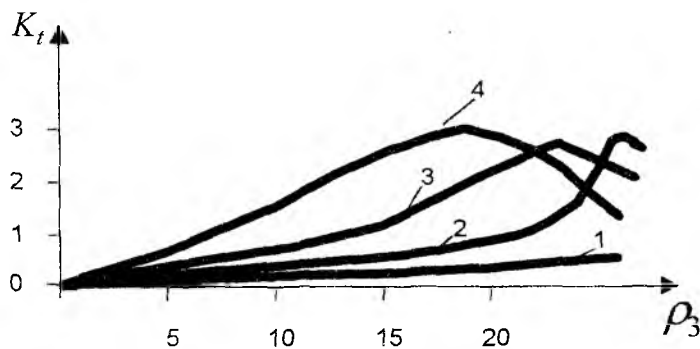
крови [1]. Оптический спектр поглощения плазмы характеризуется слабыми полосами с максимумами, отвечающими 370 и 420 нм, и очень сильным поглощением при 250 нм.

При прохождении лазерного потока через биожидкость интенсивность излучения ослабляется из-за поглощения, отражения и рассеяния. Рассматривая кровь как взвесь клеток, можно получить информацию об оптических свойствах самих частиц. В видимой области спектра чаще всего такие частицы имеют малое значение как действительной части относительного показателя преломления  $n = 1,02...1,2$ , так и мнимой части  $\chi = 10^{-5}...10^{-2}$ . К примеру, действительная часть показателя преломления эритроцита относительно плазмы  $n = 1,041...1,067$  ( $\lambda = 600$  нм), мнимая часть показателя преломления изменяется в пределах  $10^{-5}...10^{-2}$  ( $\lambda = 350...1000$  нм) [2].

Основными параметрами, определяющими рассеяние лазерного излучения биочастицами, являются их размер, форма, показатель преломления  $m = n - i\chi$ , структура, функция полидисперсности. В связи с этим, если рассеяние связано с атомными и молекулярными процессами, в которых фотон излучается неупруго, говорят о комбинационном рассеянии. Спектральные компоненты такого рассеяния сдвинуты относительно частоты падающего излучения на отрезки частотного интервала, соответствующие внутренней энергии рассеивающих атомов и молекул. Если частота измеряемого излучения когерентна частоте облучения объекта, т.е. не происходит сколько-нибудь значительного обмена энергией с внутренними состояниями молекул или атомов, говорят о релеевском рассеянии. В этом случае размер рассеивающей частицы мал по сравнению с длиной волны  $\lambda$ , составляя 0,1 ее или меньше. Интенсивность релеевского светорассеяния зависит от длины волны излучения и угла между падающим и рассеянным светом: она обратно пропорциональна четвертой степени длины волны. Внутренняя структура такой биочастицы не влияет на параметры рассеяния. Когда диаметр клетки  $r$  сравним по порядку величины или во много раз больше длины волны излучения в видимой области спектра, то большая часть интенсивности рассеянного лазерного излучения сосредоточивается в передней полусфере по направлению падения света, т.е. волны в боковые направления и назад гасятся в результате взаимной интерференции (эффект Ми). Некоторые оптические явления не могут быть объяснены или предсказаны на основе перечисленных подходов; тогда, в зависимости от размера и показателя преломления частиц, используется то или иное теоретическое приближение (таблица).

Приближение	Дифракционный параметр $\rho = 2\pi r/\lambda$	Показатель $ m-1 $
Релея — Ганса — Дебая	$<1$	$\ll 1$
Аномальная дифракция	$\gg 1$	$\ll 1$
Дифракция Фраунгофера	$>10$	Произвольный

Большинство форменных элементов крови можно рассматривать как большие "мягкие" частицы ( $\rho \gg 1$ ,  $|m-1| \ll 1$ ). Для определения закономерностей рассеяния такими частицами применяют различные модели, наиболее распространенными из которых являются шар, сфера или эллипсоид вращения с некоторыми усредненными значениями оптических свойств. Трехслойная сфера, будучи моделью частицы с ядром, окруженным слоем клеточного вещества в оболочке, дает возможность оценить влияние размера и внутренней структуры частицы на ослабление и рассеяние падающего излучения. Зависимость коэффициента ослабления  $K_t$  такой сферы от дифракционного параметра



ядра  $\rho_3$  представлена на рисунке. Функции отвечают различным значениям отношения радиуса ядра к внешнему радиусу частицы  $V_{13}$ , а также комплексного показателя преломления ядра  $m_{13}$ . Кривая 1 соответствует значениям  $V_{13} = 0,4$ ,  $m_{13} = 1,05$ ; кривая 2 —  $V_{13} = 0,4$ ,  $m_{13} = 1,09 + i \cdot 10^{-4}$ ; кривая 3 —  $V_{13} = 0,4$ ,  $m_{13} = 1,13 + i \cdot 10^{-2}$ ; кривая 4 —  $V_{13} = 0,8$ ,  $m_{13} = 1,13$ .

Анализ такой модели по теории Ми показывает, что светорассеяние на внутренних неоднородностях частиц значительно меньше эффекта поглощения, если дифракционный параметр неоднородности  $\rho \ll 0,1$ .

При отношении радиуса ядра к внешнему радиусу частицы, меньшем  $1/3$ , ядро не участвует в светорассеянии. Оболочка в большинстве практически встречающихся случаев не влияет на интегральные оптические характеристики клетки.

Как известно, основная часть излучения, рассеянного большими "мягкими" частицами, образует малый телесный угол. Но высокоинтенсивный поток лазерного излучения, обладающий уникальными характеристиками по сравнению с любыми другими источниками излучения, обеспечивает достаточное количество энергии, рассеиваемой и в других углах, т.е. картина рассеяния может быть адекватно зарегистрирована. Появление максимумов и минимумов на индикатрисе рассеяния можно использовать для определения размеров частиц. Областью, наиболее чувствительной к изменению как внутреннего содержания, так и структуры клетки, является задняя полусфера углов рассеяния ( $110...160^\circ$ ). Структура частицы не влияет на форму индикатрисы рассеянного излучения, если относительный дифракционный параметр ядра  $\rho_3 < 0,1$  или объем вкрапления составляет менее  $1/6$  радиуса частицы [3].

Таким образом, анализ и правильная интерпретация сигнала рассеяния лазерного излучения дает возможность применять методы светорассеяния в сортировке клеток по различным признакам — по размерам, форме частиц, содержанию ДНК, белка, мембран, аминокислот, а также для идентификации клеток (на различных стадиях жизненного цикла), подвергшихся воздействию лекарственных веществ или радиации. Информативность регистрируемого параметра рассеяния зависит как от правильности постановки задачи измерения и свойств исследуемых биообъектов, так и от условий получения информации: дозы и условий облучения, спектрального состава лазерного излучения, метрологических характеристик устройства первичной обработки измерительной информации.

**Список литературы:** 1. Холмогоров В.Е., Крыленко В.А., Османов М.А. Первичные фото-процессы в крови и ее компонентах при действии оптического излучения. Л.: Изд-во ЛГУ, 1987. 156 с. 2. Приезжев А.В., Тучин В.В., Шубочкин Л.П. Лазерная диагностика в биологии и медицине. М.: Наука, 1989. 365 с. 3. Лопатин В.Н., Сидько Ф.Я. Введение в оптику клеток. Новосибирск: Наука, 1988. 240 с.

*Харьковский государственный технический университет радиозлектроники*

*Поступила в редколлегию 11.07.97*