

Биомедицинская инженерия
в техническом университете



Л.В. Жорина, Г.Н. Змиевской

ОСНОВЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФИЗИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ ОБЪЕКТАМИ

Л.В. Жорина, Г.Н. Змиевской

Издательство МГТУ имени Н.Э. Баумана

**Биомедицинская инженерия
в техническом университете**

Серия основана в 2005 году

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

чл.-кор. РАН *И.Б. Федоров* – главный редактор
д-р техн. наук *С.И. Щукин* – зам. главного редактора
д-р техн. наук *И.Н. Спиридонов*
д-р мед. наук *О.В. Рутковский*
д-р техн. наук *В.Б. Парашин*
д-р техн. наук *О.С. Нарайкин*

Москва
Издательство МГТУ имени Н.Э. Баумана
2006

Л.В. Жорина, Г.Н. Змиевской

ОСНОВЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФИЗИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ ОБЪЕКТАМИ

Воздействие ионизирующего и оптического излучения

Под редакцией доктора технических наук, профессора С.И. Щукина

*Рекомендовано УМО по образованию в области радиотехники,
электроники, биомедицинской техники и автоматизации
в качестве учебного пособия для студентов
высших учебных заведений, обучающихся
по направлению подготовки дипломированных специалистов
«Биомедицинская техника» и направлению подготовки
бакалавров и магистров «Биомедицинская инженерия»*

Москва
Издательство МГТУ имени Н.Э. Баумана
2006

УДК 577.3(075.8)
ББК 28.071
Ж812

Рецензенты:

д-р физ.-мат. наук, проф. Э.М. Трухан
(зав. кафедрой биофизики и экологии Московского
физико-технического института);

д-р физ.-мат. наук, проф. Х.Б. Хоконов
(зав. кафедрой физики твердого тела Кабардино-Балкарского
государственного университета);

д-р физ.-мат. наук, проф. М.И. Киселев
(зав. кафедрой «Метрология и взаимозаменяемость»
МГТУ им. Н.Э. Баумана)

Жорина Л.В., Змиевской Г.Н.

Ж812 Основы взаимодействия физических полей с биологическими объектами: Воздействие ионизирующего и оптического излучения: Учеб. пособие / Под ред. С.И. Щукина. – М.: Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2006. – 240 с.: ил. (Биомедицинская инженерия в техническом университете).

ISBN 5-7038-2764-7

Рассмотрены механизмы взаимодействия излучений ионизирующего и оптического диапазонов с биологическими структурами на различных уровнях организации применительно к задачам медицинской диагностики, терапии и хирургии. Описаны принципы построения источников излучения и средств измерения доз воздействия на биологические объекты.

Содержание учебного пособия соответствует курсу лекций, который авторы читают в МГТУ им. Н.Э. Баумана.

Для студентов технических университетов, обучающихся по направлению подготовки специалистов «Биомедицинская техника», бакалавров и магистров, обучающихся по направлению «Биомедицинская инженерия», а также для студентов высших медицинских учебных заведений и медико-биологических факультетов университетов.

УДК 577.3(075.8)
ББК 28.071

© Л.В. Жорина, Г.Н. Змиевской, 2006
© МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2006
© Оформление. Издательство МГТУ
им. Н.Э. Баумана, 2006

ISBN 5-7038-2764-7

ПРЕДИСЛОВИЕ

Изучение дисциплины «Основы взаимодействия физических полей с биологическими объектами» характеризуется разнообразием факторов, влияющих на биообъекты, механизмов их взаимодействия с биоструктурами, а также источников и средств измерения параметров воздействия, поэтому основной методической проблемой является классификация большого объема изучаемого материала.

Учебное пособие «Основы взаимодействия физических полей с биологическими объектами» написано на основе общепринятой классификации электромагнитных полей по длинам волн (или эквивалентной энергии квантов излучения).

Пособие и его главы имеют единую структуру. Основному изложению предшествует вводная часть, представляющая собой обзор вопросов, рассмотренных в последующих главах более обстоятельно. Главы построены по традиционной схеме: классификация взаимодействий, их первичные физические механизмы, системная иерархия, краткое описание рассмотренных взаимодействий применительно к диагностике, терапии и хирургии.

Учебное пособие в целом посвящено воздействию на биологические объекты ионизирующего и оптического излучения; радиочастотного излучения КВЧ-, СВЧ- и ВЧ-диапазонов и низкочастотных электромагнитных полей.

Специфика материала предполагает участие различных по составу авторских коллективов.

В этой книге подробно изложены вопросы дозиметрии излучений. Менее детально описаны технические средства генерации воздействий и измерения их параметров, так как они являются объектом изучения в курсах «Технические методы диагностических исследований и лечебных воздействий», «Медицинские приборы, аппараты, системы и комплексы» и др.

Выпускаемое учебное пособие по основам взаимодействия физических полей с биологическими объектами предназначено для студентов, аспирантов и преподавателей технических университетов, высших медицинских учебных заведений и медико-биологических факультетов в университетах.

Редсовет выражает благодарность доктору технических наук, профессору И.Н. Спиридонову за значительный вклад в подготовку пособия к изданию.

Доктор технических наук, профессор

С.И. Щукин

ПРИНЯТЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

ν	– частота
E	– вектор напряженности электрического поля
H	– вектор напряженности магнитного поля
ϵ	– диэлектрическая проницаемость
ϵ_0	– электрическая постоянная
μ	– магнитная проницаемость, коэффициент экстинкции, коэффициент затухания звука
μ_0	– магнитная постоянная
t	– время
x, y, z	– декартовы координаты
r	– радиус-вектор
ω	– циклическая частота, содержание воды в ткани
k	– волновой вектор
λ	– длина волны
c	– скорость света в вакууме, скорость звука
v	– фазовая скорость, скорость фотосинтеза, скорость колебания
F	– сила
e	– заряд электрона
B	– вектор магнитной индукции
I	– интенсивность, средний потенциал ионизации
\mathcal{E}	– энергия
P	– степень поляризации
h	– постоянная Планка
p	– импульс, давление
$A_{\text{вых}}$	– работа выхода электрона из металла
m	– масса
m_e	– масса электрона
λ_K	– длина волны Комптона
ψ	– волновая функция
W	– вероятность нахождения частицы
$U_{\text{пот}}$	– потенциальная энергия
\mathcal{H}	– полный квантово-механический гамильтониан
R_{mn}	– интеграл переходного момента
\hat{R}	– оператор электрического дипольного момента
Φ	– электронная часть волновой функции, плотность потока

χ	– ядерная часть волновой функции, линейный коэффициент эффекта образования пар
S	– спиновая часть волновой функции, вектор волновых колебаний, площадь поверхности, сечение образца
ρ	– плотность
L	– уровень звука
U	– напряжение
Φ	– поток
\mathcal{J}	– сила тока
Z	– порядковый номер вещества
$D_{\text{п}}$	– поглощенная доза (доза облучения ИИ)
$D_{\text{об}}$	– доза облучения в оптическом диапазоне
$D_{\text{п.о}}$	– поглощенная доза образцового облучения
D	– фотодинамическая доза
X	– экспозиционная доза
q	– заряд
Q	– коэффициент качества ИИ
\mathcal{E}	– эквивалентная доза
η	– квантовый выход (квантовая эффективность), вязкость среды
τ	– время протекания процесса, время жизни молекулы в данном состоянии, время жизни флуоресценции, время термической релаксации, время теплопотерь
$A_{\text{и}}$	– энергия ионизации
θ	– угол рассеяния
$\mu_{\mathcal{E}}$	– линейный коэффициент ослабления потока излучения средой
$\mu_{\text{ког}}$	– линейный коэффициент когерентного рассеяния
$\tau_{\text{ф/э}}$	– линейный коэффициент фотоэффекта
σ	– линейный коэффициент комптоновского взаимодействия, площадь сечения мишени, сечение поглощения молекулы
μ_m	– массовый коэффициент ослабления потока излучения средой
$N_{\mathcal{E}}$	– число событий с передачей энергии \mathcal{E} ;
$W(n)$	– вероятность n попаданий в мишень
V	– объем
N	– число объектов, число квантов (фотонов)
ξ	– среднее число попаданий в мишень
$\langle M \rangle$	– среднее число частиц, пролетающих через единичную площадку

$y(D_n)$ – выход повреждений биообъекта под действием ИИ
 \bar{z} – событие энергопоглощения
 \bar{c} – концентрация вещества
 τ^* – коэффициент пропускания
 \bar{D} – оптическая плотность
 \bar{k} – коэффициент поглощения
 ε_λ – молярный коэффициент поглощения
 α_n – натуральный показатель поглощения
 l_α – характерная глубина проникновения
 ρ^* – коэффициент отражения
 m^* – натуральный показатель рассеяния
 S^* – показатель степени в зависимости интенсивности рассеяния от длины волны падающего излучения
 n – концентрация
 $K_{\text{хим}}$ – константа химической реакции
 P_E – мощность излучения лазера
 T_E – время воздействия лазерного излучения на биоткань
 μ_{max} – коэффициент экстинкции в максимуме полосы поглощения
 $\Delta\nu_{1/2}$ – ширина полосы частот на половине высоты
 g_3, g_1 – факторы вырождения триплетного и синглетного состояния молекулы соответственно
 r – степень анизотропии флуоресценции, радиус зрачка
 k_i – константы скоростей перехода с уровня на уровень
 $\gamma_{\text{ик}}$ – квантовый выход интерконверсии
 N_k – скорость приращения количества кислорода
 k_Φ – константа скорости ферментативной реакции
 \bar{c}_Φ – концентрация фермента
 K_M – константа Михаэлиса
 t_d – среднее время превращения одной молекулы субстрата
 $K_\lambda(\lambda)$ – кривая видности (спектральная световая эффективность)
 Φ_e – светотехнический поток
 $V(\lambda)$ – относительная кривая видности
 K_{max} – значение $K_\lambda(\lambda)$ в максимуме зрительного ощущения
 E – яркость

α_Φ – коэффициент пересчета световых величин в энергетические
 $\Phi_e(\lambda)$ – спектральная плотность потока
 $\sigma_{\text{С-Б}}$ – постоянная Стефана – Больцмана
 T – температура
 R_s – интегральная плотность мощности (энергетическая светимость), интегральная испускательная способность
 $\Phi_{\text{солн}}$ – солнечная постоянная
 $\delta\theta$ – угловое расстояние
 f – фокусное расстояние глаза
 M – молекулярная масса
 r_λ, r_ν – испускательная способность
 a_ν – поглощательная способность
 $\bar{\varepsilon}$ – спектральный коэффициент излучения (коэффициент серости)
 r_λ^*, r_ν^* – испускательная способность абсолютно черного тела
 U_λ, U_ν – средняя спектральная плотность энергии излучения
 P_n – поглощенная мощность
 $P_{\text{изл}}$ – излученная мощность
 p – момент электрического диполя
 k_B – постоянная Больцмана
 A_{mn}, B_{mn} – вероятность перехода между уровнями n и m
 b – постоянная Вина
 Ω – телесный угол
 $q(r, t)$ – плотность потока энергии источника тепла
 $L'(r, t)$ – общая плотность потока энергии облучения
 \bar{Q} – теплота
 C – удельная теплоемкость
 d – глубина прогрева ткани
 $\bar{c}_{\text{Фс}}$ – концентрация фотосенсибилизатора
 c^* – тепловой контраст
 K – адиабатический объемный модуль упругости среды
 β – коэффициент проникновения звуковой волны из среды в среду
 $c_{\text{пр}}, c_{\text{и}}$ – скорости приемника и источника волн
 c_0 – скорость объекта
 ν_r – частота генератора
 $\nu_{\text{пр}}$ – частота приемника

- v_d – доплеровский сдвиг частоты
 μ_n – коэффициент затухания звука в результате поглощения
 $\mu_{\text{расс}}$ – коэффициент затухания звука в результате рассеяния
 χ_ε – удельная тепловая энергия разрушения ткани
 f^* – частота повторения импульсов
in vitro – образцы, изолированные от организма
in situ – в живом организме

ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

В1. БИОТЕХНИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

Биотехническая система (БТС) представляет собой совокупность биологических и технических элементов, объединенных в функциональную систему. БТС замкнуты в единый контур управления и основаны на принципах взаимодействия живой и неживой природы посредством информационного, энергетического обмена и обмена веществами [1].

Основное свойство БТС – адаптивность, обусловленная наличием двух контуров адаптации системы – внешнего и внутреннего. Внешний контур дает БТС возможность выполнять свою целевую функцию в условиях переменных воздействий внешних факторов, внутренний – позволяет элементам БТС взаимно адаптироваться к изменению состояния друг друга, вызванного воздействием внешних и внутренних факторов [1, 2]. Под влиянием воздействий система может выйти из состояния покоя или изменить свое состояние. Совокупность процессов перехода из одного состояния в другое составляет сущность управления. Выполнение функций БТС связано с обменом веществом и энергией, а управление осуществляется за счет получения информации [3, 4].

Далее нас будет интересовать только медицинская БТС, а именно БТС-М. Различают четыре класса БТС-М: диагностическая, терапевтическая, хирургическая и искусственные органы и аппараты искусственного жизнеобеспечения. Связи (информационная, энергетическая, вещественная) в системе могут быть прямыми, обратными, нейтральными. Прямые предназначены для передачи вещества, энергии, информации или их комбинации от одного элемента к другому в соответствии с последовательностью функций элементов. Обратная связь в БТС-М используется в основном для контроля за процессом воздействия и для управления процессом лечения. Наличие обратных связей характерно для всех адаптивных систем.

БТС может включать источник поля (источник ультразвука, лазер, источник электромагнитного поля, рентгеновский источник) для воздействия на биообъект. Реакцию биообъекта на внешнее воздействующее поле следует рассматривать в рамках биотехнической системы.

Вся медико-биологическая информация, поступающая от пациента, делится на медленно изменяющиеся процессы (МИП) и на быстро изменяющиеся процессы (БИП). МИП – это такие процессы, как частота сердечных сокращений, частота дыхания, температура тела и т. д., БИП – это электрофизиологические процессы (электрокардиосигнал, электроэнцефалограмма и т. д.) [1].

На рис. В1 в качестве примера приведена структурная схема измерительно-информационной БТС-М.

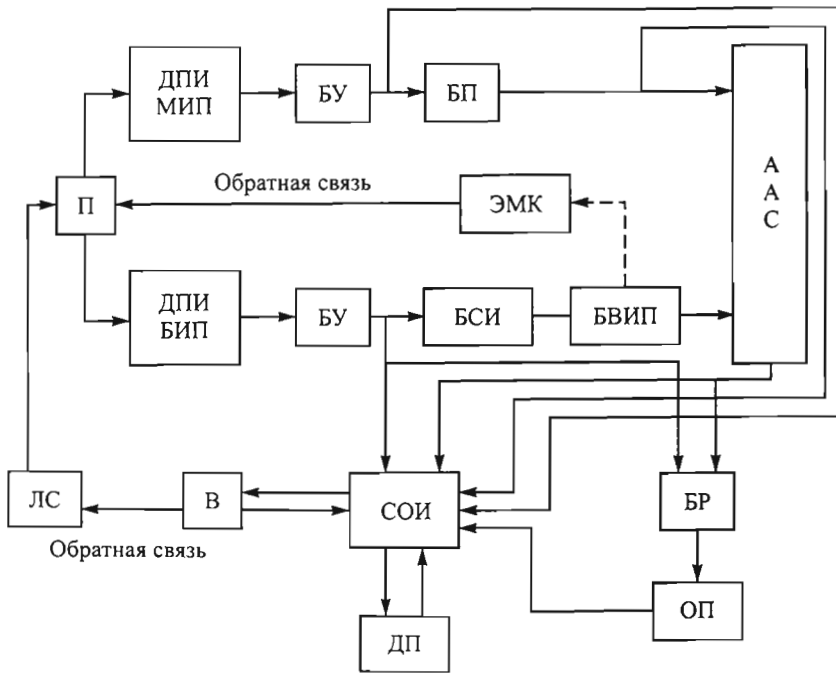


Рис. В1. Структурная схема измерительно-информационной БТС-М:

П – пациент; ДПИ – датчик-преобразователь первичной информации; БУ – блок усиления; БП – блок преобразования электрического сигнала в цифровую форму; ААС – автоматический анализатор состояний; БР – блок регистрации; СОИ – система отображения информации (демонстрирует состояние пациента на экране дисплея); БСИ – блок сжатия информации для БИП; БВИП – блок выделения информативных признаков; ДП и ОП – блоки долговременной и оперативной памяти; В – врач; ЛС – лечебные средства; ЭМК – электромеханический контроллер или электронный преобразователь сигнала

Медицинская БТС должна обязательно содержать систему мониторинга непрерывной (текущей) диагностики состояния живого организма.

Мониторные системы (МС) БТС-М характеризуются двумя видами управления. Пассивное реализуется в МС с обратной связью, включающей действия врача. Система функционирует в результате выработки сигналов визуальной и (или) звуковой тревоги, которая включается как только в физиологическом параметре отмечаются какие-то существенные отклонения (в простейшем случае он вышел из заданного диапазона). Сигнал тревоги вырабатывается в БВИП и поступает в БР и СОИ. При этом врач старается вернуть физиологический параметр в его нормальный диапазон посредством реанимационных фармакологических или физических воздействий.

Если для нас существенно как воздействие на биообъект, так и обратное воздействие биообъекта на поле, то мы используем БТС активного типа (рис. В2) в отличие от одностороннего случая, когда мы используем пассивную БТС. В БТС-М пассивного типа энергетическое воздействие является однонаправленным от биологических объектов к техническим. Примером такой БТС может служить комплекс приборов для регистрации электрокардиограммы (ЭКГ).

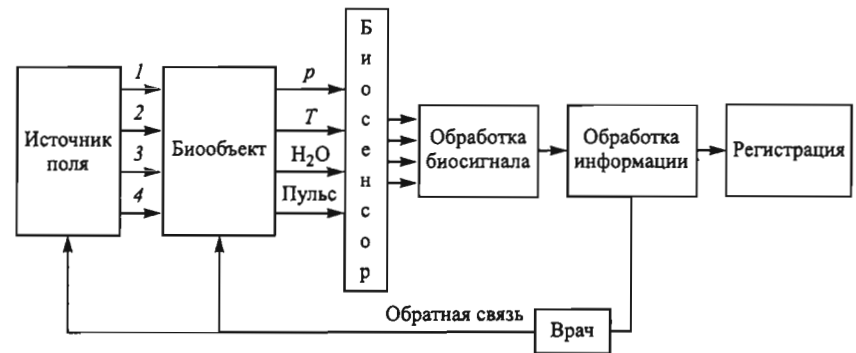


Рис. В2. Схема БТС активного типа с различными видами воздействия на биообъект:

1 – ультразвук; 2 – лазер; 3 – электромагнитное поле; 4 – рентген; p – давление; T – температура

При активном управлении, т. е. в замкнутой информационно-измерительной и управляющей БТС-М, существует непосредственная обратная связь между БВИП и ЭМК физиологического выхода системы (штриховая линия на рис. В1). При этом электронный преобразователь сигнала анализирует поступающую с БВИП информацию и корректирует параметры БТС. В вычислительных МС роль БВИП выполняет ЭВМ. В БТС-М активного типа осуществляется тот или иной тип воздействия на организм с лечебно-диагностическими целями.

Параметры воздействующих физических полей для диагностики и терапии не должны превышать *радиуса адаптации* биообъекта, т. е. той величины, в пределах которой система способна самостоятельно вернуться в исходное состояние. Если параметры воздействующих полей превышают радиус адаптации, то возможны необратимые процессы или переход биообъектов в патологическое состояние. Иначе говоря, необходимо ввести понятие *порогового значения* воздействия. Соответственно изучение поведения БТС может проводиться в подпороговом (в рамках адаптации), надпороговом (с акцентом на производимые изменения) и в пограничном (процессы вблизи точки бифуркации) режимах. Если же параметры биообъекта не согласуются с параметрами технических элементов, то БТС не способна правильно сориентироваться и выработать тактику поведения. Такое случается, например, при терапевтическом или хирургическом воздействии. Следовательно, должен выполняться принцип идентификации или целостности, требующий единства информационных и управляющих сигналов, с помощью которых производится вещественный, энергетический или информационный обмен внутри БТС [1, 3, 4].

Обобщенная количественная мера энергетического воздействия на биообъект обычно называется *дозой*. Такое определение дозы, учитывающее в принципе любые воздействия, нуждается в конкретизации, чтобы его можно было использовать как рабочее для определенного вида взаимодействий. Распределение накопленной в биообъекте энергии далеко не всегда поддается достоверной количественной оценке. Так как биообъект претерпевает внешнее воздействие, то необходимо выделить отклик биообъекта на это воздействие. Если нет возможности отследить и количественно охарактеризовать отклик, то нет возможности и предсказать результаты взаимодействия. Но понятие отклика требует специального определения, которое учитывает сложность объекта воздействия и системный характер взаимодействия. Под откликом будем понимать совокупность всех реакций объекта, которые можно в той или иной степени связать с данным воздействием. Количественной мерой отклика является совокупность соотносимых параметров, поддающихся измерению. Измеряя эти соотносимые параметры, можно предсказать биологический эффект, даже не зная характеристик самого биообъекта.

Таким образом, основная задача дозиметрии заключается в следующем: построение функциональной зависимости между совокупностью параметров воздействия и соотносимыми параметрами отклика и использование этой функциональной зависимости для управления самим воздействием.

Заметим, что вторая часть поставленной задачи может быть решена только при уже известной функциональной зависимости между параметрами воздействия и соотносимыми параметрами отклика (обычно эта зависимость в литературе называется «доза-эффект»). Правильный прогноз отклика может быть сделан только в том случае, если построение функции воздействие – отклик (ФВО) проведено корректно. В конкретных задачах, где результаты воздействия выражаются большим и априори неизвестным количеством параметров, построение ФВО включает в себя всю совокупность эвристических элементов как исследовательского, так и метрологического характера.

В2. ВОЛНОВЫЕ И КВАНТОВЫЕ СВОЙСТВА ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ. СТРУКТУРА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ АТОМОВ И МОЛЕКУЛ

Перед тем как перейти непосредственно к рассмотрению взаимодействия физических полей с биообъектами, кратко напомним основные свойства электромагнитных волн.

Электромагнитное излучение (ЭМИ) обладает волновыми и квантовыми свойствами (проявляет корпускулярно-волновой дуализм). Согласно уравнению Максвелла, векторы \mathbf{E} и \mathbf{H} переменного электромагнитного поля удовлетворяют волновому уравнению в однородной изотропной непроводящей среде:

$$\Delta \mathbf{E} - \varepsilon \varepsilon_0 \mu \mu_0 \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} = 0; \quad \Delta \mathbf{H} - \varepsilon \varepsilon_0 \mu \mu_0 \frac{\partial^2 \mathbf{H}}{\partial t^2} = 0;$$

$$\Delta = \partial^2 / \partial x^2 + \partial^2 / \partial y^2 + \partial^2 / \partial z^2 = \partial^2 / \partial r^2.$$

Решение волнового уравнения: $E(\mathbf{r}, t) = E_{\max} \sin(\omega t - \mathbf{k} \cdot \mathbf{r})$, где $\omega = 2\pi\nu$ – циклическая частота колебаний векторов \mathbf{E} и \mathbf{H} , ν – частота этих колебаний; $k = 2\pi/\lambda$ – волновой вектор, $\lambda = c/\nu$ – длина волны, c – скорость света в вакууме.

Переменное электромагнитное поле распространяется в пространстве в виде волн с фазовой скоростью $v = c/\sqrt{\varepsilon\mu}$, $c = 1/\sqrt{\varepsilon_0\mu_0} = 3 \cdot 10^8$ м/с = $2,9979 \cdot 10^8$ м/с. Электромагнитные волны поперечны: $(\mathbf{E}\mathbf{H}) = 0$, $\mathbf{E} \perp \mathbf{v}$, $\mathbf{H} \perp \mathbf{v}$, векторы \mathbf{E} и \mathbf{H} колеблют-

ся в одной фазе и образуют с вектором скорости правую тройку векторов, а их модули связаны соотношением

$$\sqrt{\epsilon\epsilon_0} E = \sqrt{\mu\mu_0} H. \quad (B1)$$

Монохроматической называется волна, векторы E и H которой колеблются с определенной частотой.

Одним из важнейших выводов теории Максвелла является электромагнитная природа света. Экспериментально установлено, что действие света на устройства его регистрации (фотоэлемент, фотопленку, флуоресцирующий экран и т. д.) определяется вектором электрической напряженности E электромагнитного поля световой волны. Это согласуется с классической электронной теорией, согласно которой процессы, вызываемые действием света на вещество, связаны с действием электромагнитного поля световой волны на заряженные частицы вещества – электроны и ионы. Поскольку частота видимого и более коротковолнового излучения очень велика ($\nu \sim 10^{15}$ Гц), то сколь-нибудь значительные по амплитуде вынужденные колебания могут совершать только электроны, поскольку их масса намного меньше массы ионов. Обобщенная сила Лоренца, действующая на электроны со стороны электромагнитного поля,

$$F = -\{eE + e[v_1 B]\} = -e\{E + \mu\mu_0 [v_1 H]\}.$$

Здесь e и v_1 – заряд и скорость электрона; $B = \mu\mu_0 H$ – вектор магнитной индукции электромагнитного поля. С учетом (B1) покажем, что абсолютная величина магнитной составляющей силы F намного меньше ее электрической составляющей: $\mu\mu_0 \|[v_1 H]\| \leq \mu\mu_0 v_1 H = (v_1/v)E \ll E$, так как значение скорости распространения электромагнитной волны $v \sim 10^8$ м/с, а значение скорости электрона в атоме при вынужденных колебаниях под действием света $v_1 \sim 10^6$ м/с, следовательно, $F \approx eE$.

Интенсивность (плотность потока энергии) электромагнитной волны – это физическая величина I , численно равная энергии, которую переносит волна за единицу времени через единицу площади поверхности, расположенной перпендикулярно к направлению распространения волны,

$$I = \langle I \rangle; I = \langle \mathcal{E} \rangle v,$$

где I – вектор Умова – Пойнтинга; $\langle \mathcal{E} \rangle$ – среднее значение объемной плотности энергии поля волны; v – фазовая скорость волны. В лазерной технике получил распространение термин «плотность мощности», используемый как синоним интенсивности и измеряемый в тех же единицах (Вт/м²).

Интенсивность плоской линейно поляризованной монохроматической бегущей волны

$$I = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{\epsilon\epsilon_0}{\mu\mu_0}} E_{\max}^2,$$

где E_{\max} – амплитуда колебаний вектора E .

Волновая природа излучения проявляется в явлениях дифракции и интерференции. Для этих явлений большое значение имеет временная и пространственная когерентность колебаний.

Временная когерентность – степень согласования фаз колебаний в одной и той же точке пространства в различные моменты времени.

Пространственная когерентность – степень согласования фаз (когерентность) колебаний, которые совершаются в один и тот же момент времени в разных точках плоскости, перпендикулярной направлению распространения волны.

Волновой природой света объясняется также поляризация ЭМИ. Обычный свет неполяризован, он испускается неориентированными излучательными системами. Плоскополяризованным называется свет, у которого вектор E сохраняет настоящую ориентацию в процессе распространения. Такой свет получают путем отражения от плоской поверхности или пропусканием через двулучепреломляющие кристаллы. Степень поляризации определяется по следующей формуле:

$$P = (I_{//} - I_{\perp}) / (I_{//} + I_{\perp}),$$

где $I_{//}$, I_{\perp} – интенсивности света, пропущенного анализатором параллельно и перпендикулярно плоскости максимальной поляризации падающего света.

При рассмотрении элементарных взаимодействий необходимо представить свет в виде потока частиц (фотонов). Для нахождения энергии фотона \mathcal{E} используется формула Планка: $\mathcal{E} = h\nu =$

$$= \frac{hc}{\lambda}, \text{ а для нахождения импульса соответственно } p = \frac{\mathcal{E}}{c} = \frac{h\nu}{c} = \frac{h}{\lambda},$$

где h – постоянная Планка.

Корпускулярными свойствами света объясняется явление фотоэффекта:

$$h\nu = A_{\text{вых}} + m_e v^2 / 2,$$

(здесь $A_{\text{вых}}$ – работа выхода электрона из металла; $m_e v^2 / 2$ – максимальная кинетическая энергия электрона после вылета из металла), а также эффект Комптона (рассеяние рентгеновского излучения в среде с испусканием электрона):

$$\lambda_{\text{расс}} - \lambda_{\text{пад}} = \lambda_K (1 - \cos \theta) = 2\lambda_K \sin^2(\theta/2) = 0,0242(1 - \cos \theta),$$

где θ – угол рассеяния; $\lambda_K = h/m_e c$, m_e – масса электрона.

По мере развития квантовых представлений корпускулярно-волновой дуализм был распространен и на частицы, имеющие в отличие от фотона массу покоя (Луи де Бройль, 1924). Согласно теории, предложенной Луи де Бройлем, движение частицы (электрона) подобно волновому процессу с длиной волны $\lambda = h/mv$. В квантовой механике это движение описывается волновой функцией $\psi(x, y, z, t)$. Вероятность нахождения частицы в некотором малом объеме зависит от квадрата модуля волновой функции:

$$dW = |\psi|^2 dx dy dz.$$

Найти волновую функцию ψ можно, решив основное уравнение квантовой механики – уравнение Шредингера:

$$\Delta\psi + \frac{8\pi^2 m}{h^2} (\mathcal{E} - U_{\text{пот}}) \psi = 0,$$

где \mathcal{E} – полная энергия частицы массой m в стационарном состоянии; $U_{\text{пот}}$ – потенциальная энергия частицы, которая определяется силовым полем, в котором находится частица. На решения ψ уравнения Шредингера накладываются естественные ограничения: функция $\psi(r)$ и ее первые пространственные производные должны быть конечны, однозначны и непрерывны. Значения полной энергии частицы \mathcal{E} , при которых уравнение Шредингера имеет решение, называют собственными значениями полной энергии частицы \mathcal{E} в уравнении Шредингера, а соответствующие им решения – собственными функциями. Собственные значения \mathcal{E} принимаются за возможные значения энергии в стационарных состояниях. При

$\mathcal{E} < 0$ собственные значения энергии образуют дискретный спектр и частица совершает финитное движение в ограниченной части пространства (например, в потенциальной яме). При $\mathcal{E} > 0$ энергетический спектр частицы непрерывный и движение частицы инфинитно.

Решение уравнения Шредингера для электрона в потенциальной яме приводит к конкретным возможным значениям волновой функции ψ и энергии, которую может иметь электрон при своем движении вокруг ядра атома. Соответственно и атом может иметь набор возможных энергетических уровней, которые характеризуются квантовыми числами (главным, орбитальным, магнитным, спиновым и т. д.).

Еще до создания квантовой механики теорию атома водорода и водородоподобных атомов предложил Н. Бор в 1913 г. Согласно этой теории (правило частот Бора), атом может поглощать и излучать кванты только определенной энергии (частоты):

$$h\nu_{nm} = \mathcal{E}_n - \mathcal{E}_m.$$

Тот же результат получается в квантовой механике в результате решения уравнения Шредингера.

Энергетические уровни молекул сложнее атомных. Они включают уровни, соответствующие электронному, колебательному и вращательному движениям молекулы (рис. В3). Энергетические состояния, в которых может находиться молекула, характеризуются системой $\{\psi_n\}$ уравнений Шредингера:

$$\mathcal{H}\psi_n = \mathcal{E}_n \psi_n,$$

где \mathcal{H} – полный квантово-механический гамильтониан.

Расстояние между электронными уровнями энергии (a' и a'') составляет несколько электрон-вольт, между соседними колебательными уровнями (V' и V'') – $10^{-2} \dots 10^{-1}$ эВ, между соседними вращательными уровнями (J' и J'') – $10^{-5} \dots 10^{-3}$ эВ. Структура уровней

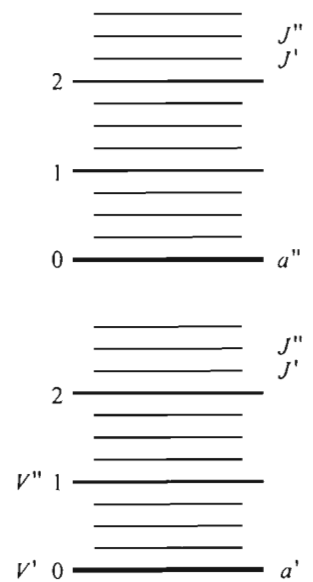


Рис. В3. Энергетические уровни молекул

зависит не только от строения атома или молекулы, но и от внешних причин. Электромагнитное взаимодействие электронов приводит к тонкому расщеплению энергетических уровней (тонкая структура). Влияние магнитных моментов ядер вызывает сверхтонкое расщепление (сверхтонкая структура уровней). Наблюдение тонкой и сверхтонкой структур становится возможным при наложении внешних по отношению к атому или молекуле электрических и магнитных полей.

При поглощении фотона молекулой он взаимодействует с атомом или группой атомов и индуцирует переходы между квантовыми состояниями. Поглощение происходит при выполнении двух условий:

1) для данного состояния молекулы с энергией \mathcal{E}_m должно быть такое состояние с энергией \mathcal{E}_n , что $h\nu_{nm} = \mathcal{E}_n - \mathcal{E}_m$;

2) между электрической компонентой падающего излучения и поглощающей частью молекулы должно быть специфическое взаимодействие, которое приводит к изменению дипольного момента молекулы в процессе перехода, т. е. интеграл переходного момента, определяемый как $R_{mn} = \langle \psi_m | \hat{R} | \psi_n \rangle$, должен отличаться от 0. Здесь ψ_m и ψ_n – волновые функции состояний m и n ; \hat{R} – оператор электрического дипольного момента: $\hat{R} = e \sum_i r_i$, где e – заряд электрона; r_i – вектор, соответствующий оператору дипольного момента i -го электрона.

Если эти условия выполнены, вероятность поглощения пропорциональна $|R_{nm}|^2$. В этом случае переходы с высокой вероятностью поглощения разрешены. Если интеграл переходного момента мал или равен 0, то переход запрещен.

Точное решение уравнения Шредингера (т. е. аналитическое выражение для волновой функции электрона, движущегося в поле взаимодействующих между собой частиц) не удается получить даже для самых простых (двухатомных) молекул. Для приближенного решения уравнения Шредингера наиболее часто применяется приближение Борна – Оппенгеймера, заключающееся в том, что волновая функция предполагается факторизованной:

$$\psi \approx \varphi \chi S.$$

Здесь φ – электронная часть волновой функции; χ – ядерная; S – спиновая. Тогда интеграл переходного момента R_{mn} распадается на орбитальный, колебательный и спиновый компоненты:

$$R_{mn} \approx \langle \varphi_m | \hat{R} | \varphi_n \rangle \langle \chi_m | \chi_n \rangle \langle S_m | S_n \rangle.$$

Смысл приближения Борна – Оппенгеймера заключается в следующем: с одной стороны, сложная задача нахождения молекулярных спектров сводится к совокупности трех классических задач квантовой механики, которые хотя бы приближенно, но всегда можно решить: о водородоподобном атоме, гармоническом осцилляторе и плоском ротаторе; с другой стороны, применяется традиционный прием решения уравнений математической физики, сводящий уравнение в частных производных к совокупности обыкновенных дифференциальных уравнений. В результате появляется возможность вычисления молекулярных спектров во вроде бы совершенно безнадежной изначально ситуации. Сформулируем общие правила запрета, которым подчиняются не полностью разрешенные и запрещенные переходы.

1. Симметрия. Переход будем считать запрещенным, если произведение симметричных частей φ_m и φ_n дает интеграл, являющийся нечетной функцией координат.

2. Перекрытие. Переход считается пространственно запрещенным, если две орбитали φ_m и φ_n , которые участвуют в переходе, не имеют больших амплитуд, находящихся в фазе, в одной и той же области пространства. Степень перекрытия характеризуется фактором Франка – Кондона.

3. Спин. Переход, в котором $S_m \neq S_n$, запрещен по спину.

Последнее правило самое строгое, однако, поскольку для больших молекул приближение Борна – Оппенгеймера выполняется неточно, т. е. факторизация волновой функции неполная, абсолютного запрета нет.

Основное взаимодействие между электроном и ядром атома – кулоновское взаимодействие их зарядов. Но, так как электрон движется относительно атомного ядра, возникает дополнительное взаимодействие, обусловленное спином электрона и зарядом ядра. Его называют спин-орбитальным взаимодействием. Переход, запрещенный по спину, в $10^4 - 10^6$ раз менее вероятен, чем разрешенный. По перекрытию это отношение вероятностей составля-

ет $10-10^3$, по симметрии – $10-10^2$. Указанные запреты отражаются на времени жизни соответствующих состояний молекулы относительно рассматриваемого перехода.

Расщепление энергетического уровня в результате спин-орбитального взаимодействия называют тонкой структурой уровня (см. выше). Совокупность подуровней, на которые расщепляется рассматриваемый уровень, называется мультиплетом. В зависимости от числа подуровней, на которые расщепился мультиплет, различают дублеты, триплеты, квартеты и т. д. Простые уровни, не расщепляющиеся на подуровни, называют синглетами.

Синглетное состояние – основное состояние большинства молекулярных систем. Это состояние, в котором все электроны спарены.

Триплетное состояние – состояние с одним неспаренным электроном. Непосредственный переход синглет – триплет запрещен по спину. Триплет может быть заселен вследствие переворота спина электрона в возбужденном синглетном состоянии за счет спин-орбитальных взаимодействий. Такой переход из синглета в триплет называется интеркомбинационной конверсией (ИКК).

В зависимости от причины, вызывающей квантовый переход с испусканием фотона, различают спонтанное (внутренние причины) и вынужденное, или индуцированное (вызванное взаимодействием фотона с возбужденной частицей), излучения. Вероятность спонтанного перехода обратно пропорциональна времени жизни системы в данном квантовом состоянии.

Все тела испускают электромагнитные волны, интенсивность и степень поляризации которых в различных участках спектра определяется температурой тела и его поглощательной способностью в соответствии с законом Кирхгофа (см. далее 3.14). Такое излучение является спонтанным и называется тепловым, или равновесным. Помимо этого многие тела под влиянием внешних возбудителей дают избыточное излучение, которое не определяется температурой тела (свечение экранов, живых организмов и др.). Оно называется люминесценцией.

Люминесценция имеет длительность излучения, значительно превышающую период колебаний (10^{-15} с) излучаемых световых волн. Различают несколько типов люминесценции по типу возбуждения, в том числе:

- фотолюминесценцию (при освещении вещества видимым светом или ультрафиолетом);

- рентгенолюминесценцию (при облучении рентгеновскими или γ -лучами);
- хемолюминесценцию (свечение тел при химических реакциях).

Вещества, в которых возбуждается люминесценция, называются люминофорами.

Излучаемая атомами или молекулами энергия формирует спектр испускания, а поглощаемая – спектр поглощения. Более подробно явление люминесценции будет рассмотрено в гл. 3.

Существуют также безызлучательные переходы. Они происходят при взаимодействии атома или молекулы с другими частицами, например в процессе столкновения. Различают неупругие столкновения, при которых изменяется внутреннее состояние атома и осуществляется безызлучательный переход, и упругие – с изменением кинетической энергии атома или молекулы, но с сохранением внутреннего состояния.

ВЗ. ШКАЛА ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН. КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ О ДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ И СИСТЕМЫ

В зависимости от частоты ν или длины волны λ в вакууме, а также от способа излучения и регистрации различают несколько видов электромагнитных волн: радиоволны, оптическое излучение, рентгеновское излучение и γ -лучи (рис. В4).

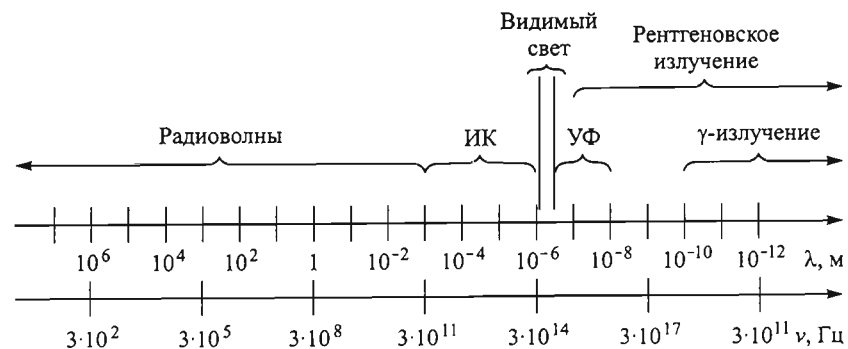


Рис. В4. Шкала электромагнитных волн

В табл. В1 представлены основные характеристики, механизмы излучения, виды взаимодействия излучения с биологическими объектами и применение в медицине электромагнитных волн указанных диапазонов. В табл. В2 и В3 приведено воздействие электромагнитных излучений на биологические объекты и системы, использование излучений в биологических исследованиях.

На рис. В5 [8] показана степень прозрачности организма с поперечным сечением 20 ... 25 см для различных длин волн.

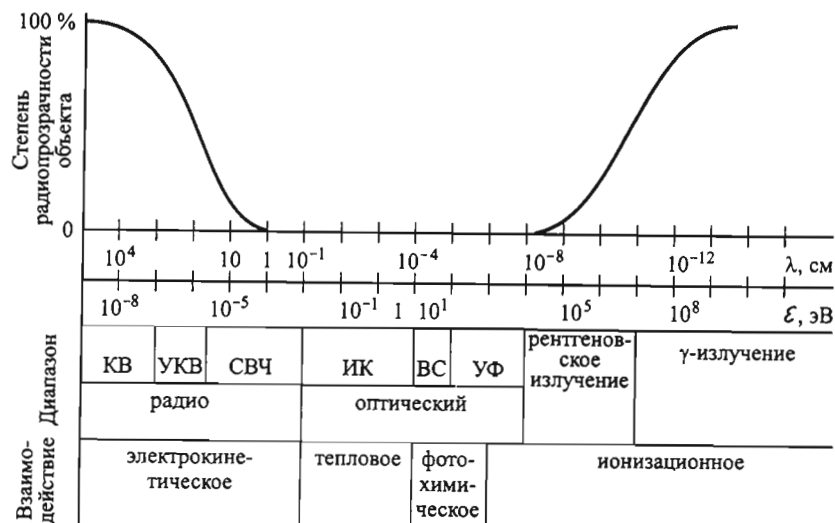


Рис. В5. Степень прозрачности организма, имеющего поперечное сечение 20...25 см, для различных длин волн

Белки выполняют в живой клетке многочисленные функции, входят в состав всех клеточных органелл, их содержание составляет 50 % и более сухого веса живых организмов. Следовательно, при действии света и ионизирующих излучений белки принимают на себя основную лучевую нагрузку и являются в этом смысле главной химической мишенью действия излучений. Основную биологическую мишень представляют собой молекулы ДНК* благодаря ее ключевой роли в функционировании клетки в целом. Для очистки ДНК от повреждений существует система репарации (восстановления поврежденных участков биоструктур силами самой

* ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.

клетки). В то же время поврежденная ДНК в клетке подвергается атаке ферментных систем, усугубляющих действие излучений, и системы репарации оказываются неконкурентоспособными, поскольку не успевают восстановить нативную структуру ДНК. Именно повреждение ДНК и приводит в большинстве случаев к конечным биологическим эффектам.

Дадим краткую характеристику видов электромагнитного излучения и его действия на объекты.

Радиоволнами называют волны с длиной волны $\lambda > 5 \cdot 10^{-5}$ м (частотой $\nu < 6 \cdot 10^{12}$ Гц). В связи с особенностями распространения и генерации весь диапазон радиоволн принято делить на 9 поддиапазонов. Основным источником естественного фона радиоволн на Земле являются атмосферные электрические явления (грозы и т. п.), радиоизлучение Солнца и звезд. Интенсивность фона составляет порядка 10^{-11} Вт/см².

Оптическим излучением называют ЭМИ с длиной волны $\lambda = 10 \dots 10^6$ нм. Оно включает инфракрасное излучение (ИК-излучение, $\lambda = 760 \dots 10^6$ нм), видимое излучение (свет, $\lambda = 400 \dots 760$ нм, характеризует диапазон длин волн, воспринимаемых органами зрения) и ультрафиолетовое излучение (УФ-излучение, $\lambda = 10 \dots 400$ нм).

Сами диапазоны УФ- и ИК-излучения в свою очередь делятся на области длин волн менее 280 нм (вакуумное, УФ-С); 280...315 нм (жесткое, УФ-В); 315...400 нм (мягкое, УФ-А); 760...1400 нм (ближнее ИК); 1400...3000 (среднее ИК) и более 3000 нм (дальнее ИК). Такие границы диапазонов приняты международной классификацией согласно решению SPIE (International Society for Optical Engineering) и привязаны к поглощению электромагнитного излучения тканями живых организмов.

Основным природным источником оптического излучения является Солнце. Вплоть до оптического диапазона энергия кванта может считаться пренебрежимо малой по сравнению с энергией связи атомов и молекул, составляющих биообъект. Поэтому никаких превращений на микроуровне от непосредственного воздействия излучений вплоть до микроволнового диапазона не происходит. При этом наблюдаются только вторичные эффекты. В оптическом диапазоне картина качественно меняется, потому что именно здесь сосредоточены полосы поглощения молекул и атомов, входящих в состав биообъекта.

Таблица В1

Вид излучения	Длина волны, нм	Энергия излучения, эВ	Механизм излучения	Действие на вещество	Применение в медицине
Микроволновое	$10^2 - 10^6$	$1,2 \cdot 10^{-9} -$	Движение зарядов с ускорением	Поларизация диэлектриков, возникновение токов проводимости в биологических жидкостях	УВЧ-терапия, СВЧ-терапия, Эндорадио-зонды
		$1,2 \cdot 10^{-4}$			
Инфракрасное	$10^6 - 760$	$1,2 \cdot 10^{-4} - 1,6$	Излучение молекул и атомов	Активация терморепцепторов	Тепловое лечение
		$1,6 - 3,3$			
Видимый свет	760 - 400	$3,3 - 120$ $10 - 0,5 \cdot 10^6$	Излучение атомов	Активация зрительных рецепторов	Светолечение. Лазерная терапия
Ионизирующее: ультрафиолетовое рентгеновское	400 - 10 $80 - 10^{-4}$	$0,2 \cdot 10^6$ и более	Излучение атомов	Фотохимические реакции на поверхности кожи	Светолечение, УФ-терапия. Синтез витамина D
гамма-излучение	0,1 и менее	$0,2 \cdot 10^6$ и более	Излучение возбужденного ядра	Когерентное рассеяние	Рентгенотерапия
				Ионизация, фотоконтон-эффекты, образование пар	Рентгенодиагностика
					Радионуклидная диагностика

Таблица В2

Вид излучения	Длина волны, нм	Энергия излучения, эВ	Механизм излучения	Исследование как инструмент исследования структуры и свойств молекул	
				Метод исследований	Получаемая информация
Ионизирующее: γ -лучи рентгеновские лучи	0,03 и меньше $0,03 - 10$	Большее $40 \cdot 10^3$ $40 - 0,12 \cdot 10^3$	Рентгеноструктурный анализ Лучевая ультрамикрометрия	Изучение структуры молекул, расположения атомов в кристалле, формы молекул, измерение межатомных расстояний	Получаемая информация
Ультрафиолетовое	$10 - 400$	$120 - 3$	Спектроскопия в ультрафиолетовой и видимой областях	Изучение переходов валентных электронов, электронной структуры, молекулярных колебаний и вращения молекул, внутреннего вращения	Исследование фотохимических процессов
Видимое	$400 - 760$	$3 - 1,7$	Лазерная спектроскопия, исследования электронных вращательных спектров	Исследование фотохимических процессов	Исследование фотохимических процессов

Вид излучения	Длина волны, нм	Энергия излучения, эВ	Излучение как инструмент исследования структуры и свойств молекул	
			Метод исследований	Получаемая информация
Инфракрасное	$0,76 - 200 \cdot 10^3$	2 - 0,006	Инфракрасная спектроскопия	Колебания атомов внутри молекул
	$0,2 - 10 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^{-3} - 1,2 \cdot 10^{-4}$	Микроволновая спектродетрия	Вращение поляризованных молекул и групп
Радиочастотное (микроволновое)	1 - $15 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^{-4} - 6,2 \cdot 10^{-6}$	Спектроскопия ЭПР*	Резонанс неспаренных электронов, исследование радикалов, ион-радикалов и парамагнитных центров
	$1,5 - 30 \cdot 10^8$	$6,2 \cdot 10^{-6} - 4,1 \cdot 10^{-7}$	Спектроскопия ядерного магнитного резонанса, диэлектрическая спектроскопия, методы электропроводности	Резонансное поглощение ядерными спинами, характеристика химического окружения атомов и молекул, изучение строения молекул по химическим сдвигам и спин-спиновому расщеплению сигнала; определение диэлектрической проницаемости и проводимости биологических систем, исследование свойств надмолекулярных структур и межмолекулярных взаимодействий
	$3 - 100 \cdot 10^9$ (УВЧ)	$4,1 \cdot 10^{-7} - 1,2 \cdot 10^{-8}$		
	$0,1 - 10 \cdot 10^{12}$ (ВЧ)	$1,2 \cdot 10^{-8} - 1,2 \cdot 10^{-10}$		
	Более 10^{13} (НЧ)	Ниже $1,2 \cdot 10^{-10}$		

* ЭПР - электронный парамагнитный резонанс

Таблица В3

Вид излучения	Предмет исследования	Биологическое действие излучений	
		Некоторые особенности действия	Эффект облучения
Ионизирующее: γ-лучи рентгеновские лучи	Радиобиология	Ионизирующая радиация обладает высокой проникающей способностью, фотоны излучения поглощаются всеми атомами и молекулами независимо от их химической структуры и локализации в клетке	Образование ионов, радикалов, возбужденных и сверхвозбужденных атомов и молекул, стабильных пораженных структур; усиление во времени первичных радиационно-химических изменений за счет метаболических процессов и нарушение всех биохимических и физиологических процессов в клетке и организме в зависимости от дозы, способа и времени облучения
Ультрафиолетовое Видимое Инфракрасное	Фотобиология	Избирательное поглощение сравнительно невысокой энергии квантов строго зависит от молекулярной структуры вещества	Эффект определяется фотохимическими реакциями с участием возбужденных молекул (или других, по которым передается энергия); в зависимости от типа молекул-рецепторов и условий облучения реакции носят либо полезный и приспособительный характер (фототаксис, фотосинтез, зрение), либо приводят к разрушению и денатурации структур (бактерицидное действие, фотодинамический эффект и др.)

Вид излучения	Предмет исследования	Биологическое действие излучений	
		Некоторые особенности действия	Эффект облучения
Радиочастотное (микроволновое)	Электромагнитная биология	Область γ -дисперсии электропроводности; энергия электромагнитного поля поглощается за счет колебания ионов и релаксации дипольных молекул, в значительной мере переходит в тепловую; в дециметровом диапазоне возможно избирательное поглощение молекулами воды в биомембранах, а также резонансное поглощение водородными атомами; релаксация внутриклеточных оргanelл Максвелла – Вагнера (β -дисперсия электропроводности) и дипольных молекул белка; релаксация зарядов на мембранах (α -дисперсия электропроводности)	Поглощение энергии электромагнитного поля может приводить к разрыву водородных и межмолекулярных связей, нарушению гидрофобного белок-липидного взаимодействия в биомембранах, изменению гидратации молекул, внутримолекулярным перестройкам, денатурации; в зависимости от интенсивности воздействия тепловой эффект может вызывать повреждение структур, нарушение физиологических процессов и даже гибель клеток и организма; в области УФЧ-диапазона возможно избирательное поглощение энергии дипольными молекулами белка и поляризация надмолекулярных структур

В ближней и средней областях ИК-излучения энергия фотона лежит в пределах от 0,4 до 1,5 эВ, ее достаточно для возбуждения колебательных процессов в молекулах вещества и перехода электронов в атомах на более высокие уровни, но не хватает для фотохимического превращения. В результате энергия излучения почти полностью превращается в тепловую, активизируя процессы в цитоплазме, клеточной и внутриклеточных мембранах.

Видимое и УФ-излучения вызывают вынужденные колебания внешних, наиболее слабо связанных электронов, атомов и молекул. Электроны и ионы, совершая вынужденные колебания, излучают вторичные световые волны той же частоты. Среднее расстояние между молекулами среды обычно во много раз меньше длины когерентности света, поэтому вторичные волны, излучаемые множеством соседних молекул, когерентны и интерferируют при наложении. Если среда однородна и изотропна, то в результате интерференции вторичных волн образуется проходящая волна в направлении распространения первичной волны. В случае оптически неоднородной среды в результате наложения первичной и вторичной волн возникает рассеяние света. При падении света на границу раздела двух сред в результате интерференции возникает не только проходящая, но и отраженная волна.

Длина волны 100 нм (вакуумное УФ-излучение) соответствует энергии фотона 12,4 эВ, верхняя граница видимого диапазона – 1,63 эВ. В этот интервал укладываются значения энергии связи большинства сложных органических молекул, поэтому с точки зрения возможностей химических превращений (как обратимых, так и необратимых) эта область длин волн является идеальной.

Область ниже 100 нм (энергия больше 12,4 эВ) представляет собой ионизирующее излучение, т. е. излучение, энергия кванта которого достаточна для разрушения молекул и образования заряженных частиц.

При действии вакуумного УФ-излучения может происходить образование свободных радикалов ароматических и серосодержащих белков и пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот; появляются циклобутановые димеры оснований ДНК, в белках происходит деструкция полипептидной цепи, образование сшивок, разрушение тирозина и триптофана; разрушаются ковалентные связи в молекулах (например, между С и О).

Рентгеновское излучение (РИ) возникает при взаимодействии заряженных частиц и фотонов с атомами вещества, при этом кван-

товые переходы происходят между внутренними электронными состояниями атома. Рентгеновское излучение подразделяется на тормозное (с квазисплошным спектром) и характеристическое (с линейчатым спектром). Диапазон длин волн $\lambda = 0,1 \dots 10$ нм.

Гамма-излучение (γ -излучение) – это жесткое электромагнитное излучение с длиной волны $\lambda < 0,1$ нм. Оно испускается при переходе ядер из возбужденных энергетических состояний в состояние с меньшей энергией, а также при ядерных реакциях. γ -излучение обычно сопровождает процессы радиоактивного (α - и β -) распада.

Природным источником РИ и γ -лучей на Земле являются Солнце, межзвездные и галактические события.

При γ - и рентгеновском облучении происходит разрушение полипептидной цепи белков, образование сшивок, разрушение серосодержащих групп. При действии ионизирующего излучения на ДНК происходят двойные разрывы цепей ДНК.

В4. ОСОБЕННОСТИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Лазерное излучение возникает в результате индуцированных переходов между уровнями энергии частиц среды, обладающей инверсной населенностью этих уровней (т. е. при большей концентрации частиц на верхнем уровне энергии по сравнению с нижним). Излучение, создаваемое обычными источниками света (тепловыми, люминесцентными и т. п.), отличается от лазерного тем, что основной вклад в излучение дают спонтанные переходы с возбужденного уровня, тогда как в лазере преобладает индуцированное излучение. Этим объясняются уникальные особенности лазерного излучения по сравнению с излучением традиционных источников.

Именно лазерные источники обладают высокой степенью когерентности (индуцированное излучение представляет собой поток идентичных фотонов). Это означает, что лазерное излучение характеризуется исключительно высокой степенью монохроматичности (временной когерентности), позволяющей реализовывать значения спектральной плотности до 10^{12} Вт/Гц, что в 10^6 раз превышает значение аналогичной величины при термоядерном взрыве. Возможность получения высоких уровней мощности ла-

зерного излучения (до 10^{12} Вт) и сосредоточения значительной энергии в импульсе (до 10^4 Дж) позволяет вызвать многофотонные и другие нелинейные процессы в биосреде, локальный тепловой нагрев, быстрое испарение, гидродинамический удар и т. д. Однако интерес представляют не только уникальные возможности разрушения среды. Высокая монохроматичность позволяет:

проводить спектральный анализ с разрешением на много порядков выше, чем разрешение обычных спектрометров;

осуществлять возбуждение определенных молекул в смеси;

применять голографические и интерференционные методы когерентной диагностики биообъектов.

В свою очередь высокая пространственная когерентность дает возможность добиться уникальной пространственной сосредоточенности излучения в малых телесных углах и тем самым обеспечить высокую направленность, благодаря которой уже в первые годы после создания лазеров была проведена локация Луны с измерением деталей профиля лунной поверхности, не различимых никакими другими способами локации. Для большинства лазеров расходимость лазерного пучка (угол θ) составляет несколько тысячных радиана (рис. В6), что позволяет получить размер пятна в фокусе порядка длины волны λ излучения с глубиной резкости порядка λ . Поэтому лазер можно использовать в качестве источника света для микроскопии. В некоторых случаях можно сосредоточить энергию в слое до $0,01$ мкм и за счет этого проводить «внутриклеточную хирургию». Малая расходимость лазерного пучка необходима также для обеспечения локальности исследований и эффективной транспортировки излучения по гибким световодам, чего традиционные (некогерентные) источники обеспечить не могут.

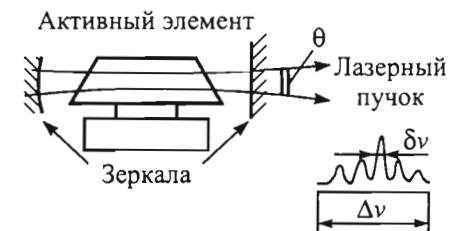


Рис. В6. Схема лазера

Кроме того, возможность управления фазовыми соотношениями в лазерном излучении позволяет создавать сверхкороткие им-

пульсы длительностью до отдельных периодов световой волны ($\sim 10^{-14}$ с). Это особенно важно для биомедицины, поскольку дает возможность изучать очень быстрые первичные фотопроцессы прямыми, а не косвенными методами, а также многоступенчато возбуждать высокие энергетические состояния молекул за время, значительно меньшее, чем время релаксации любого промежуточного состояния.

Наличие перестраиваемых лазеров во всей области от УФ-излучения до ИК-излучения позволяет селективно возбуждать практически любые состояния биомолекул и отдельных их фрагментов.

В5. ЗВУКОВЫЕ КОЛЕБАНИЯ И ВОЛНЫ

Звуковые волны являются механическими колебаниями, распространяющимися в среде. Волновое уравнение, описывающее процесс распространения возбуждения в среде со скоростью c , имеет вид

$$\partial^2 S / \partial x^2 + \partial^2 S / \partial y^2 + \partial^2 S / \partial z^2 = (1/c^2) \cdot \partial^2 S / \partial t^2.$$

Одно из его решений можно записать как

$$S = S_{\max} \cos\{\omega(t - r/c)\} = S_{\max} \cos(\omega t - kr),$$

где $\omega = 2\pi\nu$ – циклическая частота колебаний вектора S , ν – частота этих колебаний; c – скорость звука; k – волновой вектор, модуль которого $k = 2\pi/\lambda$, $\lambda = c/\nu$ – длина волны.

Частота звука, воспринимаемого человеческим ухом, лежит в пределах от 20 до 20 000 Гц. Инфразвуком называют волны с частотами меньше 20 Гц. Ультразвуком (УЗ) называют волны с частотами более 20 кГц (до 10^{10} Гц).

Принято различать следующие звуки:

- тоны, или музыкальные звуки. Они делятся на простые (чистые) – гармонический процесс, и сложные – полигармонический процесс. Сложный тон может быть разложен на основной тон с частотой ν_0 и гармоники (обертоны) с частотами $2\nu_0$, $3\nu_0$ и т. д. (линейчатый акустический спектр);

- шум – звук, отличающийся сложной негармонической вре-

менной зависимостью. Если среднюю интенсивность звука при шумовом воздействии можно считать постоянной, то такой шум называется стационарным. В противном случае шум называют нестационарным. Всякий шум имеет сложный частотный спектр (как правило, достаточно широкий и квазисплошной);

- звуковой удар – кратковременное звуковое воздействие (хлопок, взрыв и т. д.).

Средняя энергия, переносимая звуковой волной в единицу времени через единицу площади, называется интенсивностью волн:

$$I = \langle \mathcal{E} \rangle c; [I] = \text{Вт/м}^2,$$

где \mathcal{E} – объемная плотность энергии звуковой волны; c – скорость звука,

$$\mathcal{E} = (1/2)\rho S_{\max}^2 \omega^2.$$

Тогда, если ρ – плотность среды, в которой распространяется звук, то

$$I = (1/2)\rho S_{\max}^2 \omega^2 c. \quad (B2)$$

При прохождении звуковых волн в жидкой или газообразной среде возникает дополнительное давление. Оно связано с интенсивностью волны следующей зависимостью:

$$I = p^2 / (2\rho c)^2.$$

Диапазон интенсивностей звука, воспринимаемых нормальным человеческим ухом, составляет 13 порядков. Так, для частоты 1 кГц воспринимается звук от $I_0 = 10^{-12}$ Вт/м² ($p_{\max} = 2 \cdot 10^{-5}$ Па) (порог слышимости) до $I_{\max} = 10$ Вт/м² ($p_{\max} = 60$ Па) (порог болевого ощущения).

Для оценки уровня интенсивности или давления звука используется относительная логарифмическая шкала (уровень измеряют в беллах или децибеллах):

$$L_B = \lg(I/I_0); \quad L_B = 2\lg(p/p_0)$$

или

$$L_{дБ} = 10\lg(I/I_0); \quad L_{дБ} = 20\lg(p/p_0).$$

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ С БИООБЪЕКТАМИ. ПОНЯТИЕ О РАДИОБИОЛОГИИ

Первая глава посвящена взаимодействию ионизирующих излучений (ИИ) с биообъектами. В ней дана классификация ИИ, сформулированы основы дозиметрии, особое внимание уделено физическим, физико-химическим механизмам воздействия ИИ на биообъекты и биологическому действию ИИ, также рассмотрена реакция биообъектов на воздействие ИИ. На основании изложенного сформулированы принципы радиобиологии.

1.1. ВИДЫ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ЕГО ИСТОЧНИКИ

Излучение делится на два класса: ионизирующее и неионизирующее.

Ионизирующим называется излучение, которое способно вырывать электроны из нейтральных молекул и тем самым превращать последние в ионы. В случае, когда излучение в квантовом представлении состоит из частиц с нулевой массой покоя (наиболее характерный пример – фотоны высоких энергий), говорят о потоке рентгеновских или γ -квантов, либо о синхротронном излучении (первый тип ИИ). Если же масса покоя не равна нулю, то излучение представляют как поток заряженных или нейтральных частиц (подчеркивая его корпускулярный характер) (второй тип ИИ). В любом из этих случаев излучение является ионизирующим тогда, когда энергия кванта превосходит энергию связи частиц среды.

ИИ испускается радиоактивными веществами: к ИИ относятся потоки α - и β -частиц, γ -излучение и тормозное излучение, нейтроны и др.

Дадим краткую характеристику некоторым видам ионизирующего излучения [10, 12].

Альфа-частицы (α -частицы) обладают большой ионизирующей и малой проникающей способностью (задерживаются слоем воды

до 150 мкм). Для α -частицы с энергией 10 МэВ пробег в биоткани составляет 130 мкм, при этом полная ионизация дает $2,9 \cdot 10^5$ пар ионов. При взаимодействии α -частицы с веществом происходит неупругое столкновение с орбитальными электронами атомов среды. Энергия расходуется на возбуждение и ионизацию атомов среды.

Бета-излучение (β -излучение) составляют быстрые электроны. Они могут проникать через базальный слой кожи (номинальный защитный слой 0,07 мм). Частицы с энергией 10 МэВ проникают в мягкую биоткань на 4,29 см. Ионизирующая способность меньше, чем α -частиц. При этом имеет место упругое и неупругое взаимодействие с атомами. При упругом взаимодействии суммарная кинетическая энергия до и после взаимодействия не меняется. При неупругом – часть энергии передается образовавшимся свободным частицам или квантам (неупругое рассеяние, ионизация и возбуждение атомов, возбуждение ядер, тормозное излучение, которое возникает из-за того, что при прохождении электрона рядом с положительно заряженным ядром он тормозится, потерянная при этом энергия испускается в виде рентгеновского излучения).

Нейтроны обладают большей проникающей способностью из-за отсутствия у них заряда. Вместе с фотонами они являются косвенно ионизирующими частицами: ионизация среды в поле нейтронного излучения проводится вторичными заряженными частицами, возникающими при взаимодействии нейтронов с веществом.

Протоны с энергией 10 МэВ имеют пробег в биоткани 1 211 мкм, при этом возникает полная ионизация биоткани с возникновением $63\ 214$ пар ионов.

Рентгеновское излучение (РИ) и γ -излучение – это электромагнитные излучения высокой энергии. Они обладают большой проникающей способностью. Их ионизирующая способность значительно меньше, чем α - и β -излучений. Фотонное излучение (рентген, γ -излучение и т. п.) ослабляется в результате взаимодействия с атомами и электронами среды. Часть энергии фотонов преобразуется в энергию вторичных заряженных частиц (электронов и позитронов), часть – в энергию вторичного фотонного излучения (характеристического, рассеянного). Образовавшиеся при этом электроны ионизируют среду.

ИИ имеет естественное и искусственное происхождение, создавая некоторый уровень радиации. Так, радиационный фон Земли образуют:

- космическое излучение – галактическое и солнечное, связанное с солнечными вспышками;

- излучение естественных радионуклидов: ^{40}K , ^{238}U , ^{232}Th , продукты распада урана и тория и др.;

- излучение искусственных радионуклидов, образовавшихся при испытаниях ядерного оружия, при удалении радиоактивных отходов предприятиями атомной промышленности, ядерного топливного цикла, предприятиями, работающими с радиоактивными веществами и использующими их в медицине, науке, технике или сельском хозяйстве.

Вклад радиационных источников в общий естественный фон Земли составляет: для ^{220}Rn и ^{222}Rn – 50 %, для ^{40}K – 15 %, для космических лучей – 15% и нуклидов ряда урана – 20 %.

Технологически измененный естественный радиационный фон образуется при сжигании каменного угля, промышленном использовании фосфатных руд (удобрений), строительных материалов, при полетах на авиатранспорте и в космическое пространство; при работе геотермических электростанций, при использовании предметов широкого потребления: цветных телевизоров; электронных и электрических устройств, содержащих радионуклиды или излучающих РИ (например, дроссели флуоресцентных светильников); пожарных дымовых детекторов, содержащих ^{226}Ra , ^{238}Pu и ^{241}Am ; керамической и стеклянной посуды, содержащей уран U и торий Th [10, 23, 24]. Радионуклиды ^{226}Ra , ^{147}Pm , ^3H применяются для светосоставов постоянного действия (например, часы со светящимся циферблатом); радионуклид ^{210}Po используется для снятия статического заряда в некоторых производствах и т. д.

Рассмотрим подробнее рентгеновское излучение.

Рентгеновское излучение имеет длину волны $\lambda = 10^{-3} \dots 10$ нм. По способу возбуждения оно делится на тормозное и характеристическое.

Тормозное излучение представляет собой обратный фотоэффект: рентгеновские кванты получают за счет кинетической энергии электронов, бомбардирующих металл (рис. 1.1). Уравнение $eU = h\nu$ определяет максимальную частоту, с которой могут испускаться рентгеновские лучи антикатодом при заданном напряжении U на трубке. При бомбардировке антикатада электроны тормозятся, из-за чего возникает тормозное рентгеновское излучение. Почти вся энергия электронов при этом выделяется в виде теплоты, в излучение преобразуется 1...3 % от общей энергии.

Спектр излучения является сплошным вследствие случайного характера переходов с уровня на уровень электронов атомов антикатада, как и спектр белого света (рис. 1.2), поэтому часто сплошное РИ называется белым. На рис. 1.2 $\lambda = 0,02$ нм и $\lambda = 0,03$ нм – коротковолновая граница сплошного РИ (λ_{\min}), $\lambda_{\min} = hc/eU = (12,40/U)$, где напряжение U измеряется в киловольтах; λ_{\min} не зависит от материала катода, определяется только напряжением на трубке и объясняется квантовой природой излучения.

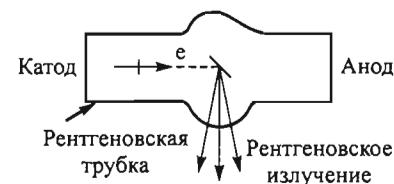


Рис. 1.1. Принципиальная схема рентгеновской трубки

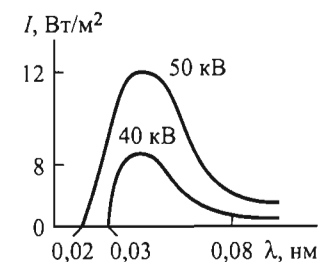


Рис. 1.2. Спектр тормозного рентгеновского излучения

Поток РИ вычисляется как $\Phi = k\mathcal{J}U^2Z$, где $k = 10^{-9} \text{ В}^{-1}$ – коэффициент пропорциональности; U и \mathcal{J} – напряжение и сила тока в рентгеновской трубке; Z – порядковый номер атома вещества анода.

Если увеличить напряжение выше определенного уровня, зависящего от материала анода, то на сплошное РИ накладываются узкие спектральные линии, составляющие характеристическое излучение анода (рис. 1.3). Спектр такого излучения линейчатый. Длина волны линий зависит только от материала анода. При этом ускоренные электроны проникают в глубь атомов и выбивают внутренние электроны. На свободные места переходят электроны с внешних слоев с излучением кванта $h\nu$. Частота характеристического излучения определяется правилом частот Бора: $\nu = (\mathcal{E}_1 - \mathcal{E}_2)/h$. Электронная бомбардировка возбуждает как сплошное, так и характеристическое излучение, тогда как бомбардировка α -частицами или протонами возбуждает только характеристическое излучение, поскольку электронные оболочки для частиц таких высоких энергий практически «прозрачны».

Если анод выполнен из молибдена (Mo), то длины волн характеристического излучения $\lambda_1 = 0,063$ нм, $\lambda_2 = 0,071$ нм, если из хрома (Cr), то также возбуждается характеристическое излучение, но в более длинноволновой области (см. экспериментальную кривую на рис. 1.3). Если материал анода вольфрам (W), то напряжения 35 кВ недостаточно для возбуждения характеристического излучения.

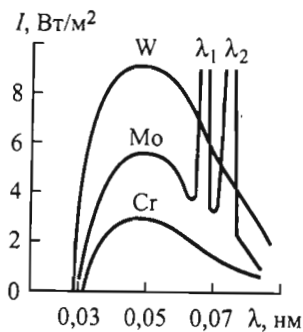


Рис. 1.3. Характеристическое излучение анода при напряжении $U = 35$ кВ

Коротковолновое рентгеновское излучение, т. е. излучение с большей энергией, обычно обладает большей проникающей способностью, чем длинноволновое, и называется жестким, а длинноволновое – мягким.

Еще один вид ИИ – синхротронное излучение. Это электромагнитное излучение ускоренных электронов, движущихся с релятивистскими скоростями в магнитном поле (рис. 1.4). В синхротроне при энергии электронов, превышающей 10 МэВ, период обращения электронов по круговой орбите практически постоянен. Поскольку это условие требует предварительного ускорения электронов, синхротрон работает либо в комбинации с другим ускорителем (бетатроном), который обеспечивает инжекцию ультрарелятивистских частиц в камеру синхротрона, либо в изменяющемся по мере разгона электронов режиме. Сначала он работает как бетатрон, ускоряющий электроны вихревым электрическим полем, возникающим при нарастании аксиально-симметричного магнитного поля во времени, затем при достижении ультрарелятивистского состояния электронов, реализуемого при энергиях порядка 10 МэВ, он переходит на режим синхротрона, при котором магнитное поле создается не в середине ускоряющего кольца, а только вдоль него. В этом режиме, в отличие от бетатронного, ускорение электронов происходит за счет электрического поля с постоянной частотой, а магнитное поле только удерживает электроны на орбите.

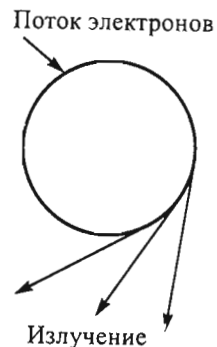


Рис. 1.4. Синхротронное излучение

Синхротронное излучение возникает при взаимодействии ускоренных электронов с ми-

шенью, расположенной непосредственно в камере ускорителя. Излучаемая за один оборот электрона энергия возрастает пропорционально четвертой степени энергии электрона при заданном радиусе орбиты (т. е. при заданном магнитном поле). Изменяя радиус орбиты за счет изменения величины магнитного поля, можно менять долю энергии, уходящей на излучение. Наличие синхротронного излучения является мощным фактором, ограничивающим энергию ускоренных электронов. Трудности создания устройств, компенсирующих потери на синхротронное излучение, не позволяют строить ускорители, разгоняющие электроны до энергий более 100 ГэВ (такие энергии достигаются за счет использования встречных пучков, где вместо мишени ускоренные электроны взаимодействуют с ускоренными же позитронами). Синхротронное излучение характеризуется непрерывным спектром, ширина которого определяется энергией ускоренных электронов и может захватывать большой диапазон от ультрафиолетового излучения до γ -излучения.

1.2. ДОЗИМЕТРИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Результатом воздействия ИИ на облучаемые объекты являются физико-химические и биологические изменения в этих объектах: нагрев тела, фотохимическая реакция рентгеновской пленки, изменение биологических показателей живого организма и т. д.

Для качественной оценки указанных изменений вводится ряд понятий [7, 10, 11, 12, 13, 15, 23, 24]. Эффект облучения определяется в основном поглощенной энергией. Поглощенная доза (доза облучения) D_n – энергия излучения, поглощенная единицей массы

m облучаемого вещества, $D_n = \frac{d\mathcal{E}}{dm}$. С увеличением времени растет

и доза облучения D_n . При одинаковых условиях облучения доза зависит от состава облучаемого вещества. Специальная единица измерения дозы облучения – рад (*radiation absorbed dose*) – это доза, соответствующая поглощению 100 эрг суммарного излучения 1 граммом вещества: 1 рад = 100 эрг/г = 10^{-2} Дж/кг. В СИ единица поглощенной дозы 1 грей (Гр) = 1 Дж/кг = 100 рад. Скорость поглощения дозы (dD_n/dt) иначе называют мощностью поглощенной дозы, Гр/с.

Основная трудность расчета поглощенной дозы D_p заключается в неоднородности окружающей среды и точности определения коэффициента поглощения. На практике поглощенную дозу оценивают косвенно по ионизации воздуха вокруг объекта. Для этого вводят понятие экспозиционной дозы $X = \frac{dq}{dm}$ – меры ионизаци-

онного воздействия фотонного излучения, т. е. дозы, при которой в одном килограмме сухого воздуха образуется заряд $q = 1$ Кл.

Единица экспозиционной дозы в СИ 1 Кл/кг; специальная единица – 1 рентген (Р) = $2,58 \cdot 10^{-4}$ Кл/кг; тогда 1 Кл/кг $\approx 3,876 \cdot 10^3$ Р. Для оценок удобно принимать 1 Р $\approx 0,877$ рад ≈ 1 рад.

Измеряют экспозиционную дозу при помощи ионизационных детекторов. Поглощенная доза пропорциональна экспозиционной: $D_p = fX$, где f – коэффициент пропорциональности: для воздуха, $f = 0,88$; для костной ткани $f = 1,5 \dots 4$; для мышечной (мягкой) ткани $f \approx 1$. Таким образом, поглощенная доза в радах численно равна экспозиционной дозе в рентгенах для легких тканей и воды.

Эффект лучевого воздействия на организм зависит от поглощенной дозы, ее фракционирования во времени, от пространственного распределения энергии. Для сопоставления биологического действия различных видов излучения вводится относительная биологическая эффективность излучения (ОБЭ). ОБЭ – отношение поглощенной дозы $D_{п.о}$ образцового излучения, вызывающего определенный биологический эффект, к поглощенной дозе D_p данного излучения, вызывающей такой же биологический эффект:

$$ОБЭ = D_{п.о} / D_p.$$

В качестве образцового принято рентгеновское излучение с энергией 200 кэВ. ОБЭ зависит от вида биологического эффекта и конкретных условий облучения.

Для контроля радиационной безопасности при хроническом облучении устанавливают коэффициент качества излучения Q – регламентированное значение ОБЭ для данного вида излучения и его энергии.

Проходя через вещество, ИИ высоких энергий оставляют за собой шлейф из множества ионов различной кинетической энергии. При этом происходит разрушение или повреждение молекул живой ткани. Примем в качестве среднего следующий состав мяг-

кой биологической ткани по массе: 76,2 % – кислород; 11,1 % – углерод; 10,1 % – водород; 2,6 % – азот. Тогда для основных типов излучения коэффициент качества составит:

Рентгеновское и γ -излучение.....	1
Электроны и позитроны, β -излучение.....	1
Тепловые нейтроны с энергией 20 кэВ	3
Быстрые нейтроны с энергией 0,1...10 МэВ	10
Протоны с энергией 5 МэВ	2
Протоны с энергией < 10 МэВ	10
α -излучение с энергией ≤ 10 МэВ	20
Корпускулярное излучение тяжелых ядер отдачи	20

Отсюда следует, что при одинаковой поглощенной дозе α -излучение гораздо опаснее β - или γ -излучений. В связи с этим для конкретного вида излучения вводится эквивалентная доза \mathcal{E} – произведение поглощенной дозы D_p данного вида излучения на соответствующий коэффициент качества Q :

$$\mathcal{E} = D_p Q.$$

Единицей СИ эквивалентной дозы является 1 зиверт (Зв) – эквивалент поглощенной дозы 1 Гр. Специальная единица эквивалентной дозы – 1 бэр; 1 бэр – поглощенная доза любого вида ИИ, которая имеет такую же биологическую эффективность, как 1 рад РИ со средней удельной ионизацией 100 пар ионов на 1 мкм пути в воде. Поскольку α - и β -излучения задерживаются небольшими слоями вещества, а коэффициент качества для γ -излучения равен 1, то для крупных объектов различные единицы измерения соотносятся следующим образом: 1 Зв = 1 Гр = 100 бэр $\approx 87,7$ Р ≈ 100 Р, или 1 бэр = 10^{-2} Зв = 1 Р, а также 1 мКл/кг ≈ 4 Р и 1 Р ≈ 1 рад $\approx 11,4$ мЗв.

Кроме указанных доз вводятся:

- эффективная эквивалентная доза – для определенных органов и тканей (Зв);
- коллективная эффективная эквивалентная доза – для групп людей (чел.Зв);
- полувековая доза – оценка риска возникновения нежелательных биологических эффектов за 50 лет профессиональной деятельности человека и т. д.

С 1 января 2000 г. введены в действие нормы радиационной безопасности НРБ-99. Эта система признает лишь понятия поглощенной дозы (Гр), эквивалентной дозы (Зв), эффективной дозы (Зв). Скорее всего введение этих норм связано со стремлением свести все единицы к СИ.

1.3. ДОЗИМЕТРИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ

Дозиметрами называют устройства для измерения доз ИИ или величин, связанных с дозами. Дозиметры состоят из детектора ядерных излучений и измерительного устройства. Обычно они проградуированы в единицах дозы или мощности дозы. В некоторых случаях предусмотрена сигнализация о превышении заданного значения мощности дозы.

В зависимости от используемого детектора различают дозиметры ионизационные, люминесцентные, полупроводниковые, фотодозиметры и др. Они могут быть предназначены для измерения доз какого-либо определенного вида излучения или регистрации смешанного излучения.

Дозиметры для измерения экспозиционной дозы РИ и γ -излучения или ее мощности называются рентгенометрами. В качестве детектора у них обычно применяется ионизационная камера. Ионизационная камера представляет собой заполненный воздухом замкнутый объем, в котором помещены положительный и отрицательный электроды. Анодом в ней служит токопроводящий слой, катодом – металлический стержень. К электродам подводится напряжение от источника питания, создающего в камере электрическое поле. Если радиоактивных излучений нет, то воздух в камере не ионизирован и не проводит электрический ток. Под воздействием излучений воздух ионизируется, цепь замыкается и по ней проходит ионизационный ток. Он поступает в электрическую схему прибора, усиливается, преобразуется и измеряется миллиамперметром, шкала которого отградуирована в рентгенах в час или миллирентгенах в час. Заряд, протекающий в цепи камеры, пропорционален экспозиционной дозе, а сила тока – ее мощности. Существуют дозиметры, детекторами которых являются газоразрядные счетчики.

Для измерения активности или концентрации радиоактивных изотопов применяют радиометры. Принцип их работы такой же, как у детекторов ИИ (камера Вильсона, фотопленка, счетчик Гейгера – Мюллера и т. п.).

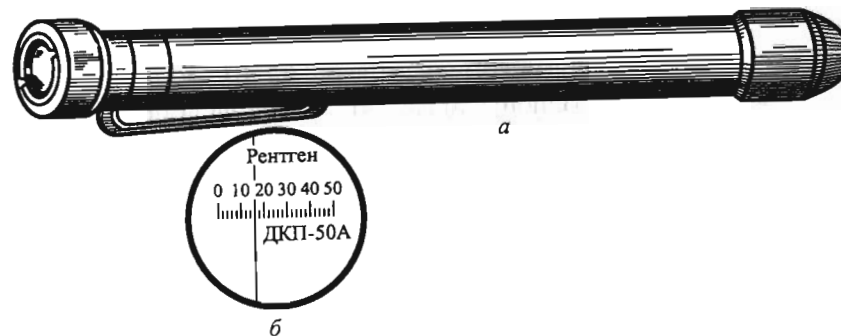


Рис. 1.5. Дозиметр ДКП-50А:
а – общий вид; б – шкала

Рассмотрим прибор контроля радиоактивного облучения – дозиметр ДКП-50А, предназначенный для измерения дозы внешнего облучения людей, находящихся на местности, зараженной радиоактивными веществами. Дозиметр ДКП-50А (рис. 1.5) обеспечивает измерение доз γ -излучения в диапазоне от 2 до 50 Р при уровнях радиации от 0,5 до 200 Р/ч. Принцип его действия подобен принципу действия простейшего электроскопа и основан на том же свойстве ионизации среды. Ионизационную камеру и конденсатор перед работой заряжают от зарядного устройства. Поскольку визирная нить и центральный электрод соединены друг с другом, они получают одноименный заряд, и нить под влиянием сил электростатического отталкивания отклоняется от центрального электрода. Отклонение нити зависит от приложенного напряжения. Путем его изменения нить при зарядке необходимо установить на ноль. При воздействии радиоактивного излучения в камере возникает ионизационный ток, в результате чего заряд дозиметра уменьшается пропорционально полученной дозе облучения и нить движется по шкале, указывая полученную дозу. Дозиметр во время работы носят в кармане одежды в вертикальном положении (как авторучку). Периодически наблюдая в окуляр дозиметра за положением нити на шкале, определяют дозу облучения, полученную во время работы на зараженной местности. Отсчет проводится при вертикальном положении нити.

1.4. ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА НАСЕЛЕНИЕ

Степень облучения населения зависит от источника излучения. Рассмотрим различные виды источников [6, 10, 13, 15, 23, 24].
1. Космическое излучение. Суммарно-эффективная эквива-

лентная доза составляет 0,3 мЗв; ионизирующий компонент дает 0,28 мГр/год; нейтронный компонент дает $3,5 \cdot 10^{-3}$ мГр/год.

2. Естественные радионуклиды. Типичный диапазон мощности поглощенной дозы по всему миру 14...90 нГр/ч, для ^{40}K – 120 мкЗв/год, для рядов ^{238}U и ^{232}Th – 230 мкЗв/год.

Внутреннее облучение организма происходит за счет собственных радионуклидов, попавших внутрь вместе с пищей, водой, в результате курения и т. д. ($\sim 10^{-6}$ Зв/год).

Внутри помещений мощность поглощенной дозы на 1-м этаже деревянного дома составляет приблизительно 75 % мощности дозы вне помещения, на 2-м этаже мощность дозы падает еще на 10...20 %. Мощность дозы на всех этажах каменного здания примерно одинакова, т. е. излучение практически полностью поглощается в стенах этого здания.

Ожидаемые дозы от радионуклидов, образовавшихся при ядерных взрывах в атмосфере, проведенных по 1980 г. включительно, составляют для северного полушария (мкГр): 1 500 – гонады (детородные органы); 2 700 – костный мозг; 3 900 – костные поверхности; 2 600 – легкие.

Ожидаемые коллективные дозы на единицу производимой электроэнергии вследствие выбросов в атмосферу работающих на угле электростанций (10^{-3} чел.Гр на ГВт-год) составляют: 140 – ингаляционное поступление во время прохождения шлейфа; 90 – внешнее и внутреннее облучение в результате отложения радионуклида на Земле.

3. Естественный радиационный фон (все источники радиации) равен приблизительно 0,2 бэр/год (2 мЗв/год). Радиационный фон меняется в зависимости от местоположения, времени года, наличия промышленной зоны и др. В городах мощность дозы фонового излучения составляет около 20 мкР/ч.

4. Атомная энергетика – 10^{-3} мЗв/год.

5. Ядерная энергетика – 10^{-4} мЗв/год.

6. Перелет самолетом на расстояние 2 400 км – около 10^{-2} мЗв.

7. Ежедневный трехчасовой просмотр телепередач в течение года – $5 \cdot 10^{-3}$ мЗв.

8. Медицина – в среднем 1,45 мЗв/год. В табл. 1.1 приведены дозы облучения при проведении некоторых рентгенографических исследований. Примером отрицательных последствий медицин-

ского облучения является маммография: значительная доза облучения (около 1 рад) уже сама по себе может вызвать развитие злокачественной опухоли. Такое облучение увеличивает риск развития рака на 1 %, а при ежегодной маммографии 1 миллиона женщин возможно получить до 6 700 случаев рака, вызванных исключительно самим обследованием.

Риск, связанный с использованием ИИ, можно разделить на риск получения генетических и соматических изменений в организме, которые должны рассматриваться по отдельности. Соматические эффекты проявляются в индивидууме, непосредственно подвергшемся облучению. Наиболее существенным соматическим воздействием излучения на организм человека является возникновение разного рода опухолей.

Генетически значимая доза (доза облучения, наносящая генетический ущерб) от рентгеноскопии (РС), рентгенографии (РГ) и флюорографии (ФГ) составляет 77, 149 и 1 мкГр/год соответственно.

Таблица 1.1

Объект облучения	Россия			Европейские страны, (мЗв) [9]
	до 1991 г. [15]		после 2001 г.*	
	Р	мЗв**	мЗв	
Пояснично-крестцовый отдел позвоночника	–	–	1,8	9,2
Шейный отдел позвоночника	–	–	0,1	–
Грудной отдел позвоночника	–	–	1,1	–
Позвоночник	0,8–6,0	9,1–68,4	–	–
Грудная клетка	6,7–19,5	76,4–222,3	0,4	0,3
Легкие	0,04–0,2	0,5–2,3	–	–
Молочная железа	1	11,4	1,5	1,2–10,0
Кости таза	2,0–15,0	22,8–171	1,0	–
Пальцы руки	0,06	0,7	0,1	–
Предплечье	–	–	0,1	–
Бедро	–	–	–	6,6
Череп	–	–	0,4	4,4
Зубы	3,0–5,0	34,2–57	–	–
Желудочно-кишечный тракт	0,58–6,0	6,6–68,4	–	–

* Данные авторов.

** Пересчеты авторов по приближению $1\text{Р} \approx 11,4\text{ мЗв}$.

Поглощенная доза в гонадах человека при одном сеансе рентгенографии составляет, мГр:

- от 10^{-4} до 20 в среднем по органам;
- 172 (уретроцистография) максимальная у мужчин;
- 67 (сальпинография) максимальная у женщин.

Количественную оценку воздействия ИИ в конкретной ситуации можно получить из следующих соображений:

- средняя вероятность возникновения необратимых злокачественных новообразований в тканях человека, который получил дозу 10 мЗв, составляет порядка 10^{-4} ;

- суммарный риск, связанный с получением тканями эмбриона или плода на ранних стадиях развития дозы 10 мЗв, лежит в пределах от 0 до 1 000 случаев для всех видов последствий, включая возникновение как серьезных отклонений, так и рака. Поэтому в процессе облучения должен быть обеспечен минимальный уровень дозы (принцип минимального воздействия) [16].

Таким образом, доза облучения тела человека ИИ составляет, %:

Естественные источники	78,0
Искусственные источники:	
Медицина	20,7
Выбросы от ядерного оружия	0,4
Телевизоры, авиация, светящиеся циферблаты	0,4
Промышленное производство	0,4
Выбросы АЭС	0,1

Известно, что в условиях естественного радиоактивного фона, равного 2 мЗв/год, человечество жило и живет, постоянно развиваясь и прогрессируя, поэтому можно утверждать, что доза естественного фонового облучения безопасна.

1.5. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ВЕЩЕСТВОМ

Регистрация и использование РИ, а также воздействие его на биологические объекты определяются первичными процессами взаимодействия рентгеновских фотонов с электронами атомов и молекул вещества.

Различают три стадии взаимодействия РИ с веществом:

- 1) физический процесс – возбуждение;

- 2) химические процессы;
- 3) физиологические процессы.

При этом существует три канала перераспределения энергии:

- 1) излучательный канал – вторичное излучение с изменением частоты;
- 2) безызлучательный канал – частицы успели столкнуться и передать энергию (теплота, акустика);
- 3) фотохимические процессы – ионизация, фотохимическая реакция и т. д.

Соответственно доля поглощенной энергии состоит из трех частей:

$$\Delta \mathcal{E}_\Pi = \Delta \mathcal{E}_{\text{изл}} + \Delta \mathcal{E}_{\text{б/изл}} + \Delta \mathcal{E}_{\text{фх}};$$

$$l = \eta_{\text{изл}} + \eta_{\text{б/изл}} + \eta_{\text{фх}},$$

где η – квантовый выход канала, который показывает, какая часть поглощенных квантов преобразуется в энергию того или иного канала,

$$\eta = (\Delta \mathcal{E}_i) / (\Delta \mathcal{E}_\Pi).$$

Канал перераспределения энергии зависит от кинетики этих процессов, т. е. времени их протекания ($\tau_{\text{изл}}$, $\tau_{\text{б/изл}}$, $\tau_{\text{фх}}$). В зависимости от соотношения этого времени доминирует тот или иной процесс. Например, если $\tau_{\text{б/изл}} \ll \{\tau_{\text{изл}}, \tau_{\text{фх}}\}$, то безызлучательный процесс будет преобладать.

Рассмотрим физическую стадию взаимодействия РИ с веществом. Преобразование энергии электромагнитного излучения в веществе происходит в элементарных актах взаимодействия фотонов с атомами и электронами среды. В зависимости от соотношения энергии фотона $h\nu$ и энергии ионизации A_i можно выделить следующие основные первичные процессы.

1. Классическое рассеяние. Это рассеяние длинноволнового РИ без изменения длины волны, поэтому оно называется когерентным. Классическое рассеяние отмечается, если энергия фотона меньше работы по ионизации молекул: $h\nu < A_i$. В поле электромагнитной волны возникают вынужденные колебания электронов с последующим переизлучением кванта той же частоты. Поэтому классическое рассеяние не несет биологического действия, однако его следует учитывать при дозиметрии, поскольку в конечном ито-

ге квант может поглотиться веществом, что будет приводить к накоплению дозы. Этот вид взаимодействия имеет значение при рентгеноструктурном анализе (см. далее 2.2).

2. Фотоэффект. Энергия фотонов $h\nu = 1 \dots 500$ кэВ. Эффект усиливается с ростом энергии кванта и преобладает при $h\nu > A_{и}$. Согласно уравнению Эйнштейна,

$$h\nu = A_{и} + \mathcal{E}_{кин}.$$

При фотоэффекте часть энергии первичных фотонов преобразуется в кинетическую энергию $\mathcal{E}_{кин}$ электронов, вылетевших из атомов при поглощении первичного фотона. Благодаря достаточно большой энергии первичного кванта происходит вырывание электрона с глубоких орбиталей. Оставшаяся часть энергии преобразуется в энергию характеристического излучения, которое выделяется при занятии места вылетевшего электрона менее связанным электроном с внешних орбиталей. В дозиметрии роль характеристического излучения незначительна.

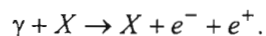
3. Эффект Комптона наблюдается, если $h\nu \gg A_{и}$. Эффект преобладает при $h\nu \sim 1$ МэВ. Это рассеяние фотона атомными электронами. В результате фотон отклоняется от первоначального направления с потерей энергии. При потере энергии, намного большей энергии связи электронов в атоме, фотоны рассеиваются на «покоящихся» электронах (см. В2). Энергия фотона преобразуется в кинетическую энергию электронов и энергию рассеянных фотонов:

$$h\nu = h\nu' + \mathcal{E}_{кин};$$

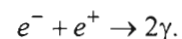
$$\Delta\lambda = \lambda' - \lambda = \lambda_K (1 - \cos\theta),$$

где $\lambda_K = h/mc = 0,0024$ нм – длина волны Комптона; θ – угол между падающим излучением и рассеянным электроном.

4. Образование пар электрон – позитрон. Процесс преобладает при энергии фотонов $h\nu > 1$ (до 50) МэВ. Для образования пары необходимо, чтобы энергия первичного фотона была больше удвоенной энергии покоя электрона $2m_e c^2$. При соударении фотона с заряженной частицей X (обычно некоторое ядро) вместо первичного фотона образуется электрон-позитронная пара:



Позитрон, замедлившись, взаимодействует с одним из электронов среды. В результате образуются два (реже три) фотона аннигиляционного излучения с суммарной энергией $2m_e c^2$:



Таким образом, энергия первичных фотонов преобразуется в кинетическую энергию ионизированных частиц e^- и e^+ и в энергию аннигиляционного излучения.

Из приведенного выше можно сделать вывод, что в первичных актах взаимодействия излучения с веществом часть энергии преобразуется в кинетическую энергию образующихся частиц, часть – в энергию вторичного излучения, т. е. первичные процессы взаимодействия приводят к последующим вторичным процессам, например, ионизированные атомы могут излучать характеристический спектр, возбужденные атомы могут стать источниками видимого света (рентгенолюминесценция) и т. п. Для дозиметрии особенно существенна та часть энергии фотонов, которая преобразуется в кинетическую энергию заряженных частиц.

Рентгенолюминесценция возникает при облучении люминофоров рентгеновскими или γ -лучами. Это явление используют при создании специальных экранов для визуального наблюдения РИ, для усиления действия РИ на фотопластинку.

В результате взаимодействия с веществом плотность потока фотонов первичного моноэнергетического излучения (интенсивность) ослабляется и составляет на глубине x ослабляющей среды

$$\varphi_x = \varphi_0 e^{-\mu_E x},$$

где φ_0 – плотность потока на поверхности среды со стороны входа излучения ($x = 0$); для расходящегося пучка фотонов от точечного источника

$$\varphi_x = \varphi_0 [l^2 / (l+x)^2] e^{-\mu_E x},$$

где l – расстояние от источника до поверхности среды; μ_E – линейный коэффициент ослабления, см^{-1} , зависящий от энергии фотонов и состава ослабляющей среды:

$$\mu_E = \mu_{\text{ког}} + \tau_{\text{ф/э}} + \sigma + \chi.$$

Здесь $\mu_{\text{ког}}$ – линейный коэффициент когерентного рассеяния; $\tau_{\text{ф}/3}$ – линейный коэффициент фотоэффекта; σ – линейный коэффициент комптоновского взаимодействия; χ – линейный коэффициент эффекта образования пар.

По физическому смыслу $\mu_{\mathcal{E}} = \frac{1}{\varphi} \frac{d\varphi}{dx}$, $d\varphi/\varphi$ – доля частиц, испытавших взаимодействие на расстоянии dx .

Используется также понятие массового коэффициента ослабления потока излучения μ_m , который связан с линейным коэффициентом следующим образом:

$$\mu_{\mathcal{E}} = \mu_m \rho;$$

$$\varphi_x = \varphi_0 e^{-\mu_m x \rho},$$

где x – толщина поглощающего слоя; ρ – плотность поглотителя.

Поглощенная энергия в облучаемой среде определяется той энергией, которую передают веществу электроны e^- , порожденные первичными фотонами, в результате:

- упругих столкновений e^- с атомами и молекулами среды;
- неупругих столкновений (ионизация некоторых молекул и атомов);
- неупругих столкновений (возбуждение атомов и молекул среды);
- энергии тормозного излучения.

1.6. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ. БИОДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Непрямое и прямое действие ИИ. Кислородный эффект. При облучении биообъектов, содержащих в своем составе воду, принято считать, что 50 % поглощенной дозы в «средней» клетке приходится на воду, другие 50 % – на ее органеллы и растворенные вещества [12]. В соответствии с локализацией поглощенной энергии (в воде или в основном веществе) говорят о непрямом и прямом действии ИИ. Соответственно и биомолекула, и субклеточная структура под действием ИИ могут быть повреждены в результате двух механизмов: непрямого и прямого действия ИИ. Непрямое (косвенное) действие ИИ обусловлено повреждением био-

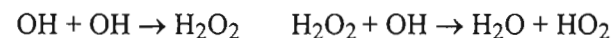
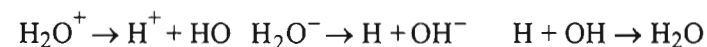
молекулы в результате ее взаимодействия с радиационными химическими продуктами, образовавшимися в окружающей среде.

Прямое действие обусловлено непосредственным взаимодействием заряженной частицы с биомолекулой или субклеточной структурой.

Рассмотрим не прямое действие ИИ. При взаимодействии ИИ с водой происходят следующие процессы:



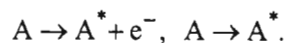
Возникающие ионы воды в свою очередь распадаются с образованием ряда радикалов, которые взаимодействуют между собой:



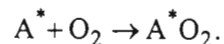
С точки зрения биохимии считается, что основной эффект лучевого поражения обусловлен радикалами H , OH , H_2O_2 и особенно HO_2 (гидропероксид или пергидроксил). Радикал HO_2 обладает высокой окислительной способностью. Строение этого свободного радикала таково: $\text{H}-\text{O}-\text{O}$. Его выход уменьшается пропорционально падению парциального давления O_2 , так как HO_2 образуется при облучении воды в присутствии кислорода. Поэтому при снижении концентрации O_2 в период облучения уменьшается эффект лучевого поражения (кислородный эффект). На молекулярном уровне кислородный эффект проявляется в усилении радиационной инактивации ферментов, повреждении углеводов, ДНК и т. д. в присутствии кислорода. На клеточном уровне кислородный эффект проявляется в увеличении частоты генетических повреждений, гибели клеток. Не следует путать описанный здесь кислородный эффект при взаимодействии ИИ с водой и передачу энергии молекуле кислорода с образованием синглетного кислорода в оптическом диапазоне (см. далее 3.12).

Возникшие в результате взаимодействия с водой радикалы взаимодействуют с растворенными молекулами различных соединений клеток, давая начало вторичным радикалам.

При прямом действии ИИ пути превращений энергии могут быть представлены на первом этапе возникновением ионизированных и возбужденных молекул A^* :



Важнейшими процессами, ведущими к химическим преобразованиям (а следовательно, к поражению) биомолекул являются диссоциация A^* на молекулярные продукты и взаимодействие с сенсibilизатором (например, с кислородом):



Из экспериментальных данных следует, что в клетках прямые и не прямые эффекты сопоставимы между собой. Эффекты прямого действия не изменяются химическими агентами. Модифицируется только часть эффектов, связанных с косвенным действием ИИ. В этом случае фактически речь идет либо о перехвате и нейтрализации радикалов либо, наоборот, о повышении выхода радикалов и усилении непрямого действия ИИ.

Итак, радиационное поражение имеет три стадии:

- физическую, физико-химическую;
- химическую;
- биохимическую (биологическую).

Поглощение энергии молекулами структур клетки – физическая стадия действия излучения – заканчивается за 10^{-13} с. Происходящие процессы невозможно модифицировать, так как число первичных актов ионизации и возбуждения не зависит от состояния объекта и определяется лишь свойствами излучения. При дозе 1 000 рад в клетке образуется приблизительно 10^6 активных центров (т. е. ионизированных и возбужденных молекул). Например, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что часть первичных летальных повреждений молекул ДНК в клетках возникает в процессах прямого действия излучения за $10^{-10} \dots 10^{-12}$ с. В этом случае химическая защита или сенсibilизация представляются малореальными [22].

Рассмотрим передачу энергии заряженной частицы среде. По закону Резерфорда при взаимодействии заряженной частицы со средой число событий с передачей энергии \mathcal{E} обратно пропорционально квадрату этой энергии:

$$N_{\mathcal{E}}(\mathcal{E}) \approx 1/\mathcal{E}^2.$$

Таким образом, энергия чаще всего передается электронам среды малыми порциями. При прохождении быстрой заряженной части-

цы через слой вещества потеря энергии на ионизацию и возбуждение атомов среды удовлетворительно описывается квантовомеханической формулой Бете – Блоха:

$$-\frac{d\mathcal{E}}{dx} = \frac{4\pi(Ze)^2 e^2}{m_e v^2} (nZ)B,$$

где (Ze) – заряд бомбардирующей частицы; m_e – масса электрона; v – скорость этой частицы; (nZ) – концентрация электронов тормозящей среды; $B = \ln\left(\frac{2mv^2}{I}\right) - \{\ln(1-\beta^2) + \beta^2\}$, I – средний потенциал ионизации атомов тормозящей среды, $\beta = v/c$, c – скорость света.

Функция B слабо зависит от v^2 , поэтому формулу можно упростить:

$$-\frac{d\mathcal{E}}{dx} \approx \frac{(Ze)^2}{v^2} (nZ). \quad (1.1)$$

Выражение (1.1) можно использовать в широком диапазоне скоростей.

При малых скоростях движения заряженной частицы (иона) в среде происходит несколько процессов взаимодействия:

- неупругие: обычные (ударные) процессы ионизации и возбуждения, а также процессы перезарядки (захват и потеря электронов мишени);
- упругие ядерные столкновения.

Возникновение биорадикалов в связи с внутримолекулярной миграцией энергии и диффузией радикалов воды – физико-химическая стадия действия излучения – длится приблизительно 10^{-10} с. Модифицировать физико-химический этап лучевого поражения могут агенты, способные изменять характер миграции энергии или вступающие в реакцию со свободными радикалами.

После облучения ионизированные и возбужденные атомы и молекулы вещества клетки в течение 10^{-6} с взаимодействуют между собой и с различными молекулярными системами, давая начало химически активным центрам (свободные радикалы, ионы, ион-радикалы и т. п.). В тот же период возможно образование разрывов связей в молекулах как за счет непосредственного взаимодействия с ионизирующими агентами, так и за счет внутри- и межмолеку-

лярной передачи энергии возбуждения. Последующее взаимодействие биорадикалов друг с другом и с окружающими молекулами приводит к возникновению стойких молекулярных изменений: повреждению в структуре молекул, составляющих клетку. Это химическая стадия действия ИИ. Далее происходят реакции химически активных веществ с различными биоструктурами. При этом отмечаются деструкция и образование новых, не свойственных облучаемому организму соединений, и, как следствие, нарушение обмена веществ в биосистемах с изменением соответствующих функций. Разнообразные функциональные изменения, происходящие на биологической стадии, формируются в течение секунд, часов, дней или месяцев. Они могут закончиться гибелью клетки.

Действие ИИ на белки, нуклеиновые кислоты, простые сахара (углеводы), липиды, клетку. Прежде чем рассматривать действие ИИ на биомолекулы, кратко напомним строение белков и ДНК.

Первичная структура белка – последовательность аминокислот; вторичная – локальная упорядоченность; третичная (конформация) – пространственная структура в некотором объеме, определяется выполняемой функцией; четвертичная – сосуществование различных глобул, например как в молекуле гемоглобина. Белки выполняют различные функции: соединительную, иммунную, транспортную и т. д.

Ферменты представляют собой белковые молекулы, синтезируемые живыми клетками. Они являются биологическими катализаторами, т. е. ускоряют биологические реакции. Ферментативные реакции делятся на анаболические (реакции синтеза крупных молекул из более мелких и простых) и катаболические (реакции распада крупных молекул на более мелкие и простые). Для анаболических реакций необходимо затратить энергию, а катаболические реакции обычно идут с выделением энергии. Совокупность всех этих реакций в любой момент и есть метаболизм клетки, органа, организма.

Структура ДНК делится на первичную (последовательность нуклеотидов в полинуклеотидной цепи) и вторичную (пространственное расположение цепи).

Облучение белковых растворов приводит к нарушению первичной структуры белков (выборочное разрушение отдельных аминокислот, изменения в аминокислотах: разрывы связей С–С и С–N, отщепление карбоксильной группы, атома Н), изменению вторичной структуры, нарушению конформации, возможно нарушение активного центра ферментов, возникновение агрегации мо-

лекул за счет образования дисульфидных связей, деструкции, связанной с разрывом пептидных или углеводородных связей, а также денатурации белка, т. е. утраты трехмерной конформации данной молекулы. При этом аминокислотная последовательность белка остается неизменной, но белок теряет способность выполнять свою обычную биологическую функцию и способность к межмолекулярному узнаванию (потеря иммунитета). Наиболее чувствительны при облучении белков SH-группы.

Все эти процессы наблюдаются при поглощении достаточно высоких доз ($\sim 10^5$ рад). При дозах 500 Р замедляется биосинтез белка за счет снижения уровня доноров метильных групп и триптофана для аминокислот. При поглощении небольших доз с помощью системы репарации происходит восстановление повреждений, вызванных ИИ. Тест-эффектом облучения ферментов является потеря ими активности.

При действии ИИ на нуклеиновые кислоты происходят однонитевые разрывы (ОР) и двухнитевые разрывы (ДР), разрывы водородных связей и частичная денатурация ДНК, повреждение нуклеотидов (пуриновых и пиримидиновых оснований, окисление спиртовых групп, разрывы С–С связей) и возникновение межмолекулярных сшивок (ДНК–ДНК, ДНК–белок). Могут оказаться поврежденными иРНК*, тРНК** и рибосомы. Наиболее чувствительными при облучении ДНК являются хромофорные группы тимины.

Одно- и двухнитевые разрывы считаются ответственными за летальные события в клетке. В клетках млекопитающих эффективно репарируются как те, так и другие разрывы.

Разрыв является однонитевым, если происходит:

а) в одной из нитей;

б) в обеих нитях, при этом расстояние по нуклеотидной цепочке между этими разрывами достаточно большое. Такие разрывы называют также двойными однонитевыми разрывами.

Двухнитевым разрывом является разрыв в обеих нитях, при этом расстояние между этими событиями по цепи не больше 3–5 нуклеотидов.

Можно считать установленными и следующие факты:

- выход ОР пропорционален дозе облучения ИИ;
- выход ОР уменьшается с ростом линейной передачи энергии

* иРНК – информационная рибонуклеиновая кислота (РНК).

** тРНК – транспортная РНК.

(ЛПЭ). ЛПЭ – тормозная способность вещества, которая близка к потере энергии на единице пути, т. е. $\frac{d\mathcal{E}}{dx}$ (см. формулу (1.1));

• число ОР существенно уменьшается со временем из-за репарационных процессов. В клетках млекопитающих ОР практически полностью репарируются. При одинаковой поглощенной дозе отношение числа ДР к ОР $\frac{N(\text{ДР})}{N(\text{ОР})} = \frac{1}{10} \dots \frac{1}{50}$.

С биофизической точки зрения такое соотношение объясняется тем, что ДР может наступить только тогда, когда в очень малом пространстве с длиной пути частицы около 2 нм и сечением, равном длине 3–5 нуклеотидов, происходит, по крайней мере, два события энергопоглощения, что значительно менее вероятно, чем единичный акт. С ростом числа заряженных частиц выход ДР увеличивается, достигая наибольшего значения при ЛПЭ, равной 100...200 кэВ/мкм. При дальнейшем увеличении ЛПЭ выход ДР снижается. Репарация ДР в 10 % клеток млекопитающих не происходит по тем или иным причинам. Они погибают в результате воздействия ИИ.

Структурные повреждения ДНК в результате действия ИИ будут служить препятствием для нормального протекания процессов репликации, транскрипции и трансляции генетической информации.

Облучение значительными дозами (до 10 и более миллионов рад) приводит к окислению и распаду простых сахаров, в результате чего образуются органические кислоты и формальдегид.

В результате облучения липидов инициируются реакции свободнорадикального перекисного окисления, которые имеют особое значение в развитии лучевой болезни. При облучении организма отмечается снижение содержания липидов и их перераспределение в различных тканях с повышением их уровня в печени и крови. Перекисное окисление липидов может привести к поражению мембранно-связанных белков, а также к нарушению проницаемости мембран, смещению ионных градиентов, выходу ферментов из лизосом, нарушению окислительного фосфорилирования. В результате действия ИИ обнаруживаются изменения во внутриклеточных структурах, в частности, в митохондриях и микросомах накапливаются токсичные для клетки продукты окисления тканевых липидов.

К числу наиболее радиочувствительных процессов в клетке относится окислительное фосфорилирование. Доза 100 Р проявляется в повреждении системы генерирования аденозинтрифосфата (АТФ),

без которого не обходится ни один процесс жизнедеятельности. Наиболее чувствительными к облучению органеллами клеток организма млекопитающих являются ядро и митохондрии. Повреждение происходит при малых дозах (50 Р).

Рассмотренная выше химическая стадия действия ИИ на клетку приводит к нарушениям, наступающим в результате высвобождения ферментов из клеточных органелл и изменения их активности. Эти нарушения соответствуют биохимическому этапу лучевого поражения клетки. Высвободившиеся ферменты путем диффузии достигают любой органеллы и проникают в нее благодаря увеличению проницаемости мембран. Нарушение ядерной мембраны может привести к разрушению генетического аппарата, например, вследствие проникновения в ядро гидролитических ферментов – РНКаз, окислительных фосфатаз и др. Под воздействием этих ферментов распадаются высокомолекулярные компоненты клетки, в том числе нуклеиновые кислоты и белки.

Наиболее важными изменениями в клетке после облучения являются следующие:

а) повреждение механизма митоза (деления) и хромосомного аппарата. При этом самые ранние эффекты связаны с повреждением мембран;

б) блокирование процесса обновления и дифференцировки клеток;

в) блокирование процессов пролиферации и последующей физиологической регенерации тканей.

Радиочувствительность клетки зависит от скорости протекающих в ней обменных процессов. Клетки, пребывающие в стационарной фазе, менее чувствительны, а клетки, для которых характерны интенсивно протекающие биосинтетические процессы, высокий уровень окислительного фосфорилирования и значительная скорость роста, более чувствительны. В малообновляемых тканях скрытое лучевое повреждение может храниться долгое время, с этим связана способность тканей суммировать эффект лучевого поражения при длительном фракционированном облучении с малой мощностью поглощенной дозы.

Биологические реакции человека на действие ИИ. Доза облучения, при которой организм погибает мгновенно, называется летальной дозой. Заметим, что чувствительность к ИИ у различных представителей флоры и фауны неодинакова. Так, для человека смертельной является доза около 600 Р, для мышей – 650 Р, для змей – 8...20 кР, для амебы – 100 кР, а инфузории выдерживают более 300 кР. Семена лилии погибают при 2 кР, а капуста –

при 64 кР. Некоторые микробы выдерживают сотни килорентген, хотя большинство из них гибнет при гораздо меньшей дозе, что позволяет использовать РИ в качестве средства холодной стерилизации изделий из материалов, не выдерживающих кипячение. Из изложенного выше следует, что биообъекты, появившиеся на Земле раньше других, выдерживают значительно более высокие дозы радиации, чем высокоорганизованные.

Средняя летальная доза для млекопитающих составляет 300...900 Р. Поглощаемая при этом тканями и органами энергия настолько мала, что могла бы повысить их температуру всего на сотые доли градуса.

Поглощение организмом млекопитающего до 10 Гр ИИ вызывает острую лучевую болезнь. Перечислим острые поражения для человека:

- изменение формулы крови, изменение некоторых вегетативных функций – менее 100 бэр;
- острая лучевая болезнь – более 100 бэр. Дозы однократного облучения 500...600 бэр смертельны;
- лучевые ожоги – от 500 бэр и более 1 200 бэр. Они бывают четырех степеней тяжести: от выпадения волос, шелушения и пигментации кожи до язвенно-некротических поражений с образованием трофических язв;
- при длительном, повторяющемся или внутреннем облучении возможно развитие хронической лучевой болезни.

Как уже было сказано ранее (см. 1.4), при действии на млекопитающих различают (рис. 1.6):

1) соматические (телесные) эффекты, которые проявляются в индивидууме, непосредственно подвергшемся облучению, а не на его потомстве;

2) генетические (врожденные) эффекты, проявляющиеся в следующем поколении как уродства. Возникают в результате мутаций и других нарушений в половых клеточных структурах, ведающих наследственностью.

Соматическими являются такие отдаленные последствия облучения, как лейкемия, злокачественные новообразования, катаракта (помутнение) хрусталика глаза, сокращение продолжительности жизни. Соматические эффекты делятся на нестохастические и стохастические (вероятностные). К нестохастическим относят поражения, вероятность возникновения и степень тяжести которых растет по мере увеличения дозы облучения и у которых существует дозовый порог (наименьшая доза, при которой возможен эффект): лучевой ожог, катаракта глаз, повреждение половых клеток

(кратковременная или постоянная стерилизация) и др. Стохастические эффекты – это эффекты, у которых от дозы зависит только вероятность возникновения, а не их тяжесть. Основные среди них – канцерогенные и генетические. Они имеют длительный латентный (скрытый) период, измеряемый десятилетиями после облучения.



Рис. 1.6. Радиационные эффекты облучения людей

Генетические эффекты проявляются во всевозможных мутациях. Цитогенетические эффекты облучения зародышевых клеток заключаются в образовании гамет с измененным набором хромосом и мутациях в самих генах. Генные мутации делятся на доминантные (которые проявляются сразу в первом поколении) и рецессивные (которые могут проявиться лишь в том случае, если у обоих родителей мутантным является один и тот же ген; такие мутации могут не проявиться на протяжении многих поколений или не обнаружиться вообще).

Следует отметить особо, что никакая доза облучения не приводит к перечисленным выше последствиям во всех случаях. Любой человек, подвергшийся облучению, совсем не обязательно должен заболеть раком или стать носителем наследственных болезней. Однако вероятность, или риск, наступления таких последствий у него больше, чем у человека, который не был облучен. И риск тем больше, чем больше доза облучения.

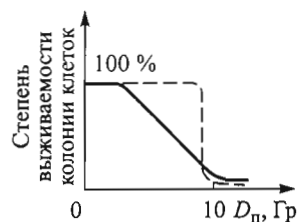


Рис. 1.7. Дозовая зависимость радиобиологических эффектов

Дозовая зависимость радиобиологических эффектов (сплошная кривая на рис. 1.7) имеет ряд особенностей:

- 1) беспороговый характер;
- 2) наличие горизонтального участка при малых дозах. Он обусловлен явлением репарации — эффектом избавления биоструктур от повреждения собственными силами: облученные клетки способны удалять поврежденные азотистые основания, воссоединять разрывы полинуклеотидных цепей ДНК.

Пороговая зависимость (штриховая кривая на рис. 1.7) не относится к радиологическим эффектам, а описывает такие воздействия на организм, как химическое отравление.

Рассмотрим генные мутации: начиная с некоторой дозы выше естественного радиационного фона, частота мутаций в половых клетках прямо пропорциональна дозе ИИ (рис. 1.8). Независимо от дозы существует некоторый уровень спонтанных мутаций, возникающих при транскрипции ДНК в процессе клеточного деления.

Генетические и соматико-стохастические эффекты не исключены при малых дозах (см. 1.8) и условно не имеют дозового порога. Возникновение обоих эффектов мало зависит от мощности дозы, а определяется суммарной накопленной дозой, независимо от того, получена она за одни сутки или за 50 лет.

Возникновение соматико-стохастических заболеваний со смертельным исходом зависит от коллективной дозы (чел·Зв), возраста и пола человека. Так, среднее число заболевших мужчин составляет 100 случаев в год на 10^4 чел·Зв, женщин — 150 случаев на 10^4 чел·Зв. Более высокое значение риска у женщин обусловлено большей вероятностью рака молочной железы. Имеется падение риска возникновения соматико-стохастических и генетических эффектов при увеличении возраста, что связано с существованием латентного периода развития раковой опухоли после облучения, равного примерно 7–12 годам при лейкемии, 25 годам для остальных злокачественных заболеваний [23, 24].



Рис. 1.8. Частота мутаций в половых клетках в зависимости от дозы ИИ

Если принять в качестве критерия чувствительности к ионизирующей радиации морфологические и гистологические изменения, то по степени роста чувствительности к облучению ткани располагаются в следующем порядке [3]:

- 1) нервная ткань;
- 2) хрящевая и костная;
- 3) мышечная;
- 4) соединительная;
- 5) щитовидная железа;
- 6) пищеварительные железы;
- 7) легкие;
- 8) кожа;
- 9) слизистые оболочки;
- 10) половые железы;
- 11) лимфоидная ткань, костный мозг.

Таким образом, особо большой чувствительностью к облучению обладают кроветворные органы. При однократном облучении человека дозой 0,5 Гр через сутки резко сокращается число лимфоцитов, продолжительность жизни которых меньше суток, уменьшается и число эритроцитов по истечении двух недель после облучения (время жизни эритроцитов около 100 суток). У здорового человека в крови находится порядка 10^{14} красных кровяных телец (при ежедневном воспроизводстве 10^{12} штук), у больного лучевой болезнью такое соотношение нарушается и организм погибает.

Радиопротекторы и радиосенсибилизаторы. Расширяющееся применение ИИ в различных областях науки и техники выдвигает в качестве фундаментальной задачи современной радиобиологии поиск путей повышения радиоустойчивости организма. Один из реальных путей повышения устойчивости — использование средств фармакохимической защиты.

Вещества, ослабляющие проявления лучевой болезни, называются радиопротекторами. Они осуществляют:

- тушение возбужденных состояний многоатомных молекул;
- перехват радикальных состояний;
- уменьшение концентрации радиосенсибилизаторов;
- активацию репарационных (восстановительных) процессов.

Радиопротектор вводится в организм перед облучением. Наиболее эффективны изученные в экспериментах на животных радиопротекторы двух основных классов: содержащие серу (амиотиолы, меркаптоалкиламины), а также индопиликаламины, биогенные амины, не содержащие серы.

Противолучевой активностью обладает группа веществ природного происхождения – витамины и их биологически активные формы: коферменты, нуклеиновые кислоты и их производные, многие растительные фенольные соединения, аминокислоты, некоторые углеводы и липиды.

Биологические протекторы (адаптогены) повышают устойчивость и к другим экстремальным воздействиям (химической вредности, холоду, кислородному голоданию, психоэмоциональным стрессам и др.). К ним относятся препараты женьшеня, китайского лимонника, яды змей и др. Противолучевой эффект адаптогенов и витаминов проявляется при их длительном введении в организм за много дней и недель до облучения.

Радиосенсибилизаторы – это вещества, усиливающие тяжесть лучевого поражения. При их посредничестве в результате облучения образуются активные радикалы и синглетный кислород, усугубляющие лучевое поражение. Радиосенсибилизаторы применяются, например, в лучевой терапии. В качестве радиосенсибилизаторов успешно используются сульфат меди, гидреа (гидроксимочевина), ксантобин, таксол, карбоплатин и другие соединения.

Для повышения эффективности лучевого воздействия необходимо усиление дозовых нагрузок. Это достигается предотвращением действия радиопротекторов и добавлением веществ для усиления радиосенсибилизации (экзогенная сенсбилизация).

1.7. ПРИНЦИПЫ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ РАДИОБИОЛОГИИ

Как уже указывалось, соматические эффекты действия ИИ делятся на стохастические (вероятностные) и детерминированные (нестохастические). К индуцированию стохастических процессов приводит биологическое воздействие радиации при медицинском применении. К детерминированным относят эффекты, которые характеризуются изменением сразу во множестве клеток и выявляются как повреждения тканей, органов и целых систем.

Процессы, происходящие в тканях, радиобиологи связывают с первичными механизмами действия ИИ. В количественной радиобиологии используются принцип попадания и теория мишени, стохастическая гипотеза и вероятностная модель радиационного поражения. К качественному описанию действия ИИ на биообъекты относятся гипотеза первичных радиотоксинов и цепных реакций и структурно-метаболическая гипотеза.

Для анализа радиобиологических эффектов используются принцип попадания и теория мишени (или мишеней) (статическая

модель). Они развиты в работах Дж. Кротутера, Д. Ли, К. Циммера, Н.В. Тимофеева-Ресовского и др. Полученные в эксперименте кривые доза – эффект интерпретируются на основании следующих допущений:

- ионизирующие излучения переносят энергию в дискретном виде;
- акты взаимодействия с мишенью (попадания) не зависят друг от друга и подчиняются пуассоновскому распределению;
- исследуемый эффект наступает, если число попаданий в некоторую чувствительную область, так называемую мишень, равно по крайней мере n .

Теория мишени заключается в следующем: попадание лишь в определенные структуры приводит к лучевому поражению.

Рассмотрим случай «одноударного процесса», когда попаданием считают одиночный перенос энергии. Тестируемый эффект наступает лишь тогда, когда определенное минимальное количество энергии поглощено чувствительной областью – мишенью.

Пусть облучаемая система состоит из N_0 объектов, каждый из которых обладает мишенью сечением σ и объемом V . Для инактивации объекта достаточно, чтобы трек ионизирующей частицы прошел через сечение σ мишени. Такое событие будем именовать попаданием. Вероятность n попаданий в мишень, находящуюся в пределах объекта,

$$W(n) = (\xi^n e^{-\xi}) / n!, \quad (1.2)$$

где ξ – среднее число попаданий в мишень. Пусть $\langle M \rangle$ – среднее число частиц, пролетающих через единичную площадку, тогда

$$\xi = \sigma \langle M \rangle.$$

Если N – число объектов, сохранивших после облучения исходные свойства (т. е. «выживших»), то N/N_0 соответствует вероятности непопадания ($n = 0$). Из уравнения (1.2) получаем

$$N / N_0 = [(\sigma \langle M \rangle)^0 e^{-\sigma \langle M \rangle}] / 0! = e^{-\sigma \langle M \rangle}.$$

При условии, что в среднем число попаданий равно числу мишеней, $\sigma \langle M \rangle = 1$, и тогда $N / N_0 = 0,37$. По статистике Пуассона реально поражается только 63 % мишеней, так как часть мишеней испытывает многократные попадания. Соответствующая доза обозначается как D_{37} (рис. 1.9).

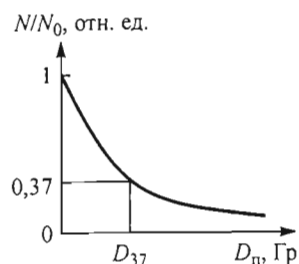


Рис. 1.9. Зависимость доли выживших объектов от дозы ИИ

Графически зависимость доли выживших объектов от дозы выражается экспонентой

$$N/N_0 = e^{-\sigma \langle M \rangle} = e^{-\langle M \rangle / D_{37}}$$

РИ и γ -излучение вызывают редко расположенные акты ионизации, поэтому для расчета их действия вводят объем мишени. Аналогично выше рассмотренному (см. формулу (1.2)),

$$W(n) = (\xi^n e^{-\xi}) / n!,$$

где $\xi = V \langle M \rangle$, $\langle M \rangle$ — среднее число частиц, пролетающих через единичный объем мишени. Доля выживших объектов (см. рис. 1.9) составляет

$$N/N_0 = e^{-\sigma \langle M \rangle} = e^{-\langle M \rangle / D_{37}}; D_{37} = 1/V.$$

Для более точного описания экспериментальных кривых принцип попадания и теория мишеней дополняются принципом усиления, который заключается в том, что попадание в мишень приводит к развитию вторичных процессов, усиливающих действие радиации во много раз.

Поскольку доказано существование ферментативных систем, способных репарировать повреждения генетического аппарата клетки, возник новый динамический подход к радиологическим моделям. Сейчас радиобиологический эффект рассматривают как результат интерференции двух противоположно направленных процессов — развития начального радиационного поражения и его элиминации за счет функционирования репарирующих систем. Основываясь на этом, О. Хуг и А. Келлерер [21] предложили в качестве общей теории действия индуцирующих излучений на клетку «стохастическую гипотезу». Она базируется на представлениях о том, что случайные и диффузно расположенные акты ионизации и возбуждения только в редких случаях однозначно приводят клетку к гибели. На эту «стохастическую гипотезу» должна накладываться «стохастика более высоких порядков», которая определяется динамической нестабильностью жизненных процессов, способных исключить или усилить начальное радиационное повреждение. При формировании радиобиологического эффекта все-

гда происходит взаимодействие множества случайных событий (множественная стохастика). Стохастическая концепция рассматривает любой биообъект как динамическую систему, постоянно находящуюся в состоянии перехода из одного состояния в другое. Полученные дозовые кривые хорошо согласуются с экспериментом (см. рис. 1.9).

Вероятностная модель представляет собой синтез теории попадания и стохастической концепции, дополненный вероятностными представлениями. Разные клетки, подвергнутые облучению одинаковой дозой, поражаются в разной степени в соответствии с принципом попадания. Однако и потенциальные, и реализованные повреждения появляются с вероятностью, меньшей единицы. Реализованные повреждения (или индуцированные ими изменения) наследуются при делении клеток и с вероятностью, меньшей единицы и зависящей от числа этих повреждений, приводят к отсутствию клеточного деления. Вероятностная модель позволяет предсказать многообразие радиобиологических эффектов на основе минимума исходных повреждений [25].

Стохастический характер воздействия ИИ на биообъекты малых объемов и масс приводит к необходимости учитывать флуктуации, обусловленные следующими процессами:

- случайным характером числа частиц, прошедших через объем;
- вероятностным характером числа актов передачи энергии заряженной частицей при прохождении одного и того же отрезка пути;
- вероятностным характером количества переданной энергии в каждом акте взаимодействия.

Выход повреждений $y(D_n)$ биологического объекта под действием ИИ составляет

$$y(D_n) = \int_0^{\infty} f_{D_n}(\bar{z}) Y(\bar{z}) d\bar{z},$$

где $Y(\bar{z})$ — функция отклика биоструктуры на событие энергопоглощения \bar{z} , не имеет определения в виде простой математической зависимости; $f_{D_n}(\bar{z}) d\bar{z}$ — вероятность того, что при дозе D_n удельная энергия в микрообъеме находится в пределах от \bar{z} до $\bar{z} + d\bar{z}$, $\bar{z} = \frac{\Delta \mathcal{E}}{\Delta m}$ ($\Delta \mathcal{E}$ — поглощенная энергия в заданном микрообъеме, Δm — его масса).

1.8. РЕПАРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Радиационные эффекты существенно зависят от темпа облучения, интервалов между облучениями и ЛПЭ отдельных видов ИИ. Это свидетельствует о наличии процессов восстановления в клетках облученного организма, которые включают репарацию субклеточных повреждений клеток и замену летально поврежденных клеток репопуляцией сохранившихся. Предполагают, что система репарации более эффективна в растущем организме, где клетки постоянно обмениваются веществом с окружающими клетками и жидкостями организма.

Время репарации для одноклеточного разрыва в среднем составляет 10 мин, для двухклеточного – несколько часов. Хромосомные aberrации образуются в основном только после двухклеточных разрывов цепочек.

До некоторой дозы радиации восстановительные ферментные системы клетки справляются с задачей своевременного устранения повреждений. Если же повреждение почему-либо не устранено, что может привести к мутациям, ведущим к образованию опухолей, то в действие вступает иммунная защитная система.

В клетке содержатся естественные ловушки радикалов. До тех пор, пока они находятся в избытке по отношению к продуктам радиолиза, ДНК может быть защищена. Следовательно, для лучевого повреждения может существовать пороговая доза, при которой количество свободных радикалов не позволяет провести их ликвидацию.

Принято считать, что дозы, превышающие в 5–10 раз естественный радиоактивный фон, являются малыми дозами. Для человека – это 4...5 рад (0,04...0,05 Гр) при однократном облучении (см. 1.4).

С научно-теоретической точки зрения невозможно доказать, вредными или безвредными являются малые дозы радиации (в пределах 1 мЗв), а с помощью эпидемиологических исследований невозможно достичь надежного отношения доза – эффект при дозах облучения менее 50 мЗв.

Доказано, что для возникновения канцерогенного процесса должны иметь место несколько почти одновременных повреждений молекул ДНК. Излучение же с малой линейной передачей энергии (ЛПЭ) главным образом вызывает одноклеточные разрывы, которые репарируются. При малых мощностях дозы система сбора радикалов более эффективна, чем при больших. При больших мощностях

дозы каждая клетка ткани может испытать несколько попаданий, в то время как при малых – клетка, подвергшаяся воздействию излучения, обычно окружена неповрежденными клетками.

Обратимся к экспериментальным данным. Так, эксперимент показал неправомочность экстраполяции эффектов, вызванных высокими дозами, на эффекты, вызванные низкими дозами [20]. Цитогенетические повреждения характеризовались более высокой эффективностью на единицу дозы в диапазоне низких доз, чем в диапазоне высоких доз, а также наличием дозозависимого участка между ними. Было обнаружено, что *in vitro* при $D_n < 0,3$ Гр клеткам свойственна очень высокая радиочувствительность (гиперчувствительность); при $D_n = 0,3...1,0$ Гр выживаемость мало зависела от дозы; при $D_n > 1$ Гр наблюдалась линейная зависимость выживаемость/доза.

Для объяснения результатов авторы делают предположение, что индукция процессов репарации происходит при определенном уровне повреждения клеток. Запуск системы репарации и ее эффективность зависят от типа клеток. Наблюдается также эффект адаптивного ответа (АО): клетки, предварительно облученные в малых дозах, становились менее чувствительными к последующим воздействиям высокой дозы. Но АО проявляется в узком диапазоне адаптирующих доз с экстремумом, различающимся для разных типов клеток, в оптимальных для клеток физиологических условиях, которые зависят от состава среды [20].

Исследования же влияния малых доз показывают, что они не только не оказывают угнетающего и тем более разрушительного действия на живые системы, но в очень многих случаях даже стимулируют их жизнедеятельность.

Так, например, в работе [18] показано, что импульсное воздействие ИИ (время воздействия – 10^{-8} и $2 \cdot 10^{-8}$ с, доза – $2,7 \cdot 10^{-5}$ и $3 \cdot 10^{-4}$ Гр, скорость дозы – $2,7 \cdot 10^{-3}$ и $1,5 \cdot 10^{-4}$ Гр/с) приводило к возбуждению биоэлектрической активности мозга и поведения животных. В то же время высокая скорость дозы при очень коротких импульсах воздействия вызывала активизацию мозговых функций и влияла на поведение животных, тогда как малые скорости дозы не оказывали воздействий. Единичные импульсы ИИ вызывали реакцию нервных клеток и нервной системы, которая длилась от секунд до часов для нервных клеток и от дней до недель для нервных систем. Сравнение действия ИИ и ЭМИ показало, что

они отличаются. ИИ вызывает легкую активизацию нервных клеток и некоторых форм поведения, тогда как импульсы ЭМИ вызвали слабое подавление функции мозга и поведения.

Вероятность действия ИИ малой дозы на небольшие объекты невелика. Например, по теоретическим расчетам при дозе 0,01 Гр сферу диаметром 7 мкм (ядро лимфоцита) пересекает 1,3 частицы. Однако при этом наблюдается значительный биологический эффект. Следовательно, частица теряет свою энергию порциями 10...30 эВ и переводит некоторые ферменты в активное состояние, что дает начало соответствующим химическим процессам и активизирует клеточные функции. (Например, для зрения животных порог активизации ретиальных клеток составляет 1-3 фотона видимого излучения.) Все реакции клеток в организме интегрируются в центральной нервной системе, вероятно, в гипоталамусе. Далее наступает реакция всего организма. Возможно, механизм такой реакции подобен механизму общего возбуждения при стрессах.

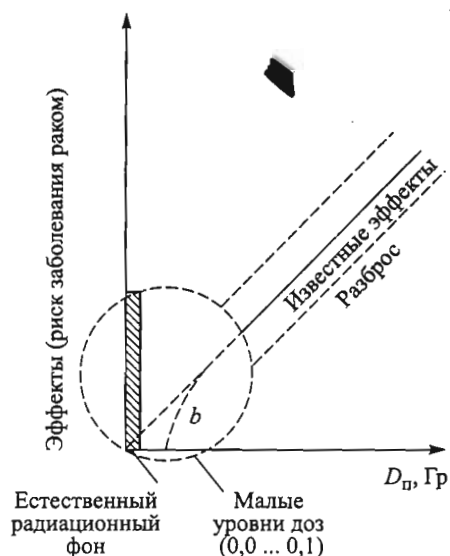


Рис. 1.10. Зависимость риска заболевания раком от дозы облучения

На рис. 1.10 представлена зависимость риска заболевания раком от дозы облучения. Известный диапазон показан с разбросом вне круга, неизвестный — внутри круга. Кривая *b* показывает порог около 50 мЗв (50 мГр), ниже которого опасность возникновения рака или других заболеваний, вызванных радиацией, очень низка. Оценить риск в диапазоне 1...5 мГр трудно, так как эти дозы находятся в пределах природного радиационного фона.

2

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКЕ

Во второй главе рассмотрено применение ионизирующего излучения в биологии и медицине, кратко описаны различные методы и аппаратура для диагностики и терапии на основе действия ионизирующего излучения.

2.1. ПРИМЕНЕНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Одна из наиболее важных областей медицинской интроскопии — рентгенодиагностика [12, 16, 26, 27]. В ней используют фотоны с энергией 60...120 кэВ. При такой энергии массовый коэффициент ослабления потока μ_m излучения в основном определяется фотоэффектом.

Напомним, что ослабление плотности потока фотонов описывается формулой

$$\varphi = \varphi_0 e^{-\mu_m x \rho},$$

где x — толщина поглощающего слоя; ρ — плотность поглотителя. Значение μ_m обратно пропорционально энергии фотона в третьей степени (т. е. пропорционально длине волны фотона в кубе — λ^3), в чем проявляется большая проникающая способность жесткого излучения, и прямо пропорционально атомному номеру вещества поглотителя в третьей степени:

$$\mu_m = k \lambda^3 z^3,$$

где k — коэффициент пропорциональности.

Поглощение рентгеновских лучей почти не зависит от того, в каком соединении находится атом в веществе. Это позволяет сравнивать массовые коэффициенты ослабления, например, для кости (основное соединение $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) и мягкой ткани (основное соединение H_2O):

$$\frac{\mu_{\text{тк}}}{\mu_{\text{тв}}} = \frac{3 \cdot 20^3 + 2 \cdot 15^3 + 8 \cdot 8^3}{2 \cdot 1^3 + 8^3} = 68.$$

Существенное различие поглощения рентгеновского излучения (РИ) различными тканями позволяет в теневой проекции видеть изображение внутренних органов человека.

Если исследуемый орган и окружающие ткани примерно одинаково ослабляют РИ, то применяют специальные рентгеноконтрастные вещества. Например, для желудка и кишечника – это кашеобразная масса сульфата бария. При этом можно видеть их теневое изображение.

Рентгенодиагностику используют в двух вариантах: рентгеноскопия – изображение рассматривают на рентгенолюминесцирующем экране, рентгенография – изображение фиксируется на фотопленке или ПЗС-матрице. При массовом обследовании населения широко используется вариант рентгенографии – флюорография, при которой на чувствительной малоформатной пленке фиксируется изображение с большого рентгенолюминесцирующего экрана. При съемке используют линзу большой светосилы, готовые снимки рассматривают на специальном увеличителе.

Одним из вариантов рентгенографии является рентгеновская томография и рентгеновская компьютерная томография. Слово «томография» в переводе означает послойная запись. Томография позволяет получать послойные изображения тела на экране электронно-лучевой трубки или на бумаге с деталями меньше 2 мм при разнице в поглощении РИ до 0,1 %. Это позволяет различать серое и белое вещество мозга и видеть очень маленькие опухолевые образования.

За открытие РИ К. Рентгену в 1901 г. была присуждена Нобелевская премия. В 1979 г. аналогичную премию присудили Г. Хансфилду и М. Кормаку за разработку компьютерного рентгено-томографа.

С лечебной целью рентгеновское излучение применяют главным образом для уничтожения злокачественных образований.

2.2. ПОДБОР РЕНТГЕНОВСКОЙ АППАРАТУРЫ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ИЗОБРАЖЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИОСТРУКТУР

Рентгеновская установка. Для рентгенодиагностики применяют рентгеновскую установку, принцип работы которой показан на рис. 2.1: квант *A* поглощается телом пациента; *C*, *E* – рассеян-

ные кванты; *B*, *D* – кванты, прошедшие через тело пациента без взаимодействия с ним. Сетка препятствует попаданию рассеянного излучения на приемник.

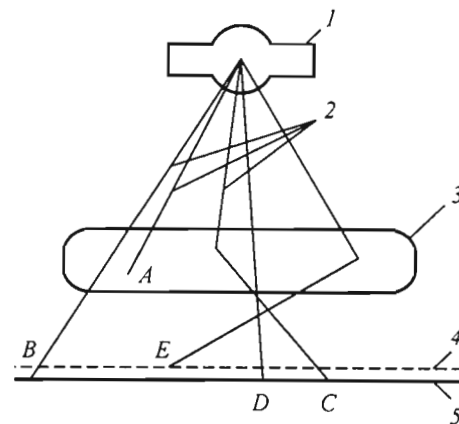


Рис. 2.1. Схема установки для рентгенодиагностики:
1 – рентгеновская трубка; 2 – кванты излучения; 3 – пациент;
4 – сетка; 5 – приемник излучения

Первичные кванты (*B*, *D*) регистрируются приемником и образуют изображение, а рассеянные кванты создают фон, который ухудшает контрастность. Полученное изображение является проекцией характеристики ослабления РИ во всех тканях, лежащих в направлении распространения РИ. Таким образом, изображение представляет собой двухмерную проекцию трехмерного распределения ослабления рентгеновских лучей в теле пациента.

Проникающая способность РИ растет с ростом энергии квантов и уменьшается с ростом толщины слоя биоткани. При низкой проникающей способности лишь небольшая часть квантов дойдет до приемника излучения, и радиационная нагрузка на ткани будет очень высокой. В то же время, если коэффициент прохождения излучения близок к единице, то различия в проникающей способности через разные ткани будут слишком малы, а контраст изображения будет низким. Поэтому при выборе значения энергии квантов следует искать компромисс между требованием обеспечения малой дозы облучения и высоким контрастом изображения. Более высокие энергии квантов используются для получения изображения крупных органов. Итак, контраст резко уменьшается с увеличением энергии квантов, т. е. для получения большего контраста необходимо использовать излучение низкой энергии.

Еще один важный фактор – нерезкость рентгеновской системы излучения. Она обусловлена наличием фокусного пятна от рентгеновской трубки, которое дает полутень на изображении (геометрическая нерезкость); самим приемником; движением пациента во время обследования. Последнее существенно при получении изображения движущихся органов (сердце и связанные с ним кровеносные сосуды).

Даже если система получения изображения обладает высоким контрастом и хорошим разрешением, в случае очень высокого уровня шумов возникают серьезные проблемы идентификации не только мелких, но и крупных биоструктур.

Шумы в рентгеновском изображении возникают в результате:

- флуктуаций числа квантов, регистрируемых единицей площади поверхности приемника (квантовый шум);
- флуктуаций, обусловленных характеристиками приемника и системы отображения.

Уровень квантового шума можно снизить за счет увеличения числа квантов, формирующих изображение. Однако при этом растет также и доза облучения пациента, следовательно, необходимо принимать во внимание соотношение между двумя этими величинами.

Поэтому перед рентгенологами постоянно стоит задача нахождения компромисса между улучшением качества изображения и снижением дозы рентгеновского облучения. Существует ряд способов уменьшения дозовых нагрузок: ограничение поперечного сечения рабочего пучка излучения в зависимости от размеров исследуемого объекта; уменьшение мощности рассеянного излучения на выходе рабочего пучка из кожуха рентгеновской трубки; экранировка гонад с помощью просвинцованных резиновых экранов и т. п.; правильный выбор режима работы аппарата, в частности увеличение напряжения на рентгеновской трубке при рентгеноскопии и рентгенографии (при этом значительно снижается мощность экспозиционной дозы при рентгенографии и сокращается время экспозиции при рентгеноскопии).

Рентгеновские трубки состоят из наполненного маслом кожуха с колбой в виде вакуумированного сосуда из термостойкого стекла, внутри которого размещены накаливаемый катод и анод. Катод нагревается за счет прохождения через вольфрамовую спираль электрического тока, в результате чего создается узконаправленный поток электронов, ускоряемый разностью потенциалов 25...150 кВ и бомбардирующий анод. Менее 1 % энергии, передаваемой электронами аноду, преобразуется в рентгеновское излучение. Некоторая

часть РИ проходит через выходные окна колбы кожуха и используется в рентгенографии, остальная часть поглощается кожухом трубки. Вся конструкция трубки устанавливается на штативе и снабжается коллиматором, так что размеры и направление рентгеновского луча можно изменять по необходимости.

Форма спектра РИ зависит от материала анода, значения и формы прикладываемого к трубке напряжения, а также от характеристики фильтров, помещаемых на пути прохождения РИ.

Трубки с вольфрамовым анодом целесообразно использовать для получения изображения более массивных участков тела за счет высокого энергетического выхода рентгеновских лучей для вольфрама. Молибден дает РИ с низкой энергией, которая лучше подходит для получения контрастных изображений более тонких частей тела. Если излучение слишком «мягкое», то низкоэнергетические кванты будут давать вклад лишь в дозу облучения и не будут обеспечивать высокий контраст изображения, поэтому важно, чтобы такие кванты были отфильтрованы прежде, чем они достигнут тела пациента. Это реализуется путем введения алюминиевого или медного фильтра.

Размеры фокусного пятна в рентгенографических устройствах общего применения со сдвоенным фокусом составляют 0,6...1,0 мм.

Для преобразования падающей энергии рентгеновского излучения в какую-либо другую форму, воспринимаемую человеческим глазом, применяются различные типы приемников изображения.

Рентгеновская пленка прямого экспонирования имеет высокий контраст в изображении. Она применяется в тех случаях, когда эти показатели более важны, чем относительно высокая общая доза облучения (кисти рук, зубы). Нерезкость, обусловленная приемником на основе рентгеновской пленки, равна 0,1...0,2 мм.

Система экран – пленка обладает более высокой скоростью экспонирования, но худшим разрешением, чем рентгеновская пленка прямого экспонирования. Система применяется, когда ограничение дозы облучения более важно, чем потеря мелких деталей в изображении.

Усилитель рентгеновского изображения (рис. 2.2) обеспечивает очень невысокую дозу облучения, однако при его использовании возникают дополнительная нерезкость и шум, превышающие соответствующие значения для системы экран – пленка. Он применяется для исследования процессов движения, течения и заполнения в организме.

После прохождения через входное металлическое окно рентгеновские фотоны бомбардируют поверхность флуоресцирующего экрана, располагающегося на внутренней поверхности окна. Фотоны, испускаемые этим экраном, бомбардируют фотокатод, в результате чего образуются фотоэлектроны, которые в свою очередь ускоряются разностью потенциалов 20...30 кВ и фокусируются электронно-оптической системой на выходной флуоресцирующий экран. Диаметр входного экрана – 12,5...35 (до 57) см, диаметр выходного экрана – около 2,5 см. Это уменьшение изображения, связанное с ускорением электронов, гарантирует очень высокое усиление светового потока в усилителе изображения. Изображение регистрируется на фотопленке или с помощью телекамеры.

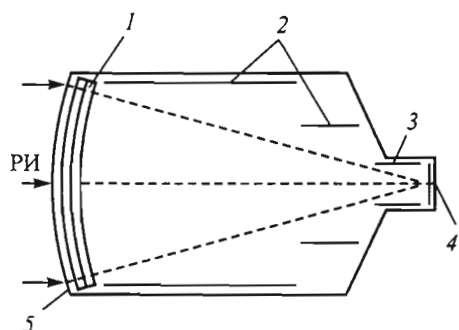


Рис. 2.2. Схема усилителя рентгеновского изображения:
1 – фотокатод; 2 – фокусирующие электроды; 3 – анод; 4 – выходной экран; 5 – входной экран

Фокусирующие электроды предназначены для уменьшения размера изображения с минимальными искажениями. Выходной экран с люминофором должен иметь высокое разрешение, но при этом он все же будет вносить значительный вклад в нерезкость из-за уменьшения размера этого изображения. Кроме того, происходит потеря контраста и возникновение бликов из-за рассеяния и преломления светового излучения в люминофоре выходного экрана.

Преимущество от использования высокого фотонного усиления в этих приборах – малое время экспозиции при получении изображения (высокое быстродействие).

Цифровые системы обладают следующими преимуществами: цифровое отображение изображения, пониженная доза облучения, цифровая обработка изображений, цифровое хранение и улучшение качества изображений.

2.3. ТОМОГРАФИЯ. РАДИОИЗОТОПНАЯ, ЛУЧЕВАЯ И ЛАЗЕРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПИЯ

Рентгеновская трансмиссионная компьютерная томография. Как было сказано ранее, с помощью обычной рентгенографии легко различить костную и мышечную ткань, трахею, заполненную воздухом. Однако различить кровь в кровеносных сосудах и структуры мягких тканей с помощью обычной рентгеновской пленки с контрастным разрешением 2 % не удастся. При применении обычной рентгенографии теряется информация и о трехмерной структуре изучаемого объекта.

Рентгеновское изображение, полученное с помощью компьютерной томографии (КТ) [16], представляет собой изображение некоторого среза толщиной в несколько миллиметров с пространственным разрешением порядка 1 мм и разрешением по плотности (коэффициенту линейного поглощения) выше 1 %.

КТ-сканер – это аппарат с большим отверстием, в которое помещается тело или голова пациента для того, чтобы получить изображение (рис. 2.3). Источник (рентгеновская трубка) формирует остронаправленный пучок рентгеновских лучей, параметры которых потом измеряются детектором. Эта пара источник – приемник последовательно измеряет параллельные проекции, перемещаясь линейно поперек тела пациента. После снятия каждой проекции рама, на которой размещены источник и детектор, поворачивается на некоторый угол для получения следующей проекции. Время функционирования такой системы довольно велико – около 4 мин, что не может соответствовать принципу минимальной дозы. С годами характеристики КТ-сканера постоянно улучшаются.

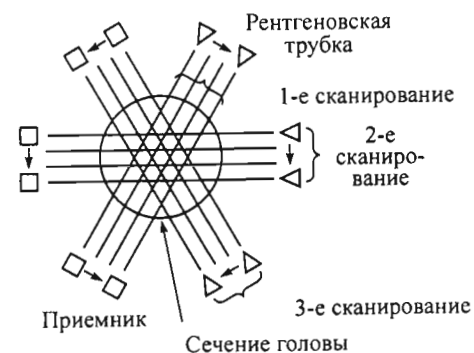


Рис. 2.3. Схема КТ-сканера 1-го поколения для компьютерной томографии

КТ-сканер 4-го поколения оснащен стационарным кольцом из 1 000 детекторов, а вращается только один источник, который создает веерный пучок РИ (раствор пучка перекрывает ширину объекта) в непрерывном режиме сканирования. Время обследования – около 0,1 с, что позволяет «замораживать» изображения движущегося сердца и пр.

У КТ-сканера 5-го поколения нет движущихся частей (рис. 2.4). Мишень рентгеновской трубки имеет форму дуги окружности (210°). Пациент помещается в центр этой дуги, а пучок от эффективного рентгеновского источника заставляют двигаться по поверхности мишени. При этом время сканирования можно снизить до миллисекунд, следовательно, снизится и дозовая нагрузка на пациента.

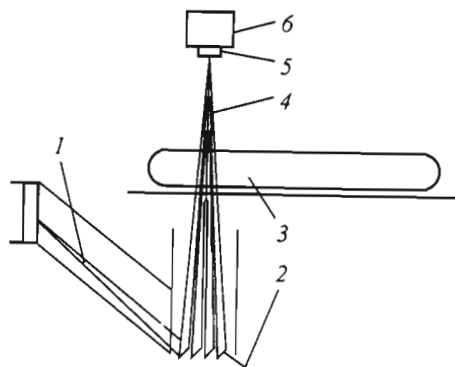


Рис. 2.4. Схема КТ-сканера 5-го поколения для компьютерной томографии:

1 – пучок от рентгеновской пушки; 2 – кольцевые мишени; 3 – пациент; 4 – рентгеновский пучок; 5 – приемники; 6 – регистрация данных

В системе компьютерного томографа имеются также компьютер, управляющий работой механической части и обрабатывающий полученные данные, и выносная консоль, обеспечивающая визуализацию информации, что дает возможность проводить исследования в режиме реального времени.

Применение радиоизотопной диагностики. Лучевая терапия. Радионуклиды в медицине применяют в диагностических и исследовательских целях, а также для биологического воздействия с лечебной целью, включая бактерицидное действие.

Метод меченых атомов используется в диагностических целях. Он заключается в следующем: в организм вводят радиоизотопы и определяют их местоположение и активность в органах и тканях.

Например, по скорости увеличения концентрации радиоактивного йода ($^{125}_{53}\text{I}$ или $^{131}_{53}\text{I}$) можно сделать вывод о состоянии щитовидной железы, а при раке щитовидной железы – определить расположение его метастаз.

Применяя радиоактивные индикаторы, можно проследить за обменом веществ в организме, измерить объем жидкостей и крови. В живой организм радиоактивные элементы вводят в таком небольшом количестве, что ни они, ни продукты их распада не наносят вреда организму.

Для обнаружения получившегося распределения радионуклидов в разных органах используют гамма-топограф (сцинтиграф), который автоматически регистрирует интенсивности радиоактивного препарата. Он представляет собой сканирующий счетчик, который постепенно проходит большие участки над телом больного. Регистрация излучения фиксируется, например, штриховой отметкой на бумаге. Это дает сравнительно грубое распределение ионизирующего излучения в органах. Более детальные сведения можно получить методом автордиографии: на исследуемый объект наносится слой чувствительной фотопленки, в которой оставляют след содержащиеся в объекте радионуклиды. Полученный снимок называют радиоавтографом или автордиограммой [26].

Обратимся к α -терапии. α -частицы поглощаются даже небольшим слоем воздуха, поэтому необходим контакт источника α -частиц с организмом или их введение внутрь организма. Характерным примером является радоновая терапия: минеральные воды, содержащие $^{222}_{86}\text{Rn}$ и его дочерние продукты, используются для воздействия на кожу (ванны), органы пищеварения (питье), органы дыхания (ингаляции).

Другой прием α -терапии заключается в следующем: в опухоль предварительно вводят элементы, ядра которых под действием нейтронов вызывают ядерную реакцию с образованием α -частиц. Например, $^{10}_5\text{B} + ^1_0\text{n} \rightarrow ^7_5\text{Li} + ^4_2\alpha$ или $^6_3\text{Li} + ^1_0\text{n} \rightarrow ^3_1\text{H} + ^4_2\alpha$. Таким образом, α -частицы и ядра отдачи образуются прямо внутри органа, на который они должны оказывать разрушительное воздействие.

При проведении γ -терапии применяют установку, которая состоит из источника, обычно ^{60}Co , и защитного контейнера вокруг источника; больной размещается на столе. Применение γ -излучения высокой энергии позволяет разрушать глубоко расположенные опу-

холи, при этом приповерхностно расположенные органы и ткани подвергаются меньшему губительному воздействию.

При облучении организма ИИ (лучевая терапия) участки тканей, находящиеся на разных глубинах, поглощают разную энергию, поэтому и поглощенная доза (D_p) для этих глубин будет разная. Если энергия излучения мала, то распределение дозы D_p по глубине будет определяться экспоненциальным законом ослабления интенсивности излучения. Жесткое излучение вызывает эффект вторичной ионизации, а это повышает локальное выделение энергии на глубинах, где она возникает. Такие эффекты могут приводить к появлению на некоторых характерных глубинах максимума поглощенной дозы D_p . Чем выше энергия фотона, тем глубже сдвигается максимум дозы. При лечении опухолей подбором жесткости излучения достигают выделения максимальной энергии в местах очага (рис. 2.5).

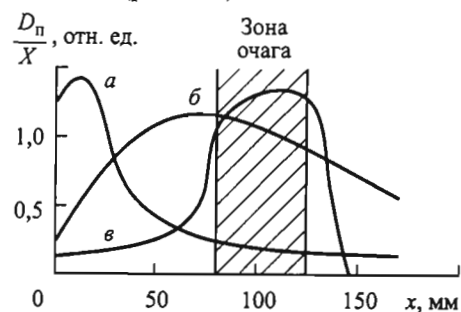


Рис. 2.5. Распределение поглощенной энергии в тканях организма при действии разных видов излучения:

а — РИ с энергией 0,2 МэВ; *б* — тормозное излучение с энергией 25 МэВ; *в* — поток протонов с энергией 160 МэВ (по оси абсцисс — поглощенная доза, отнесенная к экспозиционной дозе)

Как средство лучевой терапии применяют и ускорители заряженных частиц. При этом используют:

1) тормозное РИ, возникающее при торможении электронов, ускоренных бетатроном. Энергия фотона тормозного излучения — порядка нескольких десятков мегаэлектрон-вольт, что оказывается более эффективным, чем γ -терапия;

2) прямое действие ускоренных частиц: электронов, протонов. Заряженные частицы создают наибольшую ионизацию перед остановкой. Поэтому при попадании пучка заряженных частиц в биологический объект извне наибольшее воздействие будет оказано не на поверхностные слои, а на глубже лежащие опухолевые ткани. Поверхностные слои при этом повреждаются минимально. В этом слу-

чае может быть использован как ускоритель электронов (бетатрон, синхротрон), так и ускоритель тяжелых частиц (синхрофазотрон).

Следует, однако, отметить, что использование в терапевтических целях ускорителей заряженных частиц, при всех их несомненных достоинствах, является крайне дорогостоящим методом лечения и уже поэтому не может быть рекомендовано к широкому применению.

Применение позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ).

ПЭТ основана на явлении распада позитрона на два γ -кванта с энергией 511 кэВ каждый, разлетающихся примерно под углом 180° друг к другу. Наиболее эффективный метод прижизненной визуализации распределения радиофармпрепаратов, излучающих позитроны, — это расположение вокруг пациента большого числа отдельных сцинтилляторных приемников, причем каждый приемник подключается к электронной схеме регистрации двойных совпадений с расположенным напротив (с другой стороны пациента) приемником. При этом можно определить линию, на которой происходит аннигиляция. Наибольшее применение ПЭТ находит при неврологических исследованиях и изучении процессов метаболизма головного мозга, поэтому большинство систем рассчитано для томографии черепа и имеют небольшой диаметр кольца рабочей зоны. Пространственное разрешение в реконструированном изображении составляет 6 мм при толщине сечения 6,3 мм.

Применение рентгеновских и γ -лазеров. Рентгеновские и γ -лазеры позволяют получить высокую яркость источников, монохроматичность, коллимированность, когерентность и время экспозиции от 0,1 до нескольких миллисекунд [28]. Это дает улучшение чувствительности и разрешения в компьютерной томографии и рентгеновской флюорографии. Дифференциальное поглощение может использоваться для улучшения контраста при количественном изучении распределения тяжелых элементов в различных живых органах.

Рентгеновская дифракция при больших интенсивностях может оказаться полезной для изучения физиологии и контроля мышечных сокращений.

Особую роль рентгеновские лазеры играют в рентгеновской микроскопии. Они могут помочь в ответах на следующие вопросы:

а) каково расположение растворенных ферментов в цитоплазме, т. е. являются ли они свободно плавающими или связаны с цитоскелетом?

б) присутствуют ли белковые агрегированные структуры в живых клетках?

в) каким образом цитоскелетон организует структуру липидных мембран?

Временное разрешение на уровне долей миллисекунды позволяет визуализировать морфологию клетки и реорганизацию цитоскелетона во время деления. Благодаря когерентности излучения рентгеновских лазеров с их помощью можно получать трехмерные голографические изображения с пространственным разрешением 50 нм, например, структуры цитоскелетона. Излучение рентгеновского лазера можно сфокусировать до 50...100 нм (размеры вирусов, молекул ДНК, РНК составляют примерно 10 нм).

Таким образом, рентгеновские лазеры позволяют изучать клетку с высоким пространственным разрешением и в живом виде. Эта уникальная возможность присуща большинству методов лазерной диагностики, хотя для массового применения рентгеновские и γ -лазеры трудно рекомендовать по причине их высокой стоимости.

3

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО, ВИДИМОГО И ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С БИОБЪЕКТАМИ. ПОНЯТИЕ О ФОТОБИОЛОГИИ И ФОТОМЕДИЦИНЕ

В третьей главе рассмотрен оптический диапазон, понимаемый в расширенном смысле (включая ультрафиолетовую, видимую и инфракрасную области). Особое внимание уделяется физике взаимодействия, биологическому ответу живых организмов на оптическое воздействие, дается понятие о фотобиологии и фотомедицине. Излагаются механизмы преобразования энергии оптического излучения биообъектами различного системного уровня.

3.1. ПОГЛОЩЕНИЕ И РАССЕЯНИЕ СВЕТА ВЕЩЕСТВОМ

При прохождении света через вещество изменяются его интенсивность, поляризация, фаза и другие характеристики вследствие его поглощения и рассеяния частицами вещества.

Поглощением называется ослабление интенсивности света при прохождении через любое вещество за счет превращения световой энергии в другие ее виды. Поглощение монохроматического параллельного пучка света однородно поглощающими средами описывается законом Бугера – Ламберта – Бера (рис. 3.1).

Выделим из слоя среды l с концентрацией поглощающих частиц \bar{c} бесконечно тонкий подслой dl . Если на dl падает свет интенсивностью I , то после прохождения расстояния dl она уменьшается, т. е. $dI < 0$ и

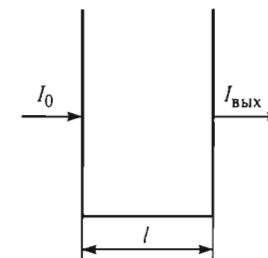


Рис. 3.1. Прохождение излучения через слой поглощающей среды

$$-\frac{dI}{I} = k'\bar{c}dl. \quad (3.1)$$

Поскольку $k' = \text{const}$, то после интегрирования имеем

$$\ln \frac{I_0}{I_{\text{вых}}} = k' \tilde{c} l.$$

Заменяя натуральные логарифмы десятичными ($\tilde{k} \approx 2,3k'$), получаем

$$\lg \frac{I_0}{I_{\text{вых}}} = \tilde{k} \tilde{c} l. \quad (3.2)$$

В химическом анализе отношение $I_{\text{вых}}/I_0$ обычно называют коэффициентом пропускания τ^* ($0 < \tau^* < 1$), величину $\tilde{D} = \lg \frac{I_0}{I_{\text{вых}}} = -\lg \tau^*$ – оптической плотностью, а коэффициент \tilde{k} – коэффициентом поглощения. Если \tilde{c} выражают в молях на литр, а толщину слоя в сантиметрах, то коэффициент поглощения называют молярным коэффициентом поглощения и обозначают ϵ_λ . Наиболее распространенная форма закона Бугера – Ламберта – Бера имеет вид

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon_\lambda \tilde{c} l}, \quad (3.3)$$

где I – интенсивность выходящего света; I_0 – интенсивность падающего света (или число квантов в единицу времени); ϵ_λ – молярный коэффициент поглощения, л · моль · см⁻¹; \tilde{c} – концентрация вещества, моль/литр; l – длина слоя, см. Молярный коэффициент поглощения ϵ_λ выражает вероятность того, что данная молекула поглотит квант света при ее взаимодействии с фотоном. Формула (3.3) фактически позволяет рассчитать поглощенную веществом энергию света.

Этот закон был открыт в 1729 г. французским физиком и мореплавателем П. Бугером (P. Bouguer), изучавшим прохождение света через атмосферу и цветные стекла. Спустя 30 лет, уже после смерти П. Бугера, И.Г. Ламберт придал закону современную форму, подтвердив приоритет Бугера. Еще позднее А. Бер применил закон к светопоглощению растворов, связав его с концентрацией поглощающего вещества.

С.И. Вавилов экспериментально доказал, что закон (3.3) справедлив в широких пределах изменения интенсивности (примерно

в 10^{20} раз). Нарушение закона возможно лишь при напряженностях поля в электромагнитной волне, сравнимых с внутриаомными и внутримолекулярными значениями. Такие поля реализуются, например, в лазерном излучении. В биообъектах поглощающее вещество распределено неравномерно. Результаты измерения говорят о соблюдении закона поглощения в тканях, однако прямая проверка закона как зависимости от концентрации поглощающего вещества в тканях не может быть выполнена, так как концентрация остается неизвестной экспериментатору.

Если поглощающих сред несколько, то

$$I = I_0 \cdot 10^{-(\epsilon_{\lambda 1} \tilde{c}_1 + \epsilon_{\lambda 2} \tilde{c}_2 + \dots + \epsilon_{\lambda i} \tilde{c}_i + \dots) l}.$$

Иногда закон (3.3) записывают в виде

$$I = I_0 \cdot e^{-\epsilon'_\lambda \tilde{c} l},$$

где ϵ_λ и ϵ'_λ связаны соотношением $\epsilon_\lambda = 0,43 \epsilon'_\lambda$, так как $e \approx 10^{0,43}$. Вводят также натуральный показатель поглощения вещества $\alpha_\pi = \epsilon'_\lambda \tilde{c}$. Тогда характерная глубина проникновения излучения $l_\alpha = 1/\alpha_\pi$.

Зависимость оптической плотности и молярного коэффициента поглощения от длины волны, на которой измеряются $\tilde{D}(\lambda)$ и $\epsilon_\lambda(\lambda)$, называется спектром поглощения.

Связав поглощение света с характеристиками молекул (рис. 3.2), запишем закон Бугера – Ламберта – Бера как

$$I = I_0 \cdot e^{-\sigma(n_1 - n_2) l},$$

где σ – сечение поглощения молекулы (эффективная площадь, при попадании фотона в которую происходит его захват молекулой), $\sigma \sim 10^{-16} \dots 10^{-19} \text{ см}^2$; $\alpha_\pi = \sigma(n_1 - n_2)$. Концентрация n_2 молекул, находящихся в возбужденном состоянии 2, намного меньше концентрации n_1 молекул в основном состоянии 1. Поэтому концентрация молекул в основном состоянии приблизительно равна концентрации молекул,

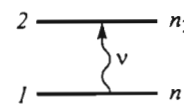


Рис. 3.2. Схема уровней в молекуле

глощающих кванты света. Следовательно, интенсивность света, прошедшего слой толщиной l , может быть выражена формулой

$$I = I_0 e^{-\sigma n l}$$

С учетом отражения и рассеяния поглощенная энергия определяется выражением

$$\Delta I = (1 - \rho^*)(I_0 - I_{\text{вых}}) \approx (1 - \rho^*)I_0(1 - e^{-(\alpha_{\text{п}} + m^*)l}),$$

где ρ^* – коэффициент отражения; m^* – натуральный показатель рассеяния, т. е. величина рассеяния на единицу длины (см. ниже).

Интенсивность люминесценции, вызванной поглощением проходящего через среду света, можно рассчитать как

$$I_{\text{л}} = \eta_{\text{л}} I_0 (1 - 10^{-\epsilon \lambda \bar{c} l}).$$

Здесь $\eta_{\text{л}} = \frac{\text{число излученных квантов}}{\text{число поглощенных квантов}}$ – квантовый выход люминесценции; I_0 – интенсивность возбуждающего света.

Рассеянием света называется явление преобразования света веществом, сопровождающееся изменением направления распространения света и проявляющееся как несобственное свечение вещества. Оно обусловлено суперпозицией излучений, возникающих при вынужденных колебаниях электронов в атомах рассеивающей среды под действием падающего света. Рассеяние происходит в оптически неоднородной среде. Уменьшение интенсивности при рассеянии описывается по законам, аналогичным закону Бугера,

$$I(l) = I_0 e^{-m^* l},$$

где m^* – натуральный показатель рассеяния. При совместном действии поглощения и рассеяния

$$I(l) = I_0 e^{-\mu l}.$$

Здесь $\mu = m^* + \alpha_{\text{п}}$ – коэффициент экстинкции (ослабления), который очевидным образом можно связать с оптической плотностью.

В мутных средах (суспензиях), т. е. средах, где интенсивность света падает не только за счет поглощения, но и за счет рассеяния, измеренная оптическая плотность будет равна $\tilde{D}_{\text{изм}} = \tilde{D}_{\text{п}} + \tilde{D}_{\text{расс}}$.

Зависимость интенсивности рассеяния от длины волны падающего излучения λ имеет вид

$$I = K \lambda^{-S^*},$$

где K зависит от размеров и формы рассеивающих частиц, от разницы показателей преломления частицы и заключающей ее среды и др. Показатель степени S^* изменяется в пределах от 0 до 4 в зависимости от размера частиц a . Если $a < 0,2\lambda$, то $S^* = 4$ и рассеяние назы-

вается рэлеевским, если $a \sim \lambda$, то $S^* \approx 2$. При увеличении размера частицы распределение света становится асимметричным: основная энергия идет в направлении падающего света. На частицах, значительно больших λ , свет не рассеивается, а преломляется и отражается по законам оптики (рис. 3.3).

Рассеяние света в мутных средах (дым, туман, взвеси, эмульсии) на частицах, размеры которых малы по сравнению с длиной волны λ , называется явлением Тиндала. Пусть свет падает на среду вдоль оси x . При прохождении света через мелкодисперсную мутную среду в рассеянном свете (направление А на рис. 3.4) преобладает коротковолновый (сине-голубой) свет, а в проходящем (направление Б) – длинноволновый (желто-красный). Этим объясняется голубой цвет неба и желто-красный цвет заходящего и восходящего Солнца.

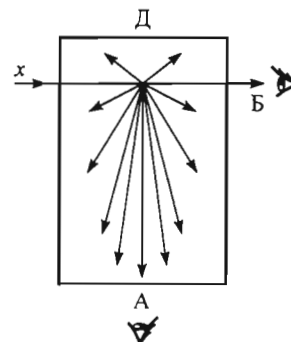


Рис. 3.4. Прохождение света через мелкодисперсную мутную среду

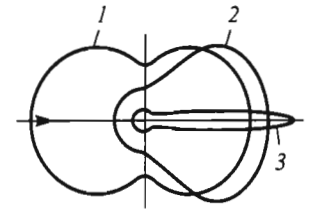


Рис. 3.3. Индикатрисы рассеяния света частицами квазисферической формы с размером $0,1\lambda$ (кривая 1), $0,5\lambda$ (кривая 2), 2λ (кривая 3) [32]

Меньшее рассеяние красного света используют в сигнализации: опознавательные огни аэродрома, красный свет светофора и т. д. ИК-излучение рассеивается еще меньше, что позволяет вести наблюдения в ИК-диапазоне даже при сильном тумане.

Зависимость интенсивности рассеянного излучения от угла рассеяния Θ при $a < 0,2\lambda$ описывается следующей формулой:

$$I_{\Theta} = I_{\pi/2} (1 + \cos^2 \Theta),$$

где I_{Θ} , $I_{\pi/2}$ – интенсивность света, рассеянного под углами Θ и $\pi/2$ к направлению первичного пучка света.

Если размер частиц a больше длины волны падающего света, то наблюдается эффект Ми: интенсивность рассеяния света вперед (в направлении $\Theta < \pi/2$) больше, чем назад. Интенсивность I пропорциональна $1/\lambda^{S^*}$, $S^* < 4$, и убывает с ростом a . При $a \gg \lambda$ спектральные составы рассеянного и падающего света практически совпадают. Этим объясняется белый цвет облаков.

3.2. МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ЭНЕРГИИ ПРИ ПЕРЕХОДАХ МЕЖДУ СИНГЛЕТНЫМИ И ТРИПЛЕТНЫМИ СОСТОЯНИЯМИ МОЛЕКУЛЫ

После поглощения кванта энергии атом или молекула оказываются в возбужденном состоянии, в котором не могут находиться вечно из-за его неравновесности. Энергия неминуемо будет потеряна.

На диаграмме Яблонского (рис. 3.5) показаны переходы, возможные между уровнями энергии с одинаковой и разной мультиплетностью.

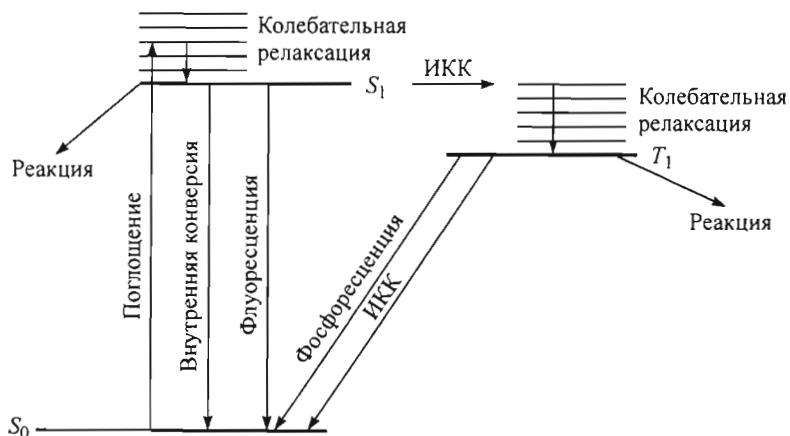


Рис. 3.5. Диаграмма Яблонского:

S_0 и S_1 – состояния одинаковой мультиплетности: S_0 – основное состояние, S_1 – самый нижний колебательный подуровень, соответствующий термически равновесному состоянию; T_1 – возбужденное триплетное состояние; S и T – состояния разной мультиплетности

Время, в течение которого проходит тот или иной процесс (т. е. время, в течение которого молекула находится в состоянии с данной энергией), называется временем жизни уровня или процесса. Время жизни процессов, указанных на рис. 3.5, следующее: поглощение – 10^{-15} с; внутренняя конверсия – $10^{-11} \dots 10^{-13}$ с; интеркомбинационная конверсия (ИКК) – 10^{-10} с; флуоресценция – $10^{-6} \dots 10^{-9}$ с; фосфоресценция – $10^{-3} \dots 10^2$ с; колебательная релаксация – $10^{-12} \dots 10^{-11}$ с.

Внутренняя конверсия и интеркомбинационная конверсия (см. В2) – безызлучательные процессы, во время которых электронная энергия молекулы переходит в колебательную (тепловую). Внутренняя конверсия возможна только между уровнями одинаковой мультиплетности, а ИКК – только между уровнями разной мультиплетности.

Флуоресценция – излучательный процесс между состояниями одинаковой мультиплетности. Между спектрами поглощения и спектрами испускания для простых молекул обычно существует зеркальное соответствие (рис. 3.6).



Рис. 3.6. Зеркальное соответствие между спектрами поглощения и спектрами испускания для простых молекул: 1 – поглощение; 2 – флуоресценция

Фосфоресценция – излучательный переход между состояниями различной мультиплетности. Поскольку время жизни фосфоресценции составляет от 10^{-3} с до нескольких минут, триплетные состояния часто играют центральную роль в органической фотохимии, так как имеют более высокую вероятность вступить в фотохимическую реакцию. Кванты излучения фосфоресценции имеют, как правило, меньшую энергию (а следовательно, большую длину волны), чем флуоресценции.

Флуоресценция и фосфоресценция имеют различное происхождение (излучательный переход с различных по мультиплетности уровней), энергию, длину волны, а также время жизни.

3.3. ПОНЯТИЕ О ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

К фотобиологическим относятся процессы, начинающиеся с поглощения света одним из биологически важных соединений и заканчивающиеся определенной физиологической реакцией организма.

Излучения, охватывающие видимую и УФ-части спектра, особенно эффективно индуцируют химические реакции. Такие химические реакции молекул, возбуждаемых оптическим излучением, называются фотохимическими. Они являются основой фотобиологических процессов.

Выделяют два типа реакций:

- 1) протекающие только под действием света;
- 2) усиливающиеся под действием света (коэффициент усиления может составлять $10^3 \dots 10^5$).

Вторичные реакции протекают без участия светового воздействия, например загар.

При поглощении кванта света может происходить множество физических и химических явлений, при которых энергия кванта рассеивается. Квантовый выход реакции η_p показывает, какая часть молекул, поглотивших свет, вступила в реакцию: $\eta_p \leq 1$. В цепных реакциях $\eta_p \approx 1$ (взрывной характер). Сумма всех первичных квантовых выходов должна равняться единице: $\sum_i \eta_{pi} = 1$. В определенном спектральном диапазоне $\eta_p = \text{const}$, т. е. квантовый выход не зависит от длины волны поглощаемого света.

Вещества, участвующие в поглощении света и играющие доминирующую роль в фотопроцессах, называются пигментами. В свою очередь, части молекул с сопряженными двойными связями, способные поглощать свет, называются хромофорами.

Классификация пигментов:

- 1) пигменты, участвующие в прямых (первичных) фотохимических реакциях, например зрительный пигмент родопсин, регуляторный пигмент фитохром;
- 2) пигменты, имеющие косвенную связь с фотобиологическими процессами, например гемоглобин, миоглобин, каталаза, цитохром. Они являются фотоакцепторами. Гемоглобин имеет различные полосы поглощения. Его взаимодействие с квантом

красного света вызывает активацию оксидантных систем с последующим изменением структуры белков, что ведет к изменению синтетической активности клетки;

3) пигменты, выполняющие функции экранирования светочувствительных клеток, например меланин, который предохраняет ткани от действия излучения с длиной волны менее 1200 нм;

4) морфоприспособительные (у растений и животных).

Количество молекул, вступивших в фотохимическую реакцию, определяется соотношением, аналогичным закону Бугера – Ламберта – Бера (см. 2.1),

$$\ln(n_t / n_0) = -\eta_p [I(t) / h\nu] \sigma t,$$

где n_t – концентрация молекул в момент времени t ; n_0 – начальная концентрация биомолекул; η_p – квантовый выход реакции; $I(t) = [\text{Вт}/\text{см}^2]$; σ – сечение поглощения, см^2 ; $(\eta_p \sigma)$ – сечение фотохимической реакции; $I(t) \cdot t = D_{об}$ – доза облучения.

Введем функцию

$$\tilde{f}(\lambda) = \frac{N_M}{N}$$

($N = \frac{I(t)}{h\nu}$ – число поглощенных квантов), определяющую скорость возникновения молекул данного вида под действием света в пересчете на единичный квант. Такая функция называется спектром действия. Если считать, что N_M – это число не просто молекул, а биомолекул, выделяемых в 1 с, то можно использовать термин «спектр биологического действия». Спектром биологического действия называется зависимость фотобиологического эффекта от длины волны действующего света. Этот спектр позволяет выяснить, какая длина волны наиболее эффективно вызывает данный фотобиологический процесс, какое вещество является акцептором квантов света в данном биологическом процессе. Спектр биологического действия определяется коэффициентом поглощения тех компонентов, которые присутствуют в среде (так как $\eta_p = \text{const}$), и имеет тот же вид, что и спектр поглощения данного раствора. Спектр биологического действия зависит не только от поглощения, но и от квантовой эффективности данного процесса, поэтому для определения спектра биологического действия необходимо

знать, какой именно процесс рассматривается. В практических случаях именно выяснение основного механизма действия излучения на биообъект представляет основную трудность.

3.4. ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Рассмотрим диссипацию (рассеяние) энергии возбуждения атомов и молекул. После поглощения фотона молекула переходит в возбужденное состояние, и поскольку она не находится в равновесии с окружающей средой, время ее жизни мало. К последующей потере энергии молекулы приводят различные процессы (см. 3.2). Существует три канала распределения энергии при переходе молекулы из возбужденного состояния в основное (см. рис. 3.5):

- 1) $A^* \rightarrow \Phi A$ – фотореакция;
- 2) $A^* \rightarrow A + \text{теплота}$ – переход в исходное состояние;
- 3) $A^* \rightarrow A + \text{радиация}$ – излучение.

Если в результате потери энергии образовался химически различимый продукт, то процесс является фотохимическим, в иных случаях – фотофизическим.

Фотохимические процессы – образование свободных радикалов, циклизация, внутримолекулярные перегруппировки и др.

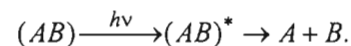
Фотофизические процессы – конверсия энергии излучения в тепловую энергию, переходы между состояниями, перенос энергии, излучательная диссипация.

В результате фотофизического процесса может произойти фотохимическая реакция, конечным результатом которой станет фотобиологический эффект (отклик фотобиологической системы на свет).

Элементарные фотохимические реакции. Возникновение фотохимической реакции зависит от времени жизни уровня энергии или от скорости протекания тех или иных процессов. Константа химической реакции $K_{\text{хим}}$ для фотохимических процессов обратно пропорциональна времени жизни τ молекулы в данном состоянии: $K_{\text{хим}} \sim 1/\tau$.

Фотохимические процессы делятся на несколько типов.

1. Фотодиссоциация – структурные перестройки: молекула, состоящая из молекул двух типов A и B , распадается на две молекулы:



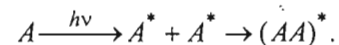
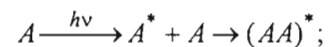
2. Ионизация – образование ионов (радикалов):



Свободным радикалом называется молекула или ее часть, имеющая неспаренный электрон. При действии ионизирующей и УФ-радиации происходит образование свободных радикалов ароматических и серосодержащих белков и пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот. Свободные радикалы играют важную роль при образовании ковалентных сшивок в ДНК и между ДНК и белками. Эти повреждения являются причиной летальных и мутагенных эффектов действия УФ-облучения в клетках кожи, микроорганизмов и растений. Свободнорадикальное окисление липидов играет ведущую роль в развитии эритемы кожи под действием УФ-излучения, световых ожогов глаз, радиационных повреждений, в отравлении четыреххлористым углеродом и других патологических состояниях организма.

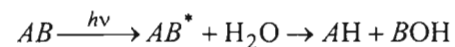
3. Перегруппировки. К этому типу фотохимического процесса относятся:

- а) фотоизомеризация – пространственный поворот связей в молекулах без изменения химической структуры;
- б) фототаутомеризация – внутримолекулярный перенос водорода;
- в) реакция фотоприсоединения и фотопереноса электронов;
- г) фотовосстановление – перенос электрона на фотовозбужденную молекулу;
- д) фотоокисление – отрыв электрона от фотовозбужденной молекулы;
- е) фотодимеризация – образование димера за счет присоединения возбужденной молекулы к невозбужденной того же вида:

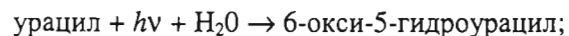


Например, при действии ИИ и УФ-излучения происходит фотодимеризация пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот;

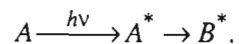
ж) фотогидролиз – взаимодействие фотовозбужденной молекулы с водой:



Например, фотогидратация пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот под действием ИИ и УФ-излучения:



з) фотосенсибилизация – процессы, в которых световая энергия, поглощенная молекулами-сенсибилизаторами, имеющими хромофоры, передается другим молекулам, не способным самостоятельно поглощать свет:



Основной смысл сенсибилизации заключается в том, что переносчик возбуждения A , имеющий большое сечение поглощения, с большой квантовой эффективностью передает энергию возбуждения молекуле B , которая имеет ничтожно малое сечение поглощения при прямом действии света. Фотосенсибилизатор A как бы многократно усиливает возбуждение по отношению к основному реагенту B . При этом запускаются окислительно-восстановительные процессы передачи электронов от одной непоглощающей молекулы к другой, и энергия триплетного состояния фотосенсибилизатора передается другим молекулам с образованием радикалов или молекулам кислорода с образованием синглетного кислорода $^1\text{O}_2$. С помощью радикалов и $^1\text{O}_2$ происходит окисление окружающих молекул (например, липидов).

3.5. КЛАССИФИКАЦИЯ И СТАДИИ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Теперь мы можем указать, что фотобиологические процессы имеют следующие стадии:

- 1) поглощение кванта света;
- 2) внутримолекулярные процессы обмена энергией;
- 3) межмолекулярный перенос энергии возбужденного состояния (миграция энергии);
- 4) первичный фотохимический акт;
- 5) тепловые превращения первичных фотохимических продуктов, заканчивающиеся образованием стабильных фотопродуктов;
- 6) биохимические реакции с участием фотопродуктов;
- 7) общефизиологический ответ на действие света.

Стадии фотобиологических процессов имеют временные рамки от 10^{-18} до 10^5 с:

- взаимодействие быстрых электронов с веществом происходит за $10^{-18} \dots 10^{-10}$ с (стадия 1);
- реакции с участием молекул в электронно-возбужденном состоянии в жидкой фазе осуществляются в течение $10^{-12} \dots 10^{-6}$ с (стадии 2, 3);
- реакции низкомолекулярных соединений и макрорадикалов в растворе идут в течение $10^{-7} \dots 10^2$ с (стадии 4, 5);
- процессы последствия в биомакромолекулах, связанные с реакциями пероксидов, с гидролизом ослабленных связей, с окислением модифицированных групп белка, протекают за $10^{-2} \dots 10^5$ с (стадии 6, 7).

Различают позитивные (полезные) и негативные (вредные) фотобиологические процессы. Приведем их классификацию.

1. Позитивные (фотофизиологические). Под действием света образуются продукты, необходимые для нормальной жизнедеятельности организма. В свою очередь позитивные процессы делятся на следующие:

- энергетические – световая энергия преобразуется в энергию химических связей (например, фотосинтез);
- информационные – образуются биосигналы, несущие информацию о внешней среде (например, зрение, температурные эффекты, формирование акустических сигналов, фотопериодизм (регуляция суточных и годовых циклов жизни животных путем циклических воздействий видимый свет : темнота); у растений – фототаксис, фототропизм, фотопериодизм и т. д.);
- биосинтетические – образуются новые органические соединения (например, хлорофилл, витамин D (из провитаминов под действием УФ), синтез пигментов (меланин) и т. д.).

Особенностью фотофизиологических процессов является отсутствие повреждений жизненно важных молекул и органов, обратимость всех превращений.

2. Негативные (фотодеструктивные). Связаны с необратимыми процессами, т. е. с повреждением биологических структур. Негативные процессы делятся на следующие:

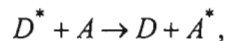
- летальные – гибель организма. Например, бактерицидный эффект (УФ-излучение в больших дозах); сильные тепловые эффекты (лучевая хирургия); фотодинамический эффект;

- патофизиологические – временное нарушение метаболизма с отчетливыми защитными реакциями и последующим восстановлением биологических молекул и нарушенных функций. Примером таких процессов является загар, эритема, эдема, пигментация, солнечная слепота, временная потеря температурной чувствительности при ожогах и т. д.;

- фотомутации, связанные с повреждением ДНК и ведущие к дерматологическим и офтальмологическим патологиям (помутнение хрусталика и т. д.).

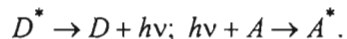
Процессы переноса энергии электронного возбуждения. Энергия возбужденной молекулы может не только диссипировать внутри нее, но и передаваться другим молекулам.

Перенос энергии электронного возбуждения происходит за счет передачи энергии возбуждения от одной молекулы к другой или от одной хромофорной группы в составе данной молекулы к другой хромофорной группе:



где D – молекула-донор; A – молекула-акцептор; $*$ – возбужденное состояние. К этим процессам относятся:

1. Излучательный («тривиальный перенос»):



Условие существования процесса – пространственная близость молекул D и A .

2. Безызлучательный перенос. В этом процессе передача энергии на расстояние 1...10 нм, значительно превышающее межмолекулярное, происходит без перехода энергии в теплоту и без кинетических соударений донора и акцептора энергии (1...10 нм – порядок толщины клеточной мембраны):

- резонансный перенос – действует на больших расстояниях: расстояние между молекулами D и A в несколько раз превышает сумму их Ван-дер-Ваальсовых радиусов (например, 5...10 нм). Условие существования процесса – существенное перекрытие спектров излучения (эмиссии) донора и поглощения акцептора;

- донор и акцептор сближаются настолько, что их электронные облака перекрываются. В области перекрытия электроны становятся неразличимыми, и возбужденный электрон молекулы D^* может одновременно принадлежать молекуле A . Для переноса энергии необходимо также перекрытие спектров излучения донора D и поглощения акцептора A .

3. Экситонная миграция. Она имеет место в кристаллических структурах, каковыми можно считать организованную группу биомолекул. При этом перенос энергии происходит за время, сравнимое с периодами колебаний (10^{-12} ... 10^{-15} с), на расстояние до 1,8 нм.

Так, в молекулярных кристаллах экситон представляет собой элементарное возбуждение электронной системы отдельного атома или отдельной молекулы, которое распространяется по кристаллу в виде волны (экситон Френкеля) благодаря межмолекулярным взаимодействиям (диполь-дипольное взаимодействие приводит к переносу энергии синглетного возбужденного состояния на невозбужденную молекулу). Экситоны Френкеля проявляются в спектрах поглощения и излучения молекулярных кристаллов. Если в элементарной ячейке молекулярного кристалла содержится несколько молекул, то межмолекулярное взаимодействие приводит к расщеплению экситонных линий. Этот эффект связан с возможностью перехода экситона Френкеля из одной группы молекул в другую в пределах элементарной ячейки. Экситон, как правило, имеет весьма значительную (по атомным масштабам) энергию порядка нескольких электрон-вольт.

3.6. ПОГЛОЩЕНИЕ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ БИМОЛЕКУЛ

Поглощение биомолекул. При поглощении света действует принцип Франка – Кондона: за короткое время перехода (около 10^{-15} с, включая кванты видимого света) ядра не успевают изменить своего положения в пространстве, т. е. время, необходимое для поглощения фотона и перехода электрона в возбужденное состояние ($\sim 10^{-15}$ с), намного меньше периода колебаний большинства молекул ($\sim 10^{-13}$ с), следовательно, за время поглощения фотона ядра не успевают изменить положения в пространстве и кинетическую энергию.

Поглощение света веществом зависит не только от его концентрации по закону Бугера – Ламберта – Бера (см. 3.1), но и от состояния поляризации падающего пучка света. Эта зависимость называется *дихроизмом поглощения*. Причина дихроизма – анизотропное строение поглощающего вещества (упорядоченное распо-

ложение молекул вещества). Различная степень упорядоченности может вызвать неодинаковое поглощение при сохранении количества вещества. Например, молекулы нуклеиновых кислот (НК) в волокнах или пленках обладают собственным дихроизмом, который может достигать 60 %. Это связано с тем, что пуриновые и пиримидиновые основания, ответственные за поглощение нуклеиновых кислот в области 260 нм, жестко ориентированы по всему полинуклеотиду и лежат в плоскостях, перпендикулярных длинной оси молекулы НК. В соответствии с этим наибольшее поглощение наблюдается для света, плоскость колебаний которого перпендикулярна оси молекулы, а наименьшее – для колебаний, совпадающих с направлением оси. Большинство биологически важных молекул оптически анизотропны и некоторую степень ориентации имеют почти все цитологические структуры. Поэтому эффект дихроизма может служить средством для изучения упорядоченности молекул в биологических системах.

Положение максимумов поглощения зависит в первую очередь от химической структуры молекул, поглощающих свет.

Поглощение видимого и УФ-излучения происходит главным образом с участием π и n -электронов ($\pi \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$ -переходы). Чем длиннее система сопряженных двойных связей в молекуле, т. е. чем сильнее делокализованы по молекулам π -электроны, тем при большей длине волны λ располагается самый длинноволновый максимум поглощения данной молекулы. Чтобы показать это, сделаем некоторое отступление.

Углерод в молекулах органических соединений способен к образованию связей двух типов:

1) одиночная σ -связь, которая осуществляется во всех соединениях углерода, σ -электроны локализованы между атомами, которые они связывают;

2) π -связь, которая осуществляется только в неопределенных соединениях. Здесь помимо σ -связи между атомами возникает дополнительная связь, при которой электронные облака, осуществляющие ее (π -электроны), перекрываются не вдоль линии, соединяющей ядра атомов, а в перпендикулярной ей плоскости. Таким образом, двойная связь в неопределенных соединениях состоит из одной σ -связи и одной π -связи. Если в углеродной цепочке двойные связи чередуются с одиночными, то имеет место эффект сопряжения связей, заключающийся в том, что облака π -электронов всех атомов, образующих в молекуле двойные связи, взаимно перекрываются. При этом π -электроны уже не локализо-

ваны на двойных связях, а принадлежат всей взаимодействующей (сопряженной) системе в целом (делокализованы).

Делокализация π -электронов в цепочке сопряженных связей может быть представлена как движение их вдоль цепочки. Движение электронов в квантовой механике описывается уравнением волнового типа, в котором квадрат амплитуды характеризует вероятность нахождения электрона в данной точке пространства, а длина волны λ связана со скоростью электрона v и его массой m_e : $\lambda = h / m_e v$.

В линейной цепочке конечных размеров a электроны не могут выйти за пределы цепочки и вероятность нахождения их на границах равна нулю, что описывается моделью стоячих волн, причем на концах цепочки располагаются их узлы. Значит, от границы до границы должно укладываться целое число полувольт: $n \frac{\lambda}{2} = a$, где

$n = 1, 2, 3, \dots$ Следовательно, $v_n = \frac{h}{m_e \lambda} = \frac{hn}{2m_e a}$. Значения энергии,

которые может иметь электрон, $\mathcal{E}_n = \frac{m_e v^2}{2} = \frac{h^2 n^2}{8m_e a^2}$.

Если система содержит N атомов и длина связи l , то $a = (N - 1)l$. В результате расчетов можно получить энергию опти-

ческого перехода $\Delta \mathcal{E} \approx \frac{h^2}{8m_e l^2 N}$. Следовательно, чем больше про-

тяженность системы сопряжения (чем больше N), тем меньше энергия оптического перехода и, соответственно, оптическое поглощение смещается в более длинноволновую область.

Обратимся к конкретным примерам биомолекул [32].

Собственным поглощением в видимой области обладают гемоглобин (самая сильная полоса поглощения в области 400 нм – полоса Соре), меланин, липофусцин, родопсин, цитохром, хлорофилл и др. В области УФ-излучения поглощают НК, белки, свободные нуклеотиды, лигнин, некоторые витамины, гормоны. Однако спектр поглощения клетки определяется практически НК и белками, так как прочие соединения встречаются в ничтожных концентрациях. Для белков максимум поглощения приходится на $\lambda_{\max} \approx 280$ нм, при этом показатель поглощения белков в

10–30 раз меньше, чем у НК. Свет в организме поглощается также кислородом, а в области $\lambda = 3 \dots 1\ 000$ мкм – молекулами воды, кислорода и CO_2 . В биоткани собственное поглощение различных молекул клетки ведет к отклонению поглощения от закона Бугера – Ламберта – Бера.

Пропускание биотканями когерентного (лазерного) излучения тоже имеет свои особенности. Распределение интенсивности света, проникающего в биоткань, имеет отклонение от закона экспоненциального распределения ввиду разной плотности «упаковки» клеток и многократного переотражения излучения. Поляризованное излучение поглощается менее активно, чем неполяризованное.

В ряде экспериментов установлено, что при прохождении через образцы различных тканей толщиной 200 мкм лазерный луч ($\lambda = 632,8$ нм) не сохраняет когерентности и поляризованности, следовательно, в глубине биоткани излучение лазерного источника действует наподобие обычного неполяризованного и некогерентного света в соответствующей спектральной области. Однако это не означает, что когерентность никак не сказывается на взаимодействии излучения с биотканью. Во-первых, диффузно отраженное излучение имеет спекл-структуру, что свидетельствует о сохранении когерентности, во-вторых, в процессе распространения его внутри биоткани и, соответственно, потери когерентности при переизлучении образуются пространственно неоднородные зоны взаимодействия, что можно рассматривать как «след» когерентности с соответствующими вторичными эффектами.

Энергия лазерного излучения, поглощенная участком биоткани, с учетом его оптических свойств может быть оценена по формуле

$$\mathcal{E}_n = \frac{P_{\mathcal{E}} T_{\mathcal{E}}}{S} [1 - (\rho^* + \tau^*)],$$

где \mathcal{E}_n – плотность поглощенной энергии, Дж/м²; $P_{\mathcal{E}}$ – мощность излучения лазера, Вт; $T_{\mathcal{E}}$ – время воздействия, с; S – площадь облучения, м²; ρ^* – коэффициент отражения участка облучаемой биоткани; τ^* – коэффициент пропускания участка облучаемой биоткани.

Люминесценция биомолекул: основные параметры. Слово «люминесценция» объединяет совокупность явлений, завершающихся излучательным переходом молекулы из возбужденного со-

стояния в основное (см. В2). Такой переход, как правило, является термодинамически неравновесным. Люминесценция делится на хемилюминесценцию, флуоресценцию, фосфоресценцию и др.

Напомним, что хемилюминесценция обусловлена преобразованием энергии химических процессов в излучение. В данном случае нас интересует биолюминесценция, т. е. разновидность хемилюминесценции, представляющая собой те виды люминесценции живых тканей, которые не связаны с воздействием на них какой-либо внешней энергии излучения.

Биолюминесценция обусловлена определенными химическими процессами, протекающими в живых клетках, и, к примеру, сопровождается образованием свободных радикалов. Биолюминесцентные тесты используются в качестве индикаторов определенных биохимических реакций. Биолюминесцентное излучение может захватывать как ультрафиолетовую, так и видимую область спектра.

В природе преобладает биолюминесценция желто-зеленой области, отчетливо выраженная у микроорганизмов, беспозвоночных, глубоководных рыб. Теплокровные обладают весьма слабой по сравнению с другими представителями флоры и фауны биолюминесценцией. Этот факт является источником диагностической информации (увеличение фона биолюминесценции тканей означает наличие патологии). Для количественного анализа биолюминесценции необходимы чувствительные приборы, способные измерять интенсивность излучения на уровне отдельных квантов. Видимый свет подавляет биолюминесценцию клеток, что было изучено еще С.И. Вавиловым, высказавшим ряд весьма плодотворных идей касательно изучения люминесценции.

Флуоресценция и фосфоресценция представляют собой переизлучение предварительно поглощенного света (см. В2). Они обусловлены переходами внешних валентных электронов. Именно эти электроны ответственны за химические связи, поэтому люминесцентный анализ исключительно информативен при изучении динамики молекулярных структур.

Временной диапазон между поглощением излучения и его последующим испусканием достаточен для протекания целого ряда процессов, каждый из которых ведет к изменению наблюдаемой характеристики флуоресценции. К таким процессам относятся: столкновения с молекулами тушителя флуоресценции (например, O_2), вращательная и поступательная диффузия, образование комплексов с растворителем или растворенными веществами и т. д.

Основные параметры флуоресценции [9].

1. Интенсивность флуоресценции – число излучаемых фотонов $dN_{\text{фл}}$ в полосе $d\lambda_{\text{фл}}$ на длине волны $\lambda_{\text{фл}}$ при данной интенсивности возбуждения:

$$I_{\text{фл}} = dN_{\text{фл}} / d\lambda_{\text{фл}}.$$

2. Спектр возбуждения – зависимость интенсивности флуоресценции $I_{\text{фл}}$ на длине волны $\lambda_{\text{фл}}$ от длины волны возбуждающего излучения $\lambda_{\text{в}}$:

$$I_{\text{фл}}(\lambda_{\text{в}}) = dN_{\text{фл}} / d\lambda_{\text{в}}; \lambda_{\text{фл}} = \text{const}.$$

Спектр возбуждения подобен спектру поглощения и его изучение позволяет ответить на вопрос, какая длина волны возбуждения $\lambda_{\text{в}}$ вызывает наиболее интенсивную флуоресценцию, а также, если в растворе находится набор флуоресцирующих молекул, какому именно флуорофору отвечает данная $\lambda_{\text{фл}}$.

3. Спектр флуоресценции – зависимость интенсивности флуоресценции $I_{\text{фл}}$ при данной длине волны возбуждения $\lambda_{\text{в}}$ от длины волны флуоресценции $\lambda_{\text{фл}}$:

$$I_{\text{фл}}(\lambda_{\text{в}}) = dN_{\text{фл}} / d\lambda_{\text{фл}}; \lambda_{\text{в}} = \text{const},$$

т. е. распределение интенсивности излучаемого света по частотам (длинам волн).

Согласно правилу Стокса, максимум в спектре люминесценции всегда сдвинут в сторону длинных волн по отношению к спектру поглощения, порождающему люминесценцию. Это легко объяснить, придерживаясь приближения Борна – Оппенгеймера (см. В2). Запишем полную энергию молекулы:

$$\mathcal{E} = \mathcal{E}_{\text{эл}} + \mathcal{E}_{\text{кол}} + \mathcal{E}_{\text{вр}}.$$

Она представляет собой сумму энергии движения электронов в разрешенных состояниях, энергии колебаний атомов в молекуле и энергии вращения молекулы как целого. Спектры люминесценции определяются только электронной составляющей полной энергии, тогда как поглощенная энергия распределяется между всеми тремя составляющими.

В принципе, знание спектров поглощения и люминесценции позволяет полностью описать процесс, но на практике эта задача

очень трудно разрешима. Как уже указывалось, люминесценция биообъектов обладает очень слабой интенсивностью. Для измерения эмиссионного спектра требуется аппаратура с чувствительностью на уровне счета отдельных квантов. Казалось бы, несколько лучше обстоит дело со спектром поглощения – для просвечивания образца можно использовать достаточно мощный источник света, и на пределе чувствительности работать необязательно. Однако, как только интенсивность падающего света возрастает, начинает проявляться нелинейность биосреды, поскольку коэффициент поглощения существенно зависит от интенсивности. В результате измеряется вовсе не тот спектр, который требуется. Экспериментаторы давно сумели преодолеть эту трудность с помощью определения спектра возбуждения. При этом нелинейность спектра поглощения исключается из рассмотрения вследствие того, что измеряется интегральная интенсивность, которая достаточно велика и, что особенно важно, не требует установления характера спектральной зависимости испускания. В то же время длину волны зондирующего излучения можно задавать с высокой точностью, и тогда спектр возбуждения получается идентичным спектру поглощения, но без нелинейных особенностей.

4. Квантовый выход флуоресценции $\eta_{\text{фл}}$ – отношение числа излучаемых за секунду квантов $N_{\text{фл}}$ к числу поглощенных за секунду квантов $N_{\text{п}}$:

$$\eta_{\text{фл}} = N_{\text{фл}} / N_{\text{п}}.$$

Согласно закону Вавилова, квантовый выход люминесценции постоянен и не зависит от того, светом какой длины волны облучается молекула. Квантовый выход флуоресценции меняется при наличии тушителей флуоресценции, олигомеризации и т. д.

5. Время жизни (затухания) τ флуоресценции – время, в течение которого интенсивность флуоресценции уменьшается до уровня $1/e$ начального значения; связь между интенсивностью флуоресценции $I_{\text{фл}}$ и временем жизни τ определяется выражением

$$I_{\text{фл}} = I_{\text{фл}0} e^{-t/\tau},$$

где $I_{\text{фл}0}$ – максимальная интенсивность флуоресценции во время возбуждения. Время жизни флуоресценции зависит от типа растворителя (окружающих молекул), от связи с другими молекулами, олигомеризации, изменения конформации молекул и т. д.

Основываясь на принципах расчета молекулярных спектров по Борну – Оппенгеймеру, можно вычислить собственное излучательное время жизни возбужденного состояния, которое для флуоресценции составляет

$${}^1\tau_0 \approx \frac{3,5 \cdot 10^8}{v_{\max}^2 \int \mu(\nu) d\nu}, \quad (3.4)$$

где v_{\max} – средняя частота полосы поглощения; $\mu(\nu)$ – частотная зависимость коэффициента экстинкции. Величина ${}^1\tau_0$ представляет собой время жизни возбужденного состояния в отсутствие других путей потери энергии возбуждения (см. рис. 3.5). Если полоса поглощения симметрична, то (3.4) можно упростить:

$${}^1\tau_0 \approx \frac{3,5 \cdot 10^8}{v_{\max}^2 \mu_{\max} \Delta\nu_{1/2}}. \quad (3.5)$$

Здесь μ_{\max} – коэффициент экстинкции в максимуме полосы поглощения; $\Delta\nu_{1/2}$ – ширина полосы на половине высоты. Таким образом, можно рассчитать излучательное время жизни возбужденного состояния из спектроскопических данных. Флуоресценция является относительно быстрым процессом, поскольку излучательный переход разрешен: обычно ${}^1\tau_0 = 10^{-6} \dots 10^{-9}$ с. Это время велико по сравнению с единичным актом первичного поглощения (10^{-15} с), но в то же время оно мало по сравнению со временем распада возбужденного состояния при биолюминесценции и фосфоресценции. Отметим также, что вычисляемое таким образом время флуоресценции больше, чем экспериментально определяемое, поскольку фактическое время ${}^1\tau_0$ представляет собой величину, обратную сумме всех констант скоростей процессов распада возбужденного состояния.

Излучательное время жизни фосфоресценции

$${}^3\tau_0 = \frac{3,5 \cdot 10^8}{v_{\max}^2 \int \mu(\nu) d\nu} \frac{g_3}{g_1}, \quad (3.6)$$

где g_3 и g_1 – факторы вырождения триплетного и синглетного состояний соответственно. Такие запрещенные переходы (см. В2)

имеют малые коэффициенты экстинкции, и поэтому время жизни, вычисленное из (3.6), оказывается большим (от 10^{-3} с до нескольких минут и даже часов). Это эквивалентно утверждению, что состояние, которое трудно заселить путем непосредственного возбуждения, также трудно распадается в результате излучательного процесса. По этой причине триплетные состояния играют преобладающую роль в фотохимии биомолекул, поскольку при прочих равных условиях они живут гораздо дольше синглетных и имеют более высокую вероятность вступить в фотохимическую реакцию. Этот факт усугубляется еще и тем обстоятельством, что в триплетном состоянии внешние электроны не спарены.

6. Степень поляризации P и степень анизотропии r флуоресценции – распределение электромагнитных колебаний относительно направления наблюдения.

Степень поляризации флуоресценции P – это доля поляризованного света в общей суммарной интенсивности флуоресценции (см. В2). За время жизни τ возбужденного состояния молекула успевает повернуться, происходит деполяризация излучения по сравнению с поглощенным квантом. Деполяризация тем больше, чем быстрее поворачивается молекула, т. е. чем меньше вязкость ее окружения. Поэтому поляризацию флуоресценции определяют, чтобы, например, изучить микровязкость структуры клетки.

Согласно формуле Перрена – Яблонского,

$$1/P - 1/3 = (1/P_0 - 1/3)(1 + RT\tau/V\eta),$$

где P_0 – максимальная степень поляризации; τ – время жизни флуоресценции; V – объем моля флуоресцирующих молекул; η – вязкость среды.

Поляризация флуоресценции несет информацию о молекулярной организации биообъектов и патологических изменениях в тканях, клетках и субклеточных структурах.

Анизотропное световое возбуждение позволяет выделить из хаотической группы атомов или молекул определенную группу.

Многие важные биологические объекты характеризуются собственной флуоресценцией или имеют флуоресцирующие компоненты-флуорофоры. Собственную флуоресценцию не следует путать с биолюминесценцией. Напомним, что биолюминесценция есть процесс преобразования энергии химических реакций, в которых участвуют биомолекулы, в энергию электромагнитного излучения. Поглощение при биолюминесценции отсутствует. Собст-

венная люминесценция есть процесс высвечивания биотканями предварительно поглощенной энергии электромагнитного излучения в виде электромагнитного же излучения.

Например, около 90 % флуоресценции белков обусловлено наличием в них ароматической аминокислоты триптофана, остальная часть приходится на тирозин, фенилаланин, цистеин и цистин. Квантовый выход УФ-флуоресценции живой клетки составляет 1...4 %. При этом длины волн $\lambda_{\text{П}} = 275...280$ нм, $\lambda_{\text{ФЛ}} = 300...350$ нм и время жизни $\tau = 1...7$ нс зависят от типа белка и третичной структуры. Спектры поглощения и испускания триптофана, тирозина и фенилаланина изображены на рис. 3.7.

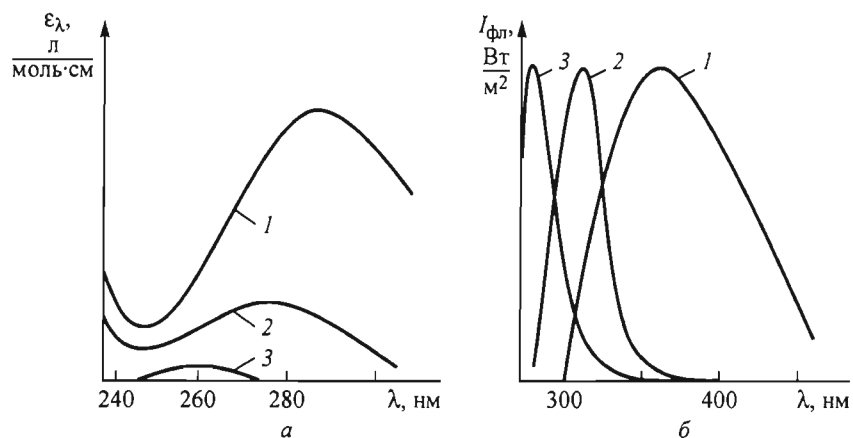


Рис. 3.7. Спектры поглощения (а) и флуоресценции (б) триптофана (1), тирозина (2) и фенилаланина (3)

Спектр поглощения триптофана определяется его индольным кольцом. Этой аминокислоте присущи две полосы поглощения: первая с максимумом в области 218 нм, вторая (преобладающая) – в области 280 нм. Даже малое содержание триптофана в белке существенно влияет на характер его спектров, так как молярный коэффициент поглощения этой аминокислоты в 4 раза больше, чем тирозина, и почти в 30 раз больше, чем фенилаланина. При возбуждении молекул раствора триптофана ультрафиолетом с $\lambda \leq 300$ нм возникает его флуоресценция, максимум которой приходится на $\lambda \approx 350$ нм. Квантовый выход флуоресценции триптофана в нейтральном водном растворе при комнатной температуре достигает 0,2.

Спектр поглощения тирозина обусловлен его фенольным кольцом. Максимумы в спектре поглощения приходятся на 222 и

275 нм. В нейтральном водном растворе при комнатной температуре максимум флуоресценции тирозина приходится на 303...304 нм, квантовый выход равен 0,21.

Спектры поглощения и флуоресценции фенилаланина связаны с наличием бензольного кольца. Максимум в спектре поглощения приходится на 257 нм, квантовый выход невелик – 0,038–0,045.

Если белок содержит все три аминокислоты, то в суммарном спектре флуоресценции преобладает триптофановая люминесценция. При отсутствии триптофана спектры флуоресценции белковой молекулы и тирозина практически совпадают. Свечение фенилаланина проявляется только при отсутствии других ароматических аминокислот. Таким образом, анализ спектров флуоресценции белка дает возможность прецизионного распознавания его состава. В клетках человека содержится много белков, в состав которых входят перечисленные аминокислоты. Это актин, миозин, тропонин, ферменты типа дегидрогеназы, фосфатазы, оксидазы, некоторые гормоны (АКТГ, СТГ, тиреоглобулин и др), пищеварительные ферменты (пепсин, трипсин, химотрипсин), альбумины и глобулины плазмы крови и ряд других веществ. Собственная ультрафиолетовая флуоресценция этих белков определяется главным образом триптофаном, причем их спектры излучения сдвинуты в сторону коротких волн на 10...25 нм относительно спектров люминесценции водного раствора триптофана. Спектры белков, содержащих тирозин и фенилаланин в отсутствие триптофана и люминесцирующих практически так же, как и тирозин, свойственны РНКазе*, гистонам, коллагену, тропомиозину, инсулину и ряду других веществ. Их максимум практически совпадает с максимумом флуоресценции водного раствора тирозина ($\lambda = 304$ нм). Квантовый выход здесь мал (не выше 0,1, чаще 0,04–0,05).

Флуоресцируют также восстановленные пиридин-нуклеотиды НАД·Н и НАДФ**·Н₂ ($\lambda_{\text{ФЛ}} = 440...480$ нм) и окисленные флавопротеины (ФП) ($\lambda_{\text{ФЛ}} = 510...540$ нм), которые участвуют во внутриклеточных процессах: гликолиз, цикл Кребса, дыхание. Поэтому при флуоресцентном анализе могут быть выявлены любые сдвиги в клеточном метаболизме, отражающиеся на динамике свойств НАД·Н и ФП.

* РНК – рибонуклеиновая кислота.

** НАД – никотинамидадениндинуклеотид, НАДФ – никотинамидадениндинуклеотид-фосфат.

Собственной флуоресценцией в УФ-диапазоне обладают сократительный аппарат клетки, митохондрии и некоторые другие клеточные структуры, причем ее интенсивность зависит от физиологического состояния клеток и меняется при различных воздействиях на них. Порфирины флуоресцируют в красной области спектра (630...670 нм).

Спектры собственной ультрафиолетовой флуоресценции различных клеток имеют качественное сходство. Различие в основном просматривается в интенсивности свечения. Наиболее интенсивно светятся клетки мышц, на 25...30 % слабее – нейроны и примерно вдвое слабее – гепатоциты. Измерение относительных величин свечения различных клеток в области 300...350 нм позволяет получать диагностическую информацию о состоянии соответствующих тканей.

Поскольку флуоресценция в некоторых случаях очень слаба, для получения информации используют сторонние флуорофоры в качестве меток, или зондов. Флуоресцентные зонды, например, позволяют определить поверхностный заряд или трансмембранный потенциал клеточных мембран, изменение конформации белков и т. д. С их помощью можно проводить диагностику многих заболеваний, например аллергии, токсикоза, атеросклероза, раковых опухолей и т. д.

3.7. ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОТКАНЕЙ

Биоткани являются рассеивающими средами. Максимум пропускания биотканей находится в области 1,1 мкм. Наиболее «прозрачен» живой организм на длинах волн 650...1200 нм, поскольку здесь пересекаются области наименьшего поглощения излучения водой и гемоглобином крови. Иногда еще более сужают область прозрачности мягких тканей, выделяя «окно» 800...1100 нм. При $\lambda = 450...620$ нм глубина проникновения излучения в биоткань составляет 0,25...2,5 мм, обратное рассеяние составляет существенную часть отраженного света и соответствует приблизительно 40 %. Глубина проникновения зависит также от поглощения света определенных длин волн теми или иными структурами.

Кровь практически прозрачна для ИК-излучения фотографического диапазона, так как окисленный и восстановленный гемоглобин в ближней ИК-области (до 1 мкм) поглощает и рассеивает излучение слабо.

Рассмотрим ИК-излучение поверхности тела человека:

Спектральный диапазон, мкм.....	< 5	5–9	9–16	>16
Доля в общей излучаемой энергии, %.....	1	20	39	41

Максимум излучения телом человека приходится на длину волны 9,5 мкм.

Основной тканью, участвующей во взаимодействии с ЭМИ оптического диапазона, является кожа.

Кожа состоит из эпидермиса и дермы. В состав эпидермиса входят роговой слой (570 мкм), блестящий слой (40 мкм), зернистый слой (20 мкм), слой шиповидных клеток (90 мкм), базальный слой (20 мкм). Дерма составляет около 1000 мкм. В роговом слое основными поглощающими хромофорами являются тирозильные остатки кератина и других белков. Коротковолновая граница пропускания рогового слоя равна 280...290 нм, в нем оптическая плотность слоя больше 20. Вся кожа практически не пропускает свет с $\lambda < 300$ нм, а свет с $\lambda = 290...300$ нм доходит, видимо, только до шиповидных клеток.

На рис. 3.8 [34] изображено спектральное пропускание излучения кожей человека. Видно, что крайнее красное и ближнее ИК-излучения пропускаются эпидермисом и всей толщей кожи значительно лучше, чем видимое излучение. Излучение с $\lambda > 1,5...2,0$ мкм полностью поглощается содержащейся в тканях водой, значит, кожа для этого излучения непрозрачна.

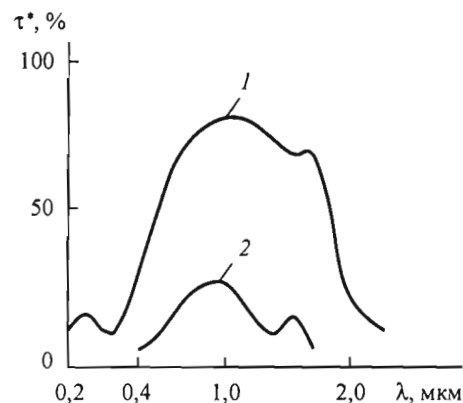


Рис. 3.8. Спектральное пропускание излучения кожей человека:

1 – эпидермисом; 2 – всей толщей кожи

На рис. 3.9 [31] представлены спектры отражения кожи человека. В клетках кожи предусмотрена меланиновая система фотозащиты, с помощью которой внутри клеток при освещении происходит перераспределение сильно поглощающих меланопротеиновых гранул и увеличение количества меланина. В результате

кожа оказывается превосходным светофильтром, не пропускающим в подкожные клетки свет, который может поглощаться их ядрами и ДНК, т. е. является защитой организма от избытка УФ-лучей.

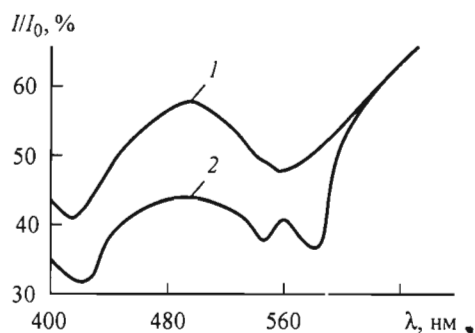


Рис. 3.9. Спектры отражения кожи человека: 1 – участок кожи до развития УФ-эритемы; 2 – участок кожи после развития УФ-эритемы

Физиологическое действие лучистой энергии оптической части спектра зависит от длины волны и энергии поглощенных квантов. Поглощенная энергия вызывает переход атомов и молекул в возбужденное состояние, в котором их способность вступать в химическую реакцию возрастает во много раз. В коже происходит образование веществ с новыми физико-химическими свойствами, изменения белковых молекул клеток, усиление ферментативной деятельности. Энергия ИК-излучения и видимого света при поглощении тканями переходит в тепловую, усиливая кровообращение и тканевый обмен, повышая фагоцитозную активность лейкоцитов.

Рассмотрим оптические свойства биотканей на длинах волн лазерного излучения УФ- и ИК-диапазонов. Стенка кровеносных сосудов обладает значительным поглощением на длинах волн лазеров 193, 248, 308 нм, 2,94 и 10,6 мкм. Из-за интенсивного поглощения на этих длинах волн глубина проникновения составляет 1...20 мкм. Основным поглощающим компонентом на длине волны 890 нм является кровь. Излучение низкоинтенсивных лазеров с длиной волны 660 нм проникает только до эпидермиса, с длиной волны 820 нм – до нижней части дермы, а излучение с длиной волны 950 нм достигает подкожной клетчатки. Излучение низкоинтенсивных лазеров с длиной волны 630 нм проникает на глубину 1,5 мм, излучение ближней ИК-области 0,8...1 мкм проникает в

мягкую ткань до 70 мм, в костную ткань – до 25 мм. Кожа человека на длине волны 1,06 мкм отражает 36 % энергии излучения. Низкие уровни плотности энергии излучения от 0,01 до 0,1 Дж/см² не влияют на оптические свойства биотканей.

На распространение лазерного излучения в биоткани влияют рассеяние и дифракция. Кроме того, биологические ткани являются неоднородными, обладают способностью к селективному резонансному поглощению и флуоресценции, а также обнаруживают ряд нелинейных явлений (аномальную дисперсию и вынужденное комбинационное рассеяние). Кровь и лимфа в тканях не гомогенны, особенно в области воспалений, и имеют определенную скорость движения, что также сказывается на распределении поля излучения лазера внутри ткани.

3.8. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА

По характеру биологического действия на организм человека и животных принято разбивать спектральный диапазон на несколько областей, каждая из которых ответственна за индуцирование определенных эффектов (см. В3):

- ИК-диапазон ($\lambda > 760$ нм) разбивается на ближний ИК (760...1 400 нм), средний ИК (1 400...3 000 нм) и дальний ИК (более 3 000 нм). Он вызывает тепловые эффекты в поверхностных тканях;
- видимая область (400...760 нм) обеспечивает зрение (почему и называется видимой), фотопериодизм (физиологические реакции растений, животных, человека на изменение освещенности в течение суток, года и т. п.);
- УФ-область включает в себя антираhitную область – УФ-А (315...400 нм) – вызывает загар, синтез витамина D, фотоаллергические и сенсibilизирующие фототоксические эффекты, повышение иммунитета к соматическим и инфекционным заболеваниям; эритемную область – УФ-В (280...315 нм) – вызывает эритему, эдему, загар, ожог глаз, канцерогенез, синтез витамина D, ослабление иммунитета; бактерицидную область – УФ-С (200...280 нм) – вызывает эритему, загар, канцерогенез, мутации, бактерицидный эффект [13, 31].

Земли достигает область УФ-А и часть области УФ-В. Заметно, что атмосфера достаточно сильно поглощает УФ-излучение с длинами волн короче 300 нм (в основном, за счет озона, сосредото-

точного на высотах 25...28 км (см. далее 3.11)). Излучение Солнца с $\lambda < 280$ нм практически не достигает по этой причине земной поверхности, поэтому и называется вакуумным ультрафиолетовым излучением. Мягкий же ультрафиолет задерживается атмосферой незначительно, но и превращений вызывает мало (поэтому он – «мягкий»).

3.9. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С БИООБЪЕКТАМИ

Действие УФ-излучения на молекулярном уровне. Развитие всего живого происходило под влиянием солнечного излучения, к которому оно должно было приспособиться. Поэтому устойчивость живых клеток к свету оказалась гораздо выше, чем, например, устойчивость к ионизирующему облучению. Отчетливые биологические эффекты при действии УФ-света на живые клетки наблюдаются при дозах порядка $10^{-3} \dots 10^{-1}$ эрг/ядро, а летальная доза ионизирующего излучения для многих видов клеток составляет 10^{-5} эрг/ядро. Это, вероятно, целиком связано с наличием хорошо отлаженной системы репарации фотодетектов, включая системы фоторепарации. Способность восстанавливаться от повреждений, вызываемых УФ-излучением, возникла, скорее всего, на ранних этапах эволюции и играла важную роль в выживании первичных организмов, подвергавшихся интенсивному солнечному ультрафиолетовому облучению.

На микроорганизмы и культивируемые клетки высших животных и растений УФ-излучение оказывает губительное и мутагенное действие (наиболее эффективно УФ-излучение в пределах 240...280 нм) [22, 25, 29, 31]. В основе биологического действия УФ-лучей лежит повреждение биологически важных молекул: ДНК, белков, липидов, что следует из прямой связи между спектром действия и спектром поглощения этих веществ. Обычно спектр летального и мутагенного действия УФ-излучения примерно совпадает со спектром поглощения нуклеиновых кислот – ДНК и РНК, в некоторых случаях спектр биологического действия близок к спектру поглощения белков.

Воздействие на ДНК. Спектр биодействия УФ-излучения практически совпадает со спектром поглощения ДНК. Излучение поглощают пуриновые и пиримидиновые основания. Так, пирими-

диновые основания избирательно чувствительны к УФ-излучению с $\lambda = 254$ нм и $\mathcal{E} = 4,9$ эВ. Механизм поглощения: $S \rightarrow T \rightarrow$ межклеточный перенос электронной энергии \rightarrow межнуклеотидные миграции энергии. При облучении коротковолновым светом происходят реакции фотоионизации, фотодиссоциации и фотоприсоединения. Основной тип фотохимической реакции ДНК – образование димеров, в основном пиримидиновых, чаще – димеров тимина. Это приводит к нарушению репликации и транскрипции при подготовке клетки к делению и возникновению генетического дефекта, что может вызвать гибель клеток или изменение их наследственных свойств (мутации). Стоит, однако, заметить, что реакция димеризации фотообратима: димеры мономеризируются фототлазой в процессе фотореактивации. Квантовый выход одно- и двухнитевых разрывов под действием УФ-А, на 2–3 порядка ниже, чем при рентгеновском воздействии, и в данном случае его можно не учитывать. Сечение поглощения молекулы ДНК примерно в 10 раз больше, чем белков. Характерные полосы поглощения ДНК располагаются в пределах 240...260 нм.

Воздействие на белки (УФ-В). Это воздействие связано с фотохимическими превращениями аминокислот и их остатков (максимум поглощения триптофана и тирозина находится на длине волны 280 нм) с конечным формированием радикалов. Возникающие при этом электроны, отличающиеся высокой реакционной способностью, инициируют ряд вторичных химических реакций и приводят к разрыву дисульфидных связей. Возникают также межмолекулярные ковалентные сшивки. Воздействие на эти основные поглощающие компоненты белков целесообразно изучать по спектрам люминесценции (см. 3.8).

Воздействие на липиды. Максимум поглощения для липидов находится на длине волны 200 нм и определяется ненасыщенными жирными кислотами. Основная фотохимическая реакция – окисление липидов. Первичные продукты реакций – гидропероксиды жирных кислот, затем образуются альдегиды, в частности, по выходу малонового альдегида судят об эффективности действия лучей на биообъект. Поэтому определенное значение в действии УФ-излучения, приводящего к гибели клетки, имеют также повреждение биологических мембран и нарушение синтеза различных компонентов мембран и клеточной оболочки.

Действие УФ-излучения на биоткани. Ультрафиолетовое излучение проникает в ткани на глубину до 1 мм. Его поглощение связано с фотохимическими реакциями и может привести к эрите-

ме. Эритема – резкое усиление микроциркуляции и повышение содержания гемоглобина в коже. Максимальным эритемным действием обладает УФ-излучение с $\lambda = 296,7$ нм и $\lambda = 253,7$ нм. При эритеме уменьшается отражательная способность кожи (отношение интенсивности отраженного света к падающему) в области поглощения гемоглобина (540 и 578 нм) (см. рис. 3.9). Это служит количественным критерием эритемы. При эритеме гибнет около 10 % клеток рогового слоя. Вместе с тем, полезной считается точная доля эритемной радиации $10 \dots 40$ мэ^{*}·ч/м². Эритема обычно переходит в защитную пигментацию – загар, который при этом играет роль оптического фильтра.

Загар – потемнение кожи человека под воздействием ультрафиолетового облучения, вследствие которого в поверхностных слоях избыточно отлагается пигмент меланин. Под влиянием УФ-излучения усиливается рост клеток базального слоя эпидермиса, в котором имеются специальные клетки-меланофоры, богатые меланином. Происходящее одновременно с этим утолщение рогового слоя кожи и способность меланина поглощать тепловые лучи защищают организм от длинноволновых ультрафиолетовых лучей, которые при длительном воздействии могут вызывать гибель клеток нижележащих слоев кожи и солнечный ожог, а также от инфракрасных лучей – одной из основных причин перегрева организма и солнечного удара. Кроме того, под действием УФ-В появляется эдема – увеличение количества межклеточной жидкости в тканях человека (отек).

УФ-излучение обуславливает превращение вещества эргостерина, входящего в состав секрета сальных желез, в витамин D. Главным же источником витамина D служит пища. Витамин D регулирует всасывание кальция в пищеварительном тракте и связанные с кальцием обменные процессы. Витамин D необходим для образования костей и зубов, способствует всасыванию фосфора и активации иммунитета (до 80 %).

Бактерицидное действие УФ-излучения используется в операционных и перевязочных отделениях клиник для дезинфекции помещений. Было установлено, что кривая гибели бактерий под действием УФ-излучения подобна спектру поглощения нуклеиновых кислот. Следовательно, гибель бактерий обусловлена повреждением именно нуклеиновых кислот.

*1 эр (эритема) = 1Вт/м² на длине волны 297 нм.

При действии УФ-излучения возникает канцерогенез. Канцерогенез – формирование онкоклеток (происходит всегда при загарании). Доза, соответствующая риску канцерогенного воздействия, равна 60 мэ^{*}·ч/м², канцерогенное воздействие возникает при дозе $5,6$ Вт·ч/м² = 2000 Дж/м². В офтальмологии отмеченные граничные дозы могут вызвать временную потерю зрения, хорошо знакомую альпинистам («снежная слепота»), в качестве последствия возможен конъюнктивит (воспаление внешней оболочки глаза) и, как наиболее грозное осложнение, ведущее к полной слепоте, – катаракта (помутнение хрусталика). Впрочем, данное воздействие не является однозначно предсказуемым и оспаривается некоторыми офтальмологическими школами.

Под действием УФ-излучения на кожу происходит ускорение старения коллагена, который отвечает за эластичность кожи, а также мутагенез, т. е. появление соматических мутаций в клетках эпидермиса.

Мутагенез и канцерогенез – два связанных механизма, которые возникают от воздействия УФ на ДНК. Риск канцерогенеза возрастает при увеличении общей дозы УФ-облучения, которую организм как бы «запоминает» на протяжении всей жизни.

Для УФ-диапазона справедливо правило взаимозаменяемости времени и мощности Бунзена – Роска: эффект облучения зависит от дозы и, следовательно, может достигаться при разной интенсивности излучения:

$$X = It,$$

где X – экспозиционная доза, Дж/м². Справедливость данного соотношения доказана для случая изменения интенсивности в 10^5 раз. Таким образом, большие дозы можно получить даже при низкой интенсивности УФ-излучения.

Защитная роль озонового слоя. Озоновый слой преобладает на высоте $25 \dots 28$ км. Содержание озона (O_3) в атмосфере определяют по измерениям прямой солнечной радиации в УФ-диапазоне. На высоте $20 \dots 60$ км под действием УФ-излучения с $\lambda < 200$ нм образуется слой озона, который поглощает УФ-излучение более длинных волн. Область длин волн больше 280 нм находится в окне озонной прозрачности. Наиболее сильно озон поглощает УФ-С. Максимум поглощения озона приходится на $\lambda_{\max} = 253,65$ нм.

Поэтому, например, интенсивность излучения с $\lambda = 250$ нм озон ослабляет в 10^{40} раз. Спектр солнечного излучения при его измерении с поверхности Земли обрывается приблизительно на $\lambda = 290$ нм (рис. 3.10). Таким образом, озон является защитой от разрушения нуклеиновых кислот, которые активно поглощают УФ-излучение с $\lambda < 280$ нм (рис. 3.11).

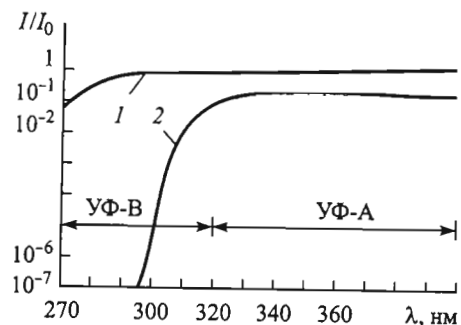


Рис. 3.10. Зависимость относительной интенсивности УФ-излучения Солнца над земной атмосферой (1) и после ее прохождения (2) от длины волны излучения [38]

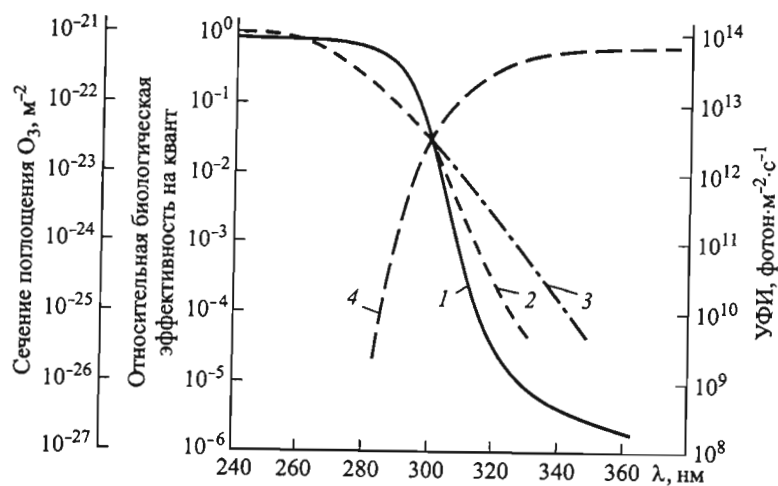


Рис. 3.11. Спектральные плотности распределения относительной биологической эффективности (спектра действия): 1 — поражение ДНК; 2 — эритемный эффект; 3 — сечение поглощения излучения озном; 4 — интенсивность УФ-излучения Солнца [37]

Обнаружено изменение концентрации озона над полюсами Земли на 40 %, над Москвой — до 30 %. Такие изменения получили название «озоновые дыры» и вызывают опасения ученых и общественности [37, 38]. Существует несколько предположений о причинах появления озоновой дыры:

- такие изменения концентрации озона происходили всегда;
- влияние экологического загрязнения атмосферы, в частности фреоном.

В атмосфере толщина озонового слоя зависит от сезона, солнечной активности, точно коррелирует с изменением температуры. Над Антарктидой наиболее значительное уменьшение озонового слоя происходит в весенний период (сентябрь–октябрь) (в среднем на 25 %). Над Арктикой в весенний период (апрель) находится максимальное количество озона, минимальное наблюдается в октябре. Однако существование арктической «дыры» надежно не установлено.

Разрушению озона способствуют фреоны (химические вещества, производные от метана, этана и циклобутана, содержащие хлор и/или фтор), оксид азота, оксид хлора, лед в облаках (химические вещества в виде твердых частиц), вещества, содержащие нечетный водород (ОН, НО₂, Н, Н₂О₂ и т. д.), бром, аэрозоли (твердые и жидкие частицы, взвешенные в воздухе), сера. Так, фреоны поднимаются в стратосферу, где разлагаются УФ-излучением с $\lambda < 200$ нм с освобождением окиси хлора и активного хлора. Однако какая часть фреона достигает стратосферы, не разложившись ранее, никем не установлено.

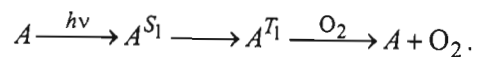
В то же время большая концентрация озона в приземной части атмосферы вредна для здоровья человека и инфраструктуры (действует на различные материалы, линии электропередач, повреждает сельскохозяйственные культуры). Сведения о последствиях появления озоновой дыры для природы и человека практически отсутствуют.

3.10. ФОТОСЕНСИБИЛИЗАЦИЯ. ПРИНЦИПЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

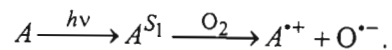
В медицине большое значение имеют фотопроцессы, возникающие в результате поглощения света экзогенными (внешними) веществами или эндогенными (внутренними) соединениями, концентрация которых резко возрастает при некоторых патологиях (протопорфирии, билирубинемии и др.). Вещества, повышающие чувствительность организма к УФ-излучению и видимому свету, называются фотосенсибилизаторами (Фс) [31]. По механизму дей-

ствия они делятся на два типа: фотосенсибилизаторы первого типа (ФСI) и фотосенсибилизаторы второго типа (ФСII). ФСI под действием света сами химически изменяются, т. е. первичной стадией реакций является образование свободных радикалов фотосенсибилизатора. Эти реакции не зависят от присутствия кислорода (O_2). Например, более 4 % населения болеет псориазом. Болезнь характеризуется гипертрофией эпидермиса, приводящей к покраснению и болезненному отшелушиванию кожи. Часть больных псориазом страдает также и псориастическим артритом. В терапии псориаза широко используют ФСI – псорален.

ФСII – фотодинамические соединения. Первичной стадией реакций является взаимодействие возбужденных молекул фотосенсибилизатора с кислородом. Краткая схема реакции:



ФСII, поглотив квант света, переходит в триплетное возбужденное состояние (A^T_1), а затем взаимодействует с кислородом. При этом происходит передача энергии триплетного состояния ФСII молекулярному кислороду, благодаря чему кислород может переходить в возбужденное синглетное состояние (1O_2), в котором он примерно в 100 раз более эффективно, чем невозбужденный кислород, окисляет липиды, белки и другие биомолекулы. В некоторых случаях ФСII образует супероксид-анионрадикал путем переноса на молекулу кислорода электрона:



Таким образом, реакции с ФСII зависят от присутствия кислорода.

Типичный представитель ФСII – протопорфирин. Он накапливается в аномально высоких концентрациях в организме человека при некоторых нарушениях биосинтеза порфиринов. Если больные находятся на дневном свете, у них развивается эритема и эдема. При этом специальные тушители синглетного кислорода, т. е. вещества, принимающие на себя его избыточную энергию возбуждения и естественным образом присутствующие в клетке, не справляются со своей задачей, поэтому терапевтический метод лечения таких заболеваний – прием β -каротина, который является сильным тушителем-антиоксидантом.

ФСI и ФСII широко используются в медицине, прежде всего в фотодинамической терапии (ФДТ).

Фотодинамическая терапия является относительно новым методом лечения злокачественных новообразований, получившим мощное развитие в последние 20 лет. Хотя такой срок является недостаточным с точки зрения всеобъемлющей оценки возможностей методики (в том числе и отдаленных результатов лечения), ФДТ уверенно заняла свое место рядом с традиционными методами, такими, как рентгено-, гамма- и химиотерапия [39, 41]. Обусловлено это тем, что традиционные методы лечения, включая хирургические, во многом оказываются малоэффективными даже при сочетанном и комбинированном применении. Поэтому новый метод, отличающийся минимальной инвазивностью, практической безболезненностью и потенциально высокой эффективностью, связанной с селективностью воздействия на патологию, сразу же привлек пристальное внимание. В развитие метода вкладываются значительные силы и средства. Научно-лечебные центры, специализирующиеся на методе ФДТ, существуют более чем в 40 странах. Ведущими являются США, Германия, Япония. В последние годы значительные успехи достигнуты в Китае.

В России метод ФДТ известен давно, однако он долгое время не был разрешен к клиническому применению и вплоть до 1992 г. оставался на стадии исследований.

В основе фотодинамической терапии лежит способность некоторых фотосенсибилизаторов селективно накапливаться в опухолевых клетках и тканях (причем как в злокачественных, так и в доброкачественных), а также в патологических тканях. Отношение концентраций фотосенсибилизаторов в опухолях и здоровых окружающих тканях колеблется от 2:1 до 10:1 в зависимости от типа опухоли, вида фотосенсибилизатора и т. д. В качестве фотосенсибилизатора для ФДТ используют производные гематопорфирина (ПГП): фотогем, фотофрины I и II (США), фотосан (ФРГ), хлорин, фталоцианин и т. д. В России с 1994 г. разрешен к ограниченному применению принципиально новый синтетический препарат фотосенс, представляющий собой металлопорфириновый комплекс с участием цинка или алюминия.

Основой химической структуры порфиринов является порфириновый цикл, состоящий из четырех пиррольных колец. Типы порфиринов различаются в зависимости от заместителей по углеродным атомам. Молекула имеет плоское строение (рис. 3.12), что связано с сильным π -электронным взаимодействием по макрокольцу (см. 3.6).

Эндогенные внутриклеточные порфирины существуют в виде металлокомплексов (с атомом металла в центре порфиринового

кольца), для ФДТ используют свободные порфирины (кроме фталоцианинов (рис. 3.13)), так как они обладают более низким коэффициентом тушения синглетного кислорода 1O_2 , чем металлокомплексы.

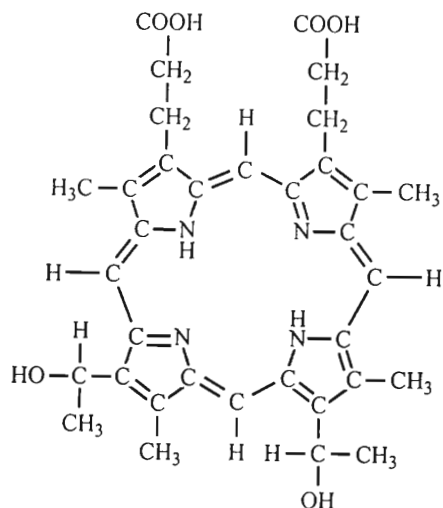


Рис. 3.12. Структурная формула молекулы гематопорфирина IX

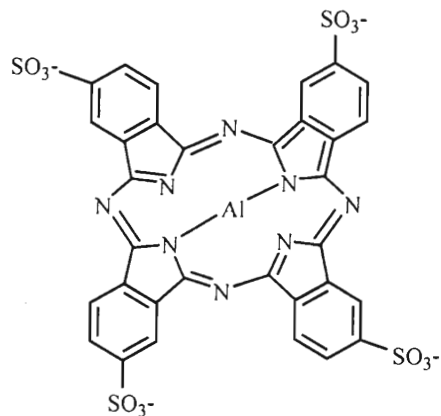


Рис. 3.13. Структурная формула молекулы фталоцианина с атомом металла алюминия в центре

Все порфирины имеют сходные электронные спектры с четырьмя максимумами поглощения в видимой области и интенсивной полосой Сорэ с максимумом в области 400 нм (рис. 3.14). Положение максимума полос поглощения зависит от растворителя.

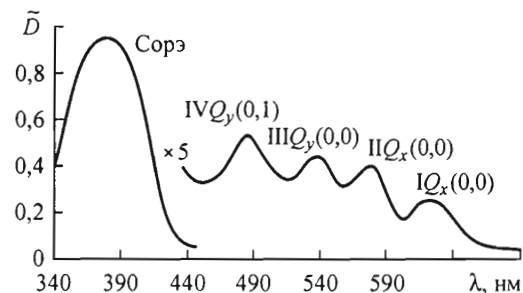
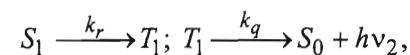
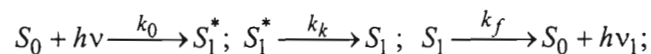


Рис. 3.14. Спектр поглощения одной из ПГП

При облучении тканей с накопленным фотосенсибилизатором начинается фотохимическая реакция с участием синглетного кислорода, который вызывает повреждение клетки.

Квант света возбуждает первый синглетный уровень S_1 фотосенсибилизатора, и далее происходят следующие реакции (рис. 3.15):



где ν_1, ν_2 – частоты флуоресценции и фосфоресценции с уровней S_1 и T_1 на основной уровень S_0 ; k_i – константы скоростей перехода. Они обратно пропорциональны времени жизни на соответствующем уровне: $k_0 \sim 10^{16}$ 1/с; $k_k \sim 10^{12}$ 1/с; $k_f \sim 10^8 \dots 10^9$ 1/с; $k_q \sim 10^3 \dots 10^4$ 1/с.

Для большинства порфиринов квантовый выход интерконверсии $\gamma_{ик}$ близок к единице:

$$\gamma_{ик} = \frac{k_r}{k_r + k_f}.$$

Следовательно, большая часть возбужденных в состояние S_1 молекул переходит в состояние T_1 , остальные высвечиваются в процессе флуоресценции. Излучательное время жизни уровня T_1 (фосфоресценция) достаточно велико: $\tau_T = 1/k_q = 10^{-3} \dots 10^{-4}$ с, следовательно, возможен безызлучательный механизм передачи

энергии другим молекулам, в частности кислороду в основном состоянии O_2 (см. 3.5). При этом он переходит на один из возбужденных синглетных уровней, что подтверждается наличием характерных полос люминесценции кислорода [39].

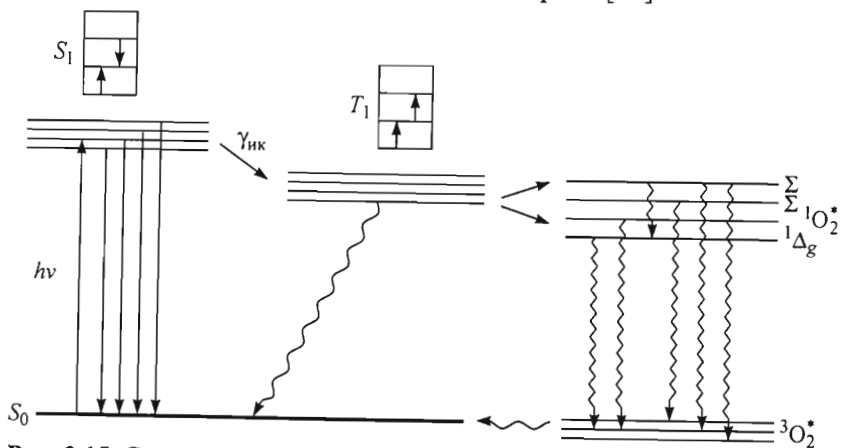
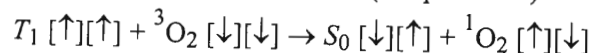


Рис. 3.15. Схема передачи энергии возбуждения от фотосенсибилизатора к синглетному кислороду

Основное состояние молекулы кислорода является триплетным 3O_2 , тогда как ближайшие возбужденные состояния синглетны. Наиболее устойчивым из них является состояние $^1\Delta_g$, отстоящее от основного примерно на 0,976 эВ ($\lambda = 1,27$ мкм). Ввиду различной мультиплетности возбужденного $^1\Delta_g$ и основного 3O_2 состояний возможна аккумуляция молекул кислорода в состоянии $^1\Delta_g$. Характерное время жизни синглетного состояния $^1\Delta_g$ кислорода в жидкой среде сильно зависит от типа среды и может меняться в пределах $1...10^{-5}$ с. При наличии в среде возбужденных молекул фотосенсибилизатора в состоянии T_1 , энергия которого близка к энергии состояния $^1\Delta_g$, весьма вероятно перекрытие электронных оболочек молекул фотосенсибилизатора и кислорода с резонансным заселением синглетного состояния $^1\Delta_g$ кислорода. Этот процесс можно схематически изобразить в виде (см. рис. 3.15)



Синглетный кислород весьма активно взаимодействует с внутриклеточными веществами. При этом возможен как физический механизм передачи возбуждения (по типу передачи энергии от фотосенсибилизатора к самому кислороду без изменения химического состава), так и химический, при котором кислород вступает в реакцию с соответствующим веществом. Преобладание физического механизма означает отсутствие фотодинамического эффекта (ФДЭ), что имеет место в отсутствии фотосенсибилизатора, когда синглетный кислород образуется под влиянием естественных факторов (например, при повышенном солнечном облучении). Для реализации же ФДЭ необходимо включение химического механизма, при котором в реакцию с возбужденным кислородом 1O_2 вступают ненасыщенные соединения, входящие в состав белков и липидов.

Защитные ресурсы клетки, препятствующие нарушению ее метаболизма, достаточно велики. Количество молекул 1O_2 внутри клетки, вызывающее ее гибель, составляет $5,3 \cdot 10^8$. Летальная доза света с учетом потерь энергии $10^9...10^{11}$ квантов на клетку. Производные гематопорфирина имеют квантовый выход реакции образования синглетного кислорода 1O_2 порядка 0,75. Таким образом, ФДЭ представляет собой «резонансное усиление» возбуждения, передаваемого от электромагнитного излучения к синглетному кислороду, за счет фотосенсибилизатора. Коэффициент «резонансного усиления» составляет 10^8-10^9 .

Производные гематопорфирина могут быть как растворимыми, так и нерастворимыми в воде (т. е. гидрофильными или гидрофобными). От этого зависит, где локализуется фотосенсибилизатор в клетке: в цитоплазме или мембранах. При фотодинамическом воздействии (ФДВ) происходит повреждение мембраны клеток, выражающееся в окислении липидов и белковых компонентов мембраны, что ведет к увеличению проницаемости мембраны и нарушению ионного транспорта. В липидах высокую чувствительность к сенсибилизированному фотоокислению проявляют ненасыщенные жирные кислоты и холестерин. При этом имеет место свободно-радикальное перекисное фотоокисление липидов. Оно вызывает увеличение вязкости липидной фазы мембраны, а также ее структурные изменения, что приводит к резкому снижению барьерных свойств липидных бислоев. В мембранных белках фотосенсибили-

зированные изменения проявляются в образовании ковалентных сшивок между различными полипептидными цепями. В основе сшивания полипептидов лежат фотодинамические процессы, инициируемые главным образом синглетным кислородом. Фотосенсибилизированные сшивки полипептидов в мембранах являются, по видимому, причиной нарушения их транспортных свойств.

Нужно заметить, что ФДВ, по всей вероятности, не влечет нарушений ДНК, хотя необходимы специальные исследования в этой области.

Требования к «идеальному» фотосенсибилизатору:

- доступный способ получения и постоянный химический состав;
- устойчивость при хранении и введении в организм;
- низкая токсичность, включая нейротоксичность;
- фармакокинетическое поведение должно включать высокую селективность накопления в опухолях по сравнению с окружающими нормальными тканями и сравнительно быстро выводиться из организма;
- слабое накопление в коже;
- высокий квантовый выход триплетного состояния с энергией не меньше 94 кДж/мол для эффективного образования синглетного кислорода;
- в спектре возбуждения должен быть интенсивный максимум в диапазоне 700...900 нм.

Последнее требование основано на особенностях спектрально-го пропускания кожей света: УФ-излучение пропускается намного хуже, чем ИК-излучение. При обширных опухолях глубинные их участки не затрагиваются облучением, что может приводить к повторным метастазам, поэтому для увеличения эффективности ФДТ длина волны облучения должна находиться в области наибольшей прозрачности биотканей.

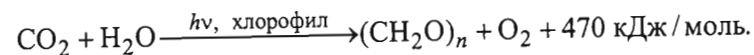
3.11. ФОТОСИНТЕЗ КАК ПРИМЕР ПРЕОБРАЗОВАНИЯ СВЕТОВОЙ ЭНЕРГИИ БИОБЪЕКТАМИ

Для живых существ пригодна только световая и химическая энергия. Те организмы, которые синтезируют все необходимые им органические вещества за счет энергии света, называются фототрофными (фототрофами), а те, которым для этого нужна химическая энергия, – хемотрофными (хемотрофами) [43].

Для фототрофов характерно наличие пигментов, поглощающих энергию света и превращающих ее в химическую энергию в ходе

процесса фотосинтеза [36, 42, 44, 45], на который затрачивается энергия около 1 % лучей, дошедших до Земли, что позволяет связывать около $75 \cdot 10^{12}$ кг углерода в год. Фотосинтез в зеленых растениях определяет существование всех форм жизни, поскольку именно фотосинтез дает атмосферный кислород.

Уравнение фотосинтеза:



Кислород является отходом фотосинтеза, а углевод – полезным продуктом.

Спектром действия* фотосинтеза называется зависимость скорости приращения количества кислорода N_k от числа поглощенных квантов N и длины волны λ , т. е. функция $\tilde{f}(\lambda) = N_k / N$.

Если N_k – число молекул кислорода, выделяемых в 1 с, N – число квантов, поглощаемых в 1 с, то $\tilde{f}(\lambda) = \eta_{\text{фс}}(\lambda)$ – квантовый выход фотосинтеза. На рис. 3.16 и 3.17 показаны спектры действия фотосинтеза для зеленых растений и хлореллы. На рис. 3.16 видно, что спектр действия фотосинтеза практически совпадает со спектром поглощения хлорофилла. При выделении одной молекулы кислорода поглощается 8 квантов.

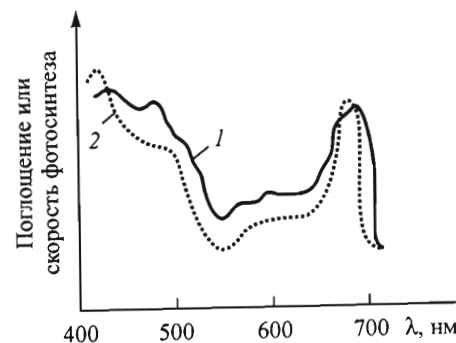


Рис. 3.16. Спектр поглощения (1) и спектр действия (2) фотосинтеза зеленых растений

* См. определение понятия спектр биологического действия в 3.3.

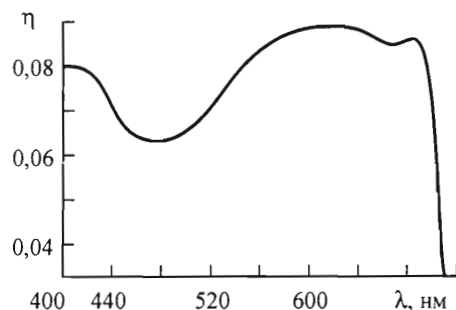


Рис. 3.17. Квантовый выход фотосинтеза для хлореллы

Скорость фотосинтеза зависит от интенсивности падающего света $I = Nh\nu$. Для количественного определения скорости фотосинтеза можно воспользоваться эмпирической формулой:

$$v = \frac{(k_{\phi} / n) \tilde{c}_{\phi} I}{K_M + I}.$$

Здесь k_{ϕ} – константа скорости ферментативной реакции (образования некоего субстрата из CO_2 и H_2O при участии хлорофилла с последующим выделением O_2). Субстрат образует слабо связанный комплекс, распадающийся на углеводные фрагменты и кислород. Для производства одной молекулы O_2 требуется в среднем $n = 8$ молекул субстрата, а на один ферментативный комплекс (неустойчивую молекулу субстрата) требуется от 50 до 300 молекул хлорофилла; \tilde{c}_{ϕ} – концентрация фермента; K_M – постоянная, имеющая смысл концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной (константа Михаэлиса). При большой интенсивности падающего света $I \gg K_M$ наступает

насыщение: $v_{\max} = \frac{k_{\phi} \tilde{c}_{\phi}}{n}$. Экспериментально k_{ϕ} можно опреде-

лить, измеряя зависимость выхода O_2 от продолжительности интервалов времени между короткими вспышками света. Эмпирически определено среднее время превращения одной молекулы субстрата: $t_d \approx 0,02$ с. Отсюда $k_{\phi} \approx t_d^{-1} \approx 50$ с $^{-1}$. Концентрация

фермента для зеленых растений $\tilde{c}_{\phi} = [\text{Хл}]/300$ ($[\text{Хл}]$ – концентрация хлорофилла). Тогда

$$v_{\max} \approx 50 \frac{[\text{Хл}]}{n \cdot 300} \approx 0,02 [\text{Хл}] \text{с}^{-1}.$$

Итак, максимальная скорость фотосинтеза при $I = \text{const}$ равна одной молекуле кислорода на молекулу хлорофилла за 50 с.

У эукариот (зеленые растения) фотосинтез происходит в хлоропластах, которые рассеяны в цитоплазме. Они содержат хлорофилл и другие пигменты, локализованные в системе мембран, погруженных в основное вещество – строму. Световые реакции фотосинтеза происходят именно в системе мембран. В строме происходят темновые реакции.

К фотосинтетическим пигментам высших растений относятся хлорофилл и каротиноиды. Их роль заключается в поглощении света и превращении его энергии в химическую энергию. Различают следующие формы хлорофилла: a, b, c, d ; бактериохлорофилла: a, b, c, d ; каротиноида: каротины, ксантофиллы (кислородсодержащие каротиноиды), β -каротин. Хлорофиллы поглощают главным образом красный и сине-фиолетовый свет (см. рис. 3.16), зеленый свет они отражают. Этим обусловлена зеленая окраска листьев большинства растений. Каждая форма хлорофилла отличается друг от друга по положению максимума поглощения в красной области оптического спектра: 670, 680, 690 и 700 нм.

В темноте молекула хлорофилла находится на нижнем (основном) уровне S_0 (рис. 3.18). Полосы поглощения хлорофилла, соответствующие переходам из основного состояния S_0 в возбужденные S^* и S_1^* ($S_0 \rightarrow S^*$ и $S_0 \rightarrow S_1^*$), лежат в красной и синей областях спектра. Обратные переходы $S^* \rightarrow S_0$ и $S_1^* \rightarrow S_0$ являются соответственно флуоресцентным и безызлучательным. Возможен конверсионный переход $S^* \rightarrow T$. Уровень T – метастабильный, поскольку излучательный переход $T \rightarrow S_0$ запрещен по спине, поэтому молекула хлорофилла долго пребывает в T -состоянии, из которого возможно поглощение с переходом на более высокий уровень T^* ($T \rightarrow T^*$). Вследствие неспаренности электронов в T -состояниях именно этот факт обуславливает возбуждение химических реакций.

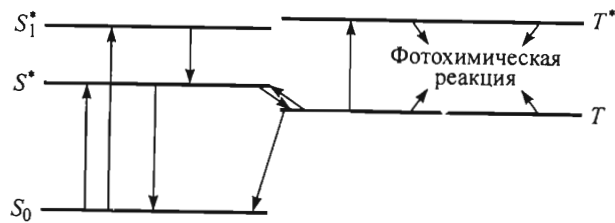
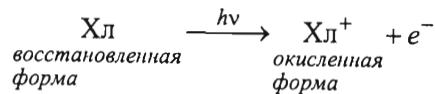


Рис. 3.18. Схема низших возбужденных уровней хлорофилла

При поглощении света хлорофилл переходит в возбужденное состояние с потерей электрона (т. е. хлорофилл является донором электрона), который будет принят другой молекулой – акцептором электрона. Хлорофилл при этом окисляется, а акцептор восстанавливается:



Световые реакции. Существует два типа фотосинтетических единиц (фотосистемы I и II), которые состоят из набора молекул пигментов, передающих энергию одной молекуле главного пигмента (ловушке), называемой реакционным центром (P680 и P700 на рис. 3.19). В нем энергия используется для осуществления химических реакций. Здесь происходит преобразование световой энергии в химическую – главное событие фотосинтеза.

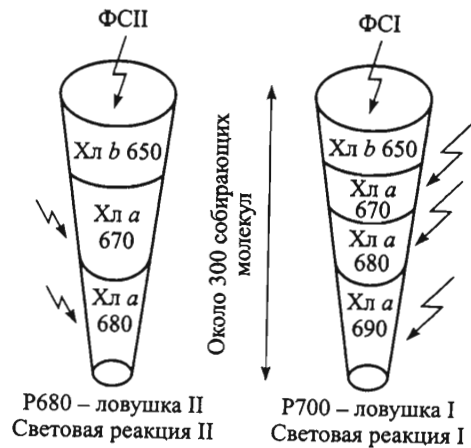


Рис. 3.19. Два типа фотосинтетических единиц

Оптимальная интенсивность фотосинтеза наблюдается при определенном соотношении между количеством возбужденных фотосистем I и II (ФС I и ФС II), которое зависит от спектрального состава света. Свет поглощается обеими системами одновременно, но в разной степени. При смещении к красной границе видимого спектра система ФС I получает избыточную энергию, а ФС II – недостаточную. Баланс улучшается при смещении к синей границе. При изменении интенсивности падающего света энергия перераспределяется между ФС I и ФС II.

Фотосистемы I и II взаимодействуют последовательно в так называемой Z-схеме фотосинтеза; восстановленные продукты ФС II служат донорами электронов для ФС I. Возбуждение светом, который в основном поглощается ФС II, приводит к восстановлению промежуточных переносчиков, а возбуждение ФС I – наоборот, к их окислению (рис. 3.20).

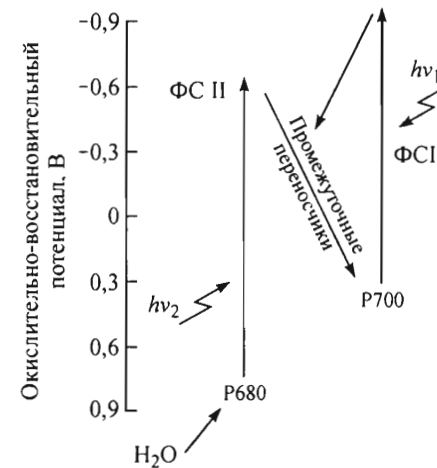


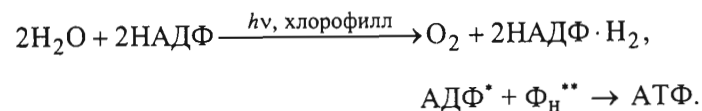
Рис. 3.20. Z-схема фотосинтеза

Поглощение света происходит пигментами светособирающего (СС) пигмент-белкового (ПБ) комплекса (ССПБК) фотосинтетических единиц, из которого, как из резервуара, энергия возбуждения передается на антенный ПБК ФС I и ФС II и далее непосредственно к реакционным центрам P700 и P680. Основной принцип работы реакционных центров состоит в том, что возбуждение фотоактивного пигмента приводит к отрыву от него электрона и восстановлению первичного акцептора, который потом передает электрон к следующему акцептору и далее – в электронно-транспортную цепь Z-схемы. При этом вероятность переноса электрона с возбужден-

ного уровня реакционного центра на первичный фотохимический акцептор намного выше, чем вероятность излучательной или безызлучательной диссипации энергии. Доставка энергии электрона возбуждения к реакционным центрам ФС I и ФС II высших растений и реакционному центру бактериального фотосинтеза осуществляется за счет миграции энергии в светособирающей антенне путем безызлучательного переноса. Системы ФС I и ФС II пространственно разобщены, что затрудняет миграцию энергии электрона возбуждения между ними. Миграция происходит по механизмам индуктивного резонанса, а в пределах одного комплекса, где расстояния между молекулами пигментов составляют 0,9...1,4 нм, она носит экситонный характер. В таких системах делокализация экситона происходит за 10^{-13} ... 10^{-14} с.

Функциональное биологическое назначение светособирающей антенны состоит в повышенной эффективности использования поглощенных квантов. Среднее время, необходимое для утилизации энергии кванта света (выделение молекулы O_2), составляет 0,01...0,02 с. Время регенерации фотоактивного пигмента реакционного центра намного меньше ($\leq 10^{-6}$ с). При ярком дневном свете каждая отдельная молекула хлорофилла будет поглощать не более 1...10 квант/с, а при обычной интенсивности света – еще меньше. В этом случае реакционный центр, практически лишенный собственной светособирающей антенны и включающий в свой состав фотоактивный пигмент, будет значительную часть времени «простаивать». Объединение многих десятков молекул пигментов в фотосинтетическую единицу, обслуживающую фотоактивный пигмент, предотвращает такого рода потери. Экспериментально показано, что время жизни τ синглетного возбужденного состояния хлорофилла в растворе составляет 5 нс, а в хлоропластах оно сокращается в 20 – 30 раз (рис. 3.21). Очевидно, что при попадании возбуждения в реакционный центр происходит эффективный процесс использования электронной энергии состояния S_1 в первичном акте фотосинтеза. Тем самым, время пребывания хлорофилла в возбужденном состоянии S_1 в листе сокращается.

Перенос электронов приводит к образованию АТФ* (фотофосфорилирование) и НАДФ·Н₂:



Таким образом, энергия света превращается в энергию химических связей АТФ и НАДФ·Н₂. Вода расщепляется на Н₂ и O₂; Н₂ переносится на НАДФ, а O₂ – отход процесса фотосинтеза.

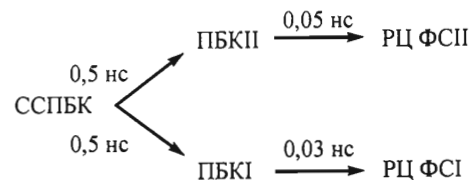
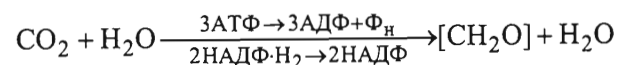
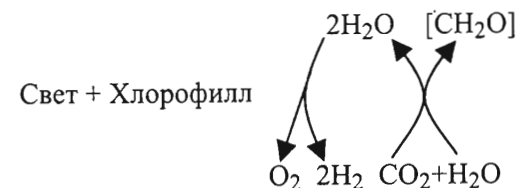


Рис. 3.21. Время передачи энергии в фотосистемах I и II

Темновые реакции. Такие реакции происходят в строме и не требуют света. Их результатом является восстановление CO_2 с образованием органических соединений – углеводов, при этом используется энергия химических связей АТФ и водород НАДФ·Н₂:



Суммарное уравнение фотосинтеза:



Таким образом, процесс фотосинтеза можно разбить на три этапа:

1) фотофизический – возбуждение электрона и миграция его энергии возбуждения (за время 10^{-16} ... 10^{-12} с);

* АДФ – аденозиндифосфат

** Φ_H – фосфат

2) фотохимический – разделение зарядов, образование промежуточных продуктов (за время $10^{-12} \dots 10^{-2}$ с);

3) ферментативный – синтез биологических продуктов (за время $10^{-2} \dots 10^4$ с).

Первичные реакции фотосинтеза от поглощения кванта и его захвата в реакционном центре (ферментативной реакции) протекают менее чем за 100 нс. За это время не успевают полностью высветиться даже те переходы, которые не запрещены по спину, поэтому квантовый выход первичного процесса велик (~ 90 %). Вторичные процессы, приводящие к генерации O_2 , пока что не нашли однозначного и тем более количественного объяснения.

Другие фотосинтетические пигменты – каротиноиды (желтые, оранжевые, красные или коричневые) сильно поглощают в синеволетовой области. Они обычно замаскированы хлорофиллами, но выявляются перед листопадом, так как хлорофиллы разрушаются первыми. Каротиноиды содержатся также в цветах. Они функционируют как дополнительные пигменты. Каротиноид поглощает свет, переходя в метастабильное состояние, и тем самым защищает хлорофилл от избытка света и окисления кислородом, выделяющимся при фотосинтезе. Защитная роль каротина определяется тем, что скорость его окисления кислородом на четыре порядка выше, чем скорость окисления хлорофилла. Каротиноиды являются физическим тушителем возбуждения.

Молекулы каротиноидов, помимо светособирающей и защитной функции, выполняют роль стабилизаторов структуры пигмент-белковых комплексов фотосинтезирующих бактерий, высших растений и водорослей. Кроме того, считается, что они повышают устойчивость микроорганизмов и водорослей к ионизирующему излучению, играют существенную роль в приспособлении к жизни в экстремальных условиях: сероводородной атмосфере, высокотемпературных источниках, концентрированных растворах солей и кислот.

3.12. ФОТОРЕГУЛЯТОРНЫЕ СИСТЕМЫ: МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ, ВИДЫ ОТВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ НА ОСВЕЩЕНИЕ

В спектре излучения Солнца преобладает оптический диапазон. В ходе эволюции растительный и животный мир «создал» системы для наилучшего использования энергии оптического излучения.

Одноклеточная зеленая водоросль хламидомонада имеет так называемый «красный глазок», который воспринимает изменения в интенсивности освещенности, и клетка либо перемещается туда, где интенсивность света оптимальна для фотосинтеза, либо остается на месте, если освещенность достаточна. Такая ответная реакция на свет называется *фототаксисом*.

Одноклеточная зеленая водоросль эвглена также имеет глазок и фоторецептор, который обнаруживает источник света и заставляет клетку плыть в направлении оптимальной освещенности, что также является проявлением фототаксиса. Движение эвглены к свету, перемещение хлоропластов к свету – примеры положительного фототаксиса; избегание света дождевыми червями, личинками мясных мух, мокрицами, тараканами – примеры отрицательного фототаксиса.

Тропизмом называется ростовое движение растений под воздействием внешнего фактора. *Фототропизм* – ростовое движение растений под воздействием света: побеги обладают положительным, а придаточные корни – отрицательным фототропизмом.

Фотонастия – это «сонные движения» некоторых цветков и листьев, когда они открываются или закрываются в ответ на изменение освещенности.

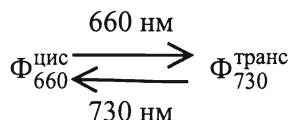
Животные также обладают фоторецепторами, реагирующими на свет. Все рецепторы животных преобразуют энергию стимула в локальный нераспространяющийся электрический сигнал, который возбуждает нервные импульсы в сенсорном нейроне. В мозге импульсы расшифровываются и используются для выработки нужной ответной реакции. Время проявления эффекта – несколько минут (задержка ответной реакции во времени.)

Особенностью фоторегуляторных систем является их высокая квантовая чувствительность, сочетающаяся с большой эффективностью биологического действия. Это обусловлено триггерным принципом действия систем фоторегуляции: свет служит только сигналом, запускающим сложную цепь последовательных биохимических изменений, приводящих в конечном итоге к определенному фотобиологическому эффекту (см. подробнее в 3.13).

Пигменты-сенситизаторы большинства фоторегуляторных процессов до сих пор не идентифицированы за исключением фитохрома, универсально распространенного среди растительных организмов. Фитохром – это хромопротеин, хромофором которого является линейный тетрапиррол (или билитриен). От взаимодействия хромофора и белковой части пигмента зависит фотообратимость и наличие двух взаимопревращающихся форм. Одна из

форм имеет длинноволновый максимум поглощения при $\lambda = 660$ нм, другая – при $\lambda = 730$ нм.

При фотоконверсии фитохрома происходит цистрансизомеризация пигмента:



При переносе энергии электронного возбуждения с триплетного уровня триптофановых оснований в белке на синглетный возбужденный уровень билитриена протекают процессы индуктивно-резонансной миграции энергии. Деактивация синглетного возбужденного состояния фитохрома преимущественно происходит по фотохимическому пути в фотореакции изомеризации. Образованная при этом форма Φ_{730} может взаимодействовать с регуляторными и сигнальными молекулами.

Изучение действия фитохрома и некоторых фоторецепторов фоторегуляторных реакций позволяет обобщить схему работы фоторегуляторных систем. Молекула «фитохрома» (введем такой условный термин) образует комплекс с ферментом (фитохром – протеин). Молекула фитохрома, поглощая квант света, претерпевает фотохимическую реакцию, например цистрансизомеризации, приводящую к изменению пространственной конфигурации фитохрома, что отражается на характере взаимодействия фитохрома с ферментом. Таким образом, общим свойством фитохромов является их способность изменять активность фермента за счет непосредственного пространственно-структурного взаимодействия с его активным или аллостерическим центром.

В фототропических реакциях основными рецепторами являются флавиновые хромофоры. Они сенсбилизируют фотоокисление ауксина – гормона роста растений. Фототропические реакции имеют высокий квантовый выход ($\approx 0,7$) и высокую квантовую чувствительность: заметные изгибы растений наблюдаются при плотности энергии синего света около 10^{-3} Дж/м².

С помощью фототаксиса микроорганизмы регулируют уровень своей освещенности путем перемещения в области оптимального освещения для максимальной скорости фотосинтеза при минимальном повреждающем действии света. Для фототаксиса необходимо перемещение клетки параллельно световым лучам. При этом для детектирования направления распространения света используется

анизотропия поглощения света фоторецептором, вероятно, флавиновым пигментом. Оценка плотности потока энергии, необходимой для фототаксического ответа эвглены, дает значение приблизительно $1,7 \cdot 10^{-14}$ Дж/(м² · с), число фотонов, необходимое для возбуждения фоторезистора равно семи. Скорость движения клетки оказывается пропорциональной числу поглощенных фотонов.

3.13. ЗРЕНИЕ КАК РЕАКЦИЯ НА ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА

Зрительное восприятие электромагнитного излучения. Глаз человека реагирует на электромагнитные колебания с длиной волны $\lambda = 400 \dots 760$ нм. Наибольшую чувствительность глаз имеет к длине волны $\lambda = 555$ нм для дневного зрения, что соответствует максимуму солнечного излучения, попавшего на земную поверхность. Для сумеречного зрения максимум чувствительности глаза приходится на длину волны $\lambda = 510$ нм. При сумеречном зрении плохо различаются цвета, и излучение воспринимается как голубовато-серое.

Говоря о зрительном восприятии электромагнитного излучения, необходимо постоянно помнить, что с ним связано само понятие «видимый спектр», которое является по своей сути биологическим. Как мы знаем из курса общей физики, благодаря наличию видимого спектра все фотометрические величины, т. е. величины, характеризующие перенос энергии электромагнитными волнами, подразделяются на энергетические и светотехнические. У них даже размерности разные, поскольку для светотехнических, т. е. привязанных к видимому спектру величин, введена самостоятельная единица – кандела (кд) и связанные с ней люмены (лм) и люксы (лк).

Связь между энергетическими и световыми величинами устанавливается через спектральную световую эффективность (иначе называемую кривой видности $K_\lambda(\lambda)$), определяемую как производную:

$$K_\lambda(\lambda) = \frac{d\Phi}{d\Phi_e} \quad (3.7)$$

В (3.7) кривая видности вводится на основании сравнения энергетического и светотехнического потоков Φ и Φ_e . Поскольку все

остальные энергетические величины, характеризующие перенос энергии электромагнитными волнами, могут быть сопоставлены аналогичным образом, такое определение $K_\lambda(\lambda)$ не ограничивает общности. Смысл кривой видности в том, что одинаковые по значению монохроматические потоки излучения разных длин волн вызывают различное зрительное ощущение и воспринимаются как разные цвета. Для практических оценок обычно пользуются не абсолютной кривой $K_\lambda(\lambda)$, а относительной $V(\lambda)$, определяемой как отношение:

$$V(\lambda) = \frac{K_\lambda(\lambda)}{K_{\max}}$$

где K_{\max} – значение $K_\lambda(\lambda)$ в максимуме зрительного ощущения. Это значение смещается при возрастании освещенности сетчатки (или яркости наблюдаемых предметов) в сторону длинных волн. Однако это смещение носит ограниченный характер: если яркость E наблюдаемых объектов не превосходит 10^3 кд/м², то длина волны $\lambda(K_{\max})$, соответствующая максимуму кривой видности, с точностью до справедливости модели усредненного глаза составляет приблизительно 510 нм (сумеречное зрение). Если же яркость возрастает до $10^4 \dots 10^5$ кд/м², что соответствует предметам, диффузно отражающим прямой солнечный свет, то длина волны $\lambda(K_{\max})$ смещается приблизительно до 555 нм, но дальше не двигается вплоть до яркостей, нарушающих нормальное зрительное ощущение. Это явление ограниченного смещения максимума спектральной чувствительности глаза при переходе от сумеречного ($E \leq 10^3$ кд/м²) к дневному ($E \sim 10^4 \dots 10^5$ кд/м²) освещению носит название эффекта Пуркинье. Эффект Пуркинье вполне удовлетворительно объясняется особенностями строения чувствительных элементов сетчатки (см. далее). Без ограничения общности запишем выражение для потока, позволяющее связать введенные фотометрические величины с их спектральными плотностями:

$$\Phi = \alpha_\phi \int_{VS} V(\lambda) \varphi_e(\lambda) d\lambda,$$

где интеграл берется по всему видимому спектру; α_ϕ – коэффициент пересчета световых величин в энергетические, составляю-

щий для $\lambda_{\max} = 555$ нм (случай дневного освещения) 625 лм/Вт; $\varphi_e(\lambda)$ – спектральная плотность потока, а световая эффективность в этом случае равна

$$K_\lambda(\lambda) = \alpha_\phi \frac{\int V(\lambda) \varphi_e(\lambda) d\lambda}{\int_0^\infty \varphi_e(\lambda) d\lambda}.$$

Область зрительного восприятия для усредненного глаза, описываемая кривой видности (зависимость $V(\lambda)$), не обрывается резко на границах. При $\lambda = 400$ нм $V(\lambda) \sim 1/2500$, при $\lambda = 760$ нм $V(\lambda) \sim 1/20000$ (для дневного зрения). В условиях сумеречного зрения имеет место подъем «хвостов» кривой $V(\lambda)$ (значение $V(\lambda)$ при $\lambda = 400$ нм в случае дневного зрения достигается при 300 нм в случае сумеречного зрения, а граница $\lambda = 760$ нм в случае дневного зрения «съезжает» до 950 нм в случае сумеречного зрения). Однако этот подъем принципиального значения не имеет. Границы видимого диапазона имеют глубокий биофизический смысл. В процессе эволюции глаз высших позвоночных и человека идеально приспособился к восприятию дневного и сумеречного освещения. На видимый спектр приходится около 40 % энергии солнечного излучения, хотя объективно это весьма узкий интервал (менее 1 октавы). Вблизи поверхности Земли солнечный спектр обрывается на 280 нм (более короткие длины волн задерживаются слоем озона). Таким образом, восприятие длин волн короче 300 нм было бы нецелесообразно как с чисто физической точки зрения (их почти не пропускает атмосфера), так и с биологической (излучение с длинами волн короче 300 нм вызывает фотохимические реакции, нарушающие естественные метаболические процессы, причем тем сильнее, чем короче длина волны).

Казалось бы, мы сталкиваемся с противоречием: сам факт регистрации света органом зрения есть цепь фотохимических реакций, однако эти реакции обратимы, а от реакций, вызываемых более жестким излучением и носящих необратимый характер, необходима защита. Поэтому максимум чувствительности сетчатки глаза (см. ниже) лежит вблизи границы видимого диапазона (380 нм), но поглощение в хрусталике смещает общий максимум кривой видности в зеленую область. Таким образом, передние отделы глаза обеспе-

чивают должную защиту от нежелательных фотохимических реакций, вызываемых УФ-излучением с $\lambda < 380$ нм, но не препятствуют желательным. Медицинская практика свидетельствует о помутнении хрусталика при длительном облучении жестким УФ-излучением (защитные возможности хрусталика не беспредельны), а в случае удаления помутневшего хрусталика происходит заметный сдвиг кривой видности в коротковолновую область: пациент воспринимает все объекты как бы в голубом тумане (если только рецепторы глаза продолжают функционировать).

Длинноволновая граница видимого диапазона характеризуется на порядок меньшим значением $V(\lambda)$, чем коротковолновая. Это не случайно. Высокая чувствительность глаза к ИК-излучению была бы не только нецелесообразна, но вообще не дала бы возможности ничего видеть при солнечном освещении. Причина – в собственном тепловом излучении глаза. При низкой температуре глаза ($T \sim 310$ К) все его тепловое излучение приходится на ИК-область. Оценим по закону Стефана – Больцмана интегральную плотность мощности (энергетическую светимость глаза как источника теплового излучения), излучаемую внутрь глаза: $R_3 \approx \sigma_{С-Б} T^4 \sim \sim 0,105 \text{ Вт/см}^2$, здесь $\sigma_{С-Б}$ – постоянная Стефана – Больцмана. Общая поверхность усредненного глаза составляет около 17 см^2 , поэтому полная излучаемая внутрь глаза мощность (лучистый поток) составляет приблизительно 1,7 Вт.

Оценим теперь мощность прямого солнечного излучения, падающего в глаз через зрачок. Солнечная постоянная, т. е. поток, падающий на единицу поверхности Земли перпендикулярно направлению на Солнце (усредненный), составляет приблизительно $0,139 \text{ Вт/см}^2$. При радиусе зрачка $r = 2$ мм (оценка завышена) имеем $\Phi_{\text{солн}} = 0,139 \pi r^2 \approx 0,017 \text{ Вт}$. Это в 100 раз меньше собственного теплового излучения глаза. Таким образом, если бы глаз в ИК-области был столь же чувствителен, как и в видимой, то собственное тепловое излучение забило бы даже прямой солнечный свет. Это биологический аспект резкого спада чувствительности глаза в инфракрасной области. Интересно, что при всей тривиальности приведенной оценки она впервые была проделана относительно недавно С.И. Вавиловым.

Другая причина низкой чувствительности глаза в ИК-области – чисто физическая: процесс регистрации электромагнитного излу-

чения органом зрения есть цепочка реакций, вызываемых отдельными квантами. Если энергия кванта ниже некоторого порогового значения, то инициировать эту цепь реакций он не в состоянии (аналогично красной границе фотоэффекта).

Строение глаза. Глаз млекопитающих – орган чувств, состоящий из большого числа рецепторных клеток (палочек и колбочек), сенсорных нейронов, образующих зрительный нерв, и сложной системы вспомогательных приспособлений (рис. 3.22) [30].

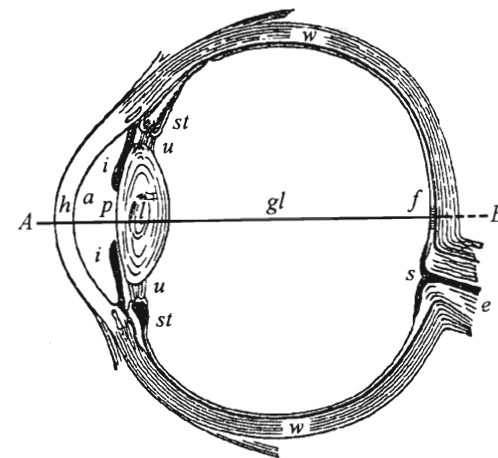


Рис. 3.22. Схематическое строение глаза (обозначения по Гульстранду)

Глаз окружен плотной непрозрачной оболочкой ww – склерой. Через заднюю стенку склеры проходят кровеносные сосуды и глазной нерв e . Передняя часть склеры переходит в прозрачную роговицу h , более выпуклую, чем склера. Толщина склеры от 0,4 до 1,1 мм, роговицы – 0,5 мм. Проведем оптическую ось глаза AB . Двигаясь внутрь глаза по направлению от роговицы h , попадем сначала в переднюю глазную камеру a , затем в хрусталик l и заднюю глазную камеру gl . Эти части вместе с роговицей составляют оптическую систему глаза, дающую изображения всех предметов. Толщины передней глазной камеры и хрусталика примерно одинаковы (3,6 мм). Передняя глазная камера заполнена жидкостью, задняя – студнеобразным веществом (стекловидное тело). Показатели преломления как жидкости, так и стекловидного тела близки к физраствору – 1,336. Показатель преломления роговицы – 1,376. Внутренняя поверхность склеры покрыта сосудистой

оболочкой. Спереди она переходит в утолщенную часть *st* с кольцевидной ресничной мышцей *mi* и радужной оболочкой *ii*, окраска которой индивидуальна. Посредине радужки имеется зрачок *p*, играющий роль апертурной диафрагмы. Изображение этого фактического отверстия, даваемое расположенными перед ним роговицей и передней камерой, играет роль входного зрачка оптической системы, а изображение, даваемое хрусталиком и стекловидным телом, – выходного зрачка оптической системы. Для практических оценок можно считать, что оба эти изображения совпадают с действительным зрачком. В зависимости от яркости наблюдаемых объектов диаметр зрачка может меняться за счет усилий мышцы *mi* в пределах от 2 до 8 мм и таким образом регулировать световой поток, попадающий в глаз.

Сетчатка глаза имеет весьма сложное строение (рис. 3.23). Она состоит из нескольких слоев нервных клеток различного типа и назначения. Все они решают задачу преобразования оптического изображения в нейральное, т. е. в специальный набор нервных импульсов. В последнем слое находятся рецепторные клетки – палочки и колбочки. На выходе палочек и колбочек возникают электрические импульсы, передающиеся в мозг. Длина палочек составляет 0,05...0,08 мм, колбочек – 0,035 мм. Размер палочек 50×30 мкм. Общее число палочек в сетчатке около 130 млн, колбочек – 7 млн. Периферия сетчатки заполнена практически только палочками. По мере приближения к желтому пятну концентрация колбочек возрастает, и в пределах центральной ямки (в круге диаметром около 0,2 мм) палочек нет, там только колбочки. Желтым пятно называется потому, что при изучении глаза через щелевую лампу это пятно на белом фоне сетчатки видится как желтое. В месте входа глазного нерва нет ни палочек, ни колбочек. Это место называется слепым пятном.

Поле зрения, соответствующее желтому пятну, невелико (6° по горизонтали, 4° по вертикали). Центральная ямка составляет около 1° по горизонтали и вертикали. Глаз обладает способностью быстро поворачиваться в глазной впадине, сканируя всю видимую поверхность большого предмета. Поэтому поле ясного зрения соответствует примерно 150° по горизонтали и 120° по вертикали. Вместе с тем подвижность глаза позволяет концентрировать внимание на наиболее важных деталях изображения.

Палочки обладают большей, по сравнению с колбочками, светочувствительностью и реагируют на слабое освещение. Палочка способна генерировать зрительный сигнал в ответ на поглощение

одного кванта света. При освещенности менее 10^{-2} лк зрительное ощущение вызывается только палочками. Они содержат один зрительный пигмент и не способны различать цвета, поэтому используются преимущественно в ночном зрении [43].

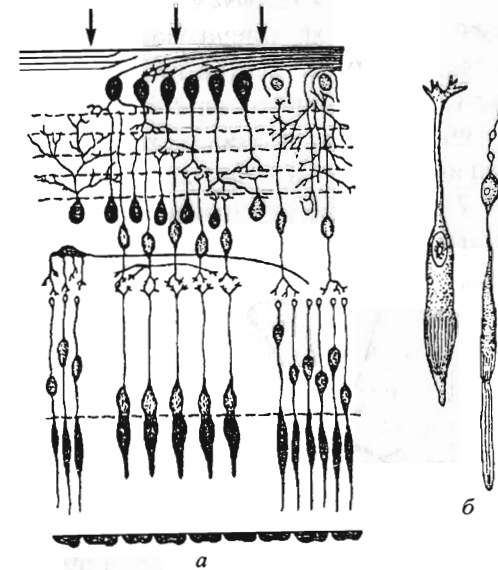


Рис. 3.23. Схема сетчатки:

а — упаковка палочек и колбочек в сетчатке;
б — внешний вид колбочки (слева) и палочки

На наружном сегменте палочки световая энергия преобразуется в рецепторный потенциал (рис. 3.24). Наружный сегмент полностью состоит из мембран. В палочках число мембранных дисков достигает 600–1000. От внутреннего сегмента через синаптический участок ряд структур ведет к зрительному нерву.

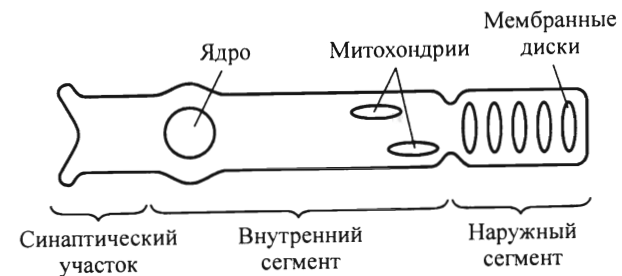


Рис. 3.24. Схематичное изображение палочки

Колбочки содержат три зрительных пигмента, что обеспечивает восприятие цвета. Колбочки используются главным образом при дневном освещении. Цветное зрение начинается с освещенностей порядка 1 лк. При освещенности более $10^2 \dots 10^3$ лк зрение обеспечивается в основном колбочками. Существует три разновидности колбочек, которые характеризуются различными кривыми поглощения зрительных пигментов (иодопсина). На рис. 3.25 представлены кривые поглощения зрительных пигментов для приматов. Эти кривые имеют большое сходство с кривыми поглощения зрительных пигментов человека. Максимумы кривых приходятся на 447 нм (сине-фиолетовый свет), 540 нм (зеленый свет), 577 нм (желтый свет).

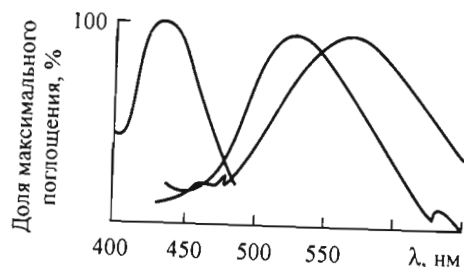


Рис. 3.25. Кривые поглощения зрительных пигментов для приматов

Палочковое (периферическое) зрение отличается меньшей остротой, так как палочки расположены менее плотно, равномерно по всей сетчатке, кроме центральной ямки, где сосредоточены в основном колбочки, дающие остроту зрения своей плотной упаковкой. Детали предмета различаются наиболее отчетливо, когда изображение получается на желтом пятне и в особенности на центральной ямке (фовеальное зрение). Периферическое зрение, напротив, имеет место при расположении изображения вдали от центральной ямки. Глаз воспринимает раздельно две близко расположенные светящиеся точки только при условии, что угловое расстояние $\delta\vartheta$ между этими точками не меньше определенного предела, называемого предельным разрешаемым угловым расстоянием, а обратная ему величина называется разрешающей способностью, или просто остротой зрения. Нормальная острота зрения соответствует разрешению одной угловой минуты. Острота зрения максимальна, если изображение попадает на центральную ямку. В самом деле, для разрешения необходимо, чтобы изображения соседних точек приходились на разные колбочки, поскольку мозг однозначно реагирует на раздражение каждой колбочки.

Палочковое же зрение устроено так, что с одним волокном зрительного нерва соединено много палочек, поэтому оно увеличивает чувствительность глаза в условиях слабой освещенности. В связи с этим в центральной ямке, где можно пренебречь наличием палочек, разрешение максимально. Угловое расстояние $\delta\vartheta$ равно углу, под которым видно из задней узловой точки глаза среднее расстояние δx между двумя соседними колбочками на центральной ямке, т. е. $\delta\vartheta \approx \delta x/f$, где f – переднее фокусное расстояние глаза. Для глаза $\delta x \approx 0,0025$ мм (2,5 мкм), $f \approx 15$ мм (в среднем по Гульстранду), отсюда $\delta\vartheta \approx 30''$.

Учитывая изложенное, можно дать объяснение эффекту Пуркинье. При малых яркостях свет воспринимается только палочками, при возрастании яркости все больше включаются колбочки. Одновременно при росте яркости L уменьшается зрачок, и изображение все больше концентрируется в области желтого пятна и центральной ямки. При $L > 10^5$ кд/м² изображение сосредоточено в области центральной ямки, и в дальнейшем какие-либо изменения в восприятии отсутствуют (по крайней мере до тех пор, пока не нарушится нормальный ход реакций, связанных с работой колбочек).

Зрительная адаптация. Светочувствительностью глаза называют величину, обратную пороговой яркости, т. е. минимальной яркости, вызывающей зрительное ощущение в данных условиях наблюдения. Она изменяется в широких пределах (от 10^{-7} до 10^5 кд/м², т. е. от 10^{-17} до 10^{-5} Вт) благодаря зрительной адаптации – способности глаза приспосабливаться к различному уровню яркости.

При понижении яркости происходит темновая адаптация, при повышении – световая. Темновая адаптация протекает значительно медленнее, чем световая. Механизм адаптации выяснен только частично.

Адаптация осуществляется следующими способами:

- изменением диаметра зрачка в пределах от 2 до 8 мм, что меняет световой поток в 16 раз за счет изменения площади изображения на сетчатке;
- изменением количества светочувствительных элементов, участвующих в образовании нервного импульса, например объединением светочувствительных элементов в один канал;
- экранированием колбочек и палочек темным пигментом;

- изменением концентрации светочувствительных пигментов, которые под действием света частично разлагаются, а затем восстанавливаются. При этом происходит изменение чувствительности самих рецепторов (главным образом, палочек).

Установлено, что чувствительность палочек обусловлена в основном наличием светочувствительного пигмента родопсина (зрительный пурпур, представляющий собой половину молекулы β -каротина), разлагающегося на свету и вновь восстанавливающегося в темноте. Таким образом, чувствительность палочек меняется в зависимости от концентрации восстановленного родопсина. Спектральная кривая поглощения родопсина близка к сумеречной кривой видности. По всей вероятности, темновая адаптация (изменение чувствительности при падении яркости объекта от 10^3 кд/м² до темноты примерно в 10^7 раз) полностью обусловлена изменением концентрации родопсина в палочках. Ряд соображений говорит в пользу того, что подобный пигмент должен присутствовать и в колбочках (иодопсин), однако в свободном виде, подобно родопсину, его выделить пока не удалось. Чувствительность колбочек меняется в значительно меньших пределах (приблизительно в 10^2 раз). Кроме того, все больше фактов свидетельствуют о том, что изменение чувствительности рецепторов не объясняет полностью адаптацию глаза в связи с тем, что динамика изменения концентрации родопсина не совпадает с динамикой собственно адаптации. В частности, наибольшее изменение чувствительности глаза приходится на сравнительно малый начальный отрезок времени, когда изменение концентрации родопсина еще незначительно. Напротив, в последующий длительный период, когда концентрация родопсина меняется сильно, изменение чувствительности незначительно. Этот эффект не нашел пока удовлетворительного объяснения.

Нижний предел (абсолютный порог) чувствительности глаза при полной темновой адаптации составляет около 100 фотон/с. Из них только 10 % поглощаются молекулами зрительного пигмента в палочках сетчатки, остальные отражаются от роговицы, поглощаются оптическими средами глаза или пигментным эпителием.

Механизм фоторецепции палочек. Механизм фоторецепции колбочек почти не изучен, поэтому мы остановимся на механизме фоторецепции палочек. Палочки содержат светочувствительный пигмент родопсин, находящийся на наружной поверхности мембранных дисков. Мембранные диски представляют собой двухслой-

ные мембраны. Электрические оси молекул родопсина в них ориентированы хаотически. Родопсин представляет собой сложную молекулу, формирующуюся в результате обратимого связывания липопротеина скотопсина с молекулой каротиноида ретиналя. Диаметр молекулы родопсина около 4 нм, объем – примерно $0,75 \cdot 10^{-19}$ см³. Молекулярная масса – около 40 000. Ретиналь поглощает свет. Он представляет собой альдегидную форму витамина А. В зависимости от освещения ретиналь может существовать в виде двух изомеров: 11-цисретиналь и полностью трансретиналь.

Предполагается, что механизм фоторецепции включает два процесса: превращение 11-цисретиналя в трансретиналь (фотоизомеризация) под действием кванта света и расщепление родопсина через ряд промежуточных продуктов на ретиналь и скотопсин (выцветание).

Цикл цистрансизомеризации является обязательной частью любой известной фоторецепторной системы. Время жизни молекулы ретиналя в возбужденном состоянии 10^{-9} с; время, необходимое для поворота связи, $10^{-11} \dots 10^{-12}$ с, что намного меньше, чем в растворах, ввиду специфического белкового окружения ретиналя. Квантовый выход реакции изомеризации 11-цис \rightarrow полностью транс составляет 0,5 – 0,7.

За изомеризацией хромофора следует изменение структуры липопротеина – опсина. Конформационное изменение опсина приводит в конечном итоге к возникновению нервного импульса. При этом родопсин переходит с междисковой гидрофильной поверхности во внутреннюю гидрофобную фазу мембраны. В результате происходит увеличение проницаемости мембраны для ионов K^+ и уменьшается для Na^+ . Поглощение одного кванта света приводит к закрытию 100–300 натриевых каналов. Если в состоянии покоя разность потенциалов между протоплазмой палочки и наружной средой –40 мВ, то освещение вызывает гиперполяризацию клеточной мембраны до –80 мВ. Это и приводит к возникновению потенциалов, вызывающих нервный импульс. Особенностью наружных сегментов палочек является то, что в темноте потенциал имеет натриевую природу, а под действием света – калиевую. Поэтому в отличие от других известных клеток на цитоплазматической мембране наружных сегментов палочек потенциал имеет внутри знак «+», а снаружи – знак «–». При этом процесс формирования сигнала в палоч-

ках под действием света является обратным процессу формирования нервного импульса, например в нервных клетках.

После прекращения действия света родопсин тотчас же ресинтезируется. Вначале полностью трансретиналь при участии фермента ретиналь-изомеразы превращается в 11-цисретиналь, а затем последний соединяется со скотопсином. Этот процесс лежит в основе темновой адаптации. В полной темноте требуется около 30 мин, чтобы все палочки адаптировались и глаза приобрели максимальную чувствительность.

Рассмотрим процесс регистрации света в смысле преобразования определенной порции энергии в электрический импульс, передающийся затем по нервному волокну в мозг.

Вообще молекула родопсина имеет сложную разветвленную структуру, но внутри диска ввиду плотной упаковки ее можно представлять себе в виде шарика. Полагая, что прохождение света сквозь слой молекул родопсина описывается законом Бугера – Ламберта – Бера: $I = I_0 \cdot e^{-\sigma n l}$ (см. 3.1), можно оценить натуральный показатель поглощения $\alpha_n = n\sigma$ при условии, что фотон поглощается одним из атомов в молекуле родопсина с поперечником 10^{-8} см и $\sigma \approx 10^{-16}$ см; концентрация $n = 10^{19}$ см⁻³ соответствует плотной упаковке шариков диаметром около $5 \cdot 10^{-7}$ см. Таким образом, натуральный показатель поглощения $\alpha_n = n\sigma = 10^3$ см⁻¹, и поглощение происходит в слое толщиной около 10 мкм.

Заметим также, что при малой толщине дисков дипольные моменты молекул родопсина всегда оказываются перпендикулярны направлению распространения света, что наиболее благоприятно для максимальной эффективности взаимодействия падающего излучения с какой-либо молекулой, поскольку электрический вектор в волне лежит в одной плоскости с дипольным моментом молекулы. При этом, вследствие того, что ориентация дипольных моментов молекул родопсина случайна, глаз должен примерно вдвое слабее реагировать на плоскополяризованный свет, чем на естественно-поляризованный.

Количество дисков во внешнем сегменте палочки велико (размер активной зоны составляет около 40 мкм, поэтому поглощение фотона гарантировано). Если принять толщину диска 0,025 мкм, то при плотной упаковке дисков имеем около $1,6 \cdot 10^3$ дисков с

толщиной мембран $10^3 \cdot 0,0005 = 0,5$ мкм. В таком слое должно поглотиться примерно 99 % интенсивности падающего света. Итак, фотон с вероятностью, близкой к 1, поглощается фоточувствительным ферментом палочки. Но отсюда еще не следует, что нервное волокно почувствует соответствующий импульс. Ведь энергия одного фотона зеленого света $h\nu = 1,24/0,5 = 2,5$ эВ, достаточная для возбуждения одного атома в молекуле родопсина с молекулярной массой $M \sim 40\,000$, сама по себе ничтожна для того, чтобы влиять на состояние молекулы в целом и тем более на мембранный потенциал диска (в одном диске около 10^6 молекул родопсина). Тем не менее при поглощении фотона мембранный потенциал палочки меняется на 40 мВ, т. е. дело обстоит так, как если бы один поглощенный фотон вызывал появление $10^6 - 10^7$ ионов. Здесь явно действует спусковой механизм, работа которого была изучена и описана только в последнее время (рис. 3.26), [42].

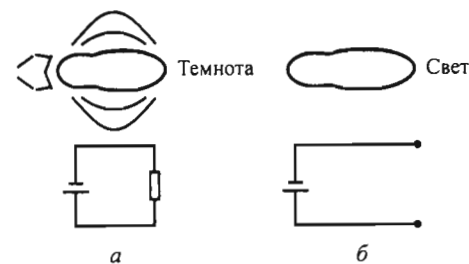


Рис. 3.26. Схема работы спускового механизма палочки: а – в темноте идет ионный ток, цепь замкнута; б – на свету мембранные каналы закрываются, цепь размыкается, ионный ток практически прекращается, потенциал возрастает и формируется нервный импульс

В мембране внешнего сегмента палочки имеются каналы, по которым ионы Na^+ могут переноситься внутрь. Внутренний сегмент не имеет натриевых каналов, поэтому потенциал мембраны в темноте равен потенциалу покоя. В темноте каналы внешнего сегмента открыты, идет ионный ток и мембранный потенциал повышается (в стационарном темновом состоянии он составляет примерно -40 мВ) (см. рис. 3.26, а). На свету возбуждение молекулы родопсина запускает реакцию выделения медиатора (ряд процессов, важнейшую роль в которых играет белок трансдуцин: родопсин → трансдуцин → фосфодиэстераза → гидролиз циклогуанинмонофосфата (цГМФ)). Гидролиз цГМФ фосфодиэстеразой приводит

к закрыванию натриевых каналов внешней мембраны. В результате ток ионов Na^+ падает, потенциал внутренней мембраны понижается до -80 мВ (см. рис. 3.26, б). Характерное время реакции приблизительно 1 мс.

Итак, поглощение фотона молекулой родопсина само по себе всего лишь активирует один атом в молекуле. Но активированная молекула родопсина запускает каскад процессов, благодаря которым происходит гиперполяризация внутреннего сегмента палочки и выработка миллисекундного нервного импульса. Этот механизм, связанный с закрытием мембранных натриевых каналов во внешнем сегменте палочки, был впервые исследован Е.Е. Фесенко с сотрудниками в 1985–86 гг. [42] и подтвержден экспериментами с использованием электронной микроскопии, электронного парамагнитного резонанса, рентгенографии и эффекта Мессбауэра (гамма-резонансной спектроскопии).

Заметим, что гиперполяризованная палочка, характеризующаяся избытком внутриклеточного медиатора, приходит в нечувствительное состояние, поскольку родопсин в ходе каскадных превращений, вызывающих гиперполяризацию, распадается на фрагменты. Следовательно, чем больше света поглощено, тем больше молекул изначально активизировано и тем вероятнее остановка реакций в итоге распада активизированных молекул. Когда процесс распада родопсина остановится, выделение внутриклеточного медиатора тоже прекратится. Это вызовет открытие каналов и возобновление транспорта Na^+ . Как только транспорт возобновится, причина, вызывающая распад родопсина, ликвидируется. При этом количество молекул родопсина в одном диске будет полностью соответствовать количеству распавшихся молекул на одну активированную.

Палочка теряет полностью чувствительность при поглощении порядка 10^3 фотонов (количество дисков). Таким образом, различие интенсивности света, поглощенного палочками, достигает 10^3 – 10^4 раз с временем запаздывания порядка 10^{-3} с при общем количестве палочек около 130 млн. Общее же количество нервных волокон, связанных с палочками, – порядка 10 млн (примерно такое же, как и для колбочек).

В настоящее время активно исследуются процессы регистрации света колбочками, для которых аналогами родопсина являются иодопсин и цианопсин. Процессы в колбочках изучены пока недостаточно даже для того, чтобы построить аналогичную палочкам самосогласованную модель. Тем не менее установлено, что максимумы поглощения родопсина и остальных опсинов распре-

делены по всему видимому спектру (500, 522, 562, 620 нм). Отсутствие хотя бы одного из опсинов вызывает искажение воспринимаемого спектра (дальтонизм). Зрение человека характеризуется наибольшими из всех млекопитающих динамическим и спектральным диапазонами.

3.14. СВОЙСТВА ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Законы излучения. Длина волны инфракрасного излучения лежит в границах от 0,76 мкм до 1 мм. Самый мощный источник теплового ИК-излучения – Солнце. Около 50 % его излучения находится в ИК-области спектра. Все нагретые жидкие и твердые тела испускают непрерывный ИК-спектр [35].

С одной стороны, при взаимодействии с веществом ИК-излучение вызывает колебания ионов. С другой стороны, существует тепловое ИК-излучение, испускаемое веществом и возникающее за счет его внутренней энергии. Оно находится в термодинамическом равновесии с веществом. Равновесное излучение изотропно, т. е. оно не поляризовано и все направления его распространения равновероятны.

Благодаря требованию термодинамического равновесия тепловое излучение противопоставляется всем прочим видам электромагнитного излучения. Оно присуще всем нагретым телам, имеющим отличную от абсолютного нуля температуру. Излучаемая при этом энергия характеризуется распределением по частотам или длинам волн. Человеческий организм представляет собой пример тела, излучающего, с одной стороны, в полном соответствии с классическими законами теплового излучения, с другой – не требующего специальных источников энергии для осуществления теплового равновесия. В этом плане (чисто тепловом) организм человека и млекопитающих является уникальным объектом, температура которого практически не меняется при изменении окружающих условий.

Энергетической светимостью тела (интегральной испускательной способностью, интегральной плотностью мощности) называется физическая величина R_3 , численно равная энергии электромагнитных волн \mathcal{E} всевозможных частот (или длин волн) от 0 до ∞ , излучаемых за единицу времени с единицы площади поверхности тела:

$$R_3 = \int_0^{\infty} r_{\lambda} d\lambda = \int_0^{\infty} r_{\nu} d\nu,$$

где $r_\lambda = \frac{d\mathcal{E}}{d\lambda}$; $r_\nu = \frac{d\mathcal{E}}{d\nu}$ – испускательная способность.

Испускательная способность r_λ – это спектральная плотность потока лучистой энергии, излучаемого с единицы площади поверхности тела. Но поток энергии с единицы площади является энергетической светимостью тела, следовательно, испускательная способность – это спектральная плотность энергетической светимости тела. Введенная таким образом испускательная способность r_λ не зависит от того, находится данное тело в равновесии с излучением или нет. Иногда требуется исследовать зависимость испускательной способности не от длины волны, а от частоты ν . В этом случае r_ν рассматривают как величину, приходящуюся не на единицу длины волны, а на единицу частоты. Имея в виду, что $|r_\lambda d\lambda| = |r_\nu d\nu|$ (дифференциальный поток), а также выражая

$$d\nu = -\frac{c}{\lambda^2} d\lambda,$$

запишем соотношение

$$\frac{\lambda^2}{c} |r_\lambda| = |r_\nu|, \quad (3.8)$$

полезное для перехода от частоты к длине волны при записи формул, описывающих законы теплового излучения.

Поглощательной способностью тела (монохроматическим коэффициентом поглощения) называется безразмерная величина a_ν , показывающая, какая доля энергии электромагнитных волн с частотами от ν до $\nu + d\nu$, падающих на поверхность тела, поглощается им:

$$a_\nu = \frac{d\mathcal{E}_\text{п}}{d\mathcal{E}_\text{пад}} \leq 1.$$

Поглощательная способность зависит от частоты, температуры, химического состава тела и состояния его поверхности.

Абсолютно черным телом (АЧТ) называют тело, которое полностью поглощает все падающее на него излучение независимо от направления падающего излучения, его спектрального состава и поляризации, ничего не отражая и не пропуская: $a_\nu = 1$. Примером абсолютно черного тела может служить ротовая полость, ушное отверстие, глаз и др.

Серым телом называется тело, поглощающая способность которого меньше единицы и не зависит от частоты (длины волны) света, направления его распространения и поляризации. Для реальных тел испускательная способность r_λ всегда меньше, чем испускательная способность r_λ^* абсолютно черного тела при той же температуре. Спектральным коэффициентом излучения для данного тела (коэффициентом серости) называется отношение

$$\tilde{\epsilon} = \frac{r_\lambda}{r_\lambda^*},$$

которое можно также рассчитать по формуле

$$\tilde{\epsilon} = \frac{1}{\sigma_{\text{С-Б}} T^4} \int_0^\infty a_\lambda r_\lambda d\lambda,$$

где $\sigma_{\text{С-Б}} \approx 5,67 \cdot 10^{-8} \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К}^4)$ – постоянная Стефана – Больцмана.

Большинство тел при $T = 290 \dots 330 \text{ К}$ можно считать серыми. Для ИК-области спектра тело человека является серым с коэффициентом $\tilde{\epsilon} \approx 0,9$, поэтому его можно с достаточной степенью точности считать черным независимо от цвета кожи.

Вопросу о связи между излучательной и поглощательной способностями давно уделялось пристальное внимание со стороны исследователей. Длительные экспериментальные и теоретические изыскания привели к термодинамическому толкованию этой связи в форме закона Кирхгофа: отношение испускательной способности тела к его поглощательной способности не зависит от природы тела и равно испускательной способности абсолютно черного тела r_ν при тех же значениях температуры и частоты:

$$\frac{r_\nu}{a_\nu} = r_\nu^*; \quad \frac{r_\lambda}{a_\lambda} = r_\lambda^*; \quad r_\lambda^* = \frac{c}{\lambda^2} r_\nu^*.$$

Абсолютно черное тело при прочих равных условиях является наиболее интенсивным источником теплового излучения.

Кирхгоф сформулировал этот закон в форме теоремы, доказанной им на основе термодинамических соображений. Теорема Кирхгофа, отражающая фундаментальное свойство теплового излучения, не позволяет установить точный вид функции $r_\lambda^*(\lambda, T)$, а

для практических целей это совершенно необходимо. Дальнейшие исследования (В. Вин, 1893) позволили установить, что функция $r_\lambda^*(\lambda, T)$ может быть представлена в виде

$$r_\lambda^*(\lambda, T) = v^3 F(v/T), \quad (3.9)$$

где $F(v/T)$ – неопределенная функция отношения частоты к температуре. Общие соображения термодинамики не позволяют определить функцию точнее, для конкретизации вида функции $F(v/T)$ необходимы предположения о механизме испускания света.

В соответствии с определением величина r_λ имеет размерность $\text{Вт} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{мкм}^{-1}$, т. е. размерность спектральной плотности потока излучения, испускаемого с единицы площади. Установим связь между испускательной способностью r_λ и спектральной плотностью энергии U_λ равновесного излучения. Пусть имеется некоторая замкнутая полость, заполненная электромагнитным излучением со средней спектральной плотностью энергии U_λ (размерность этой величины $\text{Дж} \cdot \text{м}^{-3} \cdot \text{мкм}^{-1}$). Выделим на внутренней поверхности, окружающей данную полость, площадку $\delta S = 1$ (рис. 3.27). В направлении θ и φ в пределах телесного угла $d\Omega = \sin\theta d\theta d\varphi$ распространяется доля $d\Omega/(4\pi)$ всей энергии, заполняющей полость. Поток энергии, проходящей через единицу площадки в единицу времени,

$$(d\Phi)_{\delta S} = cU_\lambda \frac{d\Omega}{4\pi} \cos\theta. \quad (3.10)$$

Интегрируя (3.10) в пределах от 0 до 2π по φ и от 0 до $\pi/2$ по θ , получим полный поток энергии, проходящей через единицу площадки δS :

$$(d\Phi)_{\delta S} = \frac{1}{4\pi} cU_\lambda \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^{\pi/2} \cos\theta \sin\theta d\theta = \frac{1}{4} cU_\lambda.$$

Полагая, что тело, окружающее полость, является абсолютно черным ($a_\lambda \equiv 1$), можно приравнять эту величину к дифференциальному потоку, испускаемому этой площадкой:

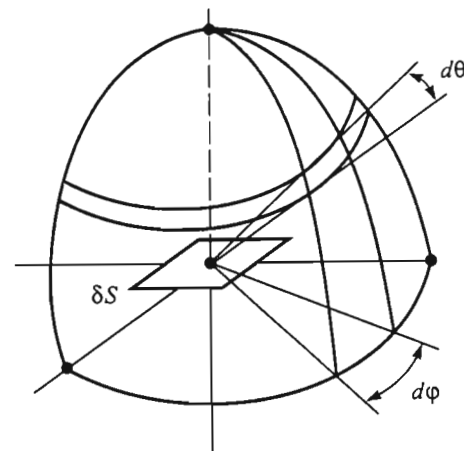


Рис. 3.27. К выводу формулы (3.11)

$$r_\lambda = \frac{1}{4} cU_\lambda. \quad (3.11)$$

Соотношение (3.11) позволяет вычислить r_λ или r_ν , опираясь на модель взаимодействия с внешним полем осциллятора среды.

В дальнейшем удобно перейти к записи спектральной плотности излучения не через λ , а через ν , используя формулу

$$U_\lambda = \frac{c}{\lambda^2} U_\nu,$$

аналогично соотношению между r_λ и r_ν в (3.8).

Осциллятор среды, находясь во внешнем поле со спектральной плотностью энергии U_ν , поглощает мощность, определяемую выражением

$$P_{\text{п}} = \frac{\pi q^2}{3 m} U_\nu. \quad (3.12)$$

Здесь q – заряд; m – масса колеблющейся заряженной частицы (осциллятор, напомним, рассматривается как электрический диполь с моментом $p = ql$, l – размер диполя). В то же время как всякий ускоренно движущийся заряд, осциллятор излучает по всем направлениям мощность:

$$P_{\text{изл}} = \frac{2}{3} \frac{\omega^2 q^2}{mc^3} \langle \mathcal{E} \rangle = \frac{2}{3} \frac{4\pi^2 v^2 q^2}{mc^3} \langle \mathcal{E} \rangle, \quad (3.13)$$

где $\langle \mathcal{E} \rangle$ – средняя энергия, приходящаяся на одну колебательную степень свободы осциллятора. Приравнивая (3.12) и (3.13), получим выражение для спектральной плотности энергии:

$$U_\nu = \frac{8\pi}{c^3} v^2 \langle \mathcal{E} \rangle.$$

Используя (3.11), запишем:

$$r_\nu = \frac{2\pi}{c^2} v^2 \langle \mathcal{E} \rangle. \quad (3.14)$$

Формула (3.14), опирающаяся на закон Кирхгофа и классические соотношения для осциллятора, взаимодействующего с внешним полем, не подлежит сомнению с точки зрения самых общих принципов термодинамики и электродинамики. Не менее общий характер носит формула

$$\langle \mathcal{E} \rangle = k_B T, \quad (3.15)$$

где k_B – постоянная Больцмана.

Эта формула является следствием принципа равнораспределения энергии по степеням свободы в состоянии термодинамического равновесия. Объединяя (3.14) и (3.15), получаем классическую формулу Рэлея – Джинса:

$$r_\nu^* = \frac{2\pi v^2}{c^2} k_B T. \quad (3.16)$$

Очевидно, (3.16) удовлетворяет виду выражения (3.9), в чем нетрудно убедиться, положив

$$F(\nu/T) = \frac{2\pi k_B}{c^2} \frac{T}{\nu}.$$

В такую запись неопределенной функции входят универсальные константы – постоянная Больцмана k_B и скорость света c . Используя соотношение (3.8), получим выражение формулы Рэлея – Джинса через r_λ :

$$r_\lambda = \frac{2\pi c}{\lambda^4} k_B T. \quad (3.17)$$

Формула Рэлея – Джинса согласуется с экспериментом только при достаточно больших значениях произведения λT : если $\lambda T > 7,8 \cdot 10^5$ мкм · К, то (3.17) дает расхождение с экспериментом не более 1 %. В частности, если принять $T \approx 306$ К (средняя температура поверхности тела человека), то (3.17) дает ошибку не более 1 % только при $\lambda > 2500$ мкм. При $\lambda \rightarrow 0$ $r_\lambda \rightarrow \infty$ при любой температуре, а интеграл

$$R_\nu = \int_0^\infty r_\lambda d\lambda$$

расходится, хотя бесконечная светимость при конечных размерах тела не имеет физического смысла. Это расхождение между экспериментом и классически безупречной теорией, приводящей к формуле Рэлея – Джинса, получило название ультрафиолетовой катастрофы. Все попытки объяснить это расхождение не имели успеха, пока не появилась гипотеза Планка о том, что энергия осциллятора не может принимать произвольные значения, а всегда кратна некоторой определенной минимальной величине (кванту). Наиболее изящно применил эту гипотезу А. Эйнштейн, идеи которого мы и последуем при выводе формулы для r_λ (r_ν).

Очевидно, что, приняв гипотезу Планка, мы не вправе подставлять в формулу (3.14) уравнение (3.15), поскольку нельзя исходить из равнораспределения энергии по степеням свободы. В самом деле, если энергия излучается и поглощается квантами, то это означает, что для осцилляторов среды существуют дискретные уровни энергии. Возвращаясь к равновесной полости, заполненной излучением при температуре T , обозначим энергию верхнего выделенного уровня \mathcal{E}_m , нижнего – \mathcal{E}_n , тогда энергия перехода $\mathcal{E}_m - \mathcal{E}_n = h\nu_{mn}$ (h – постоянная Планка, $h = 6,6256 \cdot 10^{-34}$ Вт · с²). В системе вещество – излучение (рис. 3.28) возможны следующие процессы.

1. $\frac{dN_m}{dt} = A_{mn} N_m$ – спонтанное излучение с вероятностью перехода A_{mn} с уровня с номером m на уровень с номером n ($m \rightarrow n$) в

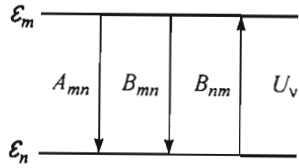


Рис. 3.28. К выводу формулы Планка по Эйнштейну

называется вынужденным, поскольку оно происходит под действием поля: если $U_v = 0$, то и поглощения нет. В равновесном состоянии населенности уровней определяются по закону Больцмана:

$$N_m = N_0 e^{-\varepsilon_m / k_B T}; \quad N_n = N_0 e^{-\varepsilon_n / k_B T}.$$

Поскольку $\varepsilon_m > \varepsilon_n$, то $N_m < N_n$. Поэтому при наличии только 1-го и 2-го процессов термодинамическое равновесие в системе вещество – излучение невозможно. Эйнштейн предположил наличие 3-го процесса – вынужденного излучения.

3. $\frac{dN'_m}{dt} = B_{mn} N_m U_v$ – вынужденное излучение с соответствующей вероятностью перехода B_{mn} . В термодинамическом равновесии должно выполняться соотношение $dN_m + dN'_m = dN_n$. Тогда из уравнения баланса $A_{mn} N_m + B_{mn} N_m U_v = B_{nm} N_n U_v$ получим

$$U_v = \frac{A_{mn} N_m}{B_{nm} N_n - B_{mn} N_m}.$$

Подставляя в это выражение N_m и N_n с учетом закона Больцмана, запишем

$$U_v = \frac{A_{mn} e^{-\varepsilon_m / k_B T}}{B_{nm} e^{-\varepsilon_n / k_B T} - B_{mn} e^{-\varepsilon_m / k_B T}}.$$

Требуя, чтобы $U_v \rightarrow 0$ при $T \rightarrow \infty$, получаем $B_{nm} = B_{mn}$, поскольку в противном случае выполнить это требование невозможно. Тогда выражение для U_v принимает вид

единицу времени с появлением кванта $h\nu$, дающего вклад в спектральную плотность энергии U_v поля.

2. $\frac{dN_n}{dt} = B_{nm} N_n U_v$ – вынужденное

поглощение $n \rightarrow m$ с вероятностью перехода B_{nm} в единицу времени с исчезновением кванта $h\nu$. Поглощение $n \rightarrow m$

$$U_v = \frac{A_{mn} / B_{mn}}{e^{(\varepsilon_m - \varepsilon_n) / k_B T} - 1} = \frac{A_{mn} / B_{mn}}{e^{h\nu / k_B T} - 1}. \quad (3.18)$$

Применим принцип соответствия: при $h\nu \ll k_B T$ формула (3.18) должна превращаться в формулу Рэлея – Джинса, а также удовлетворять формуле Вина. Последнее возможно только в случае, если $A_{mn} / B_{mn} = \alpha \nu^3$ ($\alpha = \text{const}$).

Константа α находится из условия соответствия формуле Рэлея – Джинса при $h\nu / k_B T \ll 1$:

$$U_v = \frac{8\pi\nu^2}{c^3} k_B T = \frac{\alpha \nu^3}{h\nu / k_B T} = \frac{\alpha}{h} \nu^2 k_B T.$$

Отсюда $\alpha = 8\pi\rho / c^3$ и, окончательно,

$$U_v = \frac{8\pi\nu^2}{c^3} \frac{h\nu}{e^{h\nu / k_B T} - 1}; \quad (3.19)$$

$$r_\nu^* = \frac{2\pi\nu^2}{c^2} \frac{h\nu}{e^{h\nu / k_B T} - 1}. \quad (3.20)$$

Выражения (3.19) и (3.20) являются формами записи формулы Планка. Для удобства запишем ее для r_λ , используя (3.8):

$$r_\lambda = \frac{2\pi c^2}{\lambda^5} \frac{h}{e^{hc / \lambda k_B T} - 1}. \quad (3.21)$$

Формула Планка обнаруживает полное соответствие с экспериментом, нарушающееся только при отличии реального тела от абсолютно черного. Вид зависимости $r_\lambda(\lambda)$ при различных температурах T показан на рис. 3.29.

Формула Планка превращается, как и положено, в формулу Рэлея – Джинса при $hc / \lambda k_B T \ll 1$, если разложить $e^{hc / \lambda k_B T}$ в ряд. Если же выполнено обратное соотношение: $hc / \lambda k_B T \gg 1$, то единицей в знаменателе (3.21) можно пренебречь, и в итоге получаем формулу Вина, также найденную до Планка как полумпирическую:

$$r_\lambda(\lambda T \ll 1) \approx \frac{2\pi c^2}{\lambda^5} \exp\left(-\frac{hc}{\lambda k_B T}\right). \quad (3.22)$$

Формула Вина дает точность не ниже 1 % при $\lambda T < 3 \cdot 10^3$ мкм · К. При $T = 306$ К она справедлива, если $\lambda < 10$ мкм.

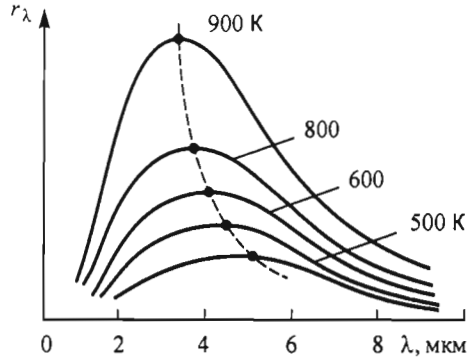


Рис. 3.29. Положение максимума испускательной способности абсолютно черного тела при различных температурах

Дифференцируя формулу Планка и приравнявая производную к нулю, получим условие для нахождения положения максимума кривой:

$$\frac{dr_\lambda}{d\lambda} = \frac{2\pi hc^2}{\lambda^6 (e^{hc/\lambda k_B T} - 1)^2} \left[\frac{hc}{\lambda k_B T} e^{hc/\lambda k_B T} - 5(e^{hc/\lambda k_B T} - 1) \right] = 0.$$

Обозначая $x_{\max} = \frac{hc}{\lambda_{\max} k_B T}$, получим трансцендентное уравнение относительно x_{\max} :

$$e^{x_{\max}} = \frac{5}{5 - x_{\max}}.$$

Правая часть имеет вертикальную асимптоту при $x_{\max} = 5$, левая часть быстро возрастает. При $x_{\max} = 5$ имеем $e^{x_{\max}} > 10^2$. Поэтому с точностью не ниже 1 % можно принять $x_{\max} \approx 5$, т. е. для λ_{\max} получаем

$$\frac{hc}{\lambda_{\max} k_B T} = 5 \quad \text{или} \quad \lambda_{\max} T = \frac{hc}{5k}. \quad (3.23)$$

Выражение (3.23) обычно записывается в виде

$$\lambda_{\max} = b/T, \quad (3.24)$$

где $b = 2,9 \cdot 10^{-3}$ м · К – постоянная Вина, и называется законом смещения Вина, подчеркивая тот факт, что при росте температуры T максимум кривой Планка смещается в сторону коротких волн (на рис. 3.29 это смещение показано пунктиром). Для уже упоминавшейся температуры $T = 306$ К максимум r_λ приходится на длину волны $\lambda_{\max} \approx 9,47$ мкм. На рисунке видно, что абсолютно черное тело почти не излучает в области очень малых и очень больших частот.

Интегрирование распределения Планка дает интегральную испускательную способность, при вычислении которой удобнее пользоваться r_ν , а не r_λ :

$$\begin{aligned} R_3 &= \int_0^\infty \frac{2\pi\nu^2}{c^2} \frac{h\nu}{e^{h\nu/k_B T} - 1} d\nu = \left(x = \frac{h\nu}{k_B T} \right) = \\ &= \int_0^\infty 2\pi h \frac{(k_B T)^3}{h^3 c^2} \frac{k_B T}{h} \frac{x^3}{e^x - 1} dx = \\ &= (k_B T)^4 \frac{2\pi}{h^3 c^2} \int_0^\infty \frac{x^3 dx}{e^x - 1} = (k_B T)^4 \frac{2\pi}{h^3 c^2} \frac{\pi^4}{15}. \end{aligned}$$

Выделяя T^4 , приходим к закону Стефана – Больцмана:

$$R_3 = \sigma_{C-B} T^4, \quad (3.25)$$

где $\sigma_{C-B} = \frac{2\pi^5 k_B^4}{15c^2 h^3} \approx 5,67 \cdot 10^{-8}$ Вт/(м² · К⁴) – постоянная Стефана – Больцмана.

Приведем некоторые значения максимальных длин волн ИК-излучения различных объектов:

- $\lambda_{\max} \approx 8...14$ мкм (атмосфера);
- $\lambda_{\max} \approx 9,5$ мкм (человек);
- $\lambda_{\max} = 470$ нм (Солнце на границе земной атмосферы). Такая длина волны соответствует температуре поверхности Солнца 6100°C ;
- $\lambda_{\max} = 555$ нм (поверхность Земли при наивысшем стоянии Солнца).

Тепловая рецепция и терморегуляция. Если какой-то сигнал вызывает изменение в активности или поведении животных, он называется стимулом (раздражителем). Специальные органы или клетки, воспринимающие стимулы, называются рецепторами. Животные воспринимают стимулы в виде одного из видов энергии: электромагнитной, механической, тепловой, химической. Структуры, которые преобразуют энергию раздражителя в электрические сигналы, возникающие в аксоне, называются преобразователями, и в этом смысле рецепторы действуют как биологические преобразователи [43].

В дерме имеются два типа рецепторов, которые обычно считают ответственными за температурную чувствительность. Полагают, что на тепло реагируют тельца Руффини, а на холод – колбочки Краузе. Однако главными температурными рецепторами кожи скорее всего являются многочисленные свободные нервные окончания в эпидермисе и дерме [43].

Главным источником тепла для всех живых существ служит солнечная энергия. Температура является показателем количества тепловой энергии в системе и основным фактором, определяющим скорость химических реакций как в живых, так и в неживых системах. В живых системах температура влияет на структуру ферментов, которая в свою очередь влияет на интенсивность обмена.

Кроме непосредственного получения тепла из внешней среды, животные получают тепло из химических субстратов, подвергшихся расщеплению в клетках. Птицы и млекопитающие способны поддерживать достаточно постоянную температуру тела независимо от окружающей температуры. Они относительно мало зависят от внешних источников тепла, так как благодаря высокой интенсивности обмена у них вырабатывается достаточное количество тепла, которое может сохраняться.

Когда говорят о температуре животного, обычно имеют в виду температуру внутренних областей тела, т. е. тканей, лежащих глубже 2,5 см под поверхностью кожи.

Температура различных участков тела может сильно изменяться в зависимости от их локализации и от наружной температуры. В основном, чем дальше от верхнего края таза, тем меньше температура участка тела.

Теплообмен организма с окружающей средой, тепловой баланс, система терморегуляции. Способы теплообмена между организмом и окружающей средой включают излучение, конвекцию, теплопроводность и испарение [35, 43]. С помощью первых трех способов тепло может передаваться в любом направлении в зависимости от температурного градиента, при четвертом способе организм может только терять тепло. Коротко охарактеризуем эти способы теплообмена.

Излучение – перенос теплоты в виде электромагнитных волн ИК-части спектра. У человека на излучение приходится около 50 % общей теплоотдачи.

Конвекция – передача теплоты от организма окружающей среде через воздух. Скорость передачи теплоты этим способом зависит от скорости движения воздуха около поверхности тела. Она может быть снижена за счет материалов, покрывающих кожу (волосы, одежда, а у птиц и млекопитающих перья, мех). В условиях умеренного климата конвекция составляет 15...20 % теплоотдачи.

Теплопроводность – передача теплоты при физическом контакте между телами (организм – земля и др.).

Испарение – потеря теплоты с поверхности тела в процессе превращения воды в водяной пар. Испарение идет через кожу и в легких с выдыхаемым воздухом.

Скорость теплоотдачи зависит от разности температур между внутренними областями тела и его поверхностью и между кожей и окружающей средой; от скорости образования тепла и от внешней температуры. Факторами, ограничивающими теплоотдачу, являются: скорость кровотока в коже, потоотделение и испарение через кожу.

Тепловой баланс любого тела определяется соотношением между теплом, которое оно получает, и теплом, которое оно отдает. У теплокровных животных равенство прихода и расхода тепла всегда сохраняется. Система терморегуляции включает рецепторы, эффекторы и регуляторный центр в гипоталамусе. Эффектор – это дифференцированная структура (клетка, ткань, орган или система органов), осуществляющая специфическую реакцию в ответ на стимулы, поступающие из нервной системы. Центр в гипоталамусе следит за температурой крови, отражающей температуру тех

органов, через которые она протекает. Он также получает через терморепцепторы информацию о температуре окружающей среды.

Тепловой баланс каждого участка тела поддерживается путем терморегуляции за счет генерации тепла вследствие метаболизма; обмена теплом с соседними участками тела из-за термодиффузии; конвективного теплообмена посредством кровотока, т. е. за счет притока и оттока тепла с кровью.

Вычислим теплопотери человека в результате ИК-излучения. Для этого сделаем два допущения: излучающие тела (кожа человека, ткань одежды) примем за серые; применим закон Стефана – Больцмана к неравновесному излучению, каковым является излучение тела человека.

Пусть раздетый человек, поверхность тела которого имеет температуру T_1 , находится в комнате с температурой воздуха T_0 . Тогда, согласно закону Стефана – Больцмана, мощность излучения человека со всей открытой поверхности тела площади S составит $P_1 = S\tilde{\epsilon}\sigma_{C-B}T_1^4$, где $\tilde{\epsilon}$ – коэффициент серости тела. Одновременно человек поглощает часть излучения, падающего от предметов комнаты, стен, потолка и т. д. Если бы поверхность тела человека имела температуру, равную температуре воздуха в комнате, то мощности излучения и поглощения были бы одинаковы и равны $P_0 = S\tilde{\epsilon}\sigma_{C-B}T_0^4$. Такая же мощность будет поглощаться телом человека и при других температурах поверхности тела, следовательно, мощность излучения, теряемая человеком при взаимодействии с окружающей средой,

$$P_{\Sigma} = P_1 - P_0 = S\tilde{\epsilon}\sigma_{C-B}(T_1^4 - T_0^4). \quad (3.26)$$

Если необходимо посчитать мощность, излучаемую в некоторый угол Ω , то формула (3.26) примет вид

$$P_{\Sigma}(\Omega) = S\tilde{\epsilon}\sigma_{C-B}(T_1^4 - T_0^4)(\Omega/2\pi).$$

При температуре окружающей среды 18°C ($T_0 = 291\text{ K}$) раздетый человек, температура кожи которого 33°C ($T_1 = 306\text{ K}$), теряет в 1 с вследствие излучения с площади $1,5\text{ м}^2$ энергию 122 Дж, а в хлопчатобумажной одежде, температура поверхности которой 24°C ($T_1 = 297\text{ K}$), – 37 Дж.

Воздействие высоких температур на биоткани. При излишнем нагревании биоткани могут происходить денатурация, коагуляция белка, деструкция биоткани (табл. 3.1).

Денатурация белка заключается в утрате трехмерной конформации данной молекулы, однако аминокислотная последовательность при этом сохраняется. Молекула белка теряет способность выполнять свою обычную биофункцию. При дальнейшем повышении температуры кинетическая энергия, сообщаемая белку, вызывает сильную вибрацию его атомов, вследствие чего слабые водородные и ионные связи разрываются. Белок свертывается (коагулирует). Воздействие высоких температур может привести к деструкции биоткани.

Таблица 3.1

Температура, °C	Эффект на биоткани
37	Нет необратимых повреждений
40–45	Активация ферментов, образование отеков, изменение мембран и, в зависимости от времени воздействия, смерть клеток
60	Денатурация протеина, начало коагуляции и некрозы
80	Денатурация коллагена, дефекты мембраны
100	Обезвоживание
150 и более	Обугливание
300 и более	Выпаривание, газообразование \Rightarrow разрезание тканей

Такие тепловые биологические эффекты при нагревании биоткани применяют в медицине при гипертермии и в лазерной хирургии (в основном, испарение (резание) и коагуляция биоткани). Для этого используют различные лазеры с плотностью мощности от 1 до 10^7 Вт/см^2 и с продолжительностью облучения от 10^{-3} до нескольких секунд. В зависимости от оптических свойств биоткани необходимые температуры в ткани на применяемой длине волны могут быть достигнуты при различных уровнях мощности излучения и длительностях облучения. Так, например, при кратковременном нагревании (1 с) до 70°C биоткань разрушается точно так же, как при нагревании в течение 10 с до 58°C .

Преобразование энергии оптического излучения, в том числе и лазерного, в теплоту может произойти, если она поглощается спе-

цифическими хромофорами ткани, причем необязательно хромофорами пигментов (например, для CO₂-лазера с $\lambda = 10,6$ мкм таким хромофором является вода). Плотность потока энергии источника теплоты $q(\mathbf{r}, t)$ (Вт/м³) в облучаемом объеме ткани является функцией коэффициента поглощения \tilde{k} и общей плотности потока энергии облучения $L'(\mathbf{r}, t)$, которая состоит из непосредственно падающей части коллимированного лазерного пучка ($L'_c(\mathbf{r}, t)$) и из доли $L'_s(\mathbf{r}, t)$, привходящей при рассеянии из окружающей ткани:

$$q(\mathbf{r}, t) = \tilde{k} [L'_c(\mathbf{r}, t) + L'_s(\mathbf{r}, t)],$$

где \mathbf{r} – радиус-вектор точки наблюдения; t – время. Превращенная в теплоту энергия приводит к локальному повышению температуры; если при этом нет фазовых переходов, то температура растет пропорционально плотности потока энергии источника $q(\mathbf{r}, t)$. Часть теплоты отводится за счет теплопроводности и локальным кровотоком в более холодный участок. Из-за этого ограничивается максимально достижимая температура при данной интенсивности излучения. Кроме того, для каждой ткани существует специфический порог интенсивности, который необходим для достижения определенной температуры.

Тепловой поток в тканях

$$\frac{d\tilde{Q}}{dt} = \frac{\gamma S(T_1 - T_2)}{l},$$

где γ – коэффициент пропорциональности, в зависимости от содержания воды $\gamma \approx 0,3 \dots 0,5$: $\gamma = \left(0,06 + 0,57 \frac{\omega}{\rho} \right)$ Вт/(м·К), ω – содержание воды в ткани, кг/м³, ρ – плотность ткани, кг/м³; $T_1 > T_2$; l – длина образца с поперечным сечением S . Способность ткани накапливать теплоту описывается через удельную теплоемкость $C = \left(1,55 + 2,8 \frac{\omega}{\rho} \right)$ кДж/(кг·К). В табл. 3.2 даны значения коэффициента пропорциональности γ при нормальных условиях (н.у.) и теплоемкости C для различных тканей.

Общая пространственная и временная характеристики температурного распределения в облученном объеме ткани определяются уравнением теплопроводности: $\frac{dT}{dt} = \frac{q(\mathbf{r}, t)}{\rho C} + \frac{\gamma \nabla^2 T}{\rho C}$, где ∇^2 – оператор Лапласа. Для практического расчета распространения локального нагревания характерным параметром является время термической релаксации $\tau = \frac{d^2 \rho C}{\gamma}$. Если на поверхность ткани подается короткий импульс теплоты, то проходит время τ , пока на глубине $d = \sqrt{\frac{\tau \gamma}{\rho c}}$ не наступит заметное нагревание.

Таблица 3.2

Вид биоткани	Коэффициент пропорциональности γ при н.у., Вт/(м·К)	Теплоемкость C , кДж/(кг·К)
Жировая ткань	0,3	1,93
Водосодержащая	0,5	–
Вода	0,58	–
Кровь	0,62	3,22

В облучаемом объеме нельзя пренебрегать влиянием кровотока по сосудам на температурное распределение, если время облучения порядка или больше времени перфузии (время, за которое заменяется вся кровь в единице объема). Это особенно важно при непрерывном облучении.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА В ТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКЕ

В четвертой главе кратко описаны методы оптической диагностики, терапии и хирургии с использованием некогерентных излучателей и лазерных источников. Сформулированы основные положения дозиметрии в оптическом диапазоне. Уделено внимание принципам разработки оптических биоЭВМ, биосенсоров и биочипов.

4.1. ГЕЛИОТЕРАПИЯ. ИСТОЧНИКИ ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Поток солнечной радиации, приходящийся на 1 м^2 площади границы земной атмосферы, составляет 1350 Вт и называется солнечной постоянной. В июле в Москве при наивысшем стоянии Солнца поток солнечной радиации на 1 м^2 составляет 930 Вт.

Рассмотрим долевое распределение солнечного излучения: 9 % – тепловое УФ-излучение, 50 % – ИК-излучение, 41 % – видимое излучение. Коротковолновая граница солнечного излучения – 285 нм. УФ-излучение с длиной волны $\lambda < 290$ нм поглощается озоновым слоем, часть ИК-излучения – водяным паром. Максимум энергии излучения Солнца соответствует 470 нм, а на Земле – 555 нм из-за поглощения части излучения в атмосфере.

Дозированную солнечную радиацию используют как солнцелечение (гелиотерапия), а также как средство закаливания организма.

Для лечения также используют искусственные источники теплового излучения: лампы накаливания и ИК-излучатели. Наряду с тепловыми источниками ИК-излучения используют ртутные лампы высокого давления и лазеры, которые в отличие от ламп имеют линейчатый спектр. В качестве источников УФ-излучения используют электрический разряд в газах и парах металлов (Hg, H, Xe). (Такое излучение не является тепловым и имеет линейчатый

спектр. Также в качестве источников УФ-излучения используют эритемную люминесцентную лампу ЭУВ, излучающую в диапазоне 280...400 нм, загарную люминесцентную лампу ЗУВ с излучением 300...450 нм. Стекло не пропускает УФ-излучение с длиной волны $\lambda < 280$ нм; кварц – с $\lambda < 220$ нм, поэтому в УФ-лампах используется кварцевое стекло. Ксеноновые лампы высокого давления применяются для обеззараживания. Спектр, богатый УФ-излучением, дает электрическая дуга в воздухе; наиболее эффективными источниками в плане изучения фотохимических превращений являются, безусловно, УФ-лазеры.

При воздействии любого излучения на ткань начинается ее нагрев. Температура 42 °С является пограничной температурой: при этой температуре еще возможны обратимые изменения. При температуре 42...45 °С наступает гипертермия (перегрев). При 60...70 °С происходит коагуляция белка, при 100 °С – испарение воды (см. табл. 3.1). Такие изменения в биоткани при воздействии излучения необходимо учитывать в исследовательской работе и медицинской практике.

4.2. ПРИМЕНЕНИЕ ЛАЗЕРОВ В БИМЕДИЦИНЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ. ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА

Задача диагностики – достоверное извлечение информации о состоянии организма и патологических изменениях в нем. С этой точки зрения любое воздействие извне нежелательно, поскольку оно так или иначе искажает истинную картину происходящих в организме процессов. Однако без воздействия нет и отклика организма, который является единственным источником необходимой информации.

При диагностике низкоинтенсивные воздействия, не вызывающие необратимых изменений в организме, применяются значительно шире, чем высокоинтенсивные, после которых биоткань либо перестает существовать вообще как организованная структура, либо погибает как биоткань. Однако совсем исключать возможность применения высокоинтенсивного лазерного излучения для диагностики нецелесообразно, поскольку имеется ряд примеров весьма эффективной диагностики заболеваний по анализу продуктов разрушения биоткани высокоинтенсивным излучением, по самому характеру изменения биоткани в процессе облучения и т. п. Поэтому применение лазеров всегда должно быть привязано к

конкретной диагностической задаче и, в сущности, оно не поддается общей классификации.

В любом случае при воздействии с целью диагностики следует соблюдать условия малости энергии взаимодействия лазерного излучения с биообъектом по сравнению с запасенной в объекте энергией и максимальной локальностью. Трудность соблюдения этих условий на практике, по-видимому, является основной причиной того, что диагностические применения лазеров до сих пор составляют ничтожно малую долю от всех видов применения лазеров в медицине, хотя богатейшие возможности лазерной диагностики с самого начала не вызывали и сейчас не вызывают сомнений.

Существуют десятки различных методов определения физиологических параметров клетки и организма, основанные на флуоресцентном анализе. Они делятся на разрушающие и неразрушающие методы диагностики в биомедицине с помощью лазеров.

В основе применения лазерных методов диагностики в медицине лежит тот факт, что все органические макромолекулы (белки, НК, полисахариды), все форменные элементы крови, большинство жирных кислот и аминокислот, нуклеотидов и другие биохимические компоненты клеточных и внутриядерных субстратов обладают характерными спектрами оптического поглощения, отражения, рассеяния и люминесценции (см. 3.6). Эти спектры различны для окисленного и восстановленного состояния молекулярных компонентов, а соотношение различных форм этих компонентов и их объемная концентрация в исследуемой области определяются общей функциональной активностью различных клеточных структур и органов, в том числе и клеток крови. Это отражается на общих оптических свойствах тканей, которые могут быть зарегистрированы методами лазерного спектрального анализа, лазерной доплеровской флуометрии, фотоплетизмографии, лазерной биоспектрофотометрии и др. Лазерные методы не требуют расходных лабораторных препаратов, неинвазивны и асептичны, являются существенно более дешевыми по сравнению с рентгеновскими и томографическими исследованиями и позволяют получать результат практически в реальном масштабе времени.

В медицине люминесценция используется для диагностики важнейших физиологических процессов, большого числа заболеваний для контроля над поступлением, превращением и выводом из организма лекарств и т. д.

Одним из первых эффективных применений лазеров в биомедицине была пролетная цитометрия: лазер был применен для ускорения анализов и сепарации отдельных клеток млекопитающих за счет точных измерений их оптических свойств – характеристик

вызванной лазером флуоресценции. В пролетной цитометрии используются аргоновые лазеры и He-Cd лазер.

В конце 80-х гг. XX в. в Университете Твенте (Голландия) был применен многопараметрический подход к лазерной пролетной цитометрии, основанный на светорассеянии, иногда в сочетании с микрофлуоресценцией [58, 59]. При таком подходе одновременно измеряется ряд сигналов от отдельной клетки, например интенсивность рассеяния вперед и под углом 90° (ортогональное рассеяние), полная интенсивность ортогонального рассеяния, поляризованного параллельно поляризации падающего на образец лазерного излучения и параллельно току клеток (I_{\parallel}), и его компонента, поляризованного в плоскости, перпендикулярной плоскости поляризации падающего излучения и направлению пролета клеток (деполяризованного компонента I_{\perp}), и другие комбинации сигналов.

Такой подход позволяет довольно эффективно дифференцировать клетки крови по их морфологии. Информация о типе клеток определяется соотношением интенсивности ортогонального рассеяния и его деполяризованного компонента. Наибольшее значение коэффициента деполяризации $I_{\perp}/(I_{\perp} + I_{\parallel})$ имеют эозинофилы (0,044). Это объясняется большим количеством малых внутриклеточных частиц (гранул), которые дают многократное рассеяние, вследствие чего происходит деполяризация света.

Двухпараметрические карты интенсивности ортогонального рассеяния и рассеяния вперед показывают с хорошим разрешением области рассеяния гранулоцитами (нейтрофилы), моноцитами, лимфоцитами и эритроцитами с остатками клеток (рис. 4.1).

В Университете Твенте был построен пролетный цитометр на базе He-Ne лазера мощностью 5 мВт, одновременно регистрирующий четыре компонента рассеяния для дифференциального счета четырех типов белых клеток крови. Он дает достаточно хорошую корреляцию с обычными измерениями: 0,99 – для лимфоцитов; 0,76 – для моноцитов; 0,99 – для нейтрофилов и 0,98 – для эозинофилов, и может использоваться для экспресс-диагностики различных видов лейкемии.

Другое, не менее эффективное применение лазеров – лазерная анемометрия, т. е. измерение малых скоростей движения биологических жидкостей на основе доплеровского сдвига частоты излучения лазера.

К неразрушающим методам микроспектрального анализа биообъектов относится микрофлуориметрия отдельных живых клеток

или органелл. Пространственное разрешение метода – 0,3 мкм, временное – 0,2 нс. Он может быть полезен для флуоресцентного картирования генов, пространственного распределения флуорофоров в клетках и мембранах, для количественного аминокислотного анализа, определения концентрации свободных ионов Ca^{2+} внутри живых клеток, идентификации и изучения свойств пигментов и красителей внутри живой клетки. Например, при изучении фотоповедения одноклеточных водорослей была выявлена органелла, исполняющая роль фоторецептора, и молекула фотопигмента.

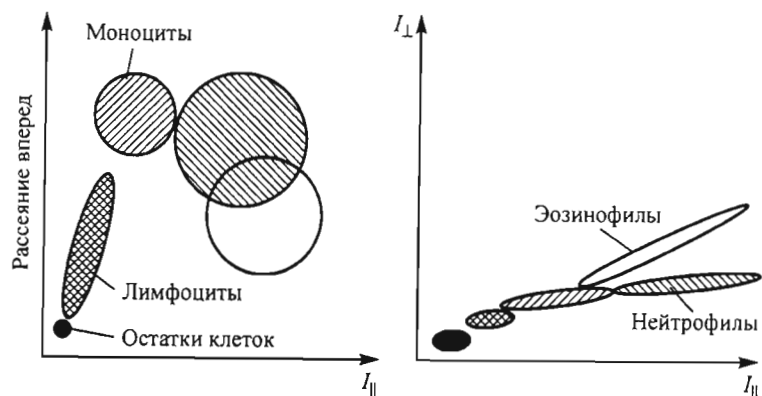


Рис. 4.1. Двухпараметрические карты интенсивности рассеяния белых клеток крови

Инструментальная база флуоресцентной микроскопии включает в себя лазер, фотоэлектронный умножитель (ФЭУ) в режиме счета фотонов, видеодетекторы, работающие при очень низких уровнях интенсивности флуоресценции [9].

Как уже обсуждалось ранее, флуоресценция может применяться при диагностике опухолевых заболеваний. При этом используется свойство некоторых красителей избирательно накапливаться в опухолевых клетках. Для диагностики выбирают фотосенсибилизатор с высоким уровнем интенсивности флуоресценции.

Флуоресцентный анализ позволяет исследовать механизм избирательного накопления красителя в раковых клетках. При этом характер флуоресценции красителя (спектры, время и характер затухания) сильно зависит от его непосредственного окружения, агрегации и комплексообразования с другими структурами.

Другим способом различия здоровых и опухолевых тканей является наблюдение существенного сдвига спектров флуоресценции тканей в синюю область по сравнению со здоровыми.

Исследование спектров собственной люминесценции живых тканей в видимой области представляет особый интерес. Во-первых, это связано с возможностью прямого визуального наблюдения свечения с выявлением его цветовых оттенков, во-вторых, спектры люминесценции в видимой области содержат ценную информацию о жизненно важных процессах, таких, как транспорт веществ через кровь (красное свечение порфиринов, входящих в состав цитохромов, гемоглобина, миоглобина и др.), клеточный метаболизм (сине-голубое свечение восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотидов – НАД·Н и НАДФ·Н – и желтое – окисленных форм флавопротеинов). Спектры люминесценции отражают состояние жизненно важных процессов на клеточном уровне (см. 3.6). Анализ отношения интенсивностей свечения в сине-голубой (455...460 нм) и желто-зеленой (530...550 нм) областях спектра исключительно информативен в части исследования клеточного дыхания. Важным преимуществом такого метода исследования является возможность его использования в любом из органов, к которому можно подвести свет, возбуждающий люминесценцию, и отвести свечение *in situ* на регистрирующий прибор. Это можно делать эндоскопически, пункционно, с помощью специального оптического катетера и т. п.

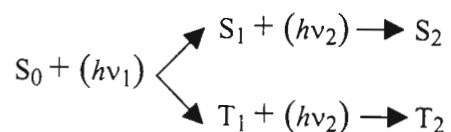
При лазерной диагностике по спектрам поглощения или флуоресценции часто используют в качестве реперных так называемые изобестические точки, т. е. длины волн, на которых интенсивность поглощения или флуоресценции молекулы при переходе из одной формы ее существования в другую не меняется. Изобестические точки в спектрах имеет также ряд флуоресцентных зондов. Например, на длинах волн 430, 586 и 850 нм поглощение света оксигемоглобином и восстановленным гемоглобином крови практически одинаково. Проводя измерения на промежуточных длинах волн в сочетании с измерениями на двух изобестических точках, можно определить процент оксигенированной крови.

4.3. СВЕТО- И ЛАЗЕРОТЕРАПИЯ. ЛАЗЕРНАЯ ХИРУРГИЯ

Однофотонные фотобиохимические процессы. Многофотонное возбуждение. В основе лазерной терапии лежит управление биохимическими процессами с помощью оптического излуче-

ния, которое возбуждает биомолекулы. Возбужденная молекула либо сама принимает участие в химической реакции, либо передает свое возбуждение другой молекуле, участвующей в химических превращениях. Различают однофотонное возбуждение (малые интенсивности света – линейная фотобиология) и многофотонное (большие интенсивности – нелинейная фотобиология), когда молекула может поглощать больше одного фотона.

Однофотонные и многофотонные переходы [51] подчиняются разным правилам отбора, поэтому они дают дополнительную по отношению друг к другу спектроскопическую информацию. При двухфотонном поглощении два фотона одновременно поглощаются, что приводит к возбуждению одной молекулы и переходу ее на верхние возбужденные уровни:



Поскольку это нелинейный процесс, сечение поглощения для него на много порядков меньше сечения однофотонного поглощения.

Двухфотонное поглощение может использоваться для зондирования возбужденных состояний, недостижимых при однофотонном возбуждении. В молекулах, обладающих центром симметрии, электронные состояния можно разделить на четные g и нечетные u . Однофотонные переходы из g в g или из u в u запрещены, однако двухфотонные переходы между этими состояниями разрешены.

При наличии мощных лазерных источников индуцируются многофотонные переходы, вероятность которых возрастает с ростом интенсивности. Таким образом, спектроскопия многофотонного поглощения позволяет изучать набор новых электронных колебательных и вращательных состояний и переходы между ними, которые нельзя наблюдать при однофотонном поглощении.

Однофотонные фотобиохимические процессы лежат в основе фототерапии и фотохимиотерапии желтухи новорожденных (избыточная билирубинемия), различных заболеваний кожи и рака.

Билирубин (БР) не является фотосенсибилизатором. Он очень фотолabile, но продукты его фотолиза не вызывают заметных негативных эффектов. Содержание билирубина в крови новорожденных намного выше, чем в крови взрослых (20 мг %* по сравне-

* 1 мг % – в 1 мг раствора (в данном случае крови) содержится 1 % сухого вещества (в данном случае билирубина).

нию с 1 мг %), так как печень младенцев не обеспечивает устранения билирубина из крови. При желтухе гемоглобин деградирует в билирубин, что приводит к поражению нервной системы. Билирубин разрушается при облучении синим светом 400...500 нм, что является основой фототерапии желтухи в роддомах.

Основными равновероятными механизмами разрушения билирубина являются:

1) фотодинамическое окисление с образованием синглетного кислорода 1O_2 : $^3BR^* + ^3O_2 \xrightarrow{h\nu} ^1BR_0 + ^1O_2$, и далее – окисление и вывод из организма;

2) фотоизомеризация БР под действием света, далее – вывод из организма.

Однофотонные процессы возможны при сравнительно низкой интенсивности света (~ 1 Вт/см²), которую можно получить от не-лазерных источников. Однако использование лазеров дает ряд преимуществ: высокая монохроматичность, пространственная когерентность, малая расходимость (узконаправленный пучок) обеспечивают возможность селективного воздействия и эффективной доставки излучения к труднодоступным тканям с помощью световодов.

Лазерная терапия применяется в дерматологии, гинекологии, стоматологии, ортопедии (в том числе при несрастающихся переломах костей и др.). В невропатологии при лечении периферической и центральной нервной системы используют лазерную рефлексотерапию (лазеропунктуру), облучая биологически активные точки, рекомендуемые при соответствующем заболевании в классической рефлексотерапии. Рассмотрим в качестве примера лечение псориаза. При лечении используют экзогенный фотосенсибилизатор псорален дозой 0,6 мг/кг массы больного и спектром биодействия 320...390 нм. Псорален назначается в виде мази, таблеток, инъекций, ванн. Источниками излучения служат ртутные ксеноновые лампы, УФ-экцимерные лазеры при локальном применении. Механизм действия псоралена сводится к трем пунктам:

- 1) димеризация ДНК и РНК;
- 2) фотодиссоциация;
- 3) образование свободных радикалов.

Для лечения трофических и долго не заживающих ран и язв применяют красное излучение ($\lambda = 632,8$ нм) He-Ne лазера. Часто терапевтический эффект красного лазерного излучения связывают с его когерентностью или высокой поляризованностью. Однако

Таблица 4.1

скорость релаксации возбужденных молекул (скорость потери когерентности) в конденсированной среде при комнатной температуре в 10^{10} раз выше, чем их скорость возбуждения при используемых интенсивностях лазерного излучения. Терапевтический эффект наблюдается и при использовании нелазерных источников. Поэтому местный лечебный эффект низкоинтенсивного излучения на длинах волн He-Ne ($\lambda = 632,8$ нм), He-Cd ($\lambda = 441,6$ нм), Ga-As ($\lambda = 830$ нм) лазеров, по-видимому, связан с регуляторным действием света этих длин волн на пролиферативную активность клетки (скорость прохождения клеточного цикла), когда свет выступает в роли триггерного регулятора клеточного метаболизма. Фотоакцепторами низкоинтенсивного монохроматического лазерного излучения в клетке являются эндогенные (внутренние) сенсibilизаторы.

Для терапии наиболее эффективными параметрами лазерного излучения считаются плотность мощности излучения $0,5$ мВт/см² и плотность энергии поглощенного излучения $0,1$ Дж/см² («терапевтический коридор» $0,1 \dots 1,0$ Дж/см²).

Многофотонное возбуждение биомолекулы можно обеспечить с помощью короткого лазерного импульса сравнительно небольшой энергии, но большой плотности мощности (до 10^9 Вт/см²). Фотохимические превращения, как правило, представляют собой одноквантовые фотохимические процессы. В условиях мощного светового лазерного возбуждения за время жизни возбужденного состояния молекула успевает поглотить второй квант. За счет исключения синглет-триплетной конверсии (см. 3.2 и рис. 3.5) двухквантовое возбуждение по сравнению с одноквантовым позволяет повысить эффективность фотохимической реакции. Высокоинтенсивное возбуждение дает более сильный цитотоксический эффект, чем низкоинтенсивное. С помощью нелинейной фототерапии достигаются значительные фотохимические эффекты при таких низких интенсивностях облучения, при которых тепловые эффекты отсутствуют.

Медицинское применение ФДТ. При проведении фотодинамической терапии опухолевых заболеваний обычно применяется концентрация производных гематопорфирина ПГП $2,5 \dots 5$ мг на 1 кг массы тела, плотность энергии облучения примерно $20 \dots 120$ Дж/см² ($\lambda = 630$ нм), время между инъекцией ПГП и облучением $1 - 5$ суток (табл. 4.1).

Основные характеристики фотосенсibilизаторов	Фотосенсibilизаторы			
	Фотофрин-2*, (США)	Фотогем*, (Россия)	Фотосенс**, (Россия)	Хлорин е6***, (Россия-Белоруссия)
Квантовый выход интерконверсии	~ 0,9	~ 0,9	~ 0,8	~ 0,8
Квантовый выход синглетного кислорода	~ 0,55	~ 0,55	~ 0,3	~ 0,5
Период выведения из здоровых тканей	10-12 дней	10-12 дней	3 ч	24 ч
Средний контраст накопления онкотканями	2 - 3	2 - 3	3 - 7	5 - 10
Необходимая концентрация для инъекции, мг/кг массы	2,5 - 5	2,5 - 5	1 - 2	1 - 1,5
Рабочая длина волны максимума поглощения, нм	625 ± 5	625 ± 5	670 ± 10	660 ± 10
Коэффициент молярной экстинкции на рабочей длине волны, моль ⁻¹ · см ⁻¹ (оценка)	$\sim 5 \cdot 10^3$	$\sim 5 \cdot 10^3$	$\sim 10^5$	$\sim 5 \cdot 10^4$
Пороговая плотность потока энергии излучения для возникновения ФДЭ, мВт/см ² (оценка)	30 - 40	~ 50	~ 5	~ 10

*Препарат применяется в клинической практике.

**Препарат разрешен к ограниченному клиническому применению.

***Препарат проходит медико-биологические испытания.

Фотодинамический эффект зависит от того, где локализуется фотосенсibilизатор (ткань органа, мембрана клетки, цитоплазма,

митохондрии, ядро). Именно это является предметом первоочередного изучения при разработке новых фотосенсибилизаторов. Очевидно, что эта проблема прямо связана с проблемой выяснения основного субстрата реакции и проблемой избирательного накопления фотосенсибилизатора в патологических тканях. Даже для наиболее распространенных фотосенсибилизаторов на основе ПГП нельзя признать проблему локализации решенной. Более того, обширные исследования привели врачей и разработчиков к убеждению, что возможности этих фотосенсибилизаторов близки к исчерпанию. Избирательность их накопления невысока (рабочая концентрация *in situ* в опухолевых тканях не более чем в 2–3 раза превышает концентрацию в здоровых тканях).

Спектральные характеристики ПГП, определяющие выбор лазерного источника, далеки от оптимальных: пять пиков поглощения в ближнем УФ- и видимом диапазонах. Самый интенсивный пик поглощения препарата фотосенсибилизатора фотогем находится в области 400 нм, т. е. там, где мягкие биоткани ввиду их существенной кровенаполненности очень плохо пропускают свет. Характерная глубина проникновения излучения здесь не превышает 1 мм, что не позволяет проводить ФДТ для более толстых слоев биоткани. Самый же длинноволновый пик поглощения, расположенный в области достаточно высокой прозрачности биотканей (625...630 нм), является настолько слабым, что в этом случае необходимо обеспечить высокий уровень интенсивности облучения (пороговое значение составляет не менее 50 мВт/см² при обеспечении выходной мощности лазера 0,5...1 Вт), а также высокую концентрацию препарата, что почти невозможно ввиду его достаточно высокой токсичности. Все это ограничивает возможности лечения достаточно широкого круга заболеваний. С перечисленными недостатками связаны чисто клинические побочные явления: повышение фоточувствительности кожи, воспаление и отек тканей, окружающих зону облучения, накопление препаратов не только в патологических тканях, но и в кроветворных и кровоочищающих органах (печень, почки, селезенка), поэтому возможности применения ФДТ существенно сужаются. Перечисленные трудности клинического характера, с одной стороны, заставили более объективно оценить возможности ФДТ, а с другой – дали мощный толчок поиску новых более эффективных фотосенсибилизаторов.

В последние годы появилось много перспективных фотосенсибилизаторов второго поколения (если считать, что первое поколе-

ние – это препараты на основе ПГП). Для них характерно наличие интенсивных пиков поглощения в красной и ближней ИК-областях спектра, причем наиболее типичные фотосенсибилизаторы имеют практически единственный пик в этом диапазоне. В ближайшие годы следует ожидать мощного потока информации, позволяющего объективно оценить их лечебные возможности. В первую очередь это относится к препаратам типа фотосенс фталоцианинового ряда и хлориновым, разработанным в России и Белоруссии.

Однако, несмотря на то что фотосенсибилизаторы второго поколения еще не вошли в широкую клиническую практику, активно разрабатываются новые фотосенсибилизаторы третьего поколения. Для них характерно не просто продвижение в ближнюю ИК-область, но и формирование интенсивных пиков поглощения в этом диапазоне, соответствующих максимальному проникновению излучения в мягкие ткани (0,8...1,1 мкм). Это, с одной стороны, обеспечивает наиболее эффективное облучение максимально возможных объемов опухоли, с другой, позволяет достигнуть максимального контраста норма – патология с оптической точки зрения, поскольку именно в этой области спектра уменьшаются паразитные засветки за счет рассеяния (существенные в красной области). В ближней ИК-области работают весьма перспективные источники лазерного и некогерентного высокомонохроматического излучения (светодиоды) и достигается максимальное отношение сигнал/шум для фотоприемных устройств дозиметрического контроля процесса облучения. Все это в принципе позволяет превратить установку для ФДТ из сложного стационарного комплекса аппаратуры в компактный и экономичный аппарат настольного типа, который можно будет применять в поликлинических и амбулаторных условиях. Примеры таких фотосенсибилизаторов активно синтезируемых и исследуемых приведены в табл. 4.1.

При ФДВ могут использоваться любые источники света, излучающие в соответствии со спектром поглощения фотосенсибилизатора и обладающие достаточной мощностью излучения. Поскольку возбуждение фотосенсибилизатора осуществляется излучением определенной длины волны, причем эффективность цитотоксической реакции возрастает с уменьшением ширины полосы поглощения фотосенсибилизатора, очевидно, что данный метод не мог получить должного развития в «долазерную эпоху», хотя само по себе фотодинамическое действие света было обнаружено еще в начале XX в.

К преимуществам использования лазеров для ФДВ относятся: узкий спектр излучения (для лазеров на красителях можно пере-

страивать длину волны); высокая выходная мощность излучения в требуемом спектральном диапазоне; возможность доставки излучения к опухоли с помощью оптических волокон без значительной потери мощности; возможность точно измерять и изменять дозу облучения. Однако He-Ne-лазеры обладают малой мощностью, а лазеры на красителях трудоемки в обслуживании, настройке и дороги.

Идеальным является случай совпадения максимума поглощения фотосенсибилизатора с максимумом спектральной плотности источника света. К сожалению, на практике это удается реализовать далеко не всегда (даже если *in vitro* желаемое совпадение достигнуто, введение препарата *in situ*, как правило, изменяет положение максимума поглощения фотосенсибилизатора малопредсказуемым образом), поэтому используется либо перестраиваемый в широком диапазоне лазер (чаще всего, лазер на красителе), либо широкополосный источник. Ламповые источники практически вышли из употребления, но в последнее время большой интерес вызывают источники на светодиодах, монохроматичность которых гораздо выше, чем ламповых, хотя и существенно ниже лазерных. На рис. 4.2 представлены характерные спектры поглощения для водных растворов фотосенсибилизаторов фотогем и фотосенс в сопоставимых концентрациях. Здесь же приведены кривые спектральной зависимости глубины проникновения электромагнитного излучения в мягкие биоткани и спектральной плотности излучения светодиода на основе GaAl_{0,35}As (МГДС-структура) от длины волны. Видно, что наиболее изученные и широко применяемые в медицинской практике препараты на основе ППП обладают спектральными характеристиками, далекими от оптимальных. Препарат фотосенс имеет основной (самый интенсивный) пик поглощения в области 660...670 нм. Это позволяет снизить пороговую плотность потока излучения примерно на порядок по сравнению с препаратом фотогем. Таким образом, открывается возможность проведения эффективной ФДТ с применением светодиодных источников, поскольку в этом диапазоне спектра работают интенсивные светодиодные излучатели (см. рис. 4.2).

Наиболее характерное значение выходной мощности такого светодиода составляет 1 мВт в непрерывном режиме при силе тока, протекающего через *p-n*-переход, 10 мА и ширине спектра на половине высоты около 60 нм. Достичь плотности потока энергии порядка 10 мВт/см² вполне возможно, если светодиодный облуча-

тель выполнен в виде матрицы и применена оптическая система, собирающая выходной пучок в пятно диаметром около 1 см. Фактором, ограничивающим применение светодиодных источников, является пока еще недостаточная эффективность согласования пучка излучения с волоконными световодами, поэтому ФДТ внутренних органов остается пока прерогативой лазерных источников.

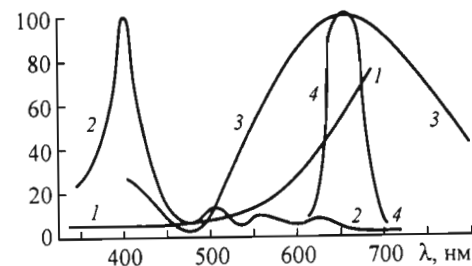


Рис. 4.2. Характерные спектры поглощения фотосенсибилизаторов фотогем, %, (2) и фотосенс, %, (3); характерная глубина проникновения электромагнитного излучения (усредненная) в мягкие биоткани, $l_a \cdot 10^{-1}$ мм, (1) и характерная спектральная плотность излучения светодиода на GaAlAs, Вт/(м² · ср), (4)

При разработке источников лазерного излучения для ФДТ необходимо учитывать следующие требования.

1. Близость (в идеале – совпадение) длины волны излучения к положению максимума поглощения фотосенсибилизатора в состоянии *in situ*. Последнее означает, что должна быть обеспечена перестройка частоты излучения в достаточно широких пределах, поскольку максимум поглощения фотосенсибилизатора в зависимости от локализации препарата в различных тканях и клетках может меняться.

2. Возможность передачи излучения через оптическое волокно с высокой эффективностью для обеспечения проведения ФДТ как для наружных патологий, так и для внутренних органов.

3. Достаточная выходная мощность излучателя для превышения порога фотодинамического действия и необходимый запас мощности для облучения больших объемов биоткани.

4. Малогабаритность, экономичность, простота управления.

Последнее требование до недавних пор не ставилось во главу угла, но с разработкой фотосенсибилизаторов второго и третьего поколений оно становится весьма актуальным. В этом плане име-

ются богатые возможности использования для ФДТ твердотельных лазеров с умеренными уровнями выходной мощности, работающих в импульсном режиме с воздушным охлаждением, и полупроводниковых лазеров, имеющих на сегодня уже вполне достаточную для ФДТ мощность.

Особый интерес представляют разработки новых средств доставки лазерного излучения к объекту фотодинамического воздействия. В аппаратуре первого поколения это были, как правило, моноволоконные световоды длиной несколько метров с диаметром сердцевины 200...800 мкм. В этом случае требуется дополнительное оборудование для облучения больших объемов биоткани и пункционного введения дистального конца световода внутрь облучаемой ткани. Проблемы, возникшие при клиническом применении лазерной аппаратуры первого поколения, привели к появлению специальных оптических катетеров для ФДТ, которые имеет смысл рассматривать как элементы лазерной аппаратуры второго поколения. Обязательной принадлежностью такого катетера является специальный оптический наконечник на дистальном конце (optical tip), формирующий заданное пространственное распределение интенсивности.

При разработке световодных систем принципиальное значение приобретает мониторинг интенсивности излучения непосредственно в сердцевине световода, поскольку обычные методы контроля вводимого в световод излучения (измерение уровня мощности на входе и выходе световода) не годятся.

В ряде работ предложены методы мониторинга интенсивности лазерного излучения, пропускаемого через световод [91]. Эти методы основаны на применении интегральной фотометрии излучения, проходящего через оболочку световода. Интегральный фотометр как бы «надевается» на световод, причем, чтобы управлять возрастом сигнала, регистрируемого фотометром, можно либо задавать изгиб световода внутри фотометрической полости, либо контролируемо повреждать оптическую оболочку. Такая методика позволяет контролировать интенсивность излучения, непосредственно проходящего через световод, и регистрировать «добавку» к нему, связанную с попаданием в световод диффузно отраженного излучения в процессе облучения биоткани. Если использовать сигнал с интегрального фотометра в качестве управляющего, то дозу облучения можно устанавливать в ходе оперативной обработки сигнала прямо во время сеанса. Безусловно, эта задача должна решаться с применением информационных технологий, поскольку при таком подходе главным элементом системы управления является ЭВМ.

Современные волоконно-оптические технологии позволяют изготавливать не только моноволоконные световоды для передачи излучения во внутренние полости, но и специальные многоволоконные оптические катетеры, позволяющие передавать оптическое изображение исследуемой области. Такой катетер может быть введен в инструментальный канал эндоскопа, а может вводиться и самостоятельно как пункция. В качестве примера приведем отечественный комплекс «Фотодин», сочетающий в себе как диагностические возможности (фоконный волоконно-оптический зонд, позволяющий передавать люминесцентный «портрет» операционного пространства, регистрируемый ПЗС-камерой и запоминаемый ЭВМ), так и терапевтические (избирательное воздействие на операционную область с использованием светомодулирующего устройства, задающего пространственное распределение интенсивности облучения в соответствии с люминесцентным «портретом»).

Управление светомодулирующим устройством с помощью ЭВМ позволяет в режиме реального времени отслеживать изменения в операционном пространстве и автоматически изменять параметры воздействия. Комплекс «Фотодин» представляет собой прототип аппаратуры для ФДТ третьего поколения, где возможен концептуальный прорыв в лечении онкологических заболеваний с применением информационных технологий. Он пока не имеет зарубежных аналогов.

Диагностика опухолей. Селективное накопление ПГП раковыми клетками позволяет по характерному красно-оранжевому свечению точно выявить границы и степень ракового поражения. Требования к фотосенсибилизатору, применяемому в терапии и диагностике, противоположны: для терапии необходимо, чтобы квантовый выход интерконверсии $\gamma_{ик}$ был близок к единице, для диагностики – наоборот, $\gamma_{ик}$ должен стремиться к нулю. Особое значение такая диагностика имеет при раковых заболеваниях мочевого пузыря и бронхов (когда нет визуального изменения тканей, а только замена здоровых клеток злокачественными).

В связи с двумя направлениями фотодинамики – диагностикой и терапией – требуется поиск двух классов фотосенсибилизаторов: диагностических (с высоким квантовым выходом флуоресценции) и терапевтических (имеющих высокий квантовый выход генерации 1O_2).

Механизмы ФДТ на сегодня еще не изучены до уровня повседневных методических рекомендаций, поэтому каждый медицин-

ский центр, где применяется ФДТ, является одновременно и научным центром. Возможности метода не ограничиваются онкологией. Имеется ряд интересных сообщений о применениях ФДТ в микробиологии, дерматологии, кардиологии и ряде других областей.

Применение ФДТ за пределами онкологии [57, 92, 93]. Большинство фотосенсибилизаторов вырабатываются из природных продуктов, связанных с производными гематопорфирина. Однако на сегодня имеется ряд новейших препаратов, полностью синтезированных и обладающих уникальными свойствами.

Так, 5-аминоливалаланиновая кислота (5-ALA), разработанная Dusa Pharmaceuticals Inc. (Канада) под названием ливалан (Levulan), оказывает особенное лечебное воздействие: она заставляет организм усиленно производить собственные фотосенсибилизаторы. В метаболизме клеток организма всегда присутствует генерация протопорфирина IX (Пп IX), который является сырьем для производства гемопротеинов (в первую очередь, гемоглобина). Обычно генерация Пп IX сбалансирована потребностями организма в гемопротеинах, но в присутствии 5-ALA Пп IX генерируется в избытке и накапливается в клетках. Введение 5-ALA в опухолевые ткани сенсibiliзирует их, заставляя производить избыточный Пп IX. Облучая затем сенсibiliзированные ткани, можно традиционным для ФДТ способом уничтожить их. В отличие от других фотосенсибилизаторов, 5-ALA изготавливается в любой форме: раствор, гель, крем и т. д. Для облучения лицевой и лобнотеменной областей применяются специальные люминесцентные лампы синего диапазона спектра (400 и 450 нм) [57].

В настоящее время в России в ФГУП ГНЦ «НИОПИК» синтезирована по оригинальной технологии стандартная субстанция 5-аминолевулиновая кислота (5-АЛК) аналогичного действия. На ее основе разработан лекарственный препарат аласенс [92].

Сегодня большие надежды связывают с двумя семействами фотосенсибилизаторов: бактериохлоринами (производные из хлорофилла, вырабатываемого бактериями) и бензофеноцианинами, являющимися полностью синтетическими препаратами. Компания Scotia Pharmaceuticals (Великобритания) разрабатывает препарат SQN400 бактериохлоринового ряда. Основным преимуществом SQN400 является наличие главного максимума поглощения на 740 нм. Фирма Ergo Science Corp. (США), позже других приступившая к разработкам фотосенсибилизаторов, специализируется на бензофеноцианинах. Эта фирма разрабатывает фотосенсибилизаторы, действие которых принципиально отличается от препаратов порфиринового семейства. Исходя из того, что препарат дол-

жен быть химически нейтральным, но при этом избирательно накапливаться в опухолевых клетках, синтезировано около 25 таких соединений. Они обладают широкой полосой поглощения в красном диапазоне и более эффективны, чем большинство порфиринов. К тому же бензофеноцианины вводятся в организм и выводятся из него гораздо быстрее (не более 24 часов), так что облучение можно проводить не позже чем через 3 часа после введения препарата. По данным предварительных исследований основным преимуществом этого типа фотосенсибилизаторов, является не собственно цитотоксическое действие препарата, а стимуляция иммунных реакций организма [57].

Одно из наиболее актуальных применений ФДТ за пределами онкологии – это лечение «мокрой» отслойки сетчатки. Заболевание заключается в разбухании кровеносных сосудов в слое ткани, подстилающем фоторецепторный слой, особенно в области желтого пятна и центральной ямки. Разбухание сосудов может привести к кровоизлияниям, что не позволяет фоторецепторным клеткам функционировать. «Мокрая» отслойка сетчатки часто приводит к слепоте в возрасте от 65 лет.

Компания Miravant и фирма Pharmacia-Upjohn (США) разработали метод лечения, названный фотопойнт (PhotoPoint). Как показали предварительные исследования, ФДТ позволяет лечить «мокрую» отслойку сетчатки гораздо эффективнее, чем традиционная лазерная коагуляция, поскольку можно выбрать такой уровень мощности лазерного излучения, при котором не повреждается фоторецепторный слой. В отличие от коагуляции, позволяющей в лучшем случае замедлить отслойку сетчатки, при ФДТ наблюдается улучшение зрения после прохождения курса лечения. Компания QLT (Канада) совместно с Ciba Vision Corp. близка к представлению разработанной методики лечения отслойки сетчатки с помощью вертепорфина (verteporfin) на рассмотрение FDA (FDA – Управление по контролю за продуктами питания и лекарствами США). Компания Pharmacyclics (США) в содружестве с Alcon Pharmaceuticals Ltd. (США) разрабатывает препарат оптрин (версия тексапирина лютеция) для лечения того же заболевания [57]. Французская фирма Novartis Ophthalmics применяет препарат вертепорфина (визудин) для лечения сосудистых патологий органов зрения.

Обнаружено, что ФДТ может оказаться весьма уместной при лечении псориаза и псориастических артритов. Потенциальное преимущество ФДТ над практикуемыми сегодня методами – в безвредности лечения. Применяемый на практике традиционный ме-

тод лечения препаратом псорален увеличивает риск заболевания раком кожи.

Кроме разработок в области онкологии и офтальмологии компания Dusa приступила к 1-й фазе клинических испытаний препарата антрин (версия тексапирина лютеция) для ФДТ окклюзий сосудов нижних конечностей, а также ведет исследования возможностей применения этой методики для лечения склеротических поражений коронарных артерий. Рецепторы, ответственные за уровень содержания липопротеинов, изменение которого и приводит к развитию склеротических бляшек, склонны к накоплению фотосенсибилизатора, растворимого в воде и имеющего максимум поглощения на длине волны 732 нм. Причина накопления – выведение препарата из рецепторов со скоростью, меньшей, чем скорость уноса его кровью [57].

Перечисленные возможности применения затрагивают только малую часть методик ФДТ, разрабатываемых в мире. Сфера применения фотосенсибилизаторов не ограничивается лечебными методиками. Как уже отмечалось, большинство фотосенсибилизаторов является люминофорами, поэтому они могут использоваться для диагностики. Так, например, в Бэкмановском лазерном институте в Ирвине (США) ведутся исследования возможностей диагностики злокачественных новообразований в ротовой полости с помощью 5-ALA. Проблема заключается в том, что белесоватые повреждения слизистой оболочки, являющиеся предраковыми образованиями, могут длительное время (в течение ряда лет) вести себя бессимптомно. Если же они переходят уже в злокачественную форму (малигнизируются), то в дальнейшем процесс резко ускоряется. Единственная возможность своевременного обнаружения малигнизации образований заключается в регулярном взятии биопсии. Использование 5-ALA в качестве диагностического теста в случае начинающейся малигнизации дает характерную розовато-красную люминесценцию патологических тканей при облучении голубовато-синим светом. Люминесцентная диагностика может сочетаться с ФДТ обнаруженных патологий [57].

Совместные исследования, проведенные учеными и практикующими врачами Института общей физики РАН, МИРЭА и Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, показали эффективность методов автофлуоресцентной и АЛК-индуцированной диагностики для дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний тканей пародонта различной степени тяжести, а также как экспресс-метода контроля за эффективностью лечения [92].

В Бернском университете (Швейцария), где также занимаются исследованиями и разработками методов ФДТ, предложено использовать ФДТ для уничтожения бактерий *Helicobacter pylori*, вызывающих язву желудка. Обнаружено, что можно уничтожить эти бактерии еще до того, как они вызовут повреждение слизистой оболочки, и тем самым предотвращать язвенную болезнь. В отличие от лечения антибиотиками преимущество данного метода лечения заключается в том, что он не способствует появлению штаммов бактерий, устойчивых к действию лекарств, поскольку практически каждый фотосенсибилизатор проникает в ядро клетки и производит генетическое воздействие, тогда как большинство антибиотиков ограничены соматическим воздействием.

Возможность перенесения средств и методов ФДТ на лечение неопухолевых заболеваний открывается также благодаря тому, что фотосенсибилизаторы избирательно поглощаются не только онкологическими, но и другими патологическими клетками. Это позволяет, например, применять облучение в случае кожных заболеваний или раневых инфекций в комбинации с фотосенсибилизаторами [93]. Причем такой метод может быть применен в полевых условиях, в условиях чрезвычайной ситуации и т. п.

Успехи ФДТ несомненны, но тем не менее существует необходимость в дальнейшем поиске и развитии методов фототерапии.

Лазерная хирургия. Особенности лазерного излучения заставляют пересмотреть классические представления о взаимодействии электромагнитного излучения с биотканями. Как уже упоминалось выше, впервые появилась возможность концентрации энергии в чрезвычайно узком спектральном (как пространственном, так и временном) диапазоне. Кроме того, никакой ранее известный источник не давал столь высококогерентного излучения, как во времени, так и в пространстве. Наконец, особенности работы лазера позволяют создавать импульсы излучения с весьма малыми длительностями (до 10^{-14} с).

Принято классифицировать воздействие высокоинтенсивного лазерного излучения на биоткань по трем параметрам: длине волны, плотности энергии или мощности и длительности воздействия. В качестве обобщенной меры воздействия используется доза облучения, определяемая как суммарная энергия излучения, поглощенная биотканью. Лечебное воздействие лазерного излучения принято подразделять на терапевтическое и хирургическое. Терапевтическим считается действие лазерного излучения, не производящее видимых необратимых изменений в тканях, а хирургиче-

ским – производящее таковые. В качестве основной характеристики воздействия рассматривается поверхностная плотность мощности падающего излучения, измеряемая в ваттах на квадратный сантиметр. Резкой границы между терапевтическим и хирургическим воздействиями обычно не проводят, обозначая ее в пределах $0,1 \dots 10 \text{ Вт/см}^2$. Нижняя граница терапевтического воздействия устанавливается около 10^{-3} Вт/см^2 , верхняя граница хирургического воздействия – около $10^7 \dots 10^8 \text{ Вт/см}^2$. Ограничения по верхней границе связаны с тем, что основной механизм хирургического воздействия – тепловой. При плотностях мощности выше 10^8 Вт/см^2 сильно проявляется фотоионизационное действие излучения, уменьшающее долю энергии, переходящей в теплоту, и приводящее к плазменному экранированию зоны облучения. Ограничения терапевтического воздействия по нижней границе в основном обусловлены возможностями отслеживания хода процессов в организме, а также сравнением с интенсивностью солнечного облучения, которое является природным «эталоном» для калибровки шкалы интенсивностей.

Размытость границы между терапевтическим и хирургическим воздействиями связана со многими причинами, и в первую очередь с многозначностью характеристик биоткани. Различные ткани и даже одинаковые, но в разном состоянии, при одной и той же плотности мощности облучения по-разному реагируют на воздействие. В одних случаях они могут скомпенсировать его, и тогда воздействие следует рассматривать как терапевтическое, в других – испытать необратимые изменения, и, следовательно, воздействие должно рассматриваться как хирургическое. Поэтому пограничная зона интенсивностей между терапией и хирургией размывается на два порядка.

Установление энергетических границ лечебного воздействия, безусловно, зависит от длины волны лазерного излучения, поскольку глубина проникновения в биоткань лазерного излучения зависит от длины волны этого излучения. Очевидно, что если предметом облучения является объект, достаточно глубоко расположенный внутри организма, то степень воздействия на него может радикально меняться с изменением длины волны. Это еще более подчеркивает условность границ лечебного воздействия.

В ближней ИК-области преобладает фототермический механизм воздействия. При переходе в УФ-область все более заметную роль играет фотохимический механизм. Граница между преобла-

данием фототермического и фотохимического действий и есть граница между «мягким» (УФ-А) и «жестким» (УФ-В) УФ-диапазонами.

В области УФ-А взаимодействие лазерного излучения с биотканями характеризуется высоким поглощением его гемоглобином крови. Поэтому глубина проникновения излучения в кровенаполненные ткани весьма мала, что в случае хирургического применения дает возможность производить прецизионные разрезы с минимальным повреждением окружающих тканей. Область УФ-А характеризуется еще и тем, что излучение этого диапазона в отличие от УФ-В и тем более УФ-С относительно слабо поглощается прозрачными средами и может передаваться через кварцевые световоды с приемлемыми потерями. Поэтому лазеры, излучающие в УФ-А (например, эксимерный лазер на XeCl^* ($\lambda = 308 \text{ нм}$)), имеют богатые перспективы применения.

Лазеры видимого диапазона обладают серьезным преимуществом над прочими благодаря возможности непосредственного визуального контроля процесса облучения. Вместе с тем, поскольку в пределах видимого диапазона прозрачность кровенаполненных тканей сильно меняется, такие лазеры применяют как в хирургии (сине-зеленая область, $480 \dots 580 \text{ нм}$), так и в терапии (красная область, $600 \dots 700 \text{ нм}$).

Ближний ИК-диапазон характеризуется наибольшей «прозрачностью» тканей ($800 \dots 900 \text{ нм}$). Глубина проникновения излучения в мягкие ткани в этой области спектра измеряется сантиметрами, а световоды, как кварцевые, так и стеклянные, обладают минимальными потерями, так что во внутренние полости организма можно передавать значительные мощности излучения (до 250 Вт). Если необходимо использовать лазеры для терапии или остановки кровотечений, этот диапазон, безусловно, наиболее благоприятен. Вместе с тем он наименее удобен для хирургии (рассечения тканей), поскольку воздействию подвергается большой объем ткани и, соответственно, для его разогрева и разрушения требуется гораздо большая энергия, чем в остальных спектральных областях.

Дальний ИК-диапазон интересен прежде всего тем, что в этой области излучает CO_2 -лазер ($\lambda = 10600 \text{ нм}$). В силу ряда преимуществ CO_2 -лазера и сильного поглощения излучения этого диапазона внутритканевой водой, установки на базе CO_2 -лазеров являются наилучшими «лазерными скальпелями», пригодными для широкого круга хирургических вмешательств.

Процесс деструкции биотканей под действием лазерного излучения можно разделить на следующие стадии:

1) денатурация белков (остановка процессов клеточного метаболизма);

2) разрушение внутренней структуры биотканей, включая разрушение мембран, истечение внутриклеточных и внутритканевых жидкостей, коагуляция биожидкостей;

3) выкипание жидкой фазы;

4) карбонизация и возгонка сухих остатков.

Из перечисленных процессов наибольшая доля энергии поглощенного биотканью лазерного излучения (90...95 %) приходится на выкипание жидкой фазы. Это означает, что при рассмотрении модели лазерной деструкции мягких биотканей можно радикально упростить физическую картину, рассматривая в основном испарение воды при постоянной температуре.

Основа хирургического воздействия – рассечение тканей. Главный вопрос лазерной хирургии – определение условий образования кратера, т. е. выброса продуктов разрушения биоткани из зоны облучения. Поскольку, как мы установили, главным механизмом взаимодействия в данном случае является тепловой, образование кратера возможно только при условии нарушения динамического равновесия между притоком и оттоком теплоты. Будем считать, что приток теплоты полностью обусловлен преобразованием в теплоту энергии лазерного излучения, а отток – действием механизма теплопроводности тканей. Для оценок лучше оперировать не теплопроводностью, а температуропроводностью тканей, поскольку через нее удобно выражается характерное время теплотеря τ . Температуропроводность биотканей и воды можно считать одинаковой, поскольку мягкие ткани на 80 % состоят из воды.

Для установления равновесия между притоком и оттоком теплоты необходимо, чтобы время воздействия t было велико по сравнению с временем теплотеря τ , что эквивалентно работе лазера в непрерывном режиме, хотя непрерывный режим при большой экстинкции ткани может быть и импульсным, если только длительность импульса велика по сравнению с τ . Если $t \gg \tau$, режим называется термодиффузионным. Пороговая плотность мощности P_E падающего излучения в термодиффузионном режиме, позволяющая разрушать облучаемую биоткань, может быть найдена из условия нарушения теплового баланса:

$$P_E \geq \rho V \chi_E \tau^{-1},$$

где ρ – плотность облучаемой ткани; V – объем области взаимодействия; τ – время теплотеря; χ_E – удельная тепловая энергия разрушения, кДж/г.

Смысл этого условия прост: за время τ в облучаемый объем «всасывается» больше энергии, чем «откачивается» за счет теплопроводности. Обычно удельная тепловая энергия находится в интервале от 1 до 10 кДж/г.

Рассмотрим противоположный случай: $t \ll \tau$. Он соответствует работе лазера в режиме коротких импульсов. Зона поражения при облучении в таком режиме в экспериментах на животных оказалась гораздо больше зоны облучения, что заставило предположить наличие следующих процессов при импульсном воздействии:

1) внутреннее парообразование, быстрое вскипание тканевой воды;

2) локальное резкое объемное расширение, возникновение скачка давления и, возможно, образование ударных волн.

Таким образом, при импульсном воздействии энергия из зоны облучения уносится, в основном, не тепловым, а механическими (звуковые и ударные волны) факторами. Это значит, что область взаимодействия должна испытать достаточно сильный перегрев относительно температуры кипения. Экспериментально измеренное значение температуры биоткани при импульсном воздействии составило 600 К. Прежде всего следует подчеркнуть принципиальное отличие режима разрушения биоткани при $t \ll \tau$ от термодиффузионного ($t \gg \tau$). В этом случае вся тепловая энергия, получившаяся в результате преобразования энергии лазерного излучения, выделяется в зоне облучения, не успев распространиться в окружающие ткани. Такой режим получил название фотоабляционного. Данное определение имеет в виду только фототермический механизм разрушения биотканей. Возможным фотохимическим действием (распад гигантских молекул на фрагменты под действием лазерного излучения без передачи энергии биоструктуре в целом) пренебрегают. Справедливость этого допущения проверялась как экспериментально, так и теоретически.

Отметим, что при использовании импульсного режима облучения возможно образование крупных частиц, представляющих особую опасность в виду возможной закупорки при внутрисосудистых вмешательствах. Очевидно, что эта опасность тем выше, чем больше характерная глубина проникновения излучения в ткань. Отсюда следует, что в импульсном режиме диапазон наибольшей прозрачности биотканей (600...1400 нм) наименее предпочтителен.

Еще одной принципиально важной характеристикой фотоабляционного режима является частота повторения импульсов f^* . Если она будет велика по сравнению с обратным временем теплопотерь, то даже при малой длительности импульса $t \ll \tau$ возможно «наложение» теплового действия импульса на предыдущий и, следовательно, «включение» механизма теплопроводности, не работающего для отдельного импульса. Поэтому при разработке лазерных хирургических установок необходимо соблюдать условие, накладываемое на частоту повторения импульсов: $f^* \leq \tau^{-1}$.

Упрощенная классификация медицинских применений лазеров приведена на рис. 4.3.



Рис. 4.3. Классификация применения лазеров в медицине, основанная на видах взаимодействия лазерного излучения с биотканями

Израильские ученые из Университета им. Бен Гуриона задались целью выяснить, можно ли концентрированным солнечным излучением заменить лазерное. Для этого они построили зеркальный коллектор, «уплотняющий» энергию света в 11–15 тыс. раз и передающий такой «концентрированный» свет по оптоволокну на заостренный кончик, используемый в качестве скальпеля. Операциям успешно подверглись куриные тушки. Таким образом, широкополосное солнечное излучение при сосредоточении на малой площади может рассекать ткани. Однако при этом невозможно

указать компоненты тканей, ответственные за поглощение этого излучения. Вдобавок «солнечная хирургия» может найти применение только в южных широтах в безоблачный день. Такую «солнечную хирургию» можно отнести скорее к разряду курьезов.

4.4. ПОНЯТИЕ О ДОЗИМЕТРИИ НЕИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Напомним, что с системной точки зрения лечебное воздействие является либо деструктивным (хирургическое), либо управляющим (терапевтическое). Диагностическое воздействие можно рассматривать как информационное. Все виды воздействия призваны в итоге восстанавливать гомеостатическое состояние живой системы, максимально приближенное к норме. Само по себе понятие нормы является нетривиальным, поскольку живая система существует в постоянном взаимодействии с окружающей средой. Тем не менее, установив выделенные пространственно-временные и информационные ограничения на внешние воздействия, можно говорить об условной гомеостатической норме.

Определим дозу как обобщенную количественную меру воздействия на биообъект, вызывающую отклонения от нормы (см. Вводную часть). Такое определение дозы нуждается в конкретизации для того, чтобы его можно было рассматривать как рабочее для определенного вида взаимодействий.

В случае ионизирующих излучений (см. 1.2) конкретизация дозы связана с количественным определением степени ионизации окружающего биообъект воздуха. Кроме того, проникающая способность ионизирующих излучений в рентгеновском и γ -диапазонах настолько велика, что в принципе количественный анализ энергетических характеристик излучения до взаимодействия с биообъектом и после не составляет затруднений. Поэтому переход от экспозиционной дозы (не связанной с биообъектом) к дозе, поглощенной биообъектом, прежде всего основан на анализе коэффициентов поглощения различных органов и тканей. Это, хотя и представляет определенные затруднения ввиду пространственной неоднородности биообъекта, позволяет определить поглощенную дозу с приемлемой для практических рекомендаций точностью и воспроизводимостью, основываясь на многочисленных опытных данных. Переход от поглощенной к эквивалентной (вызывающей определенные биологические эффекты) дозе более сложен, поскольку предполагает знание основных механизмов действия из-

лучения на биообъект. В радиобиологии наработаны методики оценки эквивалентной дозы (см. 1.2), однако, как и для поглощенной дозы, они основаны на опытных данных (составляются таблицы коэффициентов качества). Такой подход к дозиметрии оправдан, поскольку в области ионизирующих излучений механизмы действия излучения более просты, чем в области неионизирующих – первичные взаимодействия, достаточно хорошо определяемые энергией кванта, деструкция связей, вторичные физико-химические процессы, связанные с наличием большого количества свободных радикалов. Но даже при учете всех этих обстоятельств эквивалентная доза не определяет однозначно реакции биообъекта на воздействие излучения, хотя количественные нормы ее нахождения установлены (см. гл. 1–2).

Применительно к неионизирующим излучениям задача дозиметрии осложняется, поскольку даже на уровне первичных взаимодействий картина исключительно многообразна. Главное состоит в том, что, в отличие от ионизирующих излучений, биомолекулы могут не претерпевать необратимых превращений. Принято рассматривать дозу либо как энергию электромагнитного излучения оптического диапазона, падающую на единичную площадку поверхности биообъекта (поверхностная доза), либо как энергию, накопленную в единице объема биообъекта (объемная доза) [67, 68]. Такой разнотой настораживает, поскольку количественная мера воздействия как ключевое понятие не должна иметь нескольких определений.

Стремление систематизировать дозиметрические величины побуждает считать поверхностную дозу аналогом экспозиционной дозы ионизирующих излучений, а объемную – аналогом поглощенной дозы. Однако такие аналогии вряд ли можно считать состоятельными, поскольку для поверхностной дозы не может быть дано столь же однозначное определение, какое дается для экспозиционной. Именно заданное значение поверхностной плотности энергии в зависимости от коэффициента отражения даст большой разброс в значениях энергии, прошедшей в глубину биообъекта. Но это еще не все, поскольку вариация вкладов рассеяния и поглощения в коэффициент экстинкции внесет еще большую неопределенность в поглощенную дозу. В итоге аналогии как между экспозиционной и поверхностной дозами, так и между поглощенной и объемной не выдерживают никакой критики.

Рассмотрим возможный подход к дозиметрии неионизирующих излучений. Считая биообъект черным ящиком, на который осуществляется внешнее воздействие, необходимо выделить от-

клик биообъекта на это воздействие. Если нет возможности отследить и количественно охарактеризовать отклик, то нет возможности и предсказать результаты взаимодействия, даже если известны все параметры падающего излучения. Но понятие отклика требует специального определения, учитывая сложность объекта и имея в виду системный характер взаимодействия. Будем понимать под откликом совокупность всех результатов, которые можно в той или иной степени связать с данным воздействием. Количественной мерой отклика является совокупность соотносимых параметров [67], допускающих измерение доступными средствами. Измеряя эти соотносимые параметры, можно предсказывать биологический эффект, даже не зная параметров самого биообъекта.

Следовательно, основную задачу дозиметрии можно сформулировать следующим образом: построение функциональной зависимости между совокупностью параметров воздействия и соотносимыми параметрами отклика и использование этой функциональной зависимости для управления самим воздействием.

Заметим, что вторая часть поставленной задачи может быть решена только при уже известной функциональной зависимости между параметрами воздействия и соотносимыми параметрами отклика. Обычно эта зависимость в литературе именуется «доза–эффект» [68, 69], но если рассматривать ее в упрощенной трактовке, не учитывающей полноту набора параметров как воздействия, так и отклика, то неизбежны абсурдные выводы, которыми пестрит литература по практической медицине. Правильный прогноз отклика может быть сделан только в том случае, когда построение функции воздействие–отклик (ФВО) проведено корректно. Так, в дозиметрии ионизирующих излучений это может быть проделано с допустимой степенью корректности. В оптическом диапазоне, где результаты воздействия выражаются большим и априори неизвестным количеством параметров, построение ФВО включает в себя всю совокупность эвристических элементов исследовательского характера.

Роль спектра биологического действия в построении ФВО. Спектром биологического действия (СБД) называется зависимость относительной эффективности наблюдаемого биологического отклика от длины волны падающего излучения. Количественное выражение СБД представляет собой сложную задачу, требующую прежде всего конкретизации системного уровня взаимодействия. Так, при рассмотрении поглощения света на молекулярном уровне можно записать кинетическое уравнение (см. 3.3):

$$\frac{dn}{dt} = -\eta\sigma n(t) \frac{I(t)}{\hbar\omega},$$

где η – квантовая эффективность процесса; σ – сечение поглощения света в пересчете на единичный квант; $n(t)$ – концентрация продукта, возникающего в результате взаимодействия; $I(t)$ – интенсивность падающего света; $\hbar\omega$ – энергия поглощаемого фотона.

Функция $\tilde{f}(\lambda) = \frac{n(t)}{N}$ – скорость возникновения биомолекул

данного вида в пересчете на один фотон с длиной волны λ – является количественным выражением СБД (см. 3.3). Таким образом, СБД есть та часть спектра поглощения, которая непосредственно связана с определенным фотобиологическим эффектом. СБД можно рассматривать не только на молекулярном, но на любом системном уровне. Все излучение, поглощаемое биообъектом, составляет его спектр поглощения. СБД формируется только теми молекулами, которые инициируют данный эффект. Поэтому естественно называть дифференциальными молекулы, ответственные за СБД (в отличие от фоновых молекул, ответственных за весь спектр поглощения). Часто СБД рассматривается как аддитивная часть спектра поглощения [70]. Но такой подход можно признать корректным только в том случае, если имеется рецепт выделения СБД из спектра поглощения. Полагая поведение дифференциальных молекул сигналом, а фоновых – шумом, видим, что шум может быть как аддитивным, так и мультипликативным. Если шум мультипликативен, то выделение полезной информации осложняется. Аддитивность СБД по отношению к спектру поглощения можно рассматривать только в случае линейности взаимодействия лазерного излучения с биосредой. Однако, как правило, всякий фотобиологический эффект носит пороговый характер, т. е. проявляет нелинейные свойства. Поэтому для регистрации СБД необходимо:

- подобрать стандартный биообъект со стабильными и воспроизводимыми характеристиками;
- выбрать параметр, характеризующий биообъект на более высоком (в данном случае – клеточном) уровне. Параметр должен быть линейно связан с вероятностью микрособытия – первичного акта возбуждения биомолекулы, – чтобы его измерение не вносило возмущений в клетку;
- использовать источник излучения, перестраиваемый в заданном диапазоне спектра с достаточно высокой монохроматично-

стью и заданной интенсивностью, обеспечивающей достижение требуемого фотобиологического эффекта.

Сформулированные условия, отнесенные к переходу с молекулярного уровня на субклеточный или клеточный, могут быть без существенного ограничения общности (конечно, с соответствующей перефразировкой) перенесены на любой более высокий системный уровень. Выполнение этих условий представляет большие практические затруднения, поэтому приводимые в литературе сведения об измерении СБД в большинстве своем несостоятельны с методической точки зрения.

Дозиметрические аспекты низкоинтенсивной фототерапии. Низкоинтенсивное оптическое излучение (НОИ), в первую очередь лазерное, нашло широкое применение в медицине [65, 71]. Имеется много работ по изучению механизмов действия НОИ на биологические объекты разного уровня организации – от молекулярного до организменного [65]. В свете необходимости исследования СБД без выяснения этих механизмов не может быть корректной постановки основной задачи дозиметрии. Однако до сих пор нет общепринятой концепции механизма действия НОИ на живые организмы. Есть несколько альтернативных точек зрения, объясняющих частные явления или эксперименты [65].

Употребление термина НОИ, а не НИЛИ (низкоинтенсивное лазерное излучение), обусловлено тем, что из основных характеристик лазерного излучения прежде всего имеют значение длина волны и спектральная плотность. Когерентность и поляризация лазерного излучения влияют на лечебный эффект в меньшей степени, хотя утверждать, что они вообще не имеют значения, достаточно оснований нет.

Проблема выяснения механизмов действия НОИ на биообъекты является центральной как для медиков и биологов, так и для разработчиков аппаратуры в течение вот уже почти 40 лет развития низкоинтенсивной лазерной терапии (НИЛТ). Пока она далека от разрешения, хотя сам факт резкого повышения интереса к НИЛТ в последние 10 лет говорит о положительных сдвигах в ее изучении. В среде медиков и биологов сформировалось представление о специфичности и неспецифичности взаимодействия НОИ с живыми организмами. Специфическим называют взаимодействие света с биообъектом, связанное с интенсивным молекулярным поглощением света, т. е. таким, для которого установлены специфические фотоакцепторы, осуществляющие первичное поглощение света и запускающие затем ряд специфических фотохимических реакций. Типичный пример такого взаимодействия –

фотосинтез. Соответственно, неспецифическим взаимодействием считается тогда, когда биологический отклик велик, а поглощение света настолько мало, что однозначно установить первичный акцептор не представляется возможным. Именно этот аспект – установление первичных акцепторов при отсутствии сильного поглощения – и вызывает наиболее ожесточенные дискуссии, поскольку превращение неспецифического взаимодействия в специфическое открывает путь к практическому применению НИЛТ не на эмпирической, а на строго научной основе, так как позволяет осуществить продвижение в решении проблемы дозиметрии.

Спектральный диапазон, в котором работают фототерапевтические аппараты, соответствует «окну прозрачности» биотканей (600...1200 нм) и находится далеко от характерных полос электронного поглощения всех известных хромофоров организма (исключение – пигменты глаза, поглощающие на длинах волн 633 и 660 нм). Следовательно, ни о какой значительной (по сравнению с падающей) поглощенной энергии не может быть и речи.

Тем не менее под действием НОИ наблюдается целый ряд клинических эффектов, которые в течение длительного времени служат основой НИЛТ. Если попытаться обобщить все эти эффекты, то можно сформулировать неспецифическое интегральное действие на клеточном уровне: лазерное излучение воздействует на функциональную активность клеток. При этом оно не меняет самой функции, но может усиливать ее интенсивность. Иначе говоря, под действием НОИ изменяется скорость процессов клеточного метаболизма. На физико-химическом языке это означает, что потенциальные барьеры ключевых биологических реакций меняют свою высоту и ширину. В частности, НОИ может сильно повлиять на мембранный потенциал. С ростом напряженности поля мембраны активационные барьеры ферментативных реакций, связанных с мембранным транспортом, снижаются, обеспечивая тем самым экспоненциальный рост скорости ферментативных реакций [71].

Наиболее разработанной моделью на сегодня можно считать светокислородную [70], в которой предполагается, что первичным фотоакцептором (на молекулярном уровне) является растворенный молекулярный кислород, который при поглощении кванта света переходит в синглетное состояние. Переход $^3\text{O}_2 \rightarrow ^1\text{O}_2$ происходит на длинах волн 1270, 1060, 760, 633, 570, 480 нм, причем для изолированной молекулы O_2 этот переход запрещен. Однако в водной среде образование синглетного кислорода возможно, и это прежде всего проявляется в спектре возбуждения клеточной реакции зритель-

роцитов (как изменение упругости мембраны). Максимум этого эффекта соответствует 1270...1260 нм (полоса поглощения молекулярного кислорода), а форма спектра возбуждения указанной клеточной реакции детально совпадает с линией перехода из основного состояния в первое возбужденное состояние молекулярного кислорода ($^3\Sigma_g \rightarrow ^1\Delta_g$).

Синглетный кислород играет ключевую роль практически во всех процессах клеточного метаболизма, причем для изменения характера ферментативных реакций требуется очень малое изменение его концентрации (в пределах порядка). Эксперименты последних лет [71, 72] показали, что скорость клеточного роста для важнейших клеточных культур (лейкоциты, лимфоциты, фибробласты, злокачественные клетки и др.) существенно изменяется в зависимости от плотности энергии (в пределах от 10 до 500 Дж/см²), режима и длины волны падающего излучения. Переход с молекулярного уровня на клеточный осуществляется через изменение структуры водной матрицы.

Как известно, тушение синглетного кислорода может происходить либо химическим, либо физическим путем. В отсутствие фотосенсибилизаторов можно считать, что преобладает физическое тушение. При физической дезактивации молекул синглетного кислорода на колебательные подуровни окружающих молекул передается энергия порядка 1 эВ. Этой энергии достаточно для разрыва водородных связей, создания ионных или ориентационных эффектов, т. е. локальное высвобождение энергии 1 эВ приводит к сильному возмущению структуры ближнего окружения растворенной молекулы синглетного кислорода. В термодинамически устойчивом состоянии единичное возмущение на расстояниях молекулярного масштаба не может играть заметной роли и должно с гарантией разрушаться тепловыми флуктуациями. Однако биожидкости нельзя рассматривать как термодинамически равновесные структуры. Для моделирования процессов в биожидкостях следует использовать метастабильное состояние растворов биомолекул, возникающее в начальных фазах процесса растворения. Особенность таких метастабильных состояний – высокая чувствительность к локальным возмущениям. Внутриклеточная или внутриканевая вода представляет собой структуру, близкую к жидкому кристаллу (одномерный дальний порядок), с расстоянием между молекулами $2,7 \cdot 10^{-10}$ м [71].

Изменение структуры водной матрицы должно отражаться в изменении показателя преломления раствора биожидкости, что наблюдалось экспериментально при облучении растворов биожидкостей излучением He-Ne лазера ($\lambda = 632,8$ нм) [72].

Отметим, что динамические возбуждения жидкокристаллической воды могут при определенных условиях приводить к возникновению коллективных динамических состояний. Ситуация аналогична превышению порога генерации в лазере, где обозначается лавинообразное возрастание преобладания индуцированного излучения. Иначе говоря, динамика воды становится когерентной, и структура жидкости в объеме некоторого кластера делается доминирующей во всем объеме раствора. По проведенным оценкам, в 1 см³ воды находится в среднем $10^{16} - 10^{17}$ кластеров, из которых только в $10^{10} - 10^{11}$ возникают молекулы фотовозбужденного синглетного кислорода ($\sim 10^{-6}$ от общего числа) [72]. При релаксации этих кластеров формируются зародыши новой структурной фазы. При росте зародышей наблюдается изменение показателя преломления Δn_0 , примерно в 10^6 раз большее, чем соответствовало бы переориентации отдельного кластера. Это как раз наблюдалось экспериментально [72]: поглощение энергии лазерного излучения с длиной волны 632,8 нм в пределах $10^{-3} \dots 10^{-5}$ Дж вызывало такое изменение показателя преломления плазмы крови, которое соответствовало бы «охлаждению» всего объема среды приблизительно на 6 Дж (!). Аналогичные по характеру зависимости наблюдались в растворах белков, липидов, гликопротеинов и др. [71]. Общим ингредиентом для этих веществ является вода, а это косвенно подтверждает тот вывод, что вода является универсальным неспецифическим акцептором для всех видов электромагнитных излучений, для которых можно рассматривать в качестве специфического акцептора растворенный газ из воздуха (O_2 , N_2 , CO_2 , NO и др.) [71]. Таким образом, первичные процессы с участием газов воздуха («дыхательная цепь») приводят к вторичным процессам, связанным с переориентацией водной матрицы.

Вторичные процессы иначе называют темновыми, имея в виду то, что многие реакции на клеточном уровне, вызванные облучением, происходят достаточно долго после прекращения облучения. Например, синтез ДНК и РНК после 10-секундного облучения наблюдается через 1,5 ч. Обилие возможных вторичных механизмов

на сегодня не дает возможности построить более-менее убедительный мостик между клеточным и тканевым уровнями, подобный когерентности ориентации водной матрицы. Тем не менее накопление данных говорит в пользу преобладания окислительно-восстановительных процессов [65, 71].

Дозовая зависимость эффекта на тканевом уровне может принимать специфический характер. Выделяют три дозовых порога:

- 1) минимальная доза, вызывающая изменения на клеточном уровне;
- 2) оптимальная доза, вызывающая усиление морфообразовательных процессов, ускорение пролиферации, дифференциацию клеток;
- 3) предельная доза, при которой стимуляция сменяется снижением пролиферационной активности.

Количественное выражение дозовых порогов зависит от многих параметров (характеристик воздействия, функционального состояния ткани, общего состояния организма [65, 71, 76]). В целом легко установить системную связь между сложностью выяснения механизмов отклика и уровнем организации, на котором мы определяем какие-либо закономерности: чем выше поднимаемся по системной иерархии (клетки, ткани, органы, организм), тем заметнее роль эмпирики. Выделение первичного фотоакцептора на молекулярном уровне позволяет построить, хотя и с немалыми трудностями, картину вторичных эффектов на субклеточном и клеточном уровнях [65, 70, 75, 76]. Переход с клеточного уровня на тканевый гораздо сложнее, поэтому рекомендации по выбору дозы даются не на уровне записи решений тех или иных уравнений, а на уровне качественного описания возможных процессов.

Дозиметрические аспекты лазерной хирургии. Вопрос о системном действии высокоинтенсивного лазерного излучения также является отражением проблемы дозиметрии, но в несколько отличном от терапевтического аспекте.

Большинство медицинских лазерных установок, официально разрешенных к массовому применению, – это установки хирургического назначения. Основным их преимуществом является определенность механизма воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения на биообъект. Таковым механизмом является тепловой. При рассмотрении расчетных моделей [77–79], количественно описывающих процессы взаимодействия высокоинтенсивного лазерного излучения с биосредами, можно заметить, что простейшая модель вполне удовлетворительно согласуется с опытом. В этой модели мягкие биоткани рассматриваются как вода, поглощение

которой несколько отличается от типичного для дистиллированной воды поглощения на рабочей длине волны лазера. Подстановкой прочих характеристик воды (тепловых, механических) в расчетные формулы [77] дает приемлемые для практических целей значения, позволяющие с успехом проектировать лазерные хирургические установки для различных целей. Такая, казалось бы, благоприятная для разработчиков ситуация, существовавшая в течение достаточно длительного времени, создала на современном этапе определенные трудности. Например, опираясь на таблицы значений показателя поглощения электромагнитного излучения оптического диапазона водой, для тех или иных хирургических установок можно выбрать соответствующую рабочую длину волны лазера, имея в виду, что в сторону длинных волн за пределами видимого спектра поглощение водой быстро возрастает, начиная с длин волн 1 200...1 300 нм. Кривая спектральной зависимости поглощения водой, приводимая во всех изданиях, стала чем-то вроде настольного пособия для разработчиков, несмотря на то что условия ее измерения давно забыты (рис. 4.4). Однако накопившийся отрицательный опыт врачей заставил посмотреть на кривую поглощения по-новому. В самом деле, мягкие биоткани состоят на 80 % из воды, причем в основном не содержат большого количества активных хромофоров. Этот факт оправдывает использование «водяной» модели. Более того, многоступенчатость процесса деструкции биоткани под действием лазерного излучения (денатурация, коагуляция, выпаривание биожидкостей, возгонка сухих остатков с карбонизацией) показывает, что основная доля поглощенной энергии излучения, преобразованной в теплоту (до 80 %), идет на испарение жидкостей. Это значит, что деструкцию мягких биотканей можно рассматривать как локальное вскипание воды с некоторыми количественными поправками, зачастую укладываемыми в экспериментальные погрешности.

Вдобавок предположение о вторичном преобразовании тепловой энергии в механическую при работе лазера в режиме коротких импульсов также привело к успешным результатам, позволив создать ставшую почти хрестоматийной классификацию высокоинтенсивных лазерных воздействий на биообъекты [77–79]. Однако уже в 1980-е годы, когда бум на лазерные хирургические установки достиг апогея, появились первые факты, не укладываемые в столь удачную, вроде бы, концепцию. Так, был отмечен недопустимо большой разброс опытных значений удельной энергии деструкции (количество поглощенной энергии лазерного излучения, необходимое для разрушения единицы объема биоткани). Более

того, этот разброс только возрастал по мере увеличения диапазона возможностей аппаратуры. То же можно сказать о характерных значениях температуры локального перегрева в облучаемом объеме, являющегося ключевым параметром при работе в фотоабляционном режиме [80, 81]. Это особенно недопустимо, поскольку затрагиваются жизненно важные органы и исход операции решает прецизионность воздействия (офтальмология, сосудистая хирургия, нейрохирургия, онкология и др.). В дальнейшем по мере развития разработок лазерной хирургической техники обозначились новые трудности.

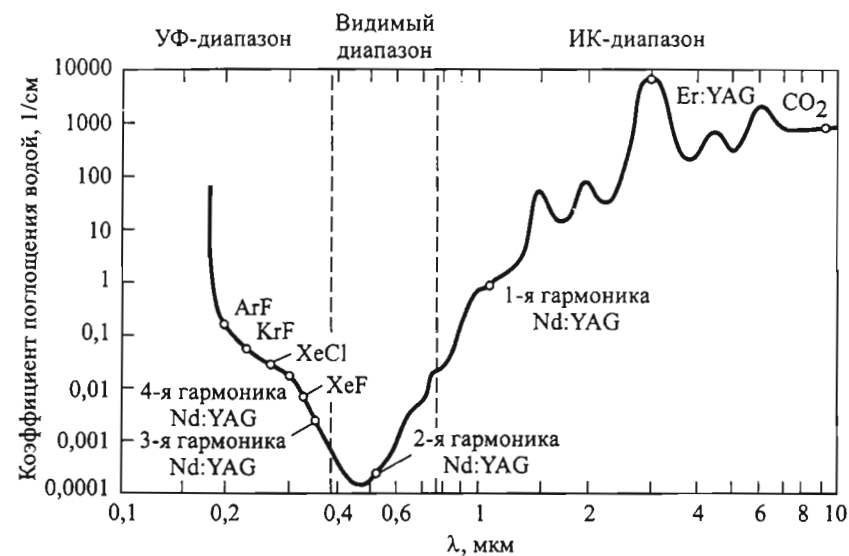


Рис. 4.4. Спектральная зависимость коэффициента поглощения лазерного излучения водой

Основная причина, осложняющая разработку медико-технических технологий в лазерной хирургии, состоит в необходимости решения проблемы дозиметрии. Большинство расчетных моделей, используемых в описании действия высокоинтенсивного излучения на биоткань, так или иначе линеаризуют задачу прежде всего с точки зрения подстановки в расчетные формулы конкретных значений оптических характеристик среды (поглощения, пропускания, отражения и т. д.). В этом содержится существенная некорректность, поскольку факт зависимости оптических характеристик от энергии падающего излучения составляет основу взаимодействия.

Самые подробные таблицы, содержащие многочисленные экспериментальные данные об измерениях оптических характеристик биотканей (например, [66, 82]), как правило, не содержат сведений об интенсивности излучения, при которой эти характеристики изменялись. Следовательно, значения, приводимые в этих таблицах, для расчетов воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения на биоткань неприемлемы. То же можно сказать и о знаменитой кривой поглощения водой (см. рис. 4.4). Даже если предположение о 80 %-ном содержании воды в мягких биотканях вполне корректно, все равно деструкцию этих тканей нельзя описывать, подставляя в формулы значение поглощения лазерного излучения на данной длине волны, взятое согласно этой кривой, поскольку характеристики тканей в процессе деструкции существенно меняются. То же относится к значениям удельной энергии деструкции, скорости рассечения тканей, температуре перегретого объема и т. д.

Иначе говоря, решение проблемы дозиметрии в лазерной хирургии лежит на пути создания нелинейной оптики биотканей, которая, в сущности, составляет основной предмет биомедицинской оптики вообще. Если в оптике небиологических сред нелинейные эффекты получить достаточно трудно (они реализуются только при очень больших напряженностях электрического поля, сравнимых с внутриаомными и внутримолекулярными значениями), то в биомедицинской оптике особую трудность представляет реализация как раз линейного случая, при котором оптические характеристики не зависят от интенсивности проходящего излучения.

Заметим, что проблема исследования СБД в лазерной хирургии не менее актуальна, чем в терапии, но решение ее представляется более доступным, поскольку основной механизм действия (тепловой) установлен. Можно даже указать возможный путь конкретного решения этой проблемы. Необходим мощный лазер, перестраиваемый во всем интересующем нас диапазоне длин волн и снабженный необходимыми метрологическими средствами. Эти средства должны позволять, во-первых, определять спектральные зависимости нужных оптических характеристик в соответствующем диапазоне интенсивностей воздействующего излучения, во-вторых, при выбранной длине волны и заданных энергетических характеристиках падающего излучения количественно определять нужный соотносимый параметр (масса разрушенной биоткани, скорость рассечения, температура заданной области биообъекта и т. п.). Тем самым, несмотря на то что проблема дозиметрии на сегодня не решена и для хирургии, ее решение представляется вполне достижимым в обозримом будущем.

Дозиметрия при фотодинамической терапии. Проблема дозиметрии при ФДТ является, по сути дела, прямым следствием основной идеи ФДТ: избирательное уничтожение патологических тканей при сохранении здоровых. Если предположить, что слой облучаемой ткани достаточно тонкий, т. е. просвечивается насквозь с гарантией обеспечения поражения патологических клеток во всем облучаемом объеме, то можно дать оценку необходимой дозы облучения.

Определим дозу облучения как суммарную поглощенную единицей поверхности рассматриваемой биоткани энергию за весь сеанс облучения. Тогда фотодинамическую дозу, связанную с поглощением света фотосенсибилизатором, можно найти как интеграл

$$D = \int_0^{I_0} \tilde{c}_{\Phi c}(I) dI. \quad (4.1)$$

Здесь $\tilde{c}_{\Phi c}(I)$ – концентрация фотосенсибилизатора, зависящая от его дозы облучения («эффект обесцвечивания»). Принимая для $\tilde{c}_{\Phi c}(I)$ экспоненциальную зависимость,

$$\tilde{c}_{\Phi c}(I) = \tilde{c}_{\Phi c_0} e^{-kI},$$

где $\tilde{c}_{\Phi c_0}$ – начальная концентрация фотосенсибилизатора; k – скорость обесцвечивания, перепишем (4.1) в виде

$$D = \tilde{c}_{\Phi c_0} k^{-1} (1 - e^{-kI_0}).$$

При $kI_0 \ll 1$ имеем $D = \tilde{c}_{\Phi c_0} I_0$, т. е. при малых скоростях обесцвечивания фотодинамическая доза определяется только дозой облучения. Напротив, при больших скоростях обесцвечивания ($kI_0 \gg 1$) $D = \tilde{c}_{\Phi c_0} / k$, т. е. фотодинамическая доза вообще не зависит от дозы облучения. Если допустить, что скорости обесцвечивания фотосенсибилизатора в нормальных и опухолевых тканях одинаковы, то

$$\frac{D_{\text{норм}}}{D_{\text{пат}}} = \frac{\tilde{c}_{\Phi c_0 \text{ норм}}}{\tilde{c}_{\Phi c_0 \text{ пат}}}.$$

Следовательно, при достаточно быстром обесцвечивании фотосенсибилизатора реальной является ситуация, при которой мож-

но воздействовать только на патологические клетки, не повреждая нормальные. Однако такое воздействие до сих пор удавалось делать контролируемым только при облучении образований, сосредоточенных в достаточно тонких слоях ткани (например, опухолях мочевого пузыря, бронхов, пищевода). Благоприятность подобных случаев лечения заключается в том, что доза D , не повреждающая здоровые ткани, но максимально поражающая патологические, может быть рассчитана заранее. Клинический опыт показывает, что в таких случаях применение ФДТ дает исключительно высокий процент успешного лечения (более 90 %).

Многочисленные попытки обеспечить оперативный и эффективный дозиметрический контроль при облучении больших объемов ткани, где при расчете фотодинамической дозы следует учитывать не только обесцвечивание фотосенсибилизатора, но и затухание излучения при прохождении толстых оптически неоднородных слоев, до сих пор успеха не имели.

Дозиметрические аспекты лазерной диагностики. Как указывалось выше, задача лазерной диагностики – извлечение информации о биообъекте, полученной в результате взаимодействия с ним лазерного излучения. Необходимо, чтобы эта информация характеризовала состояние объекта до взаимодействия, поэтому взаимодействие не должно быть разрушающим. Но нулевое взаимодействие означает и нулевую информацию. Следовательно, необходима оптимизация взаимодействия: оно должно быть достаточным для получения нужной информации и в то же время не вызвать существенного изменения состояния биообъекта. Лазерное излучение наилучшим образом соответствует этим требованиям. Во-первых, оптический диапазон включает в себя все основные частоты возбуждения биомолекул. Более короткие волны, попадающие в область ионизирующих излучений, грубо разрушают связи в биомолекулах, более длинные – ничего не возбуждают. Во-вторых, уникальные свойства лазерного излучения, прежде всего пространственная и временная когерентность, позволяют предельно избирательно воздействовать на объект, а значит, задавать природе корректно поставленные вопросы. В сущности, совокупность задач лазерной диагностики намечает проблему построения когерентной оптики биосред, и ее решение – задача будущего.

Если попытаться сформулировать обозначившиеся тенденции в наиболее общем виде, то это прежде всего анализ рассеянного биообъектом лазерного излучения, которое в линейном приближении имеет ту же частоту (длину волны), что и падающее. В нелинейном приближении существенны отличия в спектре рассеянного

излучения по сравнению с падающим. При этом следует различать нелинейные преобразования рассеянного излучения и нелинейные явления в биосреде, происходящие под действием падающего излучения.

Сформулируем в обобщенном виде сегодняшние задачи когерентной оптики биосред. Если говорить о прямой задаче (по аналогии с когерентной оптикой вообще), то это задача нахождения амплитуды и фазы рассеянного излучения при условии заданных характеристик падающего излучения и, в некоторой модели, характеристик рассеивающей среды. Исходя из прямой задачи, можно поставить обратную: по известным характеристикам падающего и рассеянного электромагнитных полей определить оптические характеристики рассеивающей среды. Любые диагностические приборы или комплексы приборов решают одну из этих задач в рамках биотехнической системы. Конкретный путь решения указанных задач включает в себя управление параметрами падающего излучения, разработку методов извлечения информации о рассеянном излучении, построение и анализ оптических изображений, запись и обработку информации.

Нельзя сказать, что важность проблем лазерной диагностики не нашла должной официальной оценки. Любой диагностический лазерный прибор, как правило, причисляется к средствам измерения медицинского назначения [83]. Необходимость соответствующей сертификации этих приборов существенно затрудняет их внедрение в серийное производство и массовую медицинскую практику [84]. Нужна общая концепция лазерной диагностики [85]. Постановка задачи об исследовании СБД может служить основой такой концепции, поскольку количественный анализ СБД – прямая диагностическая задача.

В самом деле, при наличии условных гомеостатических норм на заданном системном уровне (молекулярном или клеточном) уникальные возможности лазеров как прецизионных средств измерения позволяют проводить дифференциальную диагностику с точностью, не доступной любым другим методам анализа. Это прежде всего обусловлено тем, что энергия фотонов оптической области лежит в диапазоне энергий возбуждения и связи практически всех биомолекул [71]. Однако, помня о том, что для анализа СБД необязательно замыкаться на конкретном системном уровне, можно аналогично рассмотрению дифференциальных и фоновых молекул рассматривать дифференциальные и фоновые элементы вышележащих уровней системной иерархии, т. е. ставить задачу функциональной диагностики [85].

В отличие от альтернативных диагностических методик, лазерная методика не требует существенно различного приборно-аппаратного оснащения при смене типов диагностики. Она является неинвазивной и асептической, допускает максимальную автоматизацию и высокое быстродействие, давая результат в режиме реального времени (в отличие от большинства методов лабораторных и клинических исследований) и позволяя проводить мониторинг исследуемых параметров биообъекта.

Трудность построения общей концепции лазерной диагностики не подлежит сомнению. Однако, по нашему мнению, соглашаться с тем, что задача описания поведения живых систем в рамках соответствующих адекватных моделей и причинно-следственных связей, подобных физико-математическим, не может быть решена даже в обозримом будущем [85], не следует. Мало того, что современная биология – это область наиболее мощного внедрения всех самых эффективных методов физики и математики (большинство Нобелевских премий по естественным наукам за последние десятилетия присуждено работам биологического направления), сами точные науки тоже переживают глобальную переориентацию под влиянием биологических подходов [86–88].

4.5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Согласно закону Вина, длины волн ИК-диапазона от 0,76 мкм до 2 мм соответствуют температуре от 3800 К до 1,5 К. Это означает, что практически все тела в обычных условиях обладают максимумом излучения в ИК-диапазоне и являются его источниками. Однако не все из них могут использоваться как источники, так как при низких температурах энергетическая светимость тел мала. Для лечебных целей используют искусственные источники теплового излучения: лампы накаливания (соллюкс); ИК-излучатели (инфраруж), укрепленные в специальном рефлекторе на штативе (температура спирали нагревательного элемента 400...500 °С); ртутные лампы высокого давления и лазеры. Лечебное применение ИК-излучения основано на его тепловом действии. Наибольший эффект достигается коротковолновым ИК-излучением, близким к видимому свету. ИК-излучение проникает на глубину до 20 мм, поэтому в большей степени прогреваются поверхностные слои. Терапевтический эффект как раз и обусловлен возникающим температурным градиентом, что активизирует деятельность тер-

морегулирующей системы. Усиление кровоснабжения облученного места приводит к благоприятным лечебным последствиям. Области применения ИК-излучения в медицине и биологии перечислены в табл. 4.2 [33, 55, 56].

Таблица 4.2

Область применения, назначение	Использование в медицине и биологии
Активные системы	Лучистая термотерапия. Определение расстояния до препятствий (для слепых)
Поиск, слежение и измерение дальности	Автоматический поводырь для слепых
Радиометрия	Неконтактное измерение температуры кожи. Исследование температурных ощущений. Ранняя диагностика рака. Контроль за заживлением ран без снятия повязки. Дистанционные биодатчики
Спектрорадиометрия	Обнаружение и предотвращение загрязнения воздуха. Определение содержания CO ₂ в крови и выдыхаемом воздухе
Получение теплового изображения	Ранняя диагностика рака. Ранняя диагностика прединфарктного состояния. Локализация плаценты. Определение оптимального места для ампутации. Исследование эффективности полярной одежды
Использование отраженного лучистого потока	Измерение диаметра зрачка глаза. Исследование глаз при катаракте. Исследование закупорки и варикоза вен. Контроль за движением глаз. Контроль за процессом заживления ран. Изучение ночной жизни животных
Лазерная терапия	Использование эффекта биостимуляции, проявляющегося в ближнем ИК-диапазоне, в низкоинтенсивной терапии. Воздействие на биоактивные точки. Использование гипертермических эффектов для лечения локальных патологий. Использование эффекта коагуляции для остановки кровотечений

4.6. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ И ИЗМЕРЕНИЯ ТЕПЛОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БИООБЪЕКТОВ. ТЕПЛОВИДЕНИЕ

Определение различия температур тела осуществляется в основном двумя методами:

с помощью жидкокристаллических индикаторов, оптические свойства которых очень чувствительны к небольшим изменениям температуры;

с использованием тепловидения (термография). Термография – регистрация ИК-излучения различных участков поверхности тела человека, пропорционального его температуре.

Максимум излучения поверхности тела человека (32 °С) приходится на длину волны $\lambda = 9,5$ мкм. Начиная с длины волны 5 мкм, человеческая кожа (вне зависимости от расовой принадлежности) излучает как черное тело (коэффициент серости $0,98 \pm 0,01$). Значение коэффициента излучения кожи зависит от ее влажности, кровенаполнения и кожной клетчатки. По различным данным этот коэффициент может иметь диапазон от 0,84 до 1,0, что приводит к ошибкам определения истинной температуры объекта. Так, различие коэффициентов излучения в 1 % эквивалентно разнице температур в 1 К. Температура фона также влияет на точность измерений, поэтому ее следует поддерживать с точностью ± 1 К, что при спектральном коэффициенте излучения $\bar{\epsilon} = 0,97$ обеспечит погрешность, не превышающую 0,05 °С. Пользуясь законом Стефана – Больцмана, можно «отфильтровать» тепловое излучение по относительному изменению мощности при небольшом изменении температуры: взяв дифференциал от энергетической светимости и разделив его на полную энергетическую светимость, получим

$$dR_{\lambda} / R_{\lambda} = 4dT / T.$$

Таким образом, малое относительное изменение температуры дает четырехкратное относительное изменение мощности излучения. При повышении температуры тела на 1 К излучение на длине волны 6...10 мкм увеличивается на 2,4 %. Это дает возможность различать участки тела с разностью температур 0,1 К и менее.

В термографии существует понятие теплового контраста. Тепловой контраст – это возможность различать две зоны объекта, характеризующиеся различными температурами или испускательными способностями:

$$c^* = \frac{r_v^*(T_2) - r_v^*(T_1)}{r_v^*(T_2) + r_v^*(T_1)}.$$

Перепад температур в 1 К соответствует контрасту 4 % в диапазоне 3...5 мкм и 1,6 % в диапазоне 8...12 мкм.

У всех здоровых людей распределение температур поверхности тела симметрично относительно срединной линии. Распределение и интенсивность теплового излучения в норме определяются особенностью физиологических процессов, происходящих в организме как в поверхностных, так и в глубоко расположенных органах. Различные патологические состояния характеризуются термодиссимметрией и наличием температурного градиента между зоной повышенного и пониженного излучения и симметричным участком тела, что отражается в термографической картине. Поэтому выявление нарушения симметрии позволяет обнаружить его причины (аномалии сосудистой сети, расстройства кровообращения, воспалительные очаги и т. д.).

Тепловизионное обследование служит для диагностики на ранних стадиях (до рентгенологических проявлений, а в некоторых случаях – задолго до появления жалоб больного) различных заболеваний. Его главные клинические применения:

- 1) диагностика рака молочной железы (температура повышается от 1 до 3 °С) и других опухолей; причем можно достоверно отличить рак от доброкачественной опухоли, выявить признаки мастита и очертить границы воспалительного очага, включая скрытые очаги метастазов;
- 2) диагностика нарушений периферического кровообращения (варикозная болезнь, тромбофлебит);
- 3) определение положения плаценты и другие приложения в акушерстве и гинекологии;
- 4) обследование ожогов третьей степени и обморожений, травм, болевых зон.

Кроме перечисленного тепловидение может эффективно применяться для диагностики заболеваний щитовидной железы (при этом избегается опасная радиационная нагрузка и другие трудности сканирования с помощью радиоактивного йода), опухолей кожи, лимфоузлов, ЛОР-заболеваний, диагностики «острого живота» (позволяет снизить число операций в 4 раза), воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, печени, почек. Тепловидение позволяет различить онкогенные и остеохондрозные причины болей в спине, установить причину болей в суставах, динамическое тепловизионное исследование снимает проблему по-

вторных рентгенограмм легких больных пульманологических отделений больниц. Как абсолютно безвредный прибор тепловизор эффективно применяется в акушерстве и педиатрии.

Тепловизоры, применяемые в настоящее время, представляют собой сканирующие устройства, состоящие из систем зеркал, фокусирующих ИК-излучение, исходящее от поверхности тела, на чувствительный приемник. Такой приемник требует охлаждения, которое обеспечивает высокую чувствительность.

В настоящее время применяют тепловизоры с оптико-механическим сканированием, в которых за счет пространственной развертки изображения осуществляется последовательное преобразование ИК-излучения в видимое.

Инфракрасное излучение концентрируется при помощи системы специальных линз и попадает на фотоприемник, который имеет избирательную чувствительность к определенной длине волны ИК-спектра.

В основе большинства современных тепловизоров лежат полупроводниковые многоэлементные фотоприемные устройства, изготовленные на базе узкозонных полупроводниковых соединений (InSb, InAs, CdHgTe) или мультиплицированных квантовых ям в системе GaAs/AlGaAs или GaAs/InGaP. В последние годы созданы неохлаждаемые матричные тепловизионные приемники на базе кремниевых микроболометров. (Болометр – тепловой детектор, в котором используется зависимость сопротивления от температуры в связи с нагревом.) И хотя они уступают по чувствительности селективным полупроводниковым фотоприемникам на межзонных (или межподзонных) переходах, во многих случаях их применение представляется весьма перспективным.

Излучение, которое попадает на фотоприемник, приводит к изменению его электрических свойств, что регистрируется и усиливается электронной схемой. Полученный сигнал подвергается цифровой обработке, и это значение передается на блок отображения информации. Затем на экране монитора появляется изображение, цвет точек которого соответствует численному значению температуры в данной области источника. Части тела, имеющие разные температуры, различаются на экране либо цветом при цветном изображении, либо градацией серого, если изображение черно-белое.

В термовизионной аппаратуре видимое изображение высвечивается на экране электронно-лучевой трубки (ЭЛТ) поэлементно, т. е. кадр изображения формируется как в телевидении – путем перемещения луча по горизонтали и вертикали. Получение поэле-

ментной развертки обеспечивается оптико-механическим сканированием. В результате на выходе преобразователя формируется видеосигнал, подобный телевизионному. Поскольку спектральный состав части излучения, которая вызывает сигнал на выходе преобразователя, определяется областью пропускания оптической системы и спектральной характеристикой преобразователя, термовизионная аппаратура имеет более широкую область спектральной чувствительности, чем та, которая построена на базе электронно-оптического преобразователя.

Термовизоры в простейшем варианте имеют два крупных конструктивных блока: блок сканирования, где размещены элементы оптической системы, устройства сканирования, преобразователь, балансно-усилительный блок, устройства для создания запускающих импульсов развертки, и электронно-осциллографический блок, содержащий основную массу электронных устройств, блоки питания и ЭЛТ. Электронно-осциллографический блок в последнее время часто совмещается с микропроцессорной системой или мини-ЭВМ. Блок сканирования размещается на механизме установки в виде стойки или треноги с устройствами для поворота и наклона, чтобы направить его на контролируемый объект, и часто делается переносным.

Общим недостатком существующих тепловизоров является необходимость их охлаждения до температуры жидкого азота, что обуславливает их ограниченное применение. В 1982 г. ученые предложили новый тип инфракрасного радиометра. В его основе лежит пленочный термоэлемент, работающий при комнатной температуре и обладающий постоянной чувствительностью в широком диапазоне длин волн. Недостатком термоэлемента является низкая чувствительность, большая инерционность. С целью увеличения выходного сигнала и повышения чувствительности в радиометре используется термобатарея, состоящая из 70–80 термоэлементов, соединенных последовательно и сжатых в плотный пакет. При этом резко уменьшаются потери за счет излучения и конвекции воздуха, что, в конечном счете, приводит к повышению чувствительности примерно на порядок. После оптимизации высоты батареи, которой прямо пропорциональна чувствительность прибора, точность измерения температуры достигла примерно 0,1 °С. В настоящее время радиометр проходит клинические испытания.

Существуют также тепловизоры с электронным сканированием, где в передающей камере изображение проецируется с помощью оптической системы на мишень трубки типа видикон, чувствительной к коротковолновому ИК-излучению. Окно такого

тепловизора делается из материала, прозрачного для ИК-излучения, а мишени – из пироэлектрика. При формировании на поверхности мишени ИК-изображения ее поверхностный электрический потенциал изменяется в соответствии с пространственным разделением падающего потока излучения и может быть считан сканирующим сфокусированным электронным пучком. В качестве материала мишени используются монокристаллы триглицеринсульфата, триглиценфторбериалата и ряд других, чувствительных в области 0,2...25,0 мкм. Далее электронное изображение преобразуется в видеосигнал. Это позволило сконструировать ИК-камеры, работающие в телевизионном режиме.

Особенного внимания заслуживают тепловизионные приборы, работающие в миллиметровых диапазонах длин волн. Сконструировано и испытано два новых типа тепловизоров, чувствительных к миллиметровым электромагнитным волнам. Эти аппараты улавливают волны на три порядка длиннее, чем инфракрасные. Такие волны проникают на большую глубину по сравнению с теми, которые улавливает обычный инфракрасный тепловизор. Приборы могут различать колебания температуры до доли градуса в тканях, расположенных на несколько миллиметров глубже поверхности кожи. Обычный же тепловизор регистрирует излучение только с поверхности тела.

Работа системы визуализации характеризуется температурным и угловым разрешением и полем зрения. Согласно теории электромагнитного поля, излучение максимально в направлении, нормальном к поверхности кожи. Показано, что при углах наблюдения больше 60° могут возникать существенные ошибки.

Температурное разрешение определяется как минимальная разница в температурах (МРТ), которую устройство еще может различить и которая зависит от качества оптической системы, чувствительности и собственного шума ИК-приемника, отношения сигнал/шум схемы обработки сигналов. Большинство медицинских термографов имеют МРТ 0,1...0,3 К (до 0,01 К); угловое разрешение – 1...3 мрад, реже 0,5 мрад; диапазон измеряемых температур – от 1 до 50 °С; поле зрения – от 5×5° до 60×60°.

Существует необходимость количественной оценки параметров теплового излучения. Некоторые системы имеют регулируемые встроенные источники опорной температуры, сигналы от которых сравниваются при известной температуре с выходными сигналами приемника. В общем случае более надежно использовать независимый источник опорной температуры, который необходимо устанавливать в поле зрения системы.

Минимальная интенсивность излучения, обусловленная обменом веществ у человека, находящегося в состоянии покоя, составляет около 45 Вт/м², что при средней площади поверхности тела 1,8 м² дает общую мощность 81 Вт (см. расчет в 3.14). Эта величина растет с повышением активности человека при соответствующем повышении температуры тела. Кроме того, температура тела непостоянна в течение суток и зависит от температуры окружающей среды.

В связи с этим, существует два основных метода термографических исследований:

а) обследования проводятся при постоянной температуре окружающей среды после адаптации больного к температуре окружающей среды;

б) обследования проводятся при тепловой нагрузке на пациента, обычно это достигается созданием холодной или горячей области на коже пациента путем помещения на короткое время руки или ноги в ванну с холодной или горячей водой.

При знании нормального стандартного распределения температур обследования основываются на наблюдениях измеряемой температуры тела или отклонении температуры от известных стандартов.

Принципиальными преимуществами тепловидения перед другими методами диагностики являются его совершенная безвредность и полное отсутствие противопоказаний, бескровность, безболезненность, а также безопасность для персонала, бесконтактность, быстрота обследования, наглядность и возможность повторности при высокой воспроизводимости. Однако при высокой чувствительности тепловидение имеет невысокую специфичность (анизотермия может быть связана с различными по патогенезу и локализации заболеваниями), т. е. тепловидение предполагает дополнительные методы, уточняющие результаты обследования.

Недостатком тепловизионной методики является то, что она позволяет судить о распределении температур только на поверхности наблюдаемой ткани. Для улавливания температурных изменений в глубине тела нужны специальные приемы (например, оптическая ИК-томография). В настоящее время активно разрабатываются также комбинированные методики, связанные с сочетанием тепловидения, ультразвуковой биолокации и радиоизотопных исследований. Безусловным атрибутом современной тепловизионной техники является ЭВМ. Перечисленные тенденции (разработка специальных методик, позволяющих исследовать трехмерное поле температур,

комплексное исследование, использование ЭВМ) являются характерными особенностями современного этапа развития медицинско-го тепловидения.

4.7. ПОНЯТИЕ О БИМОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭЛЕКТРОНИКЕ. ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ БИОЧИПОВ, БИОСЕНСОРОВ, БИОЭВМ НА ОСНОВЕ БИОФОТОТЕХНИЧЕСКИХ УСТРОЙСТВ

Развитие современной микроэлектроники идет преимущественно по пути уменьшения элементов микросхем, что влечет за собой увеличение плотности их размещения на кристалле. Однако, когда размеры транзисторов и расстояния между ними достигнут нескольких десятков нанометров, могут возникнуть взаимовлияния, а при уменьшении толщины слоя диэлектрика в транзисторах возрастет вероятность прохождения электронов через него, что приведет к нарушению работы приборов. Кроме того, сильно повышается стоимость производства. В связи с этим многие ученые ищут другие пути дальнейшего развития микроэлектроники. Один из них – молекулярная электроника (молетроника).

Своей целью молекулярная электроника ставит достижение предельной миниатюризации путем создания молекулярных электронных приборов (МЭП) и устройств обработки информации на основе этих приборов, включая молекулярные ЭВМ. Для этого предполагается использование молекулярной и геновой инженерии и процессов самосборки высокоупорядоченных надмолекулярных ансамблей. Примерами ансамблей могут служить мультиферментные комплексы, объединяющие ферменты одного метаболического пути. Мультиферментные комплексы являются управляемыми системами, и их сборка позволяет управлять метаболическим путем как единым целым [60–63].

Молекулярной биологией доказано, что на уровне отдельных макромолекул или молекулярных комплексов надежно записывается, хранится и считывается информация. Процессы преобразования и обработки информации на молекулярном уровне строго подчиняются известным законам передачи и преобразования сигналов на фоне шумов, а в своих элементарных актах могут быть описаны на основе фундаментальных законов физики. Поэтому молекулярные комплексы могут надежно функционировать как МЭП в молекулярных устройствах обработки информации.

Перейдем к обсуждению некоторых элементов МЭП.

Биочип – это микроустройство на основе биологического вещества, аналогичное интегральной микросхеме, микропроцессору и т. д.

Биосенсором (БС) называется аналитическая система, содержащая биологический материал (ферменты, клетки, антитела, антигены, рецепторы, фрагменты ДНК), который находится в непосредственном контакте или встроен в преобразователь. В БС используют физико-химические преобразователи различных типов: оптические, акустические, электрохимические. Тип преобразователя определяется особенностью реакций и превращений в рецепторе БС, и невозможно найти какой-либо один, универсальный преобразователь на все случаи анализа.

Основное назначение БС – непрерывный или квазинепрерывный автоматический контроль биотехнологических процессов, метаболитов, чистоты окружающей среды и т. п., а также миниатюризация аналитической системы и автоматизация анализа.

БС состоит из следующих основных блоков:

- анализируемого вещества;
- биологической системы распознавания анализируемого вещества;
- системы передачи первичных сигналов от системы распознавания;
- детектора;
- системы обработки и выдачи данных анализа.

Существуют БС двух типов:

1) биоафинные – молекулы биополимера, образующие чувствительный элемент, «узнают» молекулы вещества, которые присутствуют в анализируемом растворе. В результате взаимодействия между этими молекулами (комплексообразования) свойства молекул биодатчика (цвет, форма и т. д.) меняются. Такие изменения свойств представляют собой «сигнал», который должен быть пропорционален концентрации исследуемого вещества;

2) фермент-метаболические БС. Молекулы фермента – чувствительного элемента БС – «узнают» молекулы субстрата, присутствующего в растворе. Продукт реакции, образующийся в результате взаимодействия фермента и субстрата, представляет собой «сигнал» для системы.

Оптические биосенсоры (ОБС) – устройства, основанные на явлениях люминесценции, поглощения, рассеяния, поляризации или преломления света. Первичный сигнал, генерируемый биологической системой распознавания, – световой. Он передается к детектору по оптическим каналам или световодам.

Достоинствами ОБС являются:

- помехоустойчивость к электромагнитному фону, поскольку ОБС не содержит электрических контактов;
- большое количество информации, передаваемое по оптическому волокну;
- миниатюризация до микронных размеров;
- передача сигнала на большие расстояния с минимальными потерями и искажениями;
- возможность создания ОБС с дешевой разовой сенсорной частью.

ОБС могут быть установлены для постоянного контроля в труднодоступных участках производства, а также в условиях, опасных или вредных для здоровья. Существует потенциальная возможность работы ОБС без канала сравнения и внешнего стандарта.

Трудности при создании и использовании ОБС – это влияние фонового света и более узкий динамический диапазон измерений (в пределах 2–3 порядков) по сравнению с электродами.

В целом ОБС менее стабильны, поскольку подвержены фотовыцветанию и вымыванию индикатора. При использовании высоких интенсивностей возбуждения ОБС может происходить фотодegradация образца.

Светочувствительные БС представляют собой устройства, содержащие в качестве рабочего материала те или иные светочувствительные биологические структуры (макромолекулы, фоторецепторные мембраны и т. д.). Они предназначены для регистрации, преобразования и хранения оптической информации.

С точки зрения молекулярной электроники чрезвычайно перспективны биообъекты, осуществляющие целенаправленный перенос электронов или ионов, в ходе которого происходит преобразование поглощенной световой энергии: цепи электронного транспорта, локализованные в мембранах митохондрий, хлоропластах зеленых растений и в хроматофорах фотосинтезирующих бактерий; цепи дыхания и зрительного возбуждения.

В качестве светочувствительных БС используются фитохром, зрительный родопсин, хлорофиллсодержащие белки внутриклеточных мембран (хроматофоров) фотосинтезирующих бактерий, называемые реакционными центрами и осуществляющие светочувствительный высокоэффективный и строго направленный перенос электронов по цепи кофакторов вдоль длинной оси макромолекулы на расстояние более 30 нм, а также бактериорадопсин (Бр), который выделяют из клеток в виде белкового липидного

комплекса – пурпурных мембран (ПМ), синтезируемых галобактериями. В них под действием света осуществляется векторный трансмембранный перенос протона. ПМ состоят на 3/4 из бактериорадопсина и на 1/4 – из кислых липидов. Максимум поглощения бактериорадопсина приходится на длину волны 570 нм. ПМ обладают чрезвычайно высокой устойчивостью и цветовой лабильностью – между различными спектральными формами пигмента происходят обратимые переходы в результате внешних воздействий: освещения, изменения влажности, pH среды, присутствия электрического поля. В связи с этим Бр представляет собой перспективную основу для разработки различных устройств, способных под действием солнечного света генерировать электрический ток, разлагать воду на H_2 и O_2 , очищать растворы солей, выполнять регуляторные функции.

Одна из основных задач при использовании ПМ – ориентировать макромолекулы в нужном направлении, чтобы суммировать эффект переноса заряда. Описаны различные способы осуществления данной цели: центрифугирование; ориентирование на межфазной границе воздух/вода; ориентирование в магнитном, электрическом поле, их комбинациях и т. д. Анализ методик показывает, что электрофоретическое осаждение и последующее высушивание ПМ на электропроводящей подложке позволяют получить препараты, в которых молекулы Бр упорядочены в максимальной степени. Под действием света такие высокоориентированные мембранные структуры генерируют электрический потенциал от 10 до 11 В при толщине образца около 10 мкм.

Для формирования организованных молекулярных ансамблей широко используется модификация метода послойного нанесения мономолекулярных пленок на твердые подложки, предложенного Ленгмюром. Эта модификация позволяет получать монослой смешанного состава (метод Ленгмюра – Блуджета), а также формировать «сверхрешетки», чередуя слои разного химического состава.

Существенным недостатком препаратов Бр является малая доля молекул пигмента, вовлекаемая в электроиндуцированный переход ($\leq 10\%$), а также невысокая контрастность электрохромной «записи» (близкое расположение отрицательных и положительных экстремумов в дифференциальном спектре электроиндуцированного продукта Бр).

Реализованный в искусственных системах КПД преобразования света составляет около 10^{-6} , что примерно на четыре порядка

ниже по сравнению с нативными ПМ. Это указывает на значительные возможности усовершенствования фотопреобразовательных устройств на основе Бр. Если бы коэффициент преобразования энергии в искусственных системах удалось приблизить к 3...5 %, что характерно для нативных ПМ, то эффективность такой системы не уступала бы современным полупроводниковым материалам (при существенно меньшей стоимости).

При реализации функциональных возможностей Бр в полной мере фотоуправляемое коммутирующее устройство такого типа может характеризоваться рекордным быстродействием, компактностью и экономичностью, поскольку электронные процессы в Бр, по-видимому, сопряжены с оптическими переходами в пикосекундном масштабе времени. Квантовый выход этих переходов достаточно высок (приблизительно 0,3). Обычные размеры мембранных фрагментов в препаратах Бр составляют около 0,5 мкм. Возможно дальнейшее уменьшение размера единичного триггерного элемента до одной молекулы Бр (приблизительный объем 50 нм^3) или даже ее части (имеются данные о протекании фотоэлектрических процессов в частично деструктурированных молекулах Бр). Сообщалось также об использовании препаратов Бр для создания биочипов как основы биокомпьютера.

Оптические свойства Бр используют при создании фотохромных материалов типа «Биохром». Пленки «Биохром» представляют собой двумерные кристаллы, обладающие нелинейными свойствами, что позволяет использовать их для генерации второй гармоники лазерного излучения. Наличие нелинейных свойств и фотоиндуцированной анизотропии дает возможность записывать с помощью материала «Биохром» динамические голограммы с дифракционной эффективностью 5...10 %.

На основе пленок «Биохром» созданы фотографические материалы, лежащие в основе разработки технологии оптических дисков для записи информации в ЭВМ. Материал «Биохром» позволяет записывать информацию в постоянную и оперативную память (постоянная или обратимая запись) с высоким пространственным разрешением ($> 5 \cdot 10^3$ линий/мм) при фоточувствительности 10^{-3} Дж/см² и высокой степенью цикличности (до 104 циклов запись-стирание). Возможны различные варианты записи: в поляризованном и неполяризованном свете, битовая запись, голограммы и т. д. Характеристики элемента памяти на основе пленок

Ленгмюра – Блоджета из бактериорадопсина следующие: объем памяти – 25 Мбайт, время доступа – 40 нс (предел до 5 нс) при оптическом ХУ-сканировании.

На тонких пленках ориентированных ПМ (толщиной $< 50 \text{ нм}$) можно достичь разрешения между активными элементами памяти в 6 нм и даже 3 нм. Техническая проблема состоит в том, как электрическим путем считывать информацию, записанную оптическим способом, с таким же высоким разрешением.

Другое практическое применение Бр основано на использовании его фотохимических свойств. Фотодиоды, в которых в качестве фоточувствительного слоя применена пленочная структура Бр, обладают пикосекундным разрешением. Такие фотодиоды сохраняют рабочие характеристики и крутизну фронта при температурах вплоть до абсолютного нуля.

Интенсивно идет поиск других органических молекул для создания молекулярных компьютеров. Есть надежда, что молекулярные блоки памяти обеспечат плотность хранения данных в таком компьютере, немыслимую для полупроводниковых микросхем. По прогнозу специалистов, плотность размещения молекулярных элементов в трехмерной схеме может составить $10^{12} \dots 10^{15} \text{ мм}^{-3}$, что в 10^6 раз выше, чем в нервных волокнах, возможно, что и скорость передачи информации будет в 10^6 раз больше.

С развитием молекулярной электроники возникают широкие возможности развития новых технологий не только в физике для создания эффективных преобразователей солнечной энергии, моделирования процесса фотосинтеза, разработки нового класса приемников изображения, принцип действия которых будет напоминать работу человеческого глаза, но и в экологии, промышленности, медицине.

Стоит отметить, что в марте 2002 г. на совместном заседании Совета безопасности, Президиума Госсовета, Совета при Президенте РФ по науке и высоким технологиям как важное перспективное направление развития науки особо выделены наноматериалы и нанотехнологии.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЗВУКОВЫХ ВОЛН С БИООБЪЕКТАМИ

В пятой главе изложены основные сведения о взаимодействии акустических волн (включая инфразвук, слышимый звук и ультразвук) с биообъектами и о применении звука в медицинской технике.

5.1. РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЗВУКОВЫХ ВОЛН В БИОСРЕДАХ

Акустические воздействия на биообъекты не являются самостоятельным видом полей в отличие от электромагнитных. Однако волновой характер процессов и вполне определенные диапазоны частот, соответствующих собственным колебаниям биообъекта, позволяют изучать явления, связанные с передачей энергии от одних видов колебаний к другим, и тем самым обнаруживать новые уникальные особенности взаимодействий.

Условимся считать, что в биотканях (за исключением костной ткани) звуковые волны распространяются так же, как в жидкостях. Скорость продольных волн при этом приблизительно равна

$$c = \sqrt{K/\rho},$$

где K – адиабатический объемный модуль упругости биосреды; ρ – среднее значение плотности биосреды.

Диапазон скорости ультразвука колеблется от 400 до 1200 м/с в легких и от 2550 до 4300 м/с – в костях. Для мягких тканей средняя скорость, значение которой часто используется при конструировании ультразвуковой аппаратуры, составляет приблизительно $1540 \text{ м/с} \pm 6\%$. Практически скорость звука в биотканях слабо зависит от частоты, за исключением костной ткани. Скорость звука является функцией температуры, причем температурный коэффициент скорости положителен для тканей и органов, не содержащих жир, и отрицателен для жировой ткани. Из всех мягких тканей лишь в жире скорость звука меньше, чем в воде [16].

Звуковое давление p зависит от скорости v колеблющихся частиц среды:

$$p/v = \rho c \Rightarrow p = \rho c v,$$

где ρ – плотность среды; c – скорость распространения звуковой волны в среде.

Произведение ρc называется удельным акустическим импедансом, для плоской волны его называют также волновым сопротивлением. Оно определяет условие отражения и преломления волн на границе среды. Законы отражения и преломления звуковой волны аналогичны законам отражения и преломления света.

Пусть плоская волна падает перпендикулярно границе раздела, обозначим ее интенсивность в первой среде I_1 , интенсивность преломленной (прошедшей) волны во второй среде – I_2 . Запишем выражение для коэффициента проникновения звуковой волны:

$$\beta = I_1/I_2.$$

Рэлей показал, что

$$\beta = 4(c_1\rho_1/c_2\rho_2)/\{(c_1\rho_1/c_2\rho_2) + 1\}^2. \quad (5.1)$$

Из формулы Рэля (5.1) при $c_1\rho_1 = c_2\rho_2$ получим $\beta = 1$, т. е. при равенстве волновых сопротивлений двух сред звуковая волна при нормальном падении пройдет границу раздела без отражения. Если $c_1\rho_1 \gg c_2\rho_2$, то

$$\beta \approx 4c_1\rho_1/c_2\rho_2.$$

Из уравнения (B2) вводной части видно, что $I \sim \omega^2$, следовательно, можно получить ультразвук значительной интенсивности при сравнительно небольшой амплитуде колебаний.

Для УЗ-импульса, излучаемого стандартным диагностическим УЗ-сканером, максимальное продольное смещение частиц в среде, вызванное волной, составляет $8 \cdot 10^{-8}$ м, максимальная скорость частиц, колеблющихся в УЗ-волне – около 0,5 м/с, а максимальное ускорение в $3 \cdot 10^5$ раз превышает ускорение свободного падения, что говорит о наличии существенных сил, действующих на частицы в биотканях при их облучении ультразвуком. Сжатия и разрежения, создаваемые при этом, приводят к образованию совокупности разрывов в сплошной жидкости – кавитации. Эти разрывы

неустойчивы, они существуют недолго и быстро захлопываются. При этом в небольших объемах выделяется значительная энергия, происходит сильный разогрев вещества, а также ионизация и диссоциация молекул, что отрицательно сказывается на функционировании биотканей.

При распространении звуковых волн так же, как и при распространении электромагнитных, наблюдается эффект Доплера, т. е. изменение частоты волн, воспринимаемых наблюдателем (приемником волн), вследствие относительного движения источника волн и наблюдателя:

$$v' = \frac{c \pm c_{\text{пр}}}{c \mp c_{\text{и}}} v,$$

где c – скорость звука; $c_{\text{пр}}$ – скорость приемника звука; $c_{\text{и}}$ – скорость источника звука; «верхние» знаки (плюс и минус) относятся к сближению источника и приемника волн, «нижние» (минус и плюс) – к их удалению.

Эффект Доплера можно использовать для определения скорости движения тела c_0 в среде. Пусть генератор излучает ультразвук с частотой $v_{\text{Г}}$, тогда приемник воспринимает частоту

$$v_{\text{пр}} = \frac{c + c_0}{c - c_0} v_{\text{Г}}.$$

Доплеровский сдвиг частоты (разница частот) при этом составляет

$$v_{\text{д}} = v_{\text{пр}} - v_{\text{Г}} = \frac{2c_0}{c - c_0} v_{\text{Г}}.$$

В медицинских приложениях скорость ультразвука значительно больше скорости объекта ($c \gg c_0$), тогда

$$v_{\text{д}} = \frac{2c_0}{c} v_{\text{Г}}.$$

В любой среде звуковая волна будет затухать. Ее интенсивность при этом будет падать по экспоненциальному закону в зависимости от пройденного расстояния x :

$$I(x) = I_0 e^{-\mu x},$$

где μ – коэффициент затухания. Затухание обусловлено как поглощением, так и рассеянием ультразвука: $\mu = \mu_{\text{п}} + \mu_{\text{расс}}$. Кроме того, существуют еще дополнительные потери, связанные с дифракцией волн, создаваемых источником звука. Дифракционные явления существенно зависят от соотношения между длиной волны и размерами тела, с которым взаимодействует волна. Так, если частота $\nu = 1$ МГц, то длина волны $\lambda = 1,4$ мм. В этом случае тело размером 1 м даст отчетливую «тень», а тело размером 1 мм даст дифракционную картину, сходную с дифракцией Френеля в оптике. Заметим, однако, что затухание ультразвука увеличивается с ростом частоты, так что аналогия с оптикой не является полной.

Поглощение ультразвука приводит к необратимому преобразованию энергии волны в теплоту и к увеличению температуры среды, что используют при ультразвуковой гипертермии опухолей. Предполагается, что основной вклад в поглощение ультразвука в тканях (за исключением костной и легочной) вносит молекулярная релаксация, суть которой состоит в том, что связанные с волной флуктуации температуры или давления вызывают обратимые периодические изменения в конфигурации молекул. Это приводит к частотной зависимости поглощения, которая близка к линейной или степенной со степенью чуть больше единицы. Более высокое содержание протеина (особенно структурных протеинов типа коллагена) или более низкое содержание воды в биотканях приводят к большему поглощению ультразвука.

УЗ-волны в биообъектах могут также рассеиваться. В зависимости от размера рассеивающей структуры a могут наблюдаться различные типы рассеяния. Опишем их.

$a \gg \lambda$ – область геометрического рассеяния. При описании явлений можно пользоваться формулами, аналогичными соотношениям для отражения и преломления лучей в геометрической оптике. Такое «рассеяние» наблюдается на диафрагме, крупных сосудах, границах между костной и мягкой тканями, кистах и т. д. Обнаружено, что диафрагма ведет себя подобно зеркалу, отражая падающие на нее волны. Другие структуры приводят к рефракции звуковых волн. Границы раздела между средами с наибольшим различием скорости звука характеризуются наиболее сильным отражением. Наличие костей или газонаполненных органов сильно мешает визуализации структур, расположенных за ними. Однако изменение скорости не всегда сопровождается изменениями звукового сопротивления.

$a \sim \lambda$ – область стохастического рассеяния, описывается дифракционной теорией. Такое рассеяние преобладает во внутренних областях органов и оказывает влияние на отражение УЗ-волн от шероховатых поверхностей.

$a \ll \lambda$ – область рэлеевского рассеяния. Наблюдается преимущественно на красных кровяных тельцах и клетках мягких тканей. Интенсивность такого рассеяния очень слаба и пропорциональна четвертой степени частоты волн.

Физические процессы, обусловленные воздействием ультразвука, вызывают в биообъектах следующие основные эффекты:

- микровибрации на клеточном и субклеточном уровне;
- разрушение биомакромолекул;
- перестройку и повреждение биологических мембран, изменение проницаемости мембран;
- разрушение клеток и микроорганизмов.

Другим типом звуковых волн является инфразвук. Источниками инфразвука могут быть как естественные объекты (море, землетрясение, грозные разряды и др.), так и искусственные (взрывы, автомашины, станки и др.). Инфразвук часто сопровождается слышимым звуком (например, в автомобиле).

Для инфразвука характерно слабое поглощение различными средами, поэтому он распространяется на значительные расстояния. Из-за большой длины волны инфразвук лучше дифрагирует и проникает в помещения, обходя преграды, чем слышимый звук и ультразвук.

5.2. ЗВУКОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛИНИКЕ

Один из самых древних методов звуковых исследований в медицине – аускультация (выслушивание) – известен со II в. до н. э. Для аускультации используют стетоскоп или фонендоскоп. Последний состоит из полой капсулы с передающей звук мембраной, прикладываемой к телу больного, от которой идут резиновые трубки к уху врача. В полой капсуле возникает резонанс столба воздуха, вследствие чего усиливается звучание и улучшается аускультация.

Фонендоскоп используют для аускультации легких (дыхательные шумы, хрипы, характерные для заболеваний); для аускультации сердечной деятельности (изменение тонов сердца и появление шумов); для установления наличия перистальтики желудка и кишечника; для прослушивания сердцебиения плода.

Для одновременного выслушивания больного несколькими людьми используют систему, в которую входит микрофон, усилитель и громкоговоритель или несколько телефонов.

Для диагностики состояния сердечной деятельности применяется метод, близкий к аускультации и называемый фонокардиографией, который заключается в графической регистрации тонов и шумов сердца и их диагностической интерпретации.

Еще один звуковой метод – перкуссия – выслушивание звучания отдельных частей тела при их простукивании. Тело человека можно представить как совокупность газонаполненных (легкие), жидких (внутренние органы) и твердых (кость) объемов. При ударе по поверхности тела возникают колебания, частоты которых имеют широкий диапазон. Из этого диапазона одни колебания погаснут довольно быстро, другие, совпадающие с собственными колебаниями полостей, усилятся и вследствие резонанса будут слышимыми. Усиливаемые тоны соответствуют размеру и положению полости. Опытный врач по тону перкуторных звуков определяет состояние и топографию внутренних органов [26].

5.3. УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА, ТЕРАПИЯ И ХИРУРГИЯ

В отличие от рентгеновских лучей ультразвуковые волны преломляются и отражаются на границах раздела сред с различным акустическим показателем преломления. Однако при определенных размерах объекта в теле человека, сравнимых с длиной волны УЗ-излучения, следует применять законы волновой оптики, т. е. учитывать явления дифракции и интерференции звуковых волн. Структура формируемого изображения в значительной степени определяется интерференционными эффектами, так как УЗ-волны когерентны, а УЗ-приемники чувствительны к амплитуде, а не к интенсивности излучения [16].

В зависимости от частоты ультразвука применяются различные методы визуализации:

- до 300 кГц – биоэхолокация;
- от 0,8 до 15 МГц – УЗ-диагностика. В этом же диапазоне частот проводится УЗ-терапия;
- от 12 МГц до 1 ГГц и выше – акустическая микроскопия.

Разрешающую способность эхо-импульсных УЗ-систем визуализации принято рассматривать отдельно в продольном и поперечном направлениях. Продольное разрешение характеризуется половиной длительности огибающей импульса, измеренной на не-

котором определенном уровне ниже максимума и умноженной на скорость звука; поперечное разрешение характеризуется полной шириной пучка на некотором определенном уровне (обычно 0,5) ниже максимума импульса.

В биотканях возникает дополнительная расходимость и отклонение акустического пучка, связанная с рассеянием волн. Основная же причина искажения акустического сигнала – частотная зависимость затухания, приводящая к уширению пучка и увеличению длительности импульса. Например, при использовании УЗ-преобразователя с частотой 5 МГц, шириной полосы по уровню 6 дБ от 2 до 6 МГц, фокусным расстоянием 10 см и апертурой 2 см полная ширина пучка на половине высоты составляет 3 мм, а после прохождения 5 см в тканях молочной железы – 7 мм.

УЗ-преобразователь – это наиболее важный элемент в ультразвуковых системах формирования изображений. Он преобразует поступающие на него электрические сигналы в акустические волны, а также принимает отраженные акустические волны и преобразует обратно в электрические сигналы. Волновое сопротивление биосред в 3 000 раз больше волнового сопротивления воздуха. Поэтому, для того чтобы ультразвук проник внутрь тела человека (т. е. чтобы исключить воздушный слой), поверхность УЗ-излучателя покрывают слоем масла.

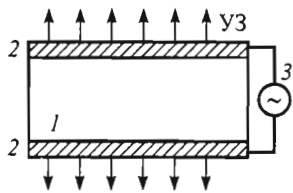


Рис. 5.1. Электромеханический излучатель:
1 – пластина (стержень); 2 – электроды; 3 – генератор

Наибольшее распространение получили электромеханические излучатели, основанные на явлении обратного пьезоэлектрического эффекта (деформации кристаллического диэлектрика при наложении электрического поля) (рис. 5.1). Основная часть УЗ-излучателя – пластина или стержень 1 с хорошо выраженными пьезоэлектрическими свойствами (кварц, сегнетова соль, керамический материал на основе титаната бария и др.). На поверхность пластины в виде проводящих слоев наложены электроды 2. К ним прикладывается переменное электрическое напряжение от генератора 3, при этом пластина 1 начинает вибрировать, излучая механическую волну соответствующей частоты.

В современной сканирующей аппаратуре используют многоэлементные преобразователи с теми же основными принципами конструирования, что и одноэлементные.

Приемники ультразвука создают на основе прямого пьезоэлек-

трического эффекта. Под воздействием механической УЗ-волны возникает деформация кристалла, которая приводит при пьезоэффекте к генерации переменного электрического поля; соответствующее электрическое напряжение может быть измерено (рис. 5.2).

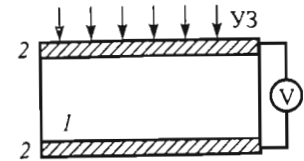


Рис. 5.2. Схема приемника ультразвука:
1 – пластина (стержень); 2 – электроды

Медико-биологические приложения ультразвука делятся на два направления: диагностическое и лечебное.

К первому направлению относятся локационные методы, в которых используется в основном импульсное излучение. Это эхоэнцефалография (определение опухоли и отека головного мозга); УЗ-локация для определения размеров глазных сред; УЗ-кардиография – измерение размеров сердца в динамике. При этом используются несколько методов сканирования (рис. 5.3) – простое линейное, простое секторное, сложное сканирование, при котором излучение формируется посредством наложения нескольких эхограмм, полученных при секторном сканировании.

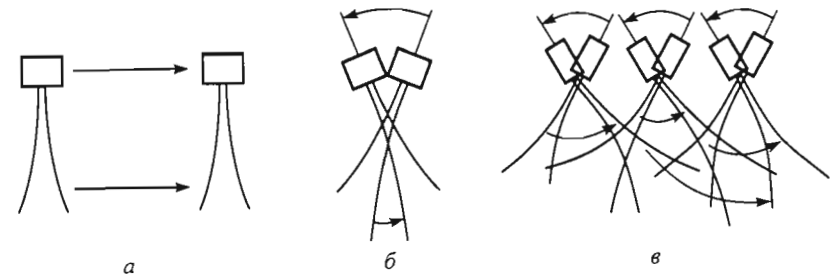


Рис. 5.3. Методы сканирования в эхографии:

а – простое линейное сканирование; б – простое секторное; в – сложное

Простое линейное сканирование требует большой области («окна») доступа в теле пациента, но дает изображение самого высокого качества с расширенным полем зрения через кожные покровы. Простое секторное сканирование можно провести при значительно меньшей области доступа (визуализация сердца или печени через межреберные промежутки и т. д.), но оно сужает поле зрения вблизи поверхности кожи.

Применение ультразвука в медицине связано с особенностями его распространения и характерными свойствами. Как было указано в 5.1, отражение ультразвука на границе двух сред зависит от соот-

ношения их волновых сопротивлений. Ультразвук хорошо отражается на границах мышца – надкостница – кость, на поверхностях полых органов и др. Поэтому можно определить расположение и размер неоднородных включений, полостей, внутренних органов и тому подобное (УЗ-локация). При этом используют непрерывное и импульсное излучение. При непрерывном излучении образуется стоячая волна, формируемая падающей и отраженной от границы раздела волной. В импульсном режиме наблюдают отраженный импульс и измеряют время распространения ультразвука до исследуемого объекта и обратно. Зная скорость распространения ультразвука, определяют глубину залегания объекта.

С диагностической целью по скорости ультразвука находят плотность сросшейся или поврежденной кости. С помощью УЗ-эффекта Доплера изучают характер движения сердечных клапанов и измеряют скорость кровотока. При этом используется непрерывное и импульсное излучение. Области применения ультразвука в клинической диагностике: акушерство, гинекология, обследование органов брюшной полости, сердечно-сосудистой системы и сердца, приповерхностные системы и наружные органы, глаз, мозг, легкие и др.

Ко второму направлению медико-биологического приложения ультразвука относятся ультразвуковая физиотерапия и хирургия. В терапии обычно применяют ультразвук с частотой $\nu = 800$ кГц и средней интенсивностью $\langle I \rangle \leq 1$ Вт/см². Первичным механизмом этой терапии является либо механическое, либо тепловое, либо физико-химическое действие на ткань. Механическое действие представляет собой своего рода микромассаж клеток и тканей. При этом смещение частиц невелико, скорость их движения также небольшая. Тепловое действие основано на глубоком и равномерном прогревании тканей в результате поглощения ими энергии ультразвукового излучения. Физико-химическое действие заключается в изменении хода окислительно-восстановительных процессов, ускоренном расщеплении сложных белковых комплексов до обычных органических молекул, активизации ферментов. Ультразвуковая физиотерапия оказывает обезболивающее, противовоспалительное и тонизирующее действие.

Широкое распространение получил ультрафонофорез – одновременное воздействие на организм ультразвуком и лекарственными препаратами. Ультразвуковые колебания увеличивают проницаемость кожи для частиц лекарственного вещества, нанесенного на кожу.

В хирургии ультразвук применяют как «УЗ-скальпель», способный рассекать и мягкие, и костные ткани. «УЗ-скальпель» режет ткань на границах клеточных мембран за счет высокочастотной энергии. УЗ-остеосинтез – метод «сваривания» поврежденных или трансплантируемых костных тканей с помощью ультразвука. Применение ультразвука при остеотомии (операции по рассечению кости) исключает образование костных сколов, мелких отломков. Ультразвук применяется также в зубоврачебной практике.

5.4. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЗВУКОВЫХ ВОЛН И БЕЗОПАСНОСТЬ

Ученые установили, что на человека оказывают действие ультразвуковые колебания только большой интенсивности. Те, кто попал в зону сильного УЗ-излучения, жалуются на недомогание и легкое головокружение, тошноту. В настоящее время разработаны эффективные методы борьбы с воздействием ультразвука на человека на производстве.

Многолетнее использование ультразвука в медицинской диагностике позволяет утверждать, что УЗ-излучение не оказывает вредного воздействия на пациента.

Исследования в акушерстве показали, что ультразвук при используемых интенсивностях не влияет на эмбрион или организм матери. Однако отсутствие подтверждения опасности применения ультразвука не является доказательством невозможности нанесения вреда. Поэтому ультразвук следует применять в случаях, когда очевидна его медицинская целесообразность.

Подавляющее большинство экспериментальных данных показало отсутствие биоэффектов на генетическом уровне, хотя обнаружено изменение содержания нуклеиновых кислот в семенниках и изменение нуклеинового обмена в коже и внутренних органах белых мышей. Облучение ультразвуком вызывает изменения резистентности эритроцитов и морфологического состава периферической крови, выраженные реакции со стороны кровеносных сосудов и изменение элементов периферической нервной системы; патоморфологические изменения внутренних и внешних органов, расположенных в облучаемой области. Однако все эти изменения обратимы, восстановление происходит на десятые–пятнадцатые сутки после облучения [89].

Важно не допускать нагрева облучаемого участка, так как он может вызвать патологические изменения вплоть до мумификации.

Кавитация обычно возникает в тех случаях, когда используется ультразвук высокой мощности в режиме непрерывного излучения, что связано с механическим воздействием образующихся ударных волн и акустических течений на клеточные мембраны (вплоть до их разрыва), а также с химическими реакциями, инициируемыми высвобождением H_2 и гидроксильных ионов.

Обратимся теперь к инфразвуку. Инфразвук оказывает неблагоприятное влияние на функциональное состояние ряда систем организма: вызывает усталость, головную боль, сонливость, раздражение, тошноту в связи с потерей чувствительности органами равновесия тела, иногда ослабление зрения и др. Некоторые ученые считают, что инфразвук оказывает сильное влияние на психику людей. Предполагается, что первичный механизм действия инфразвука на организм имеет резонансную природу. Частота собственных колебаний тела человека в положении лежа (3...4 Гц), стоя (5...12 Гц), частота собственных колебаний грудной клетки (5...8 Гц), брюшной полости (3...4 Гц) и т. д. соответствует частоте инфразвука [26, 90].

Собственно звук, воспринимаемый ухом человека, может и положительно и отрицательно влиять на человека, животных и растения. Гармоничные музыкальные звуки оказывают положительное воздействие на человека в психоэмоциональном плане. В качестве отрицательного воздействия приведем пример влияния чрезмерного шума в городах, на который жалуется свыше 60 % населения. Из-за него притупляется слух, шум действует на центральную нервную систему и может вызывать разнообразные нарушения: физиологические (усиление сердцебиения, повышенное давление) и психические (ослабление внимания, нервозность). Длительное воздействие шума является одним из факторов, способствующих развитию различных заболеваний.

С другой стороны, абсолютная тишина пугает и угнетает человека, а космонавты считают одним из самых тяжелых испытаний пребывание в сурдокамере – там начинают беспокоить удары сердца, пульс, дыхание и даже шорох ресниц. Эти звуки в условиях абсолютной тишины воспринимаются как очень интенсивные и могут стать причиной серьезных психических расстройств. Успокаивает тот факт, что в природе абсолютная тишина – редкость, а в условиях обычной тишины человек, как правило, отдыхает.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Курс, посвященный формированию базовых знаний по физическим основам взаимодействия высокочастотных (от границы микроволнового до γ -диапазона) электромагнитных излучений (ЭМИ) с биообъектами, занимает особое место в плане подготовки специалистов биотехнического направления. С одной стороны, этот курс углубляет физические представления о воздействиях электромагнитных излучений на живые организмы и поэтому тесно переплетается с фундаментальными физическими и биофизическими дисциплинами. С другой стороны, он затрагивает целый ряд вопросов, которым в дальнейшем будут посвящены специализированные курсы, такие, как теория биотехнических систем (БТС), лазерные медицинские системы (ЛМС), медицинская радиология и др. Каждый из спецкурсов строится в предположении, что студент, глубоко изучивший его, выйдет из стен вуза специалистом по разработке и эксплуатации определенных видов медицинской аппаратуры и будет владеть современными технологиями. Поэтому основополагающий курс необходимо строить концептуально, чтобы будущий разработчик не только умел разрабатывать те или иные приборы или аппараты, но и ясно понимал бы принципы их разработки.

Истекший XX век породил ситуацию, радикально отличную от той, которая существовала в течение многих миллионов лет эволюции живых организмов. Появились мощные антропогенные излучения. Как в оптическом диапазоне (ИК + видимый свет + УФ-излучение), так и в диапазоне ионизирующих излучений возникло множество искусственных источников, интенсивность которых (спектральная и интегральная) существенно превышает интенсивность естественных источников. Повышенный по сравнению с естественным фоном уровень искусственного ЭМИ вблизи поверхности Земли непрерывно растет. Биосфера Земли в соответствии с представлениями о БТС может реагировать на это без изменения своего функционального набора либо перерабатывать антропогенную энергию ЭМИ подобно тому, как это делают растения при фотосинтезе. Век, по-видимому, – слишком малый срок для понимания того, как же поведет себя биосфера Земли в дальнейшем. Чтобы постичь это в XXI веке, необходимо уже сейчас формировать интеллект будущих поколений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Биотехнические системы. Теория и проектирование* / Под ред. В.М. Ахутина. Л.: ЛГУ, 1981.
2. *Калинин С.А. Управление биотехнической системой «Искусственное сердце»*. М.: Изд-во МГТУ, 1994.
3. *Лоцилов В.И., Шукин С.И. Принципы анализа и синтеза биотехнических систем*. М.: Изд-во МГТУ, 1987.
4. *Калинин С.А. Управление биотехническими системами*. М.: Изд-во МГТУ, 1997.
5. *Сивухин Д.В. Общий курс физики. Атомная и ядерная физика: В 2 ч. Ч. 1. Атомная физика*. М.: Наука, 1986.
6. *Биофизика* / Антонов В.Ф., Черныш А.М., Пасечник В.И. и др.; Под ред. В.Ф. Антонова. М.: Арктос-Вика-Пресс, 1996.
7. *Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Основы радиационной биофизики*. М.: Изд-во МГУ, 1982.
8. *Сербант Ю.В. Биологическое действие внешнего β -излучения*. М.: Атомиздат, 1970.
9. *Презежев А.В., Тучин В.В., Шубочкин Л.П. Лазерная диагностика в биологии и медицине*. М.: Наука, 1989.
10. *Моисеев А.А., Иванов В.И. Справочник по дозиметрии и радиационной гигиене*. М.: Энергоатомиздат, 1990.
11. *Иванов В.И. Курс дозиметрии*. М.: Энергоатомиздат, 1988.
12. *Черкасов Е.Ф., Кириллов В.Ф. Радиационная гигиена*. М.: Медицина, 1974.
13. *Павлов А.Н. Электромагнитные поля и жизнедеятельность*. М.: Изд-во МИЭПУ, 1998.
14. *Капчигашев С.П. Физико-химические и молекулярно-клеточные эффекты ионизирующих излучений*. Обнинск: ИАТЭ, 1996.
15. *Шаров Ю.Н., Шубин Н.В. Дозиметрия и радиационная безопасность*. М.: Энергоатомиздат, 1991.
16. *Физика визуализации изображений в медицине: В 2 т. Т. 1.* / С. Уэбб, Д. Данс, С. Эванс и др.; Под ред. С. Уэбба / Пер. с англ. под ред. Л.В. Бабина, А.П. Сарвазяна. М.: Мир, 1991.
17. *Руднев М.И. Влияние малых доз радиации на здоровье населения*. Киев: Общество «Знание» Украины, 1991.
18. *Dudkin A.O., Bozhko Y.Y., Drobchenko E.A., Zamuraev I.N., Peymer S.I. Influence of X-Ray and Electromagnetic Impulses on Nervous System// Preprint 2186. Росс.акад.наук, Петерб.ин-т яд. физики, Гатчина, 1998.*
19. *Старков О.В., Васильева А.Н. Радиационная биология и защита от излучений*. Обнинск: ИАТЭ, 2000.
20. *Дозовая зависимость цитогенетических повреждений и адаптивный ответ клеток млекопитающих при действии малых доз ионизирующего облучения / Шмакова Н.Л., Абу Зенд О., Фадеева Т.А. и др. // Препринт ОИЯИ. Дубна, 1999.*

21. *Хуг О., Келлерер А. Стохастическая радиобиология: Пер. с нем.* М.: Атомиздат, 1969.
22. *Сапежецкий И.И. Биополимеры: кинетика радиационных и фотохимических превращений*. М.: Наука, 1988.
23. *Козлов В.Ф. Справочник по радиационной безопасности*. М.: Энергоатомиздат, 1991.
24. *Радиация. Дозы, эффекты, риск: Пер. с англ.* М.: Мир, 1988.
25. *Комочков М.М. Формулы зависимости доза – стохастический радиобиологический эффект (первое приближение). Сообщение ОИЯИ. Дубна, 1996.*
26. *Ремизов А. Н. Медицинская и биологическая физика*. М.: Высшая школа, 1999.
27. *Рентгенотехника: Справочник. Кн. 1 и 2 / Ред. В.В. Клюев*. М.: Машиностроение, 1980.
28. *Элтон Р. Рентгеновские лазеры / Пер. с англ. В.Е. Левашова, О.И. Толстихина под ред. А.В. Виноградова*. М.: Мир, 1994.
29. *Гиллет Дж. Фотофизика и фотохимия полимеров. Введение в изучение фотопроецессов в макромолекулах / Пер. с англ. М.Г. Гольдфелда; Под ред. М.В. Алоримова*. М.: Мир, 1988.
30. *Сивухин Д.В. Курс общей физики: В 4 т. Т. 4. Оптика*. М.: Наука, 1986.
31. *Владимиров Ю.А., Рощупкин Д.И., Потапенко А.Я., Деев А.И. Биофизика*. М.: Медицина, 1983.
32. *Агроскин Л.С., Папаян Г.В. Цитофотометрия. Аппаратура и методы анализа клеток по их светопоглощению*. Л.: Наука, 1977.
33. *Ларюшин А.И., Илларионов В.Е. Низкоинтенсивные лазеры в медико-биологической практике*. Казань: АБАК, 1997.
34. *Ливитин И.Б. Применение инфракрасной техники в народном хозяйстве*. Л.: Энергоиздат, 1981.
35. *Яворский Б.М., Детлаф А.А. Справочник по физике*. М.: Наука, 1985.
36. *Рубин А.Б. Биофизика: В 2 т. Т. 2. Биофизика клеточных процессов. 2-е изд.* М.: Книжный дом «Университет», 2000.
37. *Александров Э.Л., Израэль Ю.А., Кароль И.Л., Хргиан А.Х. Озонный щит Земли и его изменения*. СПб.: Гидрометеоздат, 1992.
38. *Мизун Ю.В., Мизун Ю.Г. Озонные дыры и гибель человечества*. М.: Вече, 1998.
39. *Итоги науки и техники. Сер. Современные проблемы лазерной физики. Т. 3. Фотодинамическое воздействие лазерного излучения на биомолекулы и клетки. Механизмы фотодинамического воздействия на молекулярном и клеточном уровне / Ред. С.А. Ахманов, Е.Б. Черняева*. М.: ВИНТИ, 1990.
40. *Камалов В.Ф., Степанова Н.В., Черняева Е.Б., Чикишев А.Ю. Избирательное воздействие лазерного излучения на раковые клетки и лазерная спектроскопия клетки (обзор) // Квантовая электроника. 1985. Т. 12. № 10. С. 1997–2023.*
41. *Stepanova N.V., Zhorina L.V., Chernyaeva E.B. Likely mechanism of the Hydrophobic sensitizer accumulation in tumor cells: Mathematical Models // Photochemistry and Photobiology, 1996, 64 (5), p. 832–837.*
42. *Волькенштейн М.В. Биофизика. 2-е изд.* М.: Наука, 1988.
43. *Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология: В 3 т. / Пер. с англ. под ред. Р. Сопера*. М.: Мир, 1993.
44. *Клейтон Р. Фотосинтез: Физические механизмы и химические модели / Пер. с англ. А.Ю. Семенова, С.К. Чаморовского; Под ред. А.Ю. Борисова*. М.: Мир, 1984.
45. *Рубин А.Б. Лекции по биофизике*. М.: Изд-во МГУ, 1994.

46. *Калитеевский Н.И.* Волновая оптика. М.: Высшая школа, 1978.
47. *Криксунов Л.З.* Справочник по основам ИК техники. М.: Сов. радио, 1978.
48. Тепловидение в медицине // Сборник трудов конференции / Под ред. *М.М. Мирошникова*. Л.: ГОИ, 1990.
49. *Возралик В.Г., Возралик М.В., Голованова М.В.* и др. Возможности тепловизионной рефлексодиагностики групп риска сердечно-сосудистых заболеваний // Труды Всесоюз. конференц. «Тепловизионная медицинская аппаратура и практика ее применения», ТеМП-88. С. 20–21.
50. *Биофизика*. Антонов В.Ф., Черныш А.М., Пасечник В.И. и др. М.: Владос, 1999.
51. *Шен И.Р.* Принципы нелинейной оптики / Пер. с англ. под ред. С.А. Ахманова. М.: Наука, 1989.
52. *Прикладная лазерная медицина: Учеб. и справоч. пособие* / Под ред. Х.-П. Берлиена, Г.Й. Мюллера. М.: Интерэксперт, 1997.
53. *Рогаткин Д.А.* Лазерная клиническая диагностика как одно из перспективных направлений биомедицинской радиоэлектроники // Биомедицинская радиоэлектроника. 1998. № 3. С. 34–41.
54. *Госсорг Ж.* Инфракрасная термография: Основы, техника, применение / Пер. с фр. Н.В. Васильченко; Под ред. Л.Н. Курбатова. М.: Мир, 1988.
55. *Криксунов Л.З., Падалко Г.А.* Тепловизоры. Киев: Техника, 1987.
56. *Ткаченко Ю.А., Голованова М.В., Овечкин А.М.* Клиническая термография. Обзор основных возможностей. М.: Медицина, 1999.
57. *Robinson K.* Photodynamic therapy reaches beyond cancer treatment // Biophotonic International, January/February, 1999, p. 42–47.
58. *B.G. de Groot, L.W.M.M. Terstappen, G.J. Puppels, J. Greve* Light-Scattering Polarization measurements as a new parameter in flow cytometry // Cytometry, 8, 1987, p. 539–544.
59. *Keuper M.* The realization of a prototype for a miniature commercial analyzer // Diploma work, Technical University of Twente, The Netherlands, 1995.
60. *Итоги науки и техники*. Сер. Биотехнология. Т. 26. Биосенсоры. М.: ВИНТИ, 1990.
61. *Панковский Д.Б., Савицкий А.Б., Ярополов А.И.* Оптические биосенсоры. Прикладная биомеханика и микробиология. Т. 26. Вып. 4. 1990. С. 435–444.
62. *Всеволодов Н.Н.* Биопигменты – фоторегистраторы. Фотоматериал на бактериородопсине. М.: Наука, 1988.
63. *Биомолекулярная электроника и проблема самосборки надмолекулярных структур* // Сб. научных трудов. Пушино, 1987.
64. *Плетнев С.Д.* Лазеры в клинической медицине. М.: Медицина, 1996.
65. *Низкоинтенсивная лазерная терапия* / Под общ. ред. С.В. Москвина, В.А. Буйлина. М.: ТОО «Фирма «Техника», 2000.
66. *Handbook of optical biomedical diagnostics* / Valery V. Juchin, editor. p. cm. – SPIE Press Monograph; v. PM 107. 2002.
67. *Dorshel K., Muller G.* How to define dosimetry for laser treatment. SPIE Institute Series, 1989. V. IS5, p. 10.
68. *Muller G., Sliney D.H.* Dosimetry of laser radiation in medicine and biology. SPIE Institute Series, 1989. V. IS5, p.38.
69. *Letokhov V.S.* Laser light interaction with biomolecules, cells and tissue. SPIE Institute Series, 1989. V. IS5, p.2.
70. *Захаров С.Д., Иванов А.В.* Светокислородный эффект в клетках и перспективы его применения в терапии опухолей // Квантовая электроника. 1999. Т. 29. № 3. С. 192.
71. *Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии* / В.М. Чудновский, Г.Н. Леонова, С.А. Скопинов и др. Владивосток: Дальнаука, 2002.
72. *Пономарев О.А., Фесенко Е.Е.* Свойства жидкой воды в электрических и магнитных полях // Биофизика. 2000. Т. 45. № 3. С. 389.
73. *Popp F.A.* Photon Storage of Biological Systems. // Electromagnetic Bio-Information, eds. F.A. Popp, U. Warnke, H. Koenig and W. Peschka. Muenchen: Urban & Schwarzenberg, 1989, p. 144–167.
74. *Минаев В.П.* О возможном механизме влияния когерентности лазерного излучения на взаимодействие с биотканью при НИЛТ // Использование лазеров для диагностики и лечения заболеваний: Научно-информационный сборник. М.: ЛАС, 1996. С. 5.
75. *Кару Т.Й., Календо Г.С., Лобко В.В.* Зависимость биологического действия низкоинтенсивного света на клетки от параметров излучения – когерентности, дозы и длины волны // Изв. АН СССР. Сер. физ. 1983. Т. 47. С. 2017.
76. *Козлов В.И., Буйлин В.А., Самойлов Н.Г.* Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. Самара–Киев: Здоровье, 1993.
77. *Фурзиков Н.П.* Тепловая модель разрушения биотканей // Методы лазерной биофизики и их применение в медицине. Тарту: Изд-во ТГУ, 1989. С. 5.
78. *Дмитриев А.К., Фурзиков Н.П.* Механизм лазерной абляции биотканей // Изв. АН СССР. Сер. физ. 1989. Т. 53. С. 1105.
79. *Есеналиев Р.О., Ораевский А.А., Летохов В.С.* и др. Исследование процесса лазерной абляции тканей атеросклеротических сосудов при различных условиях облучения // Изв. АН СССР. Сер. физ. 1990. Т. 54. С. 1586.
80. *Скобелкин О.К.* Лазерная хирургия. М.: Медицина, 1989.
81. *Бейлин Е.Н., Дмитриев А.К., Лехциер Е.Н.* Пиковые давления и температуры при УФ-лазерной абляции роговицы // Изв. АН СССР. Сер. физ. 1990. Т. 54. С. 1581.
82. *Тучин В.В.* Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. Саратов: Изд-во СГУ, 1998.
83. *Метрологическое обеспечение здравоохранения в Москве: Нормативно-технические документы*. М.: Изд. ГУП «Гормедтехника», 1997.
84. *Ромашков А.П., Тихомиров С.В.* Состояние и перспективы метрологического обеспечения лазерной медицины и лазерной техники // Измерительная техника. 1998. № 9. С. 41.
85. *Рогаткин Д. А.* Лазерная клиническая диагностика как одно из перспективных направлений биомедицинской радиоэлектроники // Биомедицинская радиоэлектроника. 1998. № 3. С. 34.
86. *Романовский Ю.М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С.* Математическая биофизика. М.: Наука, 1984.
87. *Пригожин И., Стенгерс И.* Порядок из хаоса. Новый диалог человека с природой. Пер. с англ. М.: Эдиториал УРСС, 2000.
88. *Эбеллинг В., Энгель А., Файстель Р.* Физика процессов эволюции. Синергетический подход: Пер. с нем. М.: Эдиториал УРСС, 2001.
89. *Биологическое действие УЗ- и сверхвысоких электромагнитных колебаний*. Киев: Наукова думка, 1964.

90. Хорбенко И.Г. Звук, ультразвук, инфразвук. М.: Знание, 1986.
91. Бекешко А.Н., Змиевской Г.Н., Рубинский Н.В. Оперативный контроль мощности лазерного излучения в волоконном световоде // Тезисы докладов XLIV Всесоюзной научной сессии, посвященной Дню радио: М., 1989.
92. Фотодинамическая терапия // Российский биотерапевтический журнал. 2003. № 4. Т. 2.
93. Меняев Ю.А. Разработка фотоультразвуковой биотехнической системы для обработки инфицированных ран: Дис. ... канд. техн. наук. М.: МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2004.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	5
Принятые обозначения	6
Вводная часть	11
В1. Биотехнические системы	11
В2. Волновые и квантовые свойства электромагнитного излучения. Структура энергетических уровней атомов и молекул	15
В3. Шкала электромагнитных волн. Краткие сведения о действии электромагнитного излучения на биологические объекты и системы	23
В4. Особенности лазерного излучения	32
В5. Звуковые колебания и волны	34
1. Взаимодействие ионизирующих излучений с биообъектами.	
Понятие о радиобиологии	36
1.1. Виды ионизирующего излучения и его источники.....	36
1.2. Дозиметрия ионизирующего излучения	41
1.3. Дозиметрические приборы	44
1.4. Действие различных источников ионизирующего излучения на население	45
1.5. Взаимодействие рентгеновского излучения с веществом.....	48
1.6. Физико-химические эффекты действия ионизирующего излучения. Биодействие ионизирующего излучения	52
1.7. Принципы количественной радиобиологии	64
1.8. Репаративные процессы. Биологическое действие малых доз ионизирующего излучения	68
2. Использование ионизирующего излучения в терапии и диагностике	71
2.1. Применение рентгеновского излучения в медицине	71
2.2. Подбор рентгеновской аппаратуры для оптимизации изображения различных биоструктур	72
2.3. Томография. Радионуклидная, лучевая и лазерная диагностика и терапия	77

3. Взаимодействие ультрафиолетового, видимого и инфракрасного излучения с биообъектами.	
Понятие о фотобиологии и фотомедицине	83
3.1. Поглощение и рассеяние света веществом	83
3.2. Механизмы передачи энергии при переходах между синглетными и триплетными состояниями молекулы	88
3.3. Понятие о фотобиологических процессах	90
3.4. Элементарные фотофизические и фотохимические процессы	92
3.5. Классификация и стадии фотобиологических процессов	94
3.6. Поглощение и люминесценция биомолекул	97
3.7. Оптические свойства биотканей	108
3.8. Биологическое действие электромагнитного излучения оптического диапазона	111
3.9. Взаимодействие ультрафиолетового излучения с биообъектами	112
3.10. Фотосенсибилизация. Принципы фотодинамической терапии	117
3.11. Фотосинтез как пример преобразования световой энергии биообъектами	124
3.12. Фоторегуляторные системы: механизм действия, виды ответных реакций на освещение	132
3.13. Зрение как реакция на действие электромагнитного излучения оптического диапазона	135
3.14. Свойства инфракрасного излучения	149
4. Использование электромагнитного излучения оптического диапазона в терапии и диагностике	166
4.1. Гелиотерапия. Источники оптического излучения.....	166
4.2. Применение лазеров в биомедицине для диагностики. Флуоресцентная диагностика	167
4.3. Свето- и лазеротерапия. Лазерная хирургия	171
4.4. Понятие о дозиметрии неионизирующих излучений	191
4.5. Использование инфракрасного излучения	206
4.6. Методы контроля и измерения тепловых характеристик биообъектов. Тепловидение	208
4.7. Понятие о биомолекулярной электронике. Перспективы создания биочипов, биосенсоров, биоЭВМ на основе биофототехнических устройств	214

5. Взаимодействие звуковых волн с биообъектами	220
5.1. Распространение звуковых волн в биосредах	220
5.2. Звуковые методы исследования в клинике	224
5.3. Ультразвуковая диагностика, терапия и хирургия	225
5.4. Биологическое действие звуковых волн и безопасность	229
Заключение	231
Список литературы	232

Учебное издание

Биомедицинская инженерия в техническом университете

**Лариса Валерьевна Жорина
Григорий Николаевич Змиевской**

**ОСНОВЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФИЗИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ
С БИОЛОГИЧЕСКИМИ ОБЪЕКТАМИ**

Воздействие ионизирующего и оптического излучения

Редактор *Н.Г. Ковалевская*
Корректор *О.В. Калашикова*
Технический редактор *Н.В. Быкова*
Художник *Н.Г. Столярова*
Компьютерная верстка *О.В. Беляевой*

Оригинал-макет подготовлен
в Издательстве МГТУ им. Н.Э. Баумана

Санитарно-эпидемиологическое заключение
№ 77.99.02.953.Д.005683.09.04 от 13.09. 2004 г.

Подписано в печать 03.03.2006. Формат 60×90/16.

Печать офсетная. Бумага офсетная.

Печ. л. 15. Уч.-изд. л. 14,23. Тираж 1000 экз.

Заказ № 3062

Издательство МГТУ им. Н.Э. Баумана
105005, Москва, 2-я Бауманская, 5

Отпечатано с оригинал-макета
в ГУП ППП «Типография «Наука»
121099, Москва, Шубинский пер., 6

ISBN 5-7038-2764-7



9 785703 827642