АКУСТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том XXXIII 1987 Вып. 2

УДК 534.232

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛАЗЕРНО-АКУСТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В ВОДЕ И ИХ ВЛИЯНИЯ НА КЛЕТОЧНЫЕ СТРУКТУРЫ

Бейлин Е. Н., Буянов-Уздальский А. Ю., Жаров В. П., Лощилов В. И., Мишаков Г. В., Чекалин С. В.

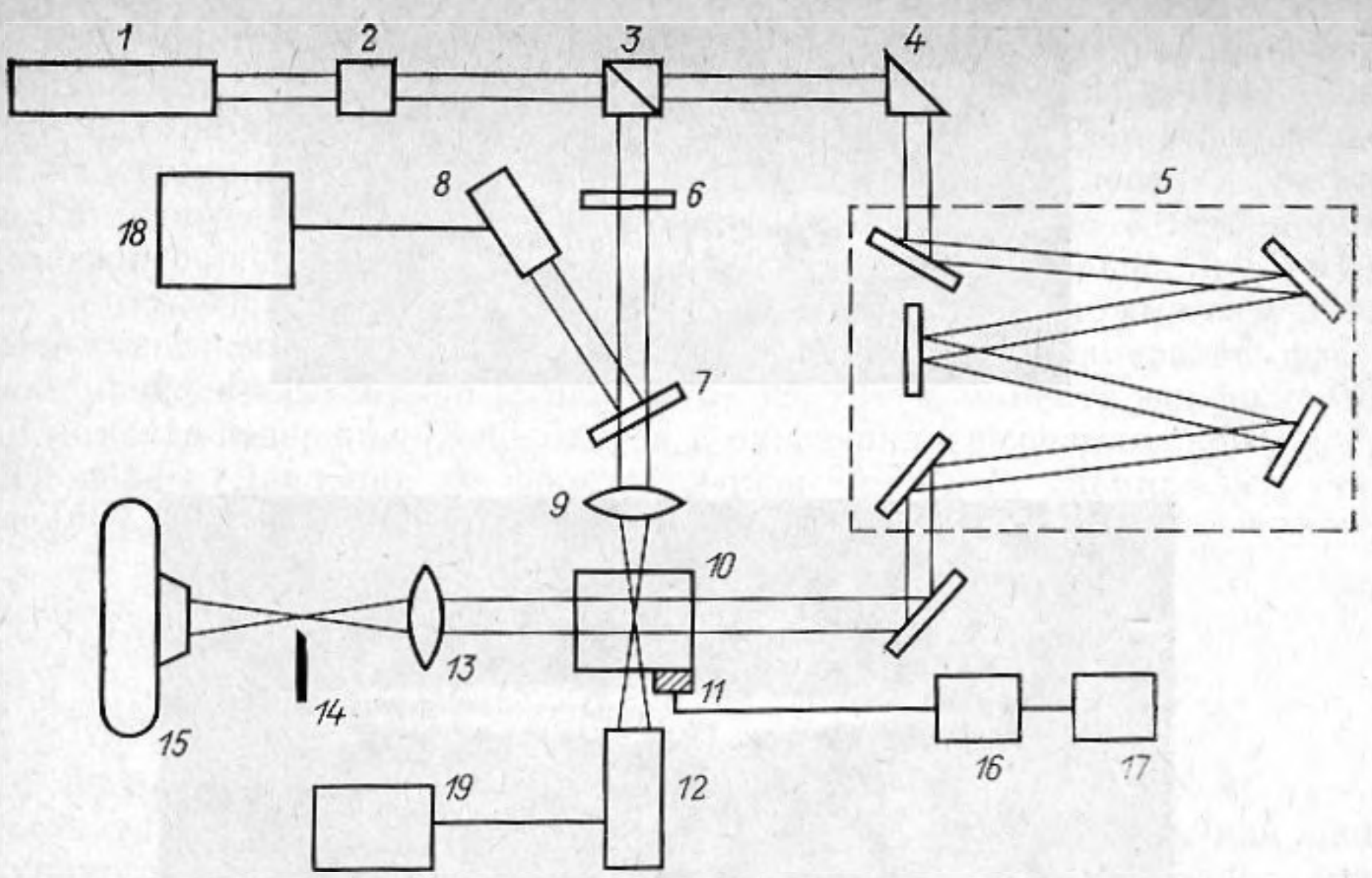
В статье отмечается важная роль акустических эффектов при действии мощного импульсного лазерного излучения на биологические объекты. Приведены результаты исследования динамики образования ударных волн в воде при облучении ее лазерными импульсами пикосекундной и наносекундной длительности теневым и оптико-акустическим методами. Приведена схема экспериментальной установки. Сделаны оценки влияния лазерного излучения и вызванных им акустических возмущений на повреждение клеточных структур. Предложено использование лазерно-акустических эффектов для диагностики в офтальмологии и при разрушении почечных камней.

Воздействие мощного лазерного излучения на биологические среды может сопровождаться многими физическими эффектами, включая тепловой нагрев, ионизацию, образование свободных радикалов, испарение, оптический пробой, кавитацию, образование акустических волн и т. п. [1]. Не все эти эффекты к настоящему времени достаточно исследованы, но уже сейчас можно отметить важную роль, которую играют некоторые из них в биомедицинских применениях лазеров. Например, тепловая коагуляция используется в офтальмологии для операции на сосудах глазного дна, а лазерное разрушение используется для лечения открытоугольной глаукомы (лазерная предэктомия), мягких катаракт, кист радужной оболочки и т. п. [2]. Ряд глазных операций сводится к своего рода лазерному проколу, т. е. лазерному разрушению некоторых структур глаза (перфорация). Например, при лечении глаукомы разрушается определенная часть трабекулярного переплета, чтобы восстановить нормальное внутриглазное давление.

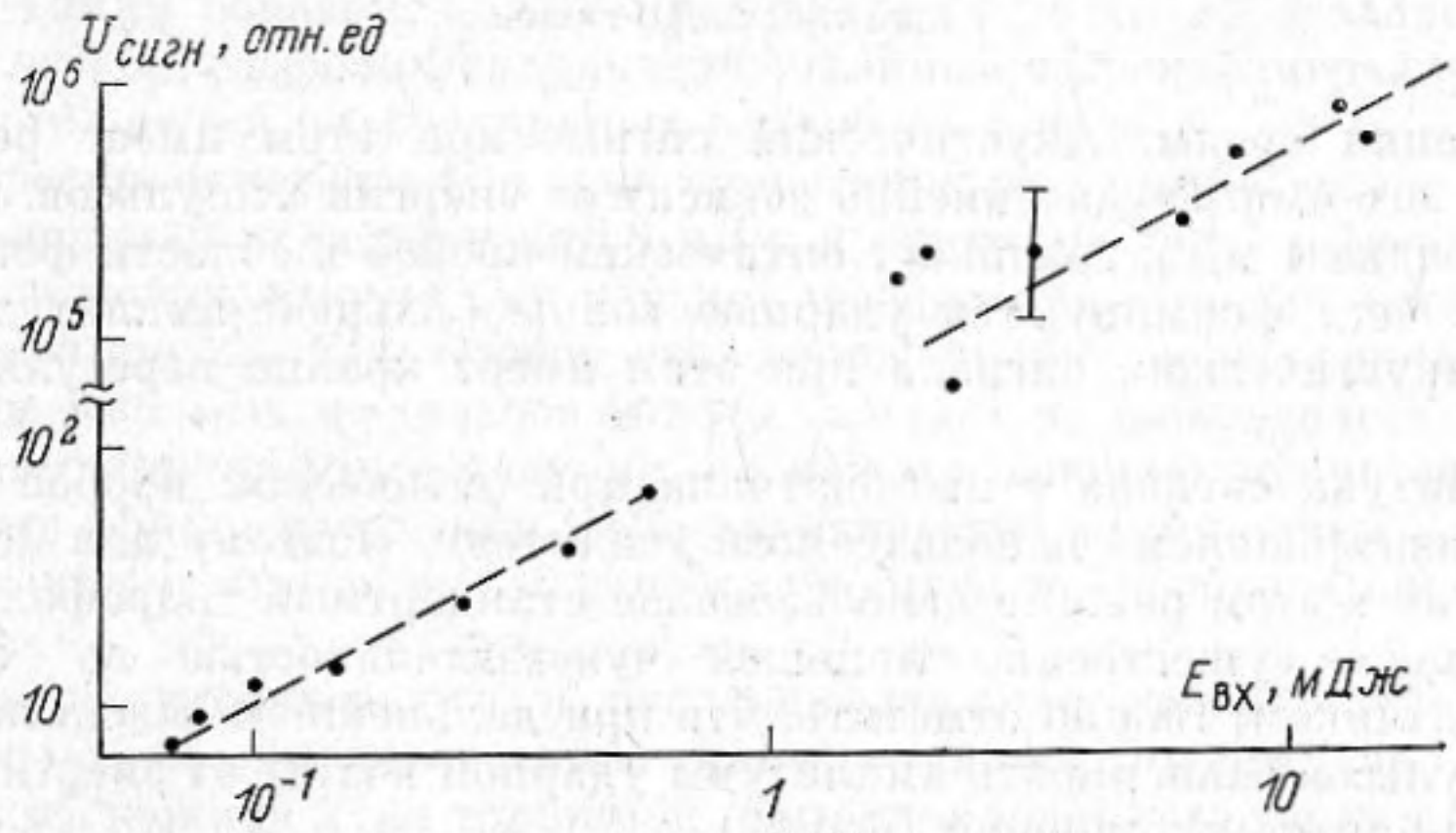
Повреждение биологической ткани лазерным излучением может происходить вследствие различных процессов, в том числе ударных волн, возникающих из-за быстрого расширения среды в результате поглощения короткого светового импульса. При некоторой энергии амплитуда этих волн становится достаточной для разрыва химических связей и повреждения биологических тканей. Так, например, в [3] был продемонстрирован разрыв вируса табачной мозаики ударной волной, индуцированной лазером, и сообщалось также о серьезных повреждениях внутренних органов подопытных животных ударными волнами, возникающими при поглощении мощного лазерного импульса в тонком слое. Акустические и им сопутствующие эффекты могут быть одной из причин послеоперационного повышения внутриглазного давления. Тем не менее полной ясности в вопросе о роли удрных волн в разрушении биологической ткани при лазерном воздействии нет.

В настоящей работе исследовалось воздействие лазерно-индуцированных ударных волн на модельную систему — свежеснятую кожицу лука, помещенную в кювету с дистиллированной водой. Вначале исследовались параметры ударных волн в воде без образца, затем — воздействие этих волн на образец.

Схема экспериментальной установки приведена на фиг. 1. Использовались лазеры на $\lambda=1{,}06$ мкм двух типов: с длительностью импульса 10 нс и 30 пс, максимальной энергией в импульсе 50 и 8 Мдж соответственно. Часть излучения лазера фокусировалась в кювету 3,5 см линзой в пятно диаметром 150 мкм, другая часть после удвоения частоты на кристалле



Фиг. 1. Схема экспериментальной установки: *1* – лазер; *2* – кристалл КДР; *3* – призма Глана, *4* – поворотная призма; *5* – линия оптической задержки; *6* – фильтр КС-19; *7* – плоскопараллельная пластинка; *8* – термостолбик; *9* – фокусирующая линза с f=3,5 см; *10* – измерительная ячейка; *11* – пьезодатчик; *12* – термостолбик; *13* – объектив «Гелиос 44-2»; *14* – визуализирующий нож; *15* – фотокамера «Зенит»; *16* – предусилитель; *17* – осциллограф; *18, 19* – блоки регистрации

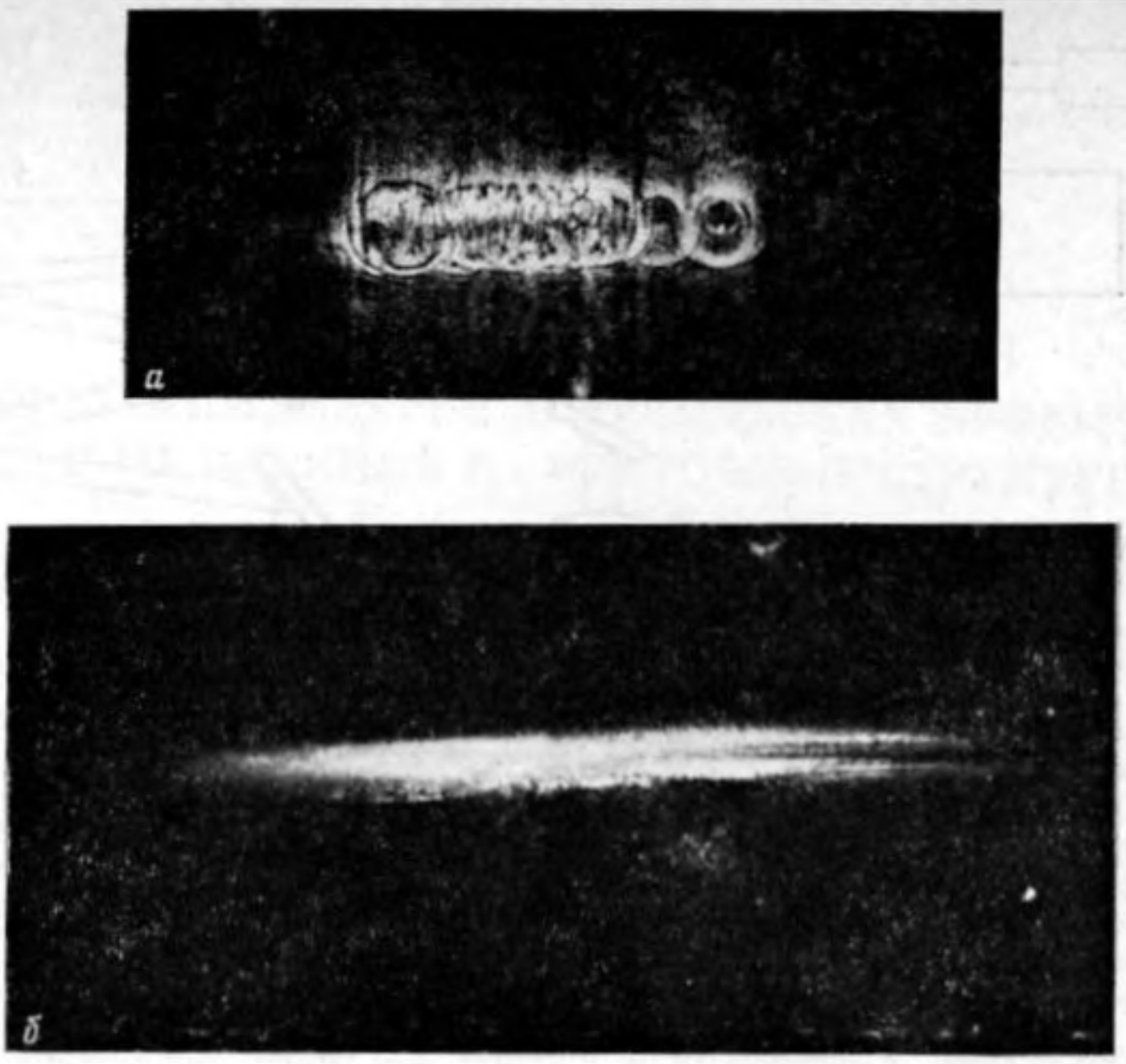


Фиг. 2. Зависимость амплитуды акустического сигнала пьезодатчика от энергии импульсов наносекундного лазера

КДР и соответствующей оптической задержки использовалась для визуализации ударных волн шлирен-методом [4, 5]. Меняя оптическую задержку между возбуждающим и зондирующим импульсами, можно измерить среднюю скорость распространения ударных волн и оценить давление в них.

Одновременно с регистрацией ударных волн измерялась энергия падающего и прошедшего через кювету излучения с помощью термостолбиков. Это позволяло наблюдать соответствующие зависимости от входной энергии, определять пороги появления ударных волн, а также измерять уровень поглощения лазерного излучения в воде. Для исследования лазерно-индуцированных ударных волн, создаваемых 10 нс импульсом, кроме теневого метода применялась также пьезоакустическая регистрация [6].

На фиг. 2 приведены зависимость амплитуды акустических волн от энергии лазерных импульсов длительностью 10 нс. В области относительно малых энергий не выше 1 мДж доминирует тепловой механизм генерации звука, вызванный безызлучательной релаксацией энергии лазерного



Фиг. 3. Теневые снимки ударных волн, вызванных наносекундным (*а*) и пикосекундным (*б*) лазерными импульсами. Энергия в импульсе в случае (*а*) 14,9 мДж, в случае (*б*) 5 мДж. Задержка между возбуждающими и зондирующими импульсами в шлирен-схеме в обоих случаях 75 нс. Лазерный луч падает слева

возбуждения среды. Акустический сигнал при этом имеет регулярную форму и его амплитуда линейно зависит от энергии импульсов. При энергиях порядка 1 мДж возникает оптический пробой в области фокуса, в результате чего формируются ударные волны большой амплитуды [7, 8]. Форма акустического сигнала при этом имеет крайне нерегулярный характер.

Амплитуда сигнала с пьезодатчика при оптическом пробое ограничивалась «насыщением» используемого усилителя. Поэтому для исключения искажений в этом режиме использовался стандартный гидрофон без предусилителя с существенно меньшей чувствительностью по сравнению с пьезодатчиком. Важно отметить, что при дальнейшем возрастании энергии импульсов зависимость амплитуды ударной волны от энергии импульса также близка к линейной (фиг. 2).

Таким образом, пьезоэлектрическая регистрация акустических эффектов в конденсированных средах на основе амплитудных и фазовых методов селекции позволяет определить механизм оптической генерации звука в жидкостях. Такую технику весьма перспективно использовать для исследования и контроля характера взаимодействия лазерного излучения с биологическими средами, что важно, например, в лазерной хирургии глаза.

На фиг. 3 представлены теневые снимки ударных волн для наносекундного (*а*) и пикосекундного (*б*) лазерных импульсов. Треки на снимках представляют собой суперпозицию сферических волн, возникающих в точках по ходу луча. При примерно равных энергиях длина треков в случае пикосекундного импульса в несколько раз больше, чем в случае наносекундного импульса.

Пороговая энергия появления ударных волн для наносекундного импульса составляла 1,3±0,15 мДж и была довольно нерегулярна, что связано, по-видимому, с поглощением излучения на частицах примесей, взвешенных в воде. Интересно отметить, что диэлектрический пробой возникал при несколько больших энергиях (пороговая энергия 3,6 мДж). Порог появления ударных волн для 30 пс импульсов составлял 0,26±0,05 мДж.

В обоих случаях при пороговой энергии треки на теневых фотографиях стягивались в одну точку, совпадающую с фокусом линзы. При увеличении энергии для наносекундного импульса трек удлинялся от точки фокуса навстречу лучу, тогда как для пикосекундного импульса — в обе стороны от фокуса. Такое поведение, по-видимому, связано с особенностями самофокусировки лазерных импульсов различной длительности [5, 9].

Теневые снимки, сделанные с различными временными задержками, позволили оценить скорость ударных волн. Для этого измерялось расстояние, пройденное ударной волной за 37 нс, т. е. с момента задержки 38 нс, до момента задержки 75 нс, откуда и определялась средняя скорость ударной волны. Давление на фронте ударной волны P_1 оценивалось, согласно [10] из уравнений (1) и (2):

$$u_s - 1{,}483 = 35{,}306 \lg \left(1 + \frac{u_p}{S{,}190}\right), \tag{1}$$

$$P_1 = P_0 + \rho_0 u_s u_p, \tag{2}$$

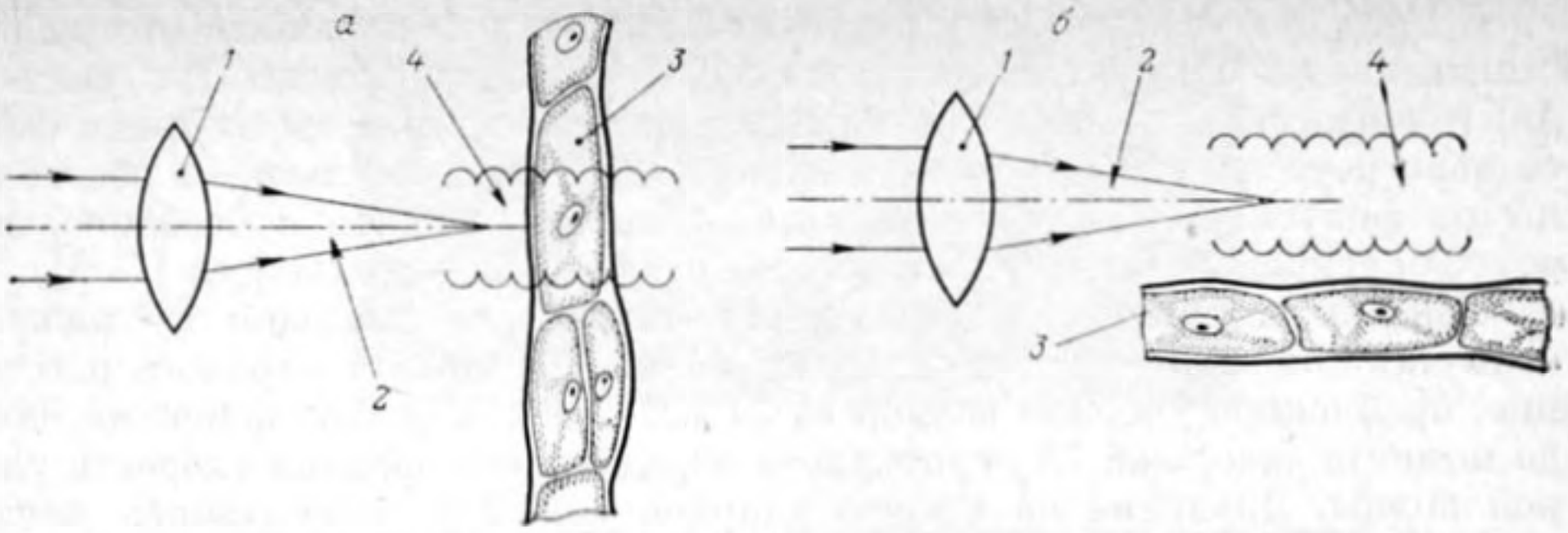
где P_0, ρ_0 — давление и плотность среды перед ударной волной; u_s — скорость ударной волны, u_p — скорость частиц среды. Скорость для наносекундного и пикосекундного импульса с энергией 10 мДж оказалась равной 1900±200 м/с и 3200±200 м/с соответственно, а максимальная амплитуда ударных волн, $4 \cdot 10^3$ и $2{,}8 \cdot 10^4$ атм соответственно. Зависимость поглощенной энергии от входной в обоих случаях оказалась линейной с точностью до погрешности измерений. Отношение $E_{вых}/E_{вх}$ для излучения наносекундной длительности равно 0,7, что соответствует линейному поглощению воды, для излучения пикосекундной длительности $E_{вых}/E_{вх}=0{,}08$. ($E_{вх}$ и $E_{вых}$ — энергия импульсов на входе и выходе кюветы с водой длиной 1,8 см.) Таким образом, хотя в пределах от 1 до 15 мДж зависимость от энергии линейна в обоих случаях, нелинейные эффекты играют основную роль в поглощении пикосекундных импульсов в воде.

Интересно отметить, что для наносекундных импульсов в диапазоне энергии начиная от пороговой 3,6 мДж и примерно до 22 мДж оптический пробой наблюдался почти при каждом лазерном «выстреле», тогда как при энергиях выше 22 мДж пробой становился крайне нерегулярным. В случае пикосекундных импульсов такого явления не наблюдалось. Одной из возможных причин этого явления, по нашему мнению, является расфокусировка лазерного излучения из-за акустических возмущений в среде, что препятствует достижению плотности мощности, необходимой для пробоя [11].

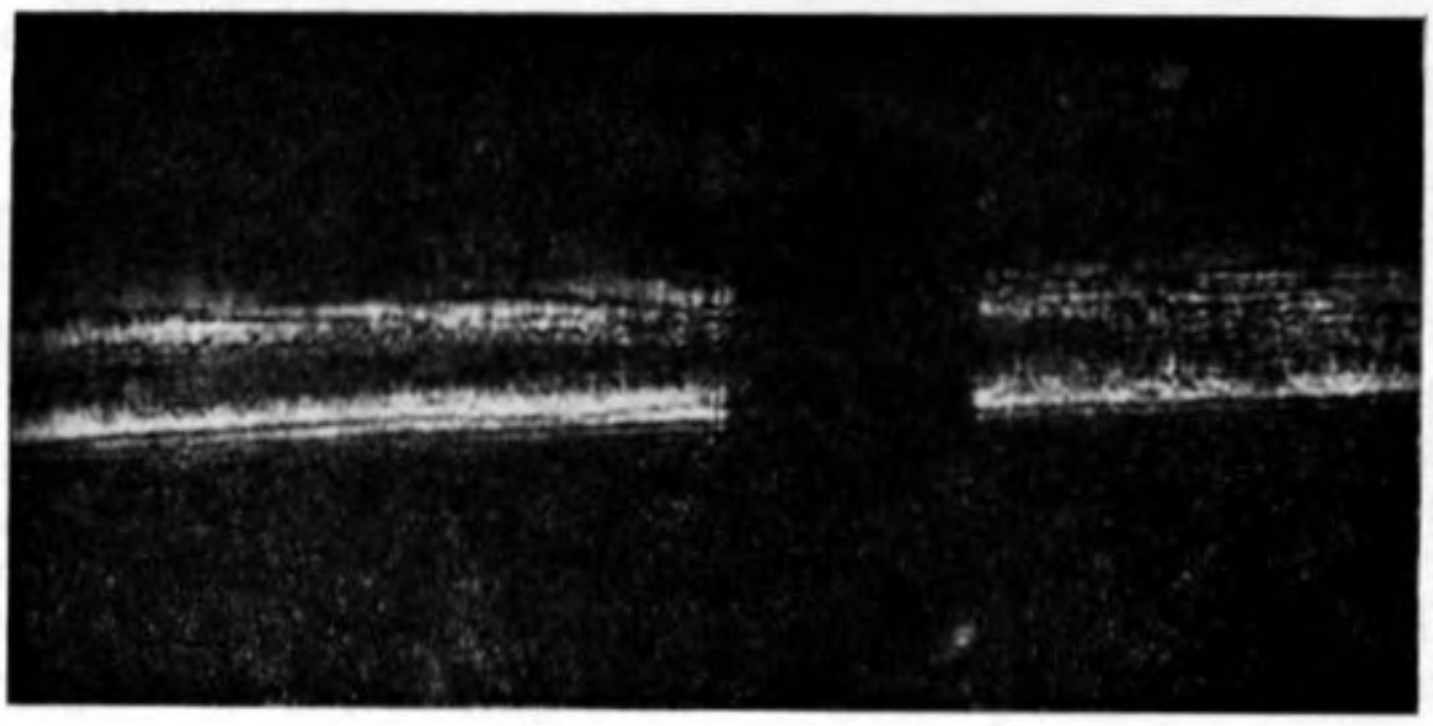
Объектом исследования в экспериментах по лазерно-акустическому воздействию на биологические ткани служила прозрачная (для $\lambda=1{,}06$ мкм) кожица лука толщиной примерно 45 мкм, которая помещалась в ту же кювету с водой. Геометрия облучения объекта приведена на фиг. 4. Повреждение образца (перфорация) наблюдалось только в области фокуса линзы (фиг. 4, *а*). Отверстия, пробитые в объекте при его размещении в воде, имели рваные отогнутые наружу края мембран клеток. Характерный размер отверстий 70—110 мкм.

Пороги перфорации в воде оказались равными 3±1 мДж для пикосекундных и 7±1 мДж для наносекундных импульсов, что существенно превышает порог возникновения ударных волн. Эти факты свидетельствуют о неосновной роли ударных волн в процессе перфорации. Тот же вывод можно сделать и в отношении процесса пробоя.

В экспериментах наблюдались теневые картины, когда искра пробоя и ударные волны «пронзали» (фиг. 5) образец, тем не менее никаких макроскопических повреждений не было обнаружено. Для исследования влияния многократного воздействия ударных волн на образец, он помещался параллельно искре пробоя на расстоянии 100 мкм. Этот эксперимент проводился с 30 пс импульсом, который вызывает более интенсивные ударные волны. После нескольких десятков импульсов с максимальной энергией макроповреждений образца не наблюдалось. Однако, клетки, находившиеся ближе к искре, выглядели под микроскопом более контраст-



Фиг. 4. Геометрия лазерно-акустического воздействия на биообъект: *а* — плоскость объекта перпендикулярна оптической оси; *б* — плоскость объекта параллельна оптической оси (взаимодействие света с объектом отсутствует). Условные обозначения: *1* — линза; *2* — излучение; *3* — биообъект; *4* — область оптического пробоя, волнистой линией показаны акустические волны.



Фиг. 5. Теневая фотография ударных волн при расположении плоскости объекта перпендикулярно лазерному лучу

ными, чем периферийные. Возможно, что стенки этих клеток были продавлены и не исключено, что органеллы клеток могли быть повреждены.

Проведенные эксперименты показали, что при фокусировке в чистую воду лазерных импульсов длительностью $2 \cdot 10^{-8}$ с и $3 \cdot 10^{-11}$ с наблюдается как чисто тепловая генерация звука (при малых энергиях), так и пробойный механизм формирования ударных волн (см. также [7, 8]). Наиболее простым и достаточно точным является пьезоэлектрический метод регистрации этих волн, позволяющий получить количественную информацию об акустических эффектах.

Теневой метод является более сложным и дает в основном качественную информацию, но он позволяет проследить динамику формирования и распространения ударных волн. В случае пикосекундных импульсов зона формирования ударных волн больше, чем в случае наносекундных импульсов.

Результаты измерения поглощения показали, что в случае наносекундных импульсов через область пробоя проходит не поглотившись около 70% энергии, а в случае пикосекундного импульса всего 8%. Отсюда применительно к офтальмологии следует сделать важный вывод, что в первом случае до сетчатки дойдет существенно большая часть падающей на глаз энергии, т. е. при равных энергиях наносекундный импульс более опасен для повреждения сетчатки. При наносекундном импульсе ударная волна возникает при меньших энергиях, чем пробой, и приводит к ограничению интенсивности излучения в фокусе. Таким образом, в случае пикосекундных импульсов область пробоя может являться эффективным поглощающим экраном для лазерного излучения.

Ударные волны при пикосекундных импульсах имеют существенно большую амплитуду. Однако проведенные исследования показали, что ударные волны не являются основным механизмом образования макро-

повреждений. Причиной этих повреждений, по-видимому, является разрыв мембран клеток изнутри за счет выделения тепловой энергии в объеме клеток и последующего расширения среды или ее вскипания, т. е. фотогидравлический эффект. Влияние чисто ударных импульсов на биообъект видимо следует искать на субклеточном уровне.

Весьма перспективно использование описанных лазерно-акустических эффектов для диагностики и исследования различных патологических изменений в глазу человека, например поиска очагов катаракты. Как показали предварительные исследования, в области образования катаракты значительно изменяется уровень поглощения. Отсюда следует, что измерение амплитуды акустической волны, например с помощью пьезодатчика, находящегося в акустическом контакте с веком, в функции положения фокуса внутри глаза позволит выявить и измерить очаг поражения глаза. Фактически речь идет об использовании трехмерной лазерно-акустической микроскопии для ранней диагностики некоторых заболеваний глаза. Важным обстоятельством при этом является использование «сильной» фокусировки пикосекундных импульсов для исключения нежелательного повреждения сетчатки лазерным излучением. Использование пьезоэлектрической регистрации звуковых эффектов по описанной схеме позволяет также контролировать уровень поглощенной энергии и характер взаимодействия излучения с тканью (например, тепловой или оптический пробой) в процессе проведения микрохирургических лазерных операций в импульсном режиме. В немалой степени малое механическое влияние ударных волн на используемые клетки объясняется близкими акустическими свойствами клеток и окружающей их среды. Как показали результаты предварительных экспериментов, воздействие ударных волн на твердые биологические образования, например почечные камни, приводит к разрушению последних, что весьма перспективно использовать в лазерной дистанционной микрохирургии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Рэди Дж.* Действие мощного лазерного излучения. М.: Мир, 1974. 468 с.
2. *Акопян В. С., Воеводин Ю. Г., Егоров Е. И., Краснов М. М. и др.* Новые клинические перспективы применения в офтальмологии лазеров с модуляцией добротности // Изв. АН СССР. Сер. физ. 1982. Т. 46. № 10. С. 2000–2004.
3. *Hamric P. H., Cleary S. F.* Breakage of tobacco mosaic virus by acoustic transients: a hydrodynamical model // J. Acoust. Soc. Amer. 1969. V. 45. P. 1–6.
4. *Васильев Л. А.* Теневые методы. М.: Наука, 1968.
5. *Крюков П. Г., Матвеец Ю. А., Чекалин С. В.* Прямое наблюдение градиентов показателя преломления, вызванных ультракоротким лазерным импульсом в жидкости // Письма в ЖЭТФ. 1972. Т. 15. Вып. 3. С. 147–150.
6. *Жаров В. П., Летохов В. С.* Лазерная оптико-акустическая спектроскопия. М.: Наука, 1984. 320 с.
7. *Тесленко В. С.* Исследование светоакустических и светогидравлических параметров лазерного пробоя в жидкостях // Квантовая электрон. 1977. Т. 4. № 8. С. 1732–1740.
8. *Дунина Т. А., Егерев С. В., Лямшев Л. М., Наугольных К. А., Пашин А. Е.* Гидродинамические эффекты при оптическом пробое жидкости // Акуст. журнал. 1982. Т. 28. № 2. С. 192–200.
9. *Д. Остон.* Пикосекундная нелинейная оптика // Сверхкороткие световые импульсы. М.: Мир, 1981. 479 с.
10. *Walsh J. M., Melvin H. R.* Dynamic compression of liquids from measurements on strong shock waves // J. Chem. Phys. 1957. V. 25. № 4. P. 815–823.
11. *Мишаков Г. В.* Исследование лазерно-индуцированных ударных волн в воде и перфорации монослоя клеток одиночными пикосекундными и наносекундными импульсами // Дипломная работа, МФТИ, 1983.

Московское высшее техническое
училище им. Н. Э. Баумана

Поступила в редакцию
14.V.1986