

文章编号: 0258-7025(2003)04-0369-04

# 532 nm 激光激励血液中红细胞产生 荧光的物理机理研究

高淑梅<sup>1,2</sup>, 孔 艳<sup>2</sup>, 沈中华<sup>2</sup>, 陆 建<sup>2</sup>, 倪晓武<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup> 徐州师范大学物理系, 江苏 徐州 221009; <sup>2</sup> 南京理工大学应用物理系, 江苏 南京 210094)

**摘要** 通过建立偶极非谐振子模型对绿色激光激励红细胞产生荧光光谱的物理机理进行了研究。理论研究结果表明, 波长为 532 nm 的低强度半导体激光抽运 Nd:YAG 倍频激光照射血液中的红细胞时, 激光将使红细胞上不对称的 C—C 键或 C—N 键发生非谐振吸收而断裂, 形成未成对电子, 由于该种电子的产生而形成的新的荧光团在后续激光的作用下受激跃迁而产生荧光。通过研究上述绿色激光诱导红细胞产生的荧光反应, 可能对解释低强度激光在医疗上的应用机理有一定的参考意义。

**关键词** 血液生理学; 荧光光谱; 532 nm 激光; 红细胞; 偶极非谐振子

**中图分类号** R 318.51 **文献标识码** A

## Analyzing Physical Mechanism about 532 nm Laser-induced Erythrocyte Fluorescence

GAO Shu-mei<sup>1,2</sup>, KONG Yan<sup>2</sup>, SHEN Zhong-hua<sup>2</sup>, LU Jian<sup>2</sup>, NI Xiao-wu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Physics, Xuzhou Normal University, Xuzhou, Jiangsu 221009, China

<sup>2</sup>Department of Applied Physics, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing, Jiangsu 210094, China

**Abstract** The physical mechanism of green laser inducing erythrocyte fluorescence spectra in vitro is analyzed by a model of non-synthonic dipole in this paper. The theoretical investigation shows that while the erythrocyte from blood is radiated by a low-lever frequency-doubled Nd:YAG laser with wavelength 532 nm, anisomorous C—C bonds or C—N bonds on membrane of the erythrocyte would absorb the energy by non-resonance and be parted to produce lone-pairs of electrons. The new fluorophores from the lone-pairs of electrons under the laser excitation would emit fluorescence. It may supply some references to the explanation the mechanism of low-level laser irradiating blood therapy in vivo.

**Key words** blood physiology; fluorescence spectrum; 532 nm-laser; erythrocyte; non-synthonic dipole

## 1 引 言

血液在临床医学诊断和治疗中有着重要的价值, 很多疾病都可能导致血液成分或性质发生特征性的变化<sup>[1]</sup>。大量的临床报道表明使用功率为毫瓦量级的激光束对血液进行照射治疗具有满意的疗效<sup>[2]</sup>。低强度激光照射占血液总体积 40% 的红

胞, 能提高其携氧能力, 降低血粘度等作用。关于激光与血细胞相互作用的机理已有研究者从不同角度进行了研究报道<sup>[3,4]</sup>。我们在进行相关研究工作时发现弱激光照射血液时将激励血液产生较强的荧光, 进而通过对血液中成分分离后的实验研究, 即用激光束分别照射全血、红细胞和血浆观察其荧光特征光谱, 实验结果表明, 弱激光导致血液产生的荧光

收稿日期: 2002-01-07; 收到修改稿日期: 2002-11-04

基金项目: 江苏省教育厅科研项目(02KJB140006)和校重点项目(01AXL002)资助课题。

作者简介: 高淑梅(1961—), 女, 硕士, 南京理工大学在读博士, 徐州师范大学物理系副教授。主要从事光子生物医学和激光全息方面的科研和教学工作。E-mail: gaosm@xznu.edu.cn

\* 通讯联系人。E-mail: nxw@mail.njust.edu.cn

主要是由血液中红细胞所贡献的。因而开展了弱激光激励血液中红细胞产生荧光的机理研究。

细胞有两类光子受体,一个是细胞色素,一个是含有生色团的分子。有人认为低强度激光与血液相互作用时是借助于细胞色素并通过线粒体的介导调节细胞功能而实现的<sup>[5,6]</sup>。即细胞色素吸收光子促进线粒体由 ADP 合成为 ATP。然而,低强度激光血管内照射疗法的临床实验结果表明,低强度激光对没有线粒体的红细胞也有生物刺激作用。也就是说低强度激光不仅能作用于细胞色素,它也将与细胞中含有生色团的分子进行相互作用。考虑到波长为 533 nm 的绿色激光能更好地被红细胞中的血红蛋白吸收,所产生的荧光应该比红光更为明显,因而在实验研究中采用波长为 532 nm 的低强度半导体激光抽运 Nd:YAG 倍频激光进行照射。有关的理论研究也围绕这一实验结果进行。

本文根据波长为 533 nm 的作用激光光子特性、红细胞的结构和特性,在分析研究了低强度激光与红细胞相互作用机制的基础上提出了偶极非谐振子模型,进而利用该模型研究了波长为 532 nm Nd:YAG 倍频激光与红细胞中生色团的相互作用过程,对激励红细胞产生荧光的机理进行了理论分析和实验研究。

## 2 实验过程

### 2.1 试样制备

抽取小白鼠鲜血,用离心机分离红细胞,加生理盐水稀释备用。

### 2.2 实验数据及分析

采用功率为 25 mW,波长为 532 nm 的半导体激光抽运 YAG 倍频激光照射小白鼠红细胞,得到的荧光光谱如图 1 所示。由图 1 可见,小白鼠血液中的红细胞所产生的荧光波长大于激励光的波长,显然这种荧光属于 Stokes 荧光\*。

## 3 物理机理分析

由分子结构理论可知,谐振子键是较难断裂的;而非谐振子键、链易裂解。当激光照射红细胞时,激光光子与红细胞相互作用时并没有引起细胞分子的谐振,可以说光与生物组织非谐振相互作用的跃迁

\* 用其他波长的激光激发红细胞,在该波长附近也存在荧光,所以可以肯定该谱峰是荧光,而不是 Raman 散射光。

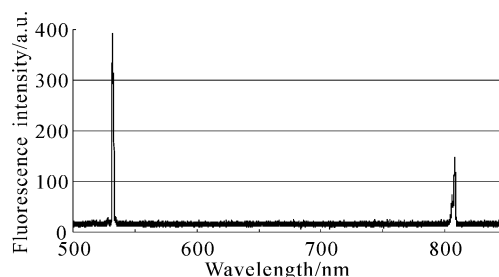


图 1 532 nm 激光照射浓度为 7% 红细胞所获得的荧光光谱

Fig. 1 532 nm laser-induced fluorescence spectrum of erythrocyte

几率非常低,但非谐振现象可通过相干作用而被放大。由于在红细胞上存在诸多不对称的 C—C 键和一些 C—N 键等,这些键的振动状态呈明显的非谐振性。这些交连的 C—C 键或 C—N 键可视为一偶极非谐振子<sup>[7]</sup>,其哈密顿量可近似表示为<sup>[8]</sup>

$$\hat{H}_0 = \frac{P^2}{2m} + \frac{1}{2}m\omega_0^2 x^2 - k_1 x^3 + k_2 x^4 \quad (1)$$

设  $\alpha$  为振子特征值,其物理意义可由振子离解能与  $\alpha^2$  的乘积表征,即该乘积正比于非谐振子的弹性力系数。

$$\text{取 } \hat{x} = \left(\frac{\hbar}{2m\omega_0}\right)^{1/2} (\alpha + \alpha^+), \hat{P} = i\left(\frac{m\omega_0\hbar}{2}\right)^{1/2} (\alpha - \alpha^+), \text{ 其中的对易关系为: } [\alpha^+, \alpha] = 1, [\alpha, \alpha^n] = n\alpha^{+(n+1)}, [\alpha^+, \alpha^n] = -n\alpha^{n-1}, \text{ 则(1) 式量子化形式为}$$

$$\hat{H}_0 = \hbar\omega_1 \alpha^+ \alpha - \hbar\omega_2 (\alpha^+ + \alpha)^3 + \hbar\omega_3 (\alpha^{+2} + \alpha^2)^4 \quad (2)$$

将式(2)中三、四次方项按 Wick 编序展开,并仅保留三次方项中的一次式和四次方项中的二次式,即可得

$$\hat{H}_0 = \hbar\omega_1 \alpha^+ \alpha - \hbar\omega_2 (\alpha^+ + \alpha) + \hbar\omega_3 (\alpha^{+2} + \alpha^2) \quad (3)$$

$$\text{式中, } \omega_1 = \omega_0 + \frac{12k_0}{\hbar}; \omega_2 = 3k_1; \omega_3 = \frac{6k_2}{\hbar}.$$

与氢键对应的非谐振子在激光作用下的相互作用势,在旋波近似下可写为

$$V_1 = \hbar\omega_R [\alpha^+ \exp(-i\Omega t) + \alpha \exp(i\Omega t)] \quad (4)$$

式中, $\Omega$  为照射激光频率; $\omega_R$  为 Rabi 频率,它表征了光场与振子偶极矩相互作用的强度,其值与振子偶极矩大小及光场强有关,有时正比于  $\frac{D\epsilon_0}{\hbar}$ 。

综合以上诸式可得激光与 C—C 生物键相互作用系统对应的哈密顿量为

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + V_1 = \eta_1 \alpha^+ \alpha + \eta_2^* \alpha^+ + \eta_2 \alpha + \eta_3 (\alpha^{+2} + \alpha^2) \quad (5)$$

式中,  $\eta_1 = \hbar\omega_1$ ;  $\eta_2 = \hbar[\omega_R \exp(-i\Omega t) - \omega_2]$ ;  $\eta_2^*$  为  $\eta_2$  的复共轭;  $\eta_3 = \hbar\omega_3$ 。

对于任一力学量  $\hat{k}$  的期望值  $\langle \hat{k} \rangle$ , 应满足下列方程

$$\frac{\partial}{\partial t} \langle \hat{k}(t) \rangle = \frac{i}{\hbar} \langle [\hat{H}, \hat{k}(t)] \rangle \quad (6)$$

而由  $\alpha, \alpha^+, \alpha^+ \alpha, \alpha^+ \alpha^2, \alpha^2$  和恒等算符  $I$  的对易关

系, 构成一个李代数, 注意到此时可根据  $[A, BC] = [A, B]C + B[A, C]$ , 因而得到

$$\begin{cases} [\alpha, \alpha^+] = I, & [\alpha, \alpha^+ \alpha] = \alpha \\ [\alpha, \alpha^{+2}] = 2\alpha^+, & [\alpha^+, \alpha^+ \alpha] = -\alpha^+ \\ [\alpha^+, \alpha^2] = -2\alpha, & [\alpha^{+2}, \alpha^+ \alpha] = -2\alpha^{+2} \\ [\alpha^2, \alpha^+ \alpha] = 2\alpha^2, & [\alpha^2, \alpha^{+2}] = 2 + 4\alpha^+ \alpha \end{cases}$$

进而, 令  $\langle \alpha^+ \alpha \rangle = N$ ,  $\langle \alpha^+ \rangle = \langle Q_1 + iP_1 \rangle$  和  $\langle \alpha^{+2} \rangle = \langle Q_2 + iP_2 \rangle$ , 则有

$$\frac{dN}{dt} = \frac{i}{\hbar} [-\eta_2 \langle \alpha^+ \rangle + \eta_2^* \langle \alpha \rangle - 2\eta_3 \langle \alpha^{+2} \rangle + 2\eta_3 \langle \alpha^2 \rangle] = -2\omega_R Q_1 \sin\Omega t + 2(\omega_R \cos\Omega t - \omega_2) P_1 - \omega_3 P_2 + 2(\omega_R R \cos\Omega t - \omega_2) P_1 - \omega_3 P_2 \quad (7)$$

$$\frac{dQ_1}{dt} = -\omega_R \sin\Omega t - \omega_0 P_1 \quad (8)$$

$$\frac{dP_1}{dt} = -\omega_2 + \omega_R \cos\Omega t + (\omega_0 + 4\omega_3) Q_1 \quad (9)$$

$$\frac{dQ_2}{dt} = -2\omega_R Q_1 \sin\Omega t - 2(\omega_R R \cos\Omega t - \omega_2) P_1 - 2\omega_1 P_2 \quad (10)$$

$$\frac{dP_2}{dt} = 2\omega_3 + 2\omega_3 N + 2(\omega_R \cos\Omega t - \omega_2) Q_1 - 2\omega_R P_1 \sin\Omega t - 2\omega_1 Q_2 \quad (11)$$

设上述方程的初始条件为: 当  $t = 0$  时,  $N = n_0, Q = P = 0$ , 即

$$N|_{t=0} = n_0, Q|_{t=0} = P|_{t=0} = 0 \quad (12)$$

式(7)中的  $N$  为占有数期望值, 它反映了红细胞被激发的程度;  $Q_1$  和  $P_1$  为非谐振子的位移和动量的期望值相关之量。

因而氢键中氢原子的瞬时振动中心位移  $x$  和振子动量  $P$  的期望值为

$$\left. \begin{aligned} \langle x \rangle &= \left( \frac{2\hbar}{m\omega_0} \right)^{1/2} Q_1 \\ \langle P \rangle &= (2\hbar m\omega_0)^{1/2} P_1 \end{aligned} \right\} \quad (13)$$

对于生物振子而言, 一般有  $\omega_3 < \omega_2 \ll \omega_0$ , 故可认为  $\alpha^{+2}$  和  $\alpha^2$  是小量修正。为便于求近似解, 可视  $P_2$  为 0, 并令“近”共振频率为  $\omega_r = (\omega_0^2 + 2\omega_0\omega_3)^{1/2}$ , 即可得由公式(7)~(11)组成的方程组之解。因下面的分析可不涉及占有数的问题, 故略去关于  $N$  的解; 而  $Q_1$  和  $P_1$  的解析解又可根据  $\Omega$  与  $\omega_r$  的关系分为下列两种情况:

(A) 当  $\Omega \neq \omega_r$  时, 其解为

$$Q_1 = \frac{\omega_0 \omega_2}{\omega_r} + \frac{\Omega + \omega_0}{\Omega - \omega_r} \omega_R \cos\Omega t - \frac{\omega_0 (\Omega^2 - \omega_2 + \omega_r^2 - \omega_R) + \omega_r^2 (\omega_R \Omega - \omega_0 \omega_2)}{\omega_r^2 (\Omega^2 - \omega_r^2)} \cos\omega_r t \quad (14)$$

$$P_1 = \frac{\Omega + \omega_0 + 4\omega_3}{\Omega^2 - \omega_r^2} \omega_R \sin\Omega t + \frac{\omega_r^2 (\omega_2 + \Omega) - \omega_0 \omega_2 (\Omega^2 - \omega_r^2)}{\omega_0 \omega_r (\Omega^2 - \omega_r^2)} \sin\omega_r t \quad (15)$$

(B) 当  $\Omega = \omega_r$  时, 其解为

$$Q_1 = \frac{\omega_0 \omega_2}{\omega_r^2} (1 - \cos\omega_r t) - \frac{\omega_0 + \omega_r}{2\omega_0 + \omega_2} \omega_r t \sin\omega_r t \quad (16)$$

$$P_1 = \frac{(\omega_0 - \omega_r) \omega_R - 2\omega_0 \omega_2}{2\omega_0 \omega_r} \sin\omega_r t + \frac{\omega_r + \omega_0 + 4\omega_3}{2\omega_r} \cos\omega_r t \quad (17)$$

## 4 结 论

由式(14)和(15)可知, 当作用激光频率  $\Omega$  与  $\omega_r$  接近, 且  $\Omega \neq \omega_r$  时, C-C 键的瞬时振动中心将作高

频震荡, 其振幅随  $\Omega$  接近  $\omega_r$  而急剧增大, 此时就可能致使红细胞中的 C-C 键或 C-N 键断裂。因为通常 C-C 键的离解能为 2.55 eV (C-N 键的为

2.13 eV)<sup>[9]</sup>, 因此  $\omega_0 \sim 2\pi \times 2.05 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\omega_3 \sim 2\pi \times 100 \text{ cm}^{-1}$ , 当 532 nm 的激光作用时, 其对应频率  $\Omega \sim 2\pi \times 1.88 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$  (所对应的光子能量为 2.34 eV) 与  $\omega_r = (\omega_0^2 + 2\omega_0\omega_3)^{1/2} \sim 2\pi \times 2.06 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$  很接近。C—C 键的键能会随着环境的变化 (如不同的大分子上的 C—C 键) 略有波动, 所以 532 nm 激光的作用可能使红细胞上的大分子中 C—C 键或 C—N 键断裂。断裂将使红细胞上存在大量的未成对电子, 进而又形成新的荧光团, 在后续的绿色激光照射下, 吸收激光光子能量而被激发到能量较高的激发态, 继而通过内转换回到第一激发态的最低振动能级, 再通过自发辐射的形式向外辐射光子, 释放能量而返回到基态, 所发射的光就是我们看到的荧光。从而通过偶极非谐振子模型给出了 532 nm 的激光诱导红细胞产生荧光的物理机理。至于这种 C—C 键断裂的假设所可能导致的生物效应还有待进一步研究。

通过研究 532 nm 的激光诱导红细胞产生的荧光反应, 将对进一步解释低强度激光在医疗上的应用机理有一定的参考意义。考虑到生命组织的复杂性, 影响因素也是多方面的, 能否给出完整的理论体系尚待进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 Hu Jinlin. Cell Rheology [M]. Beijing: Science Press, 2000. 22 (in Chinese)
- 2 Zhu Ping. Intravascular Low Intensity Laser Irradiation

Therapy [M]. Guilin: Guangxi Science and Technology Press, 1999. 8~20 (in Chinese)

- 3 Wang Jing, Guo Weisheng. On laser-raised enzyme activity [J]. *Chinese J. Lasers* (中国激光), 1997, **A24**(8):765~768 (in Chinese)
- 4 Lan Xiufeng, Liu Xiaoran, Wang Yawei *et al.*. Physical analysis of intravascular low-reaction-level laser irradiation therapy decreasing the aggregate degree of erythrocyte [J]. *Chinese J. Lasers* (中国激光), 2000, **A27**(5):477~480 (in Chinese)
- 5 Xu Chuanshan, Liu Zhijun, Tang Jianmin. Some new progress on research of low level laser biological stimulated effect [J]. *Laser Journal* (激光杂志), 1999, **20**(2):62~63 (in Chinese)
- 6 Liu Chengyi, Gao Yunqing, Liu Songhao. Quasi-hormone model on laser biostimulation [J]. *Laser Journal* (激光杂志), 1997, **18**(2):51~53 (in Chinese)
- 7 Zhou Lingyun, Liu Shuxiao, Hou Jingbian *et al.*. Mechanism analysis and measurement of indexes of curative effect on ILLB improving the property of rheology of blood [J]. *Laser Journal* (激光杂志), 1999, **20**(6):68~70 (in Chinese)
- 8 Liu Xiaoran. The research on physical analysis of the intravascular low-reaction-level laser irradiation therapy and the clinical application [D]. Nanjing University of Science & Technology Doctoral Thesis, 2001. 40~41 (in Chinese)
- 9 Li Qingguo, Wang Hemu, Li Anzhi *et al.*. Molecular Biological Physics [M]. Beijing: Higher Education Press, 1992. 47~56 (in Chinese)