

国外

# 激光医学

2

上海科学技术文献出版社

## 目 录

|                                                   |     |
|---------------------------------------------------|-----|
| 1. 激光光导 .....                                     | 41  |
| 2. 测量血液流速的激光多普勒显微镜 .....                          | 44  |
| 3. 激光散射研究黄体酮对精子活动力的影响 .....                       | 11  |
| 4. 激光照射对卵巢形态和功能的影响 .....                          | 14  |
| 5. 一种新的消毒方法: CO <sub>2</sub> 激光 .....             | 16  |
| 6. 激光眼科: 从理论到应用的道路 .....                          | 17  |
| 7. 激光小梁切开术的理论探讨 .....                             | 26  |
| 8. 激光凝固对眼动力图的影响 .....                             | 34  |
| 9. 氩激光治疗开角型青光眼(初步探讨) .....                        | 36  |
| 10. 对氩激光和氦激光治疗糖尿病性视神经乳头新生血管形成的比较研究 .....          | 42  |
| 11. 荧光抗体和氩激光治疗单纯性疱疹性角膜炎的可能性——对实验家兔疱疹性角膜炎的探讨 ..... | 47  |
| 12. 激光暗点检查法在乳头疣及乳头小凹的应用 .....                     | 52  |
| 13. 闭角性青光眼的连续波氩激光虹膜切除术 .....                      | 56  |
| 14. 内窥镜激光止血法的基础研究——掺铈钇铝石榴石激光和氩激光对胃粘膜的作用 .....     | 60  |
| 15. 对实验性狗胃溃疡应用氩离子和 Nd:YAG 激光作光凝固的对比 .....         | 66  |
| 16. 应用掺铈钇铝石榴石激光的小血管修复: 初步报告 .....                 | 71  |
| 17. 周围神经外科手术应用 CO <sub>2</sub> 激光与常规手术器械的比较 ..... | 74  |
| 18. 用 CO <sub>2</sub> 激光的喉显微外科手术 .....            | 76  |
| 19. 应用 CO <sub>2</sub> 激光经口治疗局限性口腔癌 .....         | 87  |
| 20. 连续波及高速超巨脉冲二氧化碳激光引起骨缺损的愈合 .....                | 91  |
| 21. 高功率密度 CO <sub>2</sub> 激光治疗早期宫颈癌 .....         | 94  |
| 22. 用 CO <sub>2</sub> 激光对子宫颈显微外科的锥型切除 .....       | 98  |
| 23. 恶性黑色素瘤的激光外科手术 .....                           | 103 |
| 24. 氩激光治疗装饰文身 .....                               | 106 |
| 25. 氩激光治疗皮肤损害 <del>由大功率激光器</del> .....            | 108 |

|                                                 |     |
|-------------------------------------------------|-----|
| 26. 鲜红斑痣及其对氩激光治疗的反应: 成功的治疗以及颜色、年龄和活检的预测作用 ..... | 110 |
| 27. 氩激光治疗鲜红斑痣的经验 .....                          | 114 |
| 28. 氩-氟激光治疗心绞痛的经验 .....                         | 119 |
| 29. 氩-氟激光照射治疗儿童疱疹性口炎的经验 .....                   | 122 |
| 30. 短脉冲氩激光照射对眼睛的危险 .....                        | 124 |
| 31. 新颖 CO <sub>2</sub> 激光简易测试块 .....            | 127 |

# 激 光 光 导

久保宇市

## 一、绪 言

医用激光除以激光刀为主的凝固装置外,不管哪种激光,都需将光从激光振荡器引至患者的治疗部位,这是提高机器功能的重要因素。

作为激光光导,虽然光学通信中的光导纤维技术正在进入实用阶段,但仍限制于传送光波长的范围。而且,以半导体激光作为光源的高功率激光尚未制造出来。

医用激光是利用高功率激光的技术。目前已被采用的激光有 $\text{CO}_2$ 、YAG(钇铝石榴石)和Ar(氩)等数种。其中 $\text{CO}_2$ 激光是最有力的激光刀,但因其波长为10.6微米,玻璃对其吸收率甚高,所以玻璃纤维技术是不适用的。YAG激光的波长为1.06微米,虽在光学通信的光学纤维透过领域内,但因传送的光功率大,仍然利用现存的低输出功率光学纤维成问题。Ar激光也是在可见的光学纤维透过领域内,由于跟YAG激光同样的理由而需进行研究。

以下,主要就 $\text{CO}_2$ 激光和YAG激光的光导问题,谈谈研制的状况。

## 二、 $\text{CO}_2$ 激光光导

$\text{CO}_2$ 激光在目前的激光中效率最好,是比较容易得到连续高功率的强激光。但是,因振荡波长为10.6微米,且易被玻璃吸收,所以玻璃纤维以及玻璃制的普通光学元件当然不能使用;另一方面,激光机头在操作时要求非常灵活。因而,从激光振荡器至机头的光导是一重要的研究课题。

现在, $\text{CO}_2$ 激光刀的光导是由若干含有一对反射镜的关节部组合而成的。这种关节部动作灵活,光由这关节向那关节反射而传导,经过折射光路而导向机头。这种形式存在着灵活性问题。如为了提高灵活性而增加关节数目,则反射镜的数目也要增加,光损失势必加大。因此,也需设法制造既减少关节又不降低灵活性的装置。此外,还有光轴重合的问题。然而,目前 $\text{CO}_2$ 激光所用的光导确是一种方法。

正在考虑研制一种10.6微米用的光学纤维和可挠性金属中空管,来改善 $\text{CO}_2$ 激光的光导。

### 1. $\text{CO}_2$ 激光用光学纤维的光导

为了制成 $\text{CO}_2$ 激光(波长10.6微米)用的光学纤维,首先需要研制透过性良好而耐高功率光传递的富于可挠性的核心材料。大约在两年前,美国休斯公司报道使用了溴化铊等的多结晶核心新型纤维,其发表的透过波长范围是0.6~3.5微米。在 $\text{CO}_2$ 激光2瓦(W)的透过实验中,每1米损失10%。制作方法系用挤压成形法,成形时的温度是200~350°C,但虽在该温度范围内,也因温度的差异而结晶范围的大小不同。有关的详细内容,不明之处尚多,因而,在日本应该促进这方面的研究。

### 2. 可挠性中空金属光导

与传递微波的导波管一样,考虑采用中空金属管的 $\text{CO}_2$ 激光光导法。此时,由于激光光传递的领域是空间,所以无需担心核心损伤,核心或金属包层的加热、燃烧而发生气体等问题,确实是有效方法之一。而且,根据

基础实验的结果,搞清楚了以下几个问题。

(1) 中空金属管内面处理大大影响透过率。内径约为1毫米以下的细金属管内面的研磨处理是必要的,这种处理法的研究甚为重要;(2) 由于激光的偏光方向和曲面几何学的相对关系而透过率不同,这一点也被证实了(图1);(3) 对于入射端的开口面来说,激光光束入射位置对透过率的影响较小,即使它偏离中心,透过率也不会改变(图2),这对光和光导的结合是有利的;(4) 中空金属管(1.2毫米,铜)内侧因激光入射而引起的温度上升,在离入射端1厘米和15厘米两处各不相同,对入射光的功率调查的结果,发现入射端近旁的温度在入射光为高功率时就明显地上升(图3),故冷却是必要的。

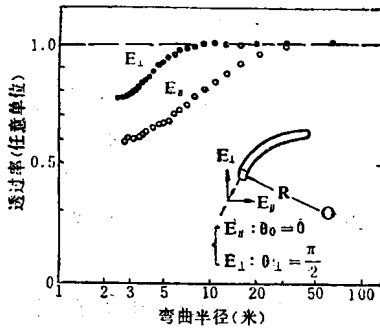


图1 中空金属光导的弯曲半径和透过率

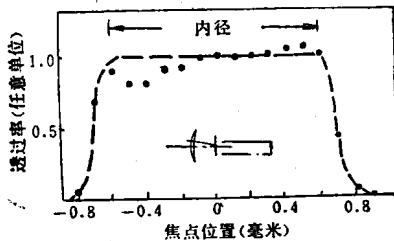


图2 中空金属光导的光入射位置和透过率

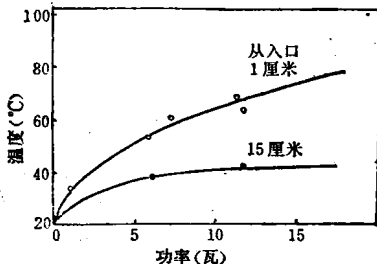


图3 中空金属光导的激光功率引起的温度上升

现正根据这些已搞清楚的基础资料,继续向实用方向进行研究。

### 三、YAG 激光光导

YAG 激光振荡波长为1.06微米,如仅就波长而言,可使用目前的石英玻璃光学纤维。但是,为了研究高功率光的传递问题,所以采用连续振荡200瓦的YAG激光,进行石英玻璃核心(直径450、600微米)、聚合物包层光学纤维的光传递实验。

(1) 如对低功率(1瓦)根据纤维长度来求透过率,则透过长度1厘米的纤维,透过率分别下降至94%(600微米)和89%(450微米);而透过长度1.2米的纤维,则透过率下降为90%和78%,说明与透过长度的增长相比,透过率的降低较少(图4)。因而,由入射端面引起的损失是主要的。(2) 用直径800微米的石英玻璃棒(长度20厘米,无包层),将端面扩大至直径1.5毫米,通过改变入射功率测定透过率,来与均匀直径的端面相比较,其结果当扩大端面者功率150瓦时,透过率为80%,说明它比均匀直径者(约55%)为优(图5)。(3) 研究了核心(直径600微米)、聚合物包层光学纤维对入射激光功率的透过率。如把入射端的反射等引起的损失考虑在内,功率约为70瓦时可得近100%的透过率,但功率在70瓦以上时,透过率则迅速降低(图6),可是这是短时间特性。功率约在20瓦以上,则透过率随时间的增加而降低,说明长时间特性和短时间特性有很大差异。很明显其原因是由于聚合物包层的被覆产生熔融、烧毁,继而破坏核心的后果。(4) 图7以核心直径对传递功率(5~150瓦)的光强度作为可挠性的标准,图中R表示能弯曲的最小半径。从核心的安全性来看,希望核心传递的光强度小,但从可挠性来看,直径小的核心较为有利。此处如以最小弯曲半径为2厘米,则希望单层被覆的核心直径在0.5毫米以下。此时,如功率为150瓦、核心直径

为 400 微米, 则光强度约为 1,000 瓦/毫米<sup>2</sup>。此外, 适宜的被覆可使弯曲半径缩小, 这也是明显的。

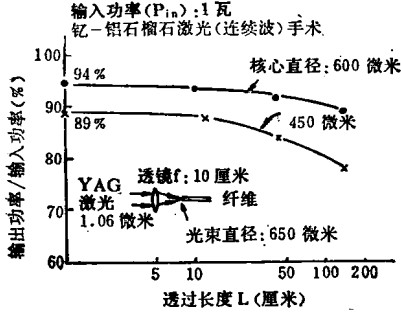


图 4 石英光纤中 YAG 激光透过率的长度依赖性

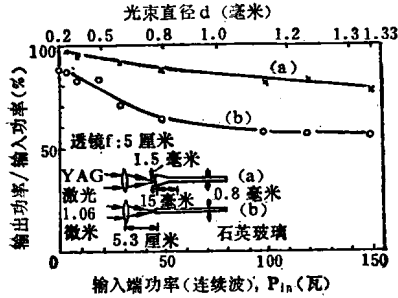


图 5 端面面积对石英棒光透过率的影响

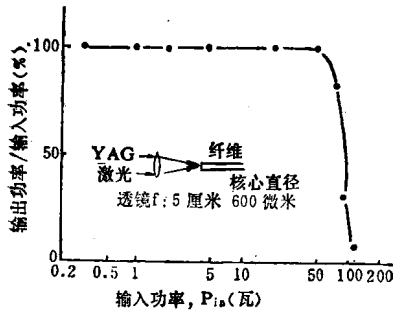


图 6 石英光纤对 YAG 激光功率的光透过率

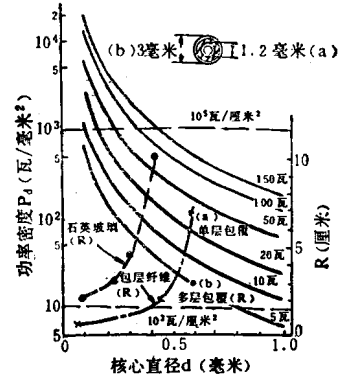


图 7 石英光纤核心直径、光强度及可弯曲最小半径

## 四、结 语

医用激光光导的研制, 对激光振荡器本身的改善具有重要意义, 光导性能的不同可使其功能受到显著的影响。

目前的课题有 CO<sub>2</sub> 激光用功率纤维的研制, 如能实现, 则 CO<sub>2</sub> 激光刀的功能必然会飞跃提高。还应具体地探讨材料的研制和纤维形式以外的光导, 而且也要考虑将这两种要素结合起来的光导。

另一方面, 目前的办法是利用 YAG 激光用的石英纤维。但有必要研制更安定的功率纤维, 即比核心本身更应注意的是包层被激光烧毁、熔融的问题。这也是功率光导固有的问题。还有, 振荡器和光导的耦合也是附带的重要课题。

(参考文献略)

陆书昌译自《医科器械学》1980 年 50 卷 1 期  
26~29 页, 吴益珍校

# 测量血液流速的激光多普勒显微镜

G. V. R. Born A. Melling, J. H. Whitelaw

我们用激光多普勒速度计测量了小血管和细玻璃管中血液流动的定点速度。分析了这种技术的适用范围和局限性,并作了定量的说明。本文指出,由于多次散射、吸收和波前畸变,不可能在红细胞压积接近全血值的情况下作精密测量。在圆的毛细管中,不可能以令人满意的分辨率鉴别测量位置。我们认为,这一技术用于定点测量应限于平面通道,并用影细胞或低红细胞压积的血。另外,在直径小的管子(比如,小于50微米)中,有可能对全血整体速度作近似测量。

## 一、引言

在微循环及其对局部刺激<sup>[1]</sup>的反应研究方面,最近的进展要求用一种非破坏性的技术来测量直径50~250微米的管子或小血管中血液流动的速度分布。这种技术应该能在活体中作定点测量而不损害血管及周围组织,而且空间分辨率要达到10微米数量级。

光学技术,诸如电影摄影之类,已用来测定血液中个别粒子的速度,但是既慢又繁。激光多普勒速度计提供了一个更先进的方法,这种方法可以用电子线路处理信号,而且有可能比较快地测定速度。这种方法已由Durst等人<sup>[2]</sup>作了详细讨论。所用的基本原理是:从同一台激光器发出的激光分为两束相交的光束,通过交叉区的粒子散射的光以多普勒频率调制,而多普勒频率与粒子的速度成正比。最近几年,已有不少激光多普勒速度计用于血液流动方面的报道;下面对一些与本文关系最密切的工作进行简要讨论。

Kreid和Goldstein<sup>[3]</sup>第一次用激光多普勒速度计测量血流中的速度分布,用的是窄的平面通道,宽度0.43, 0.91和2.3毫米。他们为了避免激光吸收和多次反射的问题,从血液中除去了血球,使之成为影细胞悬

浮液,从流变学的角度来说,这种悬浮液和全血相类似。Einav等<sup>[4,5]</sup>把多普勒速度计和显微镜结合起来测量大鼠颊中直径65到98微米的血管内的速度分布。用他们的系统可以在血液产生一个直径22微米的聚焦点,但有效空间分辨率(由测量体积的长度决定)也许要差得多。Mishina等人<sup>[6,7]</sup>设计的另一种激光多普勒显微镜用于测量直径70微米活体血管中的速度分布。也有人测量了青蛙蹼内大约只有10微米直径的毛细血管中的速度,并指出了心脏对各种刺激的反应。这些测量,象Einav等人所作的那样,都用通过血管的前向散射光;然而,这种仪器可以改装,用后向散射光,这样只要标本一侧有光学窗就可以了。

虽则迄今文献上已报道了许多成果,要研制一种适用于生理学家的仪器还有许多事要做。为了在小到200微米的血管中沿直径探测10到20个点,需要严格控制散射体尺寸。Vlachos和Whitelaw<sup>[8]</sup>以及Born等人<sup>[9]</sup>已描述过他们对减小水中和血流中散射体尺寸方法的研究;即使散射体尺寸小到20微米(在水中),在玻璃毛细管中的测量仍受速度梯度加宽的严重影响,这种加宽是沿散射体长度方向上速度随空间位置变化

而引起的。他们报道在血液中的测量体积长度大约比水中长两倍，这是红血球引起光色散造成的。Vlachos 和 Whitelaw<sup>[6]</sup> 也指出穿透深度为激光吸收和漫射所限制，最多大约为 200 微米。要考虑的其他因素包括：红血球浓度径向梯度引起的速度测量偏差，便于操作和便于放入标本的最小工作距离等。

本文所述的工作是测量鼠肠系膜血管中的速度分布。工作的一大部分涉及激光速度计的光学设计，设法协调几方面互相矛盾的要求：空间分辨率、穿透深度、横向扫过血管和工作距离；第二节扩展了 Melling 等人<sup>[10]</sup> 的讨论；本文第三节描述在水流，鼠肠系膜和各种浓度的稀释血液中多普勒显微镜的试验。这些试验的结果导出了第四节\*中的结论和建议。

## 二、仪 器

### 激光多普勒测速显微镜

Mishina 等人<sup>[6]</sup> 研制的激光多普勒显微镜，在作一些改进后可用于我们的研究工作。以类似 Mishina 等人<sup>[7]</sup> 所用的前向散射方式做的试验是令人鼓舞的，因而设计了图 1、图 2 所示的后向散射系统，这系统可配装到 Wild M 40 倒向显微镜上。从一台 5 毫瓦氦氖激光器发出的光束先分成两束平行光，两平行光束通过反射镜上的孔、焦距 100 毫米的透镜  $L_1$ 、最后通过物镜  $L_2$  到达试验区。后向散射光通过物镜  $L_2$  到达试验区，从镜面上反射后通过焦长 200 毫米的聚焦镜  $L_3$  到达光电倍增管光阑。透镜  $L_1$ 、 $L_3$  和分束器、反射镜设计成一个单元；它可以对物镜作相对移动，使光束的间隔和物镜孔径匹配，这样就可以减小球差和象散引起的离轴畸变。工作台下用倒向显微镜作观察系统，它是与装在工作台上部的激光测速计分开的，以便操作者选用利于操作的较大工作距离。后向散射光的强度低，但是光不必透过血液的全程，这一点补

偿、或者至少部分地补偿了强度低的缺点。应用这一系统对老鼠肠系膜所作的测量在第三小节中讨论；这一系统的潜力可以从本节中描述的前向散射的结果作出判断。

用商品电子系统处理光电倍增管信号以便取得多普勒频率。处理机必须能处理这种不仅有包含信号的频率调制，而且有幅度调制和宽带噪声的电信号。引起幅度调制的原因是产生多普勒信号的粒子有各种大小，并在光束交叉区通过不均匀的光强。噪声主要由血液中的光的二次散射和血管壁散射引起的；还有光电倍增管和放大器的噪声。

我们的实验结果是用频率跟踪器获得的，它能理想地提供正比于多普勒频率的模拟电压输出。跟踪器能在相当低的信噪比之

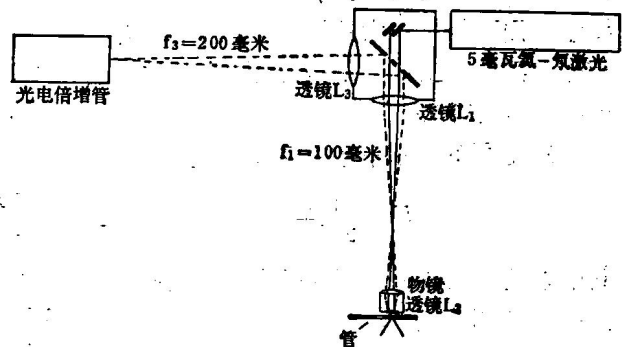


图 1 激光多普勒速度计/显微镜

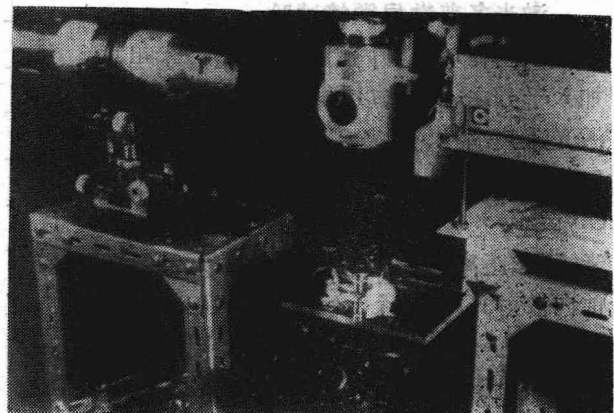


图 2 激光多普勒显微镜的照片

(注\*原文是第 5 节的建议，查原文无第 5 节——译者)

下工作,很适于处理连续多普勒信号,这种信号在散射体积内同时存在数个粒子的情况下产生。对活体试验和各种浓度的血液试验,信号用频谱分析仪处理,它可以显示散射光的频谱。这样,可得到多普勒频率的几率密度函数,由此算出定点的流速。甚至对信噪比很低、频率跟踪器无法处理的信号,也能用频谱分析仪处理。

Vlachos、Whitelaw<sup>[8]</sup>和Mishina等<sup>[6,7]</sup>提到用频率计数器处理他们的信号。这些仪器只适用于单个粒子越过散射体积时产生的高信噪比信号;在红血球浓度约为 $10^{15}$ 立方米的全血中,这意味着计数器只能用于散射体积尺寸为10微米数量级或更小的情况下。Mishina等声称散射体积小到了这种程度,而Vlachos等人大多在水或稀释血液中进行测量,因而能在较大的散射体积中获得单个信号。我们的工作中,信噪比太低,不能用计数型信号处理机。

速度 $U$ 可从多普勒频率 $\nu_D$ 计算出来:

$$U = \frac{\nu_D \lambda}{2 \sin \varphi} \quad (1)$$

其中 $\lambda$ 是激光波长,而 $\varphi$ 是光束之间夹角的一半(空气中)。

### 三、实验结果

#### 激光多普勒显微镜试验

最初在玻璃管内用水做试验,水里加入千分之一牛奶以增加散射粒子数。激光速度计入射光部分安排如图1,但收集前向散射光。透镜 $L_2$ 是一个Olympus $\times 40$ 的物镜,焦距 $f=4.2$ 毫米,工作距离约1.0毫米;测得 $\varphi$ 为 $29^\circ$ 。前向散射光用一个Olympus $\times 10$ 物镜聚集,聚焦到光电倍增管,放大倍数 $M=45$ ,倍增管孔径 $d_{ph}=0.2$ 毫米。散射体积直径为 $d_m=d_{ph}/M=4.5$ 微米。图3是典型的测量结果。管内径为209微米,中心线速度 $U_s$ 为11毫米/秒,总体雷

诺数1.15。两次测量的重复性很好,而且在层流情况下与预计的抛物线形分布密切吻合。速度的均方根电平指出了速度梯度加宽和有限度越时间加宽的影响<sup>[2]</sup>,后者只在管轴附近影响较大。为了减小管壁折射产生的柱透镜效应,必须让散射体积沿平行于它长度的方向横扫过管子;这样,最长的尺寸置于径向速度梯度方向上,造成大的速度梯度加宽。对于抛物线形速度分布,理论上有<sup>[2]</sup>

$$\frac{(U)^2}{\bar{U}} = \frac{2 \frac{(l_m)^2}{4R} + \frac{(l_m)^2}{4R} + 2 \frac{(r)^2}{R}}{1 - \left(\frac{r}{R}\right)^2} \quad (2)^*$$

其中 $U$ 是管径 $R$ 的管中以 $r$ 为中心,长度为 $l_m$ 的散射体积上速度的均方根变差。使理论的加宽曲线与测量的均方根变差系数 $U/\bar{U}$ 相匹配,估计出 $l_m$ 为18微米。直径 $d_m$ 可以和单个多普勒信号示波图推算出来的估计值 $d'_m$ 相比较。多普勒波群一般含有15周,条纹间隔可从下式计算,

$$\lambda^* = \lambda / 2 \sin \varphi \quad (3)$$

为0.65微米;因而 $d'_m=15\lambda^*=10$ 微米,近似为 $d_m$ 的两倍。直径和长度可以从高斯光束

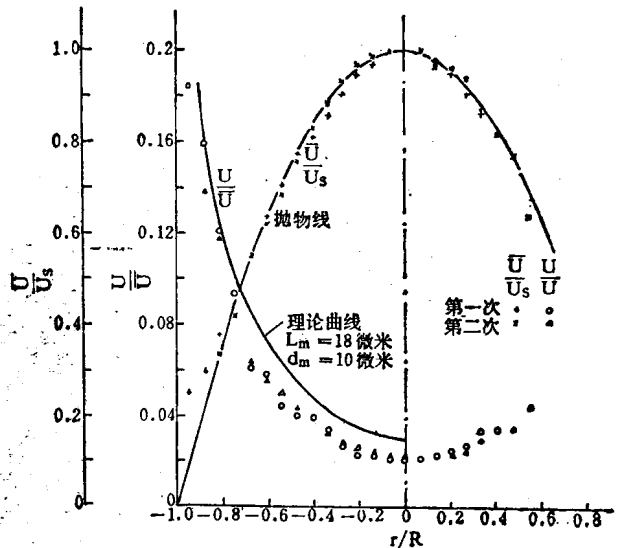


图3 水流中的速度分布( $D=209$ 微米)

$$U_s=11 \text{ 毫米/秒}, R_s=\frac{U_s D}{\nu}=1.15$$

\* 原文符号与图不一致,按图改——译者注

光学公式计算, 但公式不计光束通过曲面管子时的波前畸变, 也不计光学系统小量失调。因此, 我们相信  $d_m = 10$  微米和  $l_m = 18$  微米对我们目前的要求来说是最合适的估计。

### 活体试验

活体试验用麻醉的鼠的肠系膜血管来做。按照 Atherton 和 Born<sup>[1]</sup> 的步骤, 鼠固定在有机玻璃\*板上, 安放到显微镜台上(图2), 肠系膜撑在透明支架上以便光学观察。支架放在一只浅盘当中, 这样可用充氧的克雷布氏溶液使标本致冷。用白光从顶部照明标本选择血管, 通过倒向显微镜察看肠系膜并操纵工作台把选好的血管移到视场的中心。然后拿掉白光源, 让激光束到达血管, 再微调工作台位置使测量体积位于管的中心。

试验用两种物镜(图1中  $L_2$ )即 Olympus  $\times 40$  和 Leitz UMK50。从空间分辨率来说 Olympus 物镜比 Leitz UMK50 物镜好, 但工作距离短得多(仅 0.1 毫米), 操作不便, 想要不碰标本或从冷却液面取出肠系膜是很困难的。工作距离若是 2 毫米, 间隙正合适,  $\varphi$  也较大( $l_m$  减小)。但是没有这样现成的透镜, 这里的实验结果都是用 UMK50 (工作距离 0.7 毫米)做的。

图4的照片是有代表性的频谱, 血管直径为 80 到 360 微米之间, 用同一只鼠身上的血管, 散射体积中心大致在血管轴上。频谱显示的频率范围从 0 到 20 千赫, 相当于速度达 20 毫米/秒。频谱的形状相似, 幅度在零频率最大, 逐渐减小, 超过 15 千赫的幅度很小; 其他中等直径的频谱记录与这种特性相同。

在理想的均匀层流中, 流体中一点上的速度几率密度函数为狄拉克 delta 函数; 多普勒谱应该是与速度相应的频率的尖峰。预计实际的频谱图有一个以多普勒频率  $\nu_D$  为中心的宽度有限的峰, 一个以零频率为中心的峰, 和有限的噪声电平。实际得到的频谱形状可以用以下因素解释: 即径向速度梯度, 血液中散射体积尺寸, 散射体积中条纹数以及存在未调制信号。血管中粒子浓度的径向梯度使解释复杂化, 但在目前的讨论中这种影响是次要的。

在血管中, 散射体积长度占血管直径相当大一部分, 越过散射体积的粒子有一个速度范围。这使多普勒频谱的峰值宽度加宽, 式(2)指出均方根谱宽度随散射体积长度的平方增加。从直视观察血管来看, 血液中散射体积为估计值的两倍, 因为从光强估计, 光束直径似为 50 微米; 有效尺寸要小一些, 但肯定比在散射粒子浓度低的水中大。

零频谱是从信号的低频成分产生的。多普勒频率和基频之比可从散射体积中的条纹数求得; 目前, 只有 15 条, 希望达到 100 条, 使多普勒频率和基频之间有足够大的间隔。速度梯度加宽意味着与某一范围的多普勒频

及存在未调制信号。血管中粒子浓度的径向梯度使解释复杂化, 但在目前的讨论中这种影响是次要的。

\* 聚 2-甲基丙酸甲酯——译者注

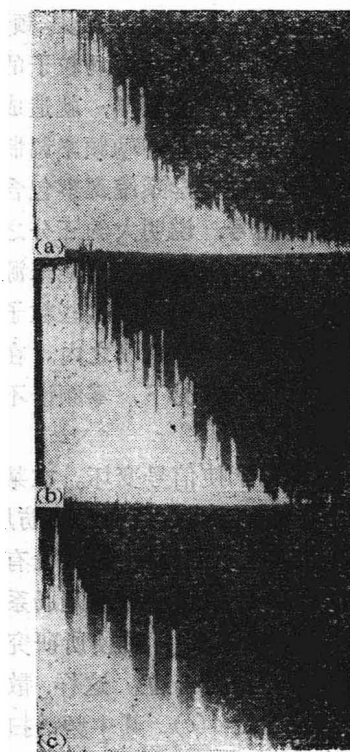


图4 从鼠肠系膜血管获得的频谱

(a)  $D=360$  微米 (b)  $D=80$  微米 (c)  $D=110$  微米(有蠕动)扫描全程 0~20 千赫

率相应,基频有一定范围,因此零频谱加宽。显然,速度范围大到快速运动粒子的基频接近慢运动粒子的多普勒频率,就造成频谱重迭。零频谱也是未受多普勒频率调制的信号构成的。用图1的光学系统观察包含粒子的空气流中来的信号,说明大约三分之一不包含多普勒调制。这种信号有可能来源于越过光束不相交部分的粒子,而这些粒子仍处在集光透镜和光电倍增管视场之内。在多普勒谱和零频谱重迭的情况下,零频谱不能用滤波的方法消除。

还有两种因素使信号变坏。在某些情况下,光束进入血管时通过周围的脂肪层,使光束严重畸变,以致不再相交,这就没有多普勒频率调制。第二个偶然的影响是肠系膜的蠕动(周期地收缩和伸长),这使所研究的血管稍稍从一边滑动到另一边。这样,散射光强随时间涨落,如图4(c),其中频谱扫描时在有规则的时间间隔上出现强度增加,水平方向上每0.7分格有一峰值。

鼠的肠系膜中的试验说明用现有的光学系统不能获得所希望的速度分布数据。为了决定是否能更精确地确定使多普勒谱变坏的效应,也做了试管试验,这在下一小节叙述。

#### 玻璃管中的试验

试管试验用人血,流过的玻璃管内径246微米,壁厚46微米。光学系统与活体试验时一样,只是用Olympus×40物镜代替UMK50物镜,以改进空间分辨率;试管试验中透镜工作距离小并不带来什么困难。试验用血以盐溶液稀释,比例分别为1毫升血溶于100、10、3毫升溶液中,也用全血。速度变化约从50~1毫米/秒。这一范围内,低于7毫米/秒的测量结果示于图5;作为比较,提一下鼠肠系膜血管中的速度,预计低于2毫米/秒。通过倒向显微镜观察判断,使散射体积尽量接近管轴。

图5(a)显示100:1稀释血液中的多普勒谱。谱中心接近8千赫(5毫米/秒),有一

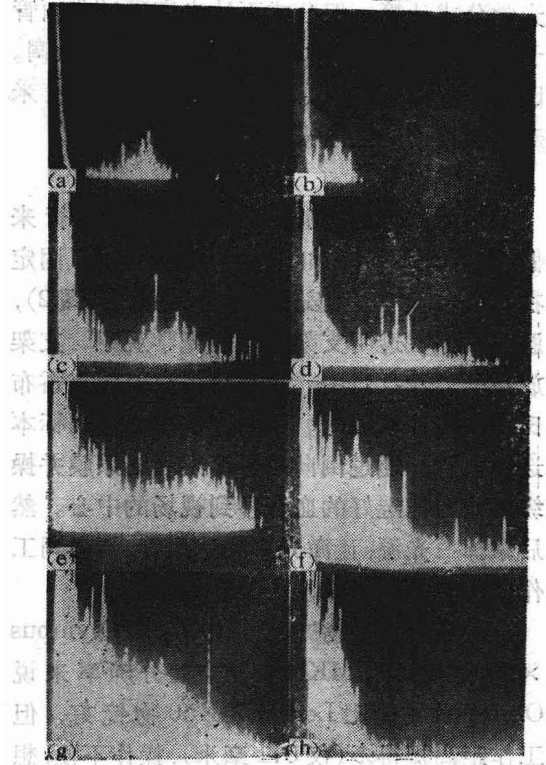


图5 从玻璃管( $D=246$ 微米)中血液散射得到的频谱

- (a) 稀释 100:1,  $\nu_D \approx 8$  千赫,  $U \approx 5$  毫米/秒 (0~20 千赫)
- (b) 稀释 100:1,  $\nu_D \approx 2$  千赫,  $U \approx 1.2$  毫米/秒 (0~10 千赫)
- (c) 稀释 10:1,  $\nu_D \approx 10$  千赫,  $U \approx 6$  毫米/秒 (0~20 千赫)
- (d) 稀释 10:1,  $\nu_D \approx 2$  千赫,  $U \approx 1.2$  毫米/秒 (0~5 千赫)
- (e) 稀释 3:1,  $\nu_D \approx 12$  千赫,  $U \approx 7$  毫米/秒 (0~20 千赫)
- (f) 稀释 3:1,  $\nu_D \approx 1.5$  千赫,  $U \approx 1$  毫米/秒 (0~5 千赫)
- (g) 全血,  $\nu_D \approx 10$  千赫,  $U \approx 6$  毫米/秒 (0~20 千赫)
- (h) 全血,  $\nu_D \approx 3$  千赫,  $U \approx 2$  毫米/秒 (0~20 千赫)

定宽度说明梯度加宽的影响。从图可见即使有明显的低噪声在两频谱之间,多普勒频谱也完全和零频谱分开。图5(b)中,多普勒谱接近零频谱,原因是多普勒频率低(约2千赫),但仍可清楚地分出不同的谱。图5(c)和(d)稀释 10:1,血液浓度增加,与噪声相比,多普勒谱的电平降低。比较两图可见:虽然速度低到1.2毫米/秒,多普勒谱仍可识别,然而速度越低,信噪比下降越严重。图5(a)~(d)说明随着血液浓度增加,速度下降,多普勒谱和零频谱倾向于并合;这是多普勒谱和零频谱同时不断加宽和噪声电平提高的缘故。图5(e)和(f)稀释 3:1,5(g)和(h)用全血,也证

实了这种特性。多普勒谱和零频谱不能再分开,只有图 5(e) 还可以看清多普勒谱;其他情况下,只能从谱的宽度很粗糙地估计多普勒频率。

这些试验表明全血和水相比,空间分辨率和信噪比大大下降。透射光衰减强烈,原因很可能是到达光电倍增管的某些光经历了多次散射。

#### 条纹可见度试验

图 4 和 5 仍未回答的一个重要问题是在血液中干涉条纹是否畸变。为研究这一问题,光学系统重新安排,使干涉条纹可以投射到一块半透明的屏上。图 6 是直径 246 微米管中的条纹照片,管内分别为空气、水、稀释血液和全血,照片已放大 2000 倍。各张照片所用的照相机视场和孔径不变,但随着浓度增加,为了补偿象强度的下降,曝光时间必须逐级增加。光强减少的部分原因是光的吸收,部

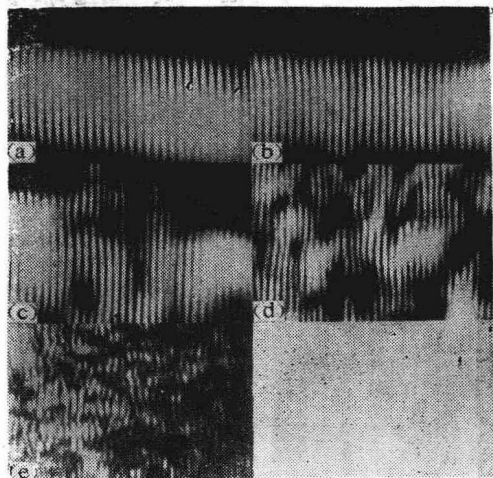


图 6 显示随着血液浓度增加,条纹逐步畸变,而且条纹反差降低。在水中[图 6(b)]的条纹质量和空气中[图 6(a)]一样好,说明激光束通过玻璃管径向平面时波前畸变可以忽略;这一观察和水中得到的高质量多普勒信号是一致的。管中放进血液使条纹畸变,但稀释 4:1 和 2:1 的条纹反差足以产生多普勒信号;在全血中,反差很低,条纹畸变,几乎无法辨认。血液中的照片是在静态流体中摄取的;流动时因为条纹区血球列阵改变条纹模式随时间变化。屏上光强分布有闪烁,用光电倍增管接收时,这会加宽零频谱。条纹间隔不均匀将使多普勒频率变化并使多普勒频谱加宽

分原因是图 6 中(c)(d)(e)与(a)、(b)相比,光在屏上散布的面积增大。最大的强度降低发生在 2:1 稀释和全血之间;图 6(e)需要的曝光时间比 6(d)长 8 倍。

## 四、讨论及结论

在本研究中,倘不能精确测量小血管和小直径玻璃管中的血流速度分布。Born 等人<sup>[9]</sup>报道的分布达到的精度可能是最好的精度,但也不过证实了非牛顿型流体中全面展开的速度分布的预计倾向,这种分布比抛物线型平坦。最大的问题是红血球浓度太高会引起不可忽视的多次散射,吸收和波前畸变。更具体地说,造成测量困难的原因有:

(1) 光束在交叉之前就发生散射,减小了光强,产生背景噪声,而且在光束周围有一团准直不良的光晕。结果使空间分辨率下降,信噪比下降。散射体积尺寸至少可能增加一倍以上,不过不可能做精密的定量测量。

(2) 在血液中时间相干度严重下降。通常的激光多普勒速度计中粒子浓度足够低,以致条纹模式只是局部地被偶然出现的粒子所破坏;忽略粒子的影响来处理光强分布,是一种很好的近似。而目前情况下观察到的条纹模式中,通过交叉区的粒子对条纹的影响与两束交叉光相互作用对条纹的影响同样强烈。相互作用区的光强和尺寸之间分析表示式多半无效,(3)式只能大致确定多普勒频率和速度之间的关系(即条纹间隔)。

(3) 在管径大约 500 微米以下的管中,测定近壁的速度特别困难,在这种细管中,相对于管径而言的空间分辨率更差。这样,虽从测微计的横向移动可以定出测量点的相对间隔,但这些点到管壁的距离只能从管轴的位置定出,而管轴的位置是假设速度分布对称的情况下估算出来的。

(4) 在血流中,因(1)所述的理由,测量体积的准确定位更为困难。血管的光学性质与理想的光学介质差得很远,因而产生光

束畸变。用倒向显微镜,只能观察到光束交叉区的纵向;这是不够的,为了更明确地定出交叉区,更需要从侧向观察光束平面。鼠的肠系膜可能蠕动,更增加了问题的复杂性。这样,即使测出了速度,不知道精确的测量位置,还不能得到速度分布的数据。

这里要提出,目前的工作大都是在不知道血液的光学性质情况下所做的。Kried 等人<sup>[12]</sup>把人血、狗血中红血球和影细胞的散射截面作了比较。对以影细胞作散射粒子的激光多普勒速度计早期使用,他们的结果是适用的;但他们只考虑较低的红细胞压积( $<0.16$ )。光学性质方面的其他文章看来涉及血液透光与吸氧浓度的关系,深度超过 100 微米;文章中没有光的相干性质方面的资料。

我们的光学系统有可能使用频移技术分开多普勒频谱和零频谱来加以改进。Oldengarm 等<sup>[13]</sup>已说明可用来测量 250 微

米厚度水膜中的速度分布,这种流体中碰到的问题与我们的问题相类似。他们在系统中用一旋转的衍射光栅,这一系统小到足以和显微镜改装的光学系统连接。从目前要求来看,频移的稳定性也许还不能使人满意,因为血管中速度低,要求频移小于 10 千赫。

总之,我们认为激光多普勒测速技术在活体或小直径玻璃管的定点速度研究方面不见得有什么价值。用激光多普勒测平面通道中剪切流的定点速度分布可以了解血液的流变性质。这种几何结构会消除光束在管的弯壁上折射造成的光学上的困难,当然也会消除活体中应用的其他特殊困难。但用全血时仍有空间分辨率差,相干性变差的缺点,而用影细胞悬浮液和红细胞压积小于大约 0.2 的血较为有利。

(参考文献略)

李海沧译自《Biorheology》1978 年 15 卷 3/4 卷  
163~172 页,孙渝生校

# 激光散射研究黄体酮对精子活动力的影响

Wylie I. Lee · Richard J. Blandau

大家知道,黄体酮使宫颈分泌细胞分泌少量粘稠的、精子不能穿透的粘液。这种粘液类似正常月经周期的黄体期分泌的宫颈粘液和牛动情期分泌的粘液。人们自然要问,孕激素对精子的活动力也有直接影响吗?我们用动态激光散射法测量刚洗涤过的人精子和加有黄体酮的精子的活动力,两者均以精子在散射光谱中表现的游动速度来表示。当黄体酮浓度比生理浓度大三倍时,游动速度明显减低。此现象证实了早先的生化研究所见,即黄体酮具有显著的抑制精子作用。我们认为这个现象回答了上述问题:释放黄体酮的节育器不仅对宫颈分泌细胞有作用,而且对精子也有直接作用。

以往的研究发现,孕激素能够影响人精子在宫颈粘液中的移动和精子的代谢,并影响具有活动力的精子的百分率。当孕激素给予妇女后,宫颈粘液变为稀少、粘稠、多细胞,从而抑制精子的穿透。将黄体酮加到硅橡胶节育器中,放入阴道或子宫,激素即扩散而使阴道和子宫的局部细胞发生变化。具有恒定的黄体酮释放率的T形宫内节育器(Progestasert system 或 Alza-T)放入宫腔后,失败率仅1.0妊娠/100妇女年。虽已有人提出几种作用方式,但从未评价过黄体酮对人精子活动力的影响和精子对药物的耐受性。激光散射为非侵害性方法,能客观而可靠地迅速测量精液标本中的精子游动速度,精子密度和活动精子的百分率。在本研究中,我们采用激光散射法测量体外抑制精子的黄体酮浓度。

## 材料和方法

用两种方法测黄体酮对精子活动力的影响。

第一法:先将黄体酮溶于乙醇,再用加有0.5%果糖的 Krebs-Ringer-磷酸盐溶液

稀释。由有生育力的健康男子禁欲至少三天后手淫取得精液。采用 Hathaway 和 Hartee 的方法制备洗涤的人精子,因为此法不抑制精子活动力。对照培养基和含黄体酮的培养基中洗涤精子的终浓度为  $100 \sim 150 \times 10^6$  精子/毫升。黄体酮溶解于乙醚后,加到缓冲液中,用气流使培养基的乙醚挥发,然后加入洗涤精子。

第二法:取直径为1/16英寸,长4英寸的含黄体酮硅橡胶棒(由南加州大学 Livingston 研究中心供应),切下3/4英寸长的一段。将棒从塑料套管中取出称量,然后浸于含有洗涤精子的培养基中。另取相同的一段棒浸在动情期母牛的离体宫颈粘液中。粘液标本在  $37^\circ\text{C}$  及饱和湿度下培养5小时,然后用激光散射法测量其大分子结构有无变化。因为此棒未用聚丙烯包封,所以估计激素释放率为20微克/小时,比 Alza-T 的2.7微克/小时的释放率高得多。

采用激光散射法测量精子活动力。此法曾被用来研究细菌运动和精液浆中的精子活动。这种方法是对一群活动物体引起的散射激光作光谱分析。根据光学的多普勒效应,

散射光的强度分散为多种频率, 构成一种光谱, 这种光谱决定于精子的速度。以前报道过该研究采用的分光计。用中性密度滤波器将氦氖气体激光 (Spectra Physics 124A) 的输出减弱到 1.5 毫瓦。激光光束经过聚焦, 垂直通过可拆卸的分光镜扁平玻璃管 (Markson 20C-G-1.0), 管内约含 0.4 毫升测试标本。当精子浓度约为  $10^8$  精子/毫升时, 在标本的照明区约有 700 个精子。用针孔透镜系统以  $11^\circ$  角收集精子的散射光, 聚焦于光电倍增管 (ROA-C7164R) 阴极前方的针孔上。经光电倍增管将散射光的强度波动转变为电流的波动后, 用傅里叶快速转换数字光谱分析仪 (Nicolet Model 440 A) 计数散射光的光谱和光谱的对数值。根据对数光谱坡度测量活动力。一切测量都在室温 ( $21^\circ\text{C}$ ) 下进行。

## 结果与讨论

图 1 是从对照标本得到的光谱。此光谱大致为频率的衰减指数函数。所以光谱的半对数曲线是一条直线。光谱形态与精子游动速度的分布有关 (图 1, 插图), 而直线坡度与最可几的游动速度 ( $\alpha$ ) 和散射矢量 ( $K$ ) 的乘积成反比。  $K = (4n\pi/\lambda)\sin(\theta/2)$ , 可从基质的折射指数 ( $n=1.34$ ), 激光波长 ( $\lambda=0.633$  微米) 和散射角 ( $\theta=11^\circ$ ) 计算而得。在本研究中,  $K$  是固定值, 为  $2.58 \times 10^4$  厘米 $^{-1}$ 。

作了测量乙醇最高量 (以容积百分比表示) 的试验。乙醇本身不影响精子的活动力。每隔 100 分钟或更长时间, 对各个标本进行一次测量和监视。图 2 示激光散射测量结果。对照标本的最可几游动速度 ( $\alpha$ ) 在大约 40 分钟内从开始的 32 微米/秒降为约 20 微米/秒, 以后维持此速度 1 小时。精子在含 0.15% 乙醇的培养基中的活动力与对照标本无明显差别。含 0.5% 乙醇的培养基中精子活动的初始最可几速度较低, 但 30 分钟后与对照标本相等。初始速度低和延迟活动的

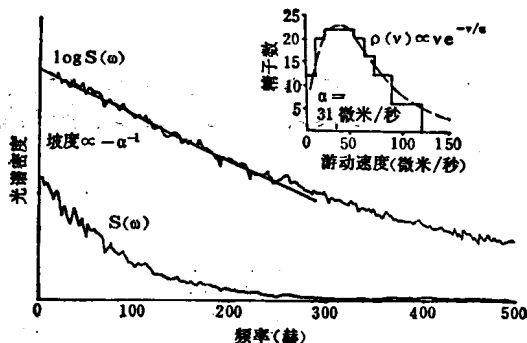


图 1 洗涤人精子散射光的频率光谱  $S(\omega)$ 。上方曲线为对数光谱  $\log S(\omega)$ 。插图是由 24 幅/秒速度拍摄的电影中测得的 176 个精子的游动速度 (实线)。速度分布大致相当于 Poisson 分布 (虚线), 最可几游动速度为 31 微米/秒

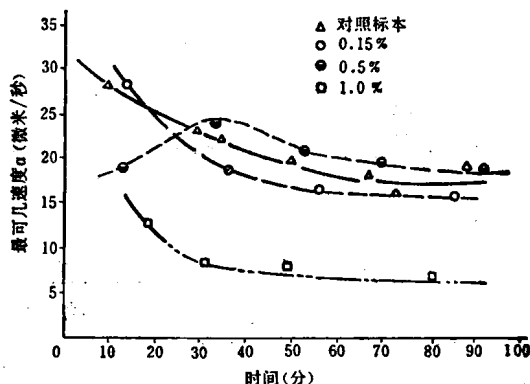


图 2 乙醇浓度对洗涤人精子最可几游动速度的影响。△: 对照标本; ○: 含 0.15% 乙醇的培养基; ●: 含 0.5% 乙醇的培养基; □: 含 1% 乙醇的培养基

原因不明。乙醇浓度为 1% 时, 不仅初始的精子活动速度低 ( $\sim 15$  微米/秒), 而且迅速降低到 7 微米/秒, 以后 1 小时中, 保持这个速度。

黄体酮对精子活动力的影响总结于图 3。乙醇浓度为 0.5% 或更低时, 溶解于缓冲液黄体酮量高达 2 微克/毫升, 比人月经周期的黄体期血浆最大浓度 (5 毫微克/毫升) 大 400 倍。这种浓度的黄体酮不抑制精子活动力。溶解于乙醚的黄体酮浓度达 40 微克/毫升时, 精子活动力被抑制为对照标本的一半。图 4 示含 3.6 毫克黄体酮的硅橡胶棒浸

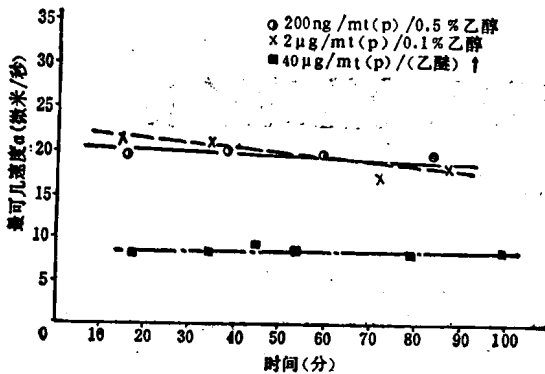


图3 各种黄体酮浓度对洗涤人精子最可几游动速度的影响。●：200毫克/毫升和0.5%乙醇；×：2微克/毫升和0.1%乙醇；■：40毫克/毫升（乙醚），但乙醚挥发后才加入精子

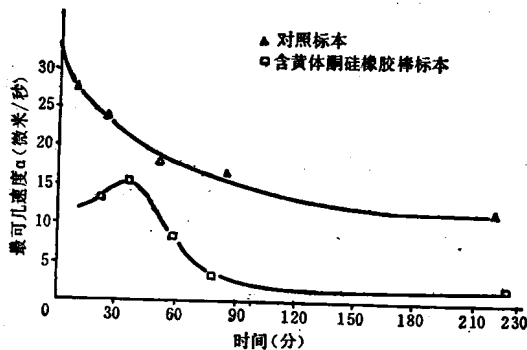


图4 含黄体酮硅橡胶棒对洗涤人精子最可几游动速度的影响。△：对照标本；□：浸有硅橡胶棒的标本

在培养基中的作用。棒放在盛有洗涤精子的玻璃管内。开始时，最可几速度只有对照标本的一半，但30分钟内速度加快，以后迅速减慢，两小时时，精子静止不动。Kesseri等研究黄体酮对人精子穿过宫颈粘液的抑制作用，也见到30分钟时速度增高的现象。我们还用激光散射法研究含黄体酮硅橡胶棒对体

外的宫颈粘液粘弹性的影响。我们发现，即使经过48小时培养，宫颈粘液的粘弹性也测不出变化。由于未包封的硅橡胶棒的药物释放率较高（20微克/小时），精子活动力的暂时改变可能是激素对精子作用的结果，不是激素浓度改变的影响。由于黄体酮不改变体外宫颈粘液的大分子结构，所以我们和Kesseri等见到的30分钟时精子活动增强的现象可能暗示，精子未失去活动力之前的活动增强与黄体酮对精子浆膜受体的作用有关。

激光散射法提供了精子活动力的定量测定方法，它是非侵害性的，并且可以迅速进行测量。本研究结果表明，黄体酮浓度可以高达2微克/毫升而对精子活动力不产生明显影响。黄体酮浓度更高的制品则抑制精子活动力。

如Rosado等指出，黄体酮-T，即含黄体酮的宫内节育器，能抑制精子的代谢和获能。我们的研究结果表明，黄体酮还能抑制精子游动速度。子宫或宫颈分泌物的黄体酮浓度不会高达20微克/毫升，即使如此，精子活动力抑制仍能出现，抑制作用乃取决于激素浓度与精子浓度的比例而不取决于激素的绝对浓度。Wester等报道，精子浓度降低时，刺激牛精子活动力的睾酮最合浓度亦降低。由于使用宫内节育器的妇女在性交后子宫里的精子平均数不到100个，所以子宫内只需要低浓度黄体酮，就对精子活动力有直接抑制作用。

魏珉生译自《Fertility and Sterility》1979年32

卷3期320~323页，刘德傅校

# 激光照射对卵巢形态和功能的影响

Давыдов С. Н. 等

激光在妇科应用的可能性知道得很少,有实验根据的研究也不多。关于用不同类型和功率的激光照射卵巢后,其形态上特别是功能上的变化详细资料,在我们的文献中不多(Огнев 等 1969, 1973; Кнорре 等)。据此,我们决定研究钹激光照射卵巢后,对其形态和功能的影响,并与用二氧化碳激光(激光刀)和普通刀作的卵巢手术进行比较研究;氩-氟激光照射具有正常性功能的动物的卵巢,研究其对卵巢形态和功能的作用;以及阐明动物的排卵过程被人工破坏后,用激光治疗的可能性。

实验中,用 25 只白色雌鼠,以阴道涂片法观测卵巢功能状况,选择性周期规律为 4~5 天的动物做实验。为研究卵巢构造,分别将经过脉冲照射(1 小时, 1, 3, 7, 17, 21, 30, 60 天以后)、二氧化碳激光和解剖刀的手术以及经过氩-氟激光照射 18 天的动物杀死,解剖后将双侧卵巢进行大体和显微镜检查。卵巢作组织学检查时,将组织固定在 10% 中性福尔马林中并用石蜡包埋,切片进行苏木紫伊红染色和 Van Gieson 染色。为进行完整鼠组卵巢的比较而检查。

第一部分实验是应用脉冲钹激光,在医学中应用时是一次或多次作用于各种病灶。实验中应用激光“ТОС1001 型”,输出能量 30~32 焦耳,脉宽 0.001 秒。实验动物(用激光刀和解剖刀切开卵巢的动物),用乙醚麻醉在保持无菌情况下施行下腹正中剖腹术,随后在腹腔找到卵巢,将其牵引至腹腔外(1 或 2)进行激光照射。聚焦照射在卵巢中央,光斑直径 1 毫米。随后再将卵巢置于腹腔,

腹壁伤口分层紧密缝合。

第二部分实验是应用激光刀和普通刀对卵巢手术的比较。实验应用二氧化碳激光,输出功率 16~18 瓦,经透镜聚焦照射在牵出腹腔的暴露出的卵巢表面,光斑直径 1 毫米。在 1.5~2 秒时间内,沿卵巢长度分成两个相等部分切开。然后分层缝合腹壁切口。为了进行比较,用普通解剖刀进行了同样的手术。

最后,第三部分工作是检验低功率氩-氟激光用于理疗目的的刺激作用。应用苏产 ЛП-75 型激光器,输出功率 25 毫瓦。经皮肤照射氩-氟激光单色红光于去毛的动物腰骶部皮肤区(卵巢相应区及其反射区),历时 15 天,曝光 5 分钟,光斑直径 5 厘米。

59 只鼠进行脉冲激光照射作用的研究;28 只照射 1 侧卵巢,其余 31 只照射两侧卵巢。实验中应用较小的激光能量照射(30~32 焦耳)引起卵巢及其周围组织局限性出血,分布在照光部位,照射 3 天后出现细胞增殖,组织血肿肌化。照射 7 天后,卵巢周围组织发现小的结缔组织增生区和弥漫性圆细胞浸润。照射 17 天和较晚期(60 天),卵巢组织无任何病理形态学变化。

这种实验不论是单侧或者双侧均使卵巢功能紊乱持续较长时间。在一侧激光作用下性周期的破坏表现为 23 天,双侧为 22 天。统计学分析一侧和双侧激光作用,平均性周期持续时间,统计上有可靠的延长倾向,基本上是由于急剧增加发情间期的持续时间。上述性周期变化应认为是在脉冲钹激光照射后的暂时作用,使卵巢功能降低。

所引材料,特别值得注意的是在脉冲激