

# IONIZACIJA SNOVI S SVETLOBO IN PRIMERI UPORABE V BIOMEDICINI

ANA REBEKA KAMŠEK

Fakulteta za matematiko in fiziko  
Univerza v Ljubljani

V članku je predstavljena ionizacija snovi z vidno in bližnje infrardečo svetlobo. Najprej je predstavljen sam proces in razloženi osnovni pojmi v povezavi z njim, kasneje pa je opisanih nekaj uspešnih uporab v biomedicini, kot so laserski mikrotom, subcelična kirurgija in pomoč pri zunajtelesni oploditvi.

## IONIZATION OF MATTER WITH LIGHT AND EXAMPLES OF APPLICATION IN BIOMEDICINE

In this article the ionization of matter with visible and near-infrared light is discussed. The description of the process itself and the explanation of the relevant expressions are followed by descriptions of a few successful examples of application in biomedicine, such as the laser microtome, subcell surgery and assisted hatching in assisted reproduction.

### 1. Uvod

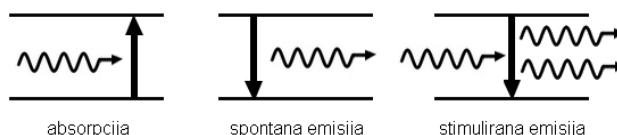
Laserji so v zadnjih desetletjih postali uporabno orodje v biomedicini. Med drugim omogočajo obdelavo tkiv na celični in subcelični ravni. Pri tovrstni obdelavi za razliko od različnih kemičnih in mehanskih postopkov ne prihaja do prenašanja toplote in mehanske energije na sosednje celice, kar omogoča visoko natančnost in zmanjša tveganje za negativen vpliv na nadaljnji razvoj in razmnoževanje celic.

V seminarju obravnavam postopek ionizacije snovi s svetlobo in nekaj primerov uporabe v biomedicini. Najprej kratko razložim princip delovanja laserja, ki je ključen instrument za izvedbo postopkov in opišem fizikalno ozadje fotoionizacije. Med primere uporabe sodijo priprava histoloških preparatov, celična in subcelična kirurgija ter več oblik pomoči pri postopku zunajtelesne oploditve.

### 2. Osnove delovanja laserja

Laser je naprava, ki v zelo ozkem območju valovnih dolžin oddaja zelo kolimiran, t.j. prostorsko omejen in usmerjen snop svetlobe, ki ga lahko zberemo na zelo majhno območje.

Laser deluje na osnovi stimulirane emisije elektromagnetnega valovanja. To je proces, pri katerem snop svetlobe vzbudi elektrone v atomih, da izsevajo fotone v enaki smeri in z enako valovno dolžino kot vpadli snop svetlobe. Skica procesa je prikazana na sliki 1.



**Slika 1.** Shematski prikaz spontane emisije, absorpcije in stimulirane emisije.

Da dosežemo stimulirano emisijo fotonov, si predstavljajmo sistem z vsaj dvema nivojema - osnovnim in vzbujenim. V vsakem sredstvu se pri sobni temperaturi večina atomov(molekul, ionov)

nahaja v osnovnem stanju. Energija oziroma frekvenca izsevanega oziroma absorbiranega fotona je določena z enačbo

$$E_2 - E_1 = h\nu_{21}, \quad (1)$$

kjer je  $E_2$  energija višjega nivoja,  $E_1$  energija nižjega nivoja,  $h$  Planckova konstanta in  $\nu_{21}$  frekvenca izsevanega oziroma absorbiranega fotona.

Ko foton z določeno valovno dolžino interagira z atomom, ga ta lahko absorbira in preide na višji energijski nivo. Pojemanje gostote toka v snovi zaradi absorpcije fotonov, ki elektrone vzbudijo v vzbujeno stanje lahko opišemo z enačbo

$$j(x) = j_0 e^{-\sigma_{10} N_0 x}, \quad (2)$$

kjer  $j$  pomeni gostoto svetlobnega toka snopa v sredstvu,  $j_0$  gostoto svetlobnega toka vpadnega snopa fotonov,  $\sigma_{10}$  absorpcijski presek,  $N_0$  številsko gostoto atomov v osnovnem stanju in  $x$  globino v sredstvu. Ko elektron v višjem stanju sam od sebe preide v nižje energijsko stanje in odda foton, govorimo o spontani emisiji. O stimulirani emisiji govorimo, ko foton z valovno dolžino, ki ustreza prehodu elektrona med dvema stanjema, interagira z vzbujenim atomom, in ga spodbudi, da med prehodom na nižji energijski nivo odda še en foton z enako valovno dolžino in v enaki smeri, kot se giblje prvi foton. Tu en foton povzroči nastanek dodatnega identičnega fotona, kar vodi v vedno večje število fotonov. Stimuliran prehod elektronov iz vzbujenega v osnovno stanje, kjer se na začetku ne nahaja noben elektron, opišemo z enačbo

$$j(x) = j_0 e^{+\sigma_{10} N_1 x}, \quad (3)$$

ki je analogna enačbi (2), le da se spremeni predznak v eksponentu,  $N_1$  pa predstavlja številsko gostoto vzbujenih atomov.

Enačbi (2) in (3) za procesa absorpcije in stimulirane emisije lahko združimo v enačbo

$$j(x) = j_0 e^{+\sigma_{10} (N_1 - N_0) x}. \quad (4)$$

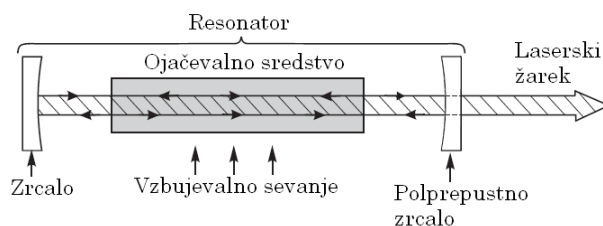
Če želimo doseči, da se bo snop svetlobe v snovi ojačal, mora biti eksponent v zadnji enačbi pozitiven. Ker sta  $x$  in  $\sigma_{10}$  pozitivni količini, mora torej veljati

$$\frac{N_1}{N_0} > 1. \quad (5)$$

Absorbirati se mora manj fotonov, kot se jih dodatno emitira. Potrebna je torej inverzna zasedenost nivojev - zasedbeno število zgornjega nivoja je višje od zasedbenega števila spodnjega.

Inverzne zasedenosti v termodinamskem ravnovesju ne dosežemo, zato moramo z zunanjim virom energije elektrone v ojačevalnem sredstvu spodbujati k prehodom na višja vzbujena stanja. To lahko storimo npr. s pomočjo električne napetosti ali s svetlobo. V laserjih se sicer dogajanje odvija na več energijskih nivojih, ker je v sistemu, ki ima več kot dva energijska nivoja, lažje doseči inverzno zasedenost [1].

Slika 2 prikazuje zgradbo laserja. V osnovi laser sestavljata ojačevalno sredstvo in resonator, ki je sestavljen iz zrcala in polprepustnega zrcala. Fotoni v resonatorju, ki nastanejo kot posledica stimulirane emisije, sproti vzbujajo druge atome v ojačevalnem sredstvu. Zrcalo in polprepustno zrcalo, ki sredstvo obdajata, poskrbita za večkratni odboj svetlobe in s tem ojačitev izhodnega snopa svetlobe, ki zapusti resonator skozi polprepustno zrcalo.

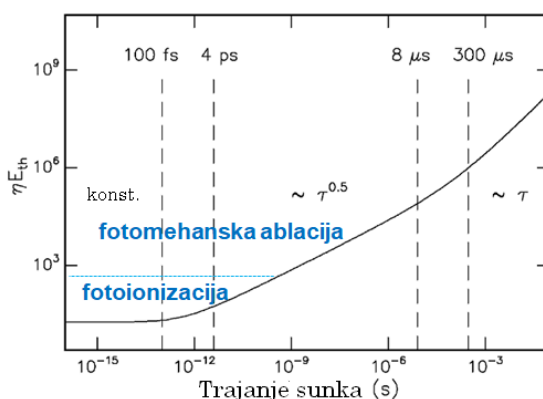


Slika 2. Osnovna skica delovanja laserja [1].

### 3. Ionizacija snovi s svetlobo

V splošnem je ionizacija proces, pri katerem atom zaradi odvzetih elektronov ni več električno nevtralen. To je lahko posledica trkov z ostalimi atomi, molekulami in ioni, lahko tudi z visokoenergijskimi elektroni ali nevtroni, posledica interakcije s fotoni itd. Pri slednji govorimo o fotoionizaciji.

V nadaljevanju se omejimo na fotone nižje energije v vidnem in bližnje infrardečem območju. Ionizacijo snovi s svetlobo tako lahko dosežemo s kratkimi in močnimi laserskimi sunki. Ker so sunki tako kratki, je toplotna difuzija zanemarljiva in vzorec v okolici se ne segreje bistveno. Odvisnost pragovnih vrednosti od lastnosti materiala prikazuje slika 3.


 Slika 3. Graf odvisnosti pragovne energijske gostote  $E_{th}$  od časa trajanja sunka. Na navpični osi se nahaja produkt energijske gostote in parametra  $\eta$ , ki je lastnost snovi [2, 3].

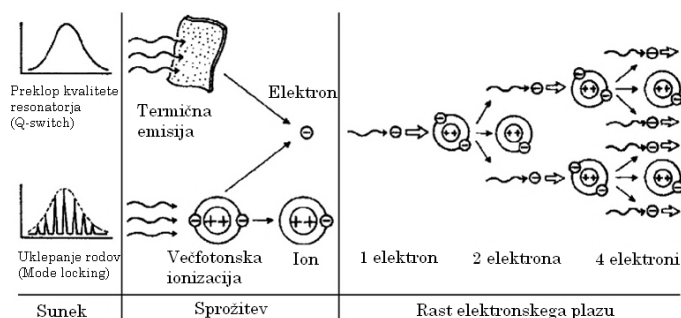
Pragovne vrednosti so v veliki meri odvisne od materiala, ki ga opišemo s parametrom  $\eta$ . Večji  $\eta$  pomeni manjšo dopustno energijsko gostoto sunka, da ostanemo v režimu fotoionizacije.  $\eta$  znaša za vodo  $1 \text{ cm}^2/\text{J}$ , za očesno lečo  $3 \text{ cm}^2/\text{J}$  in za roženico 8 do  $10 \text{ cm}^2/\text{J}$  [2, 3].

Gostota svetlobnega toka  $j$  je z jakostjo električnega polja  $E$  povezana z zvezo

$$j = \frac{1}{2} \epsilon_0 c E^2, \quad (6)$$

kjer sta  $\epsilon_0$  dielektrična konstanta in  $c$  hitrost svetlobe. Visoko gostoto svetlobnega toka dosežemo z močnim zbiranjem snopa. Za pikosekundne sunke so pragovne gostote energijskega toka reda velikosti  $10^{11} \text{ W}/\text{cm}^2$ , jakosti električnega polja pa  $10^7 \text{ V}/\text{cm}$ . Vrednosti so primerljive s povprečnimi atomskimi ali intramolekularnimi Coulombskimi polji in so zadosten pogoj za ionizacijo snovi.

Pri pikosekundnih sunkih se ionizacija snovi s svetlobo prične s procesom večfotonske ionizacije, kar je prikazano na sliki 4 [3]. Večina prehodov med energijskimi nivoji poteka v ultravijoličnem delu spektra, torej pri velikih energijah, fotoni, ki jih pri tem procesu usmerimo v material, pa imajo valovne dolžine pretežno v vidnem in infrardečem delu spektra. V atome usmerimo večje število



Slika 4. Shematski prikaz procesa fotoionizacije [3].

fotonov z energijo, ki sicer ni zadosti visoka za vzbuditev elektronov na višji energijski nivo, a zaradi velikega števila vodijo do visoke gostote toka in imajo skupno zadostno energijo, da primerno vzbudijo atome.

Večfotonska ionizacija je izrazito slučajen proces, katerega verjetnost se večja z gostoto toka. Pri običajni absorpciji, kjer se absorbira po en foton naenkrat, je gostota moči, ki se deponira v snovi, sorazmerna z gostoto toka, kar opišemo z enačbo

$$\frac{dP}{dV} = -\mu_a j, \quad (7)$$

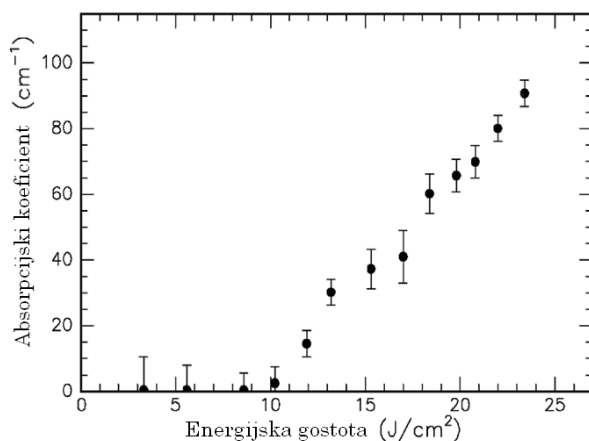
kjer je  $\frac{dP}{dV}$  volumska gostota deponirane moči in  $\mu_a$  absorpcijski koeficient materiala.

Večfotonska ionizacija pa ni linearen proces. Absorbirana moč je sorazmerna z gostoto toka na potenco števila absorbiranih fotonov  $j^n$ , kjer je  $n$  večji od 1.

$$\frac{dP}{dV} = K \left( \frac{j}{j_0} \right)^n, \quad (8)$$

kjer je  $K$  konstanta, tipično bistveno manjša od 1, razmerje  $\frac{j}{j_0}$  pa večje od 1. Za velike  $n$  torej člen  $\left( \frac{j}{j_0} \right)^n$  strmo raste in verjetnost za absorpcijo je večja.

Absorpcijski koeficient materiala posledično ni konstanten, ampak je funkcija energijske gostote. Lastnosti materiala lahko torej manipuliramo s primerno izbranim parametrom svetlobnega sunka. Kjer se vrednosti za  $\mu_a$  na sliki 5 začnejo razlikovati od nič, se nahaja prag več-fotonske ionizacije.



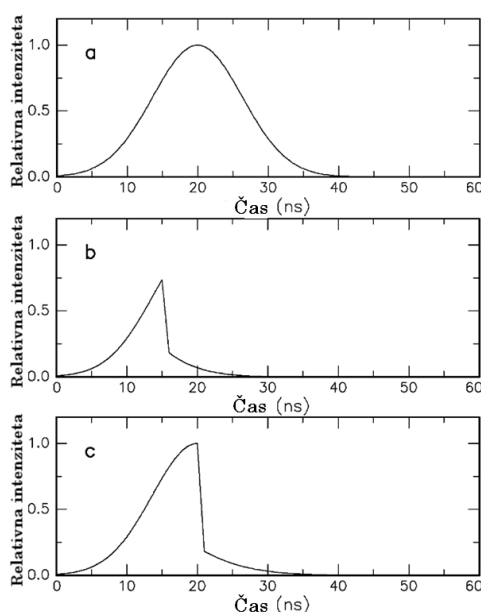
Slika 5. Prikaz odvisnosti absorpcijskega koeficienta destilirane vode od energijske gostote vpadlega svetlobnega sunka [2].

Zaradi slučajnosti procesa opazimo, da se tudi za energijske gostote, manjše od pragovne vrednosti, absorpcijski koeficient včasih razlikuje od nič. Pri teh energijskih gostotah pride do absorpcije le včasih, zaradi slučajnosti procesa.

Proces večfotonske ionizacije je sprožilec elektronskega plazmu. Maloštevilni prosti elektroni, ki so rezultat navedenih procesov, se pomnožijo. Prost elektron lahko namreč absorbira foton in dobi pospešek. Zatem trči v drug atom in ga ionizira, po trku sta tako na voljo dva prosta elektrona. Ta dva ponovita postopek in poskrbita za plazovno ojačanje, torej za še več pridobljenih prostih elektronov. Proces absorbiranja fotonov in pospeševanja elektronov imenujemo inverzno zavorno sevanje.[2] (Pri običajnem zavornem sevanju imamo opravka z obratnim procesom, tj. elektroni ob zaviranju v snovi oddajo elektromagnetno sevanje.)

V nekaj sto pikosekundah se v snovi tako ustvari visoka gostota prostih elektronov reda velikosti  $10^{18} \text{ cm}^{-3}$ , plazma pa močno absorbira svetlobo UV, vidnega in IR-spektra [2].

Trije grafi na sliki 6 prikazujejo naključnost procesa večfotonske ionizacije na primeru laserskega sunka, usmerjenega v kristal natrijevega klorida.



**Slika 6.** Prikaz treh različnih primerov prepuščenega sunka rubinskega laserja z valovno dolžino  $\lambda = 694 \text{ nm}$  in časom trajanja sunka  $t = 15 \text{ ns}$  skozi kristal NaCl [2].

V prvem primeru ni prišlo do sprožitve elektronskega plazmu. Prepuščen je bil celoten laserski svetlobni sunek. V drugih dveh primerih pa je ob dveh različnih časih prišlo do nastopa nelinearne absorpcije, ki jo na grafih vidimo kot mesto preloma krivulje. Prepušчени tok se takrat drastično zmanjša zaradi skokovitega dviga absorpcijskega koeficienta  $\mu_a$ . V drugem in tretjem primeru je ob tem prišlo celo do poškodbe vzorca, v prvem primeru pa je vzorec ostal nespremenjen [2].

Režim fotoionizacije dosežemo le za določene vrednosti trajanja sunka in produkta energijske gostote ter parametra  $\eta$ , kar je razvidno iz slike 3. Ob zadostnih energijskih gostotah preidemo v režim fotomehanske ablacije, ki povzroča neželeno uničenje vzorca, pri čemer krajše valovne dolžine laserja znižajo prag začetka fotomehanske ablacije. Območje režima fotomehanske ablacije je prikazano na sliki 3. Optični preboj lahko vodi do nastanka močnih akustičnih udarnih valov, ki mehansko prizadenejo večje območje.

Elektronski plaz se sicer lahko sproži tudi kot posledica toplotne emisije elektronov [3]. Ker

sunki, s katerimi sprožimo toplotno emisijo elektronov, tipično trajajo nekaj nanosekund in imajo večjo energijo, z njimi dosežemo fotomehansko ablacijo, kot je prikazano na sliki 3.

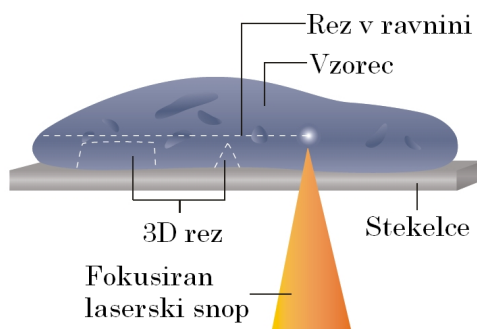
#### 4. Uporaba v praksi

Ob izboru primernih parametrov proces fotoionizacije omogoča zelo dobro definirano odstranjevanje tkiva brez termičnih ali mehanskih posledic na okolico. Omogoča najfinejše reze v mehka tkiva in izredno natančno obdelavo trdih tkiv ter možnost sub-celične kirurgije. Ker zmorejo žive celice delovati le v zelo ozkem razponu temperatur, lahko že majhno segrevanje zaradi absorbirane energije povzroči njihov propad [4].

##### 4.1 Priprava histoloških preparatov z laserskim mikrotomom

Ena od uporab ionizacije snovi s svetlobo je laserska mikrotomija, tj. delanje histoloških rezin.

Proces rezanja poteka v bližnjem IR spektru na valovni dolžini približno 1000 nm s kratkimi laserskimi sunki, dolgimi nekaj femtosekund. Pri uporabljeni valovni dolžini ima večina bioloških tkiv nizek absorpcijski koeficient, kar omogoča obdelavo tkiva na izbrani globini pod površino. Globino si izberemo s fokusiranjem snopa, kar dosežemo s premikanjem leče. Učinek bo opazen le v grlu snopa oz. gorišču leče, kar je prikazano na sliki 7.

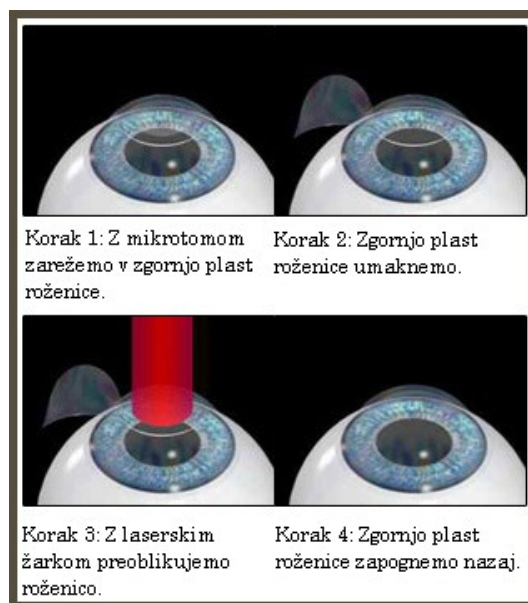


**Slika 7.** Prikaz delovanja laserskega mikrotoma. Plazma, inducirana s pomočjo laserja, je uporabljena za rezanje tkiva brez mehanske sile [5].

Zaradi visoke intenzitete laserskega snopa (do  $10^{12}$  W/cm<sup>2</sup>) večfotonska absorpcija sproži ionizacijo tkiva, kar vodi do razkroja tkiva v plazmo. Če je sunek dovolj kratek (100-400 fs) in premer osvetljenega območja dosti majhen (reda velikosti  $\mu\text{m}$ ), je za optični razpad snovi potrebna le majhna energija sunka (reda velikosti 10 nJ).

Pri običajnem rezanju tkiv z mehanskimi rezili je potrebno tkivo prej pripraviti, tj. ga pritrditi, dehidrirati, shranjevati v parafinu, zamrzniti itd. Taka predpriprava lahko povzroči spremembe v biološkem materialu. Laserska mikrotomija je brezkontaktna in ne zahteva predpriprave tkiva [6].

Eno od uveljavljenih komercialnih naprav, ki je trenutno na tržišču, je razvila nemška družba Rowiak GmbH. Uporabljeni laser vpliva na tkivo do globine enega milimetra. Debelino in površino rezine določi uporabnik. Obdelati je možno rezine velikosti do 14 x 14 mm s hitrostjo enega kvadratnega milimetra na sekundo. Današnji mikrotomi zmorejo delati rezine debelin od 5 do 100 mikrometrov. Za svetlobno mikroskopijo se uporabljajo rezine, debele 5 do 10 mikrometrov, debelejše rezine pa so zanimive za nevrološke eksperimente. Primer današnje uporabe v medicini je prikazan na sliki 8 [6].



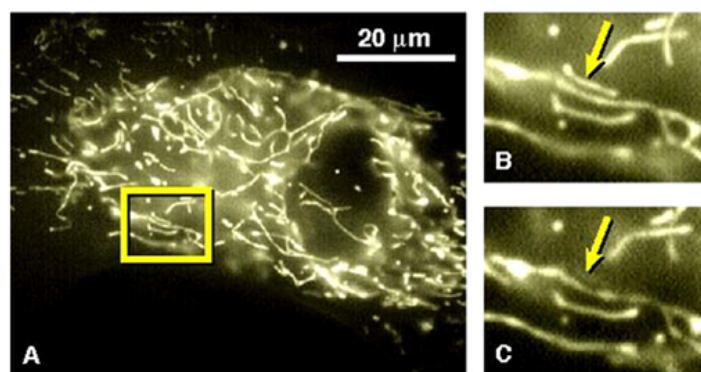
**Slika 8.** Prikaz operacije očesa z metodo LASIK. Z napravo femto LASIK zarežemo v zgornjo plast roženice, z laserskim snopom preoblikujemo obliko roženice in jo nato pokrijemo s prej odstranjeno plastjo. Danes je to uveljavljen postopek odpravljanja dioptrije [7].

Na tak način je možno obdelati vsako mehko tkivo z izjemo tkiv z visoko vsebnostjo melanina. Poleg rezanja tkiv je laserski mikrotom moč uporabiti tudi v namene morfološke analize zelo mehkih tkiv, tj. analiza oblike celic.

V prihodnosti gre pričakovati, da se bo ta tehnologija uporabljala še širše, npr. za rezanje trdih tkiv, rastlin, lesa itd. Današnje hitrosti obdelave tkiva so prenizke, da bi se postopek rutinsko uporabljal za analizo patoloških tkiv, je pa laserski mikrotom primerno orodje za imunološke raziskave, kjer je pomembno, da je tkivo med obdelavo živo.

## 4.2 Celična in subcelična kirurgija

S femtosekundnimi laserji lahko zelo natančno in kontrolirano ciljamo posamezne organele ali druge strukture v celici. Ne da bi prizadeli okolico lahko prerežemo katero od celičnih struktur ali uničimo izbran organel. Metoda je neinvazivna in omogoča študij delovanja celice, ki ji manjka kak organel ali struktura. Slika 9 prikazuje delovanje laserja na mitohondrij.



**Slika 9.** Primer subcelične kirurgije na mitohondrijih v celici. Sliki (A) in (B) prikazujeta mitohondrij pred obsevanjem, slika (C) takoj po njem. Uporabljenih je bilo nekaj sto svetlobnih sunkov z energijo 2 nJ in dolžino 100 fs [4].

Ionizacijo in s tem uničenje delov celice dosežemo z nizkoenergijskimi svetlobnimi sunki z nizko frekvenco ponavljanja, ki jih fokusiramo v notranjost celice [4].

### 4.3 Laserski posegi pri postopku zunajtelesne oploditve

Pri postopku zunajtelesne oploditve spermije in jajčno celico združijo zunaj človeškega telesa in zarodek naknadno vstavijo v maternico. Uspešnost postopka lahko izboljšajo s pomočjo laserjev.

#### 4.3.1 Oploditev

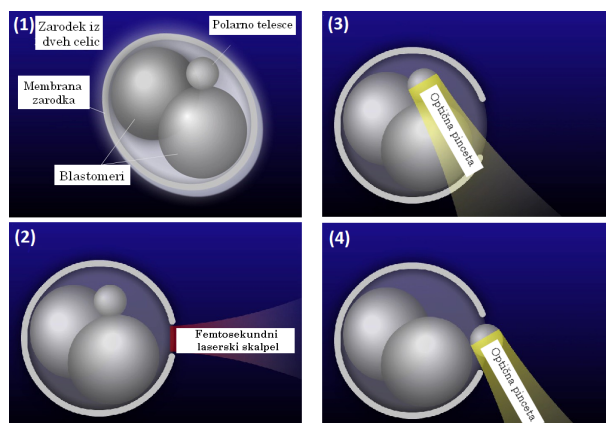
Če se težava pojavi že pri sami oploditvi jajčne celice, lahko z postopkom fotoionizacije stanjšamo ali naluknjamo membrano jajčne celice in spermijem olajšamo prehod v notranjost celice. Membrana igra bistveno vlogo pri reakciji med glavo spermija in jajčno celico ob oploditvi, po njej pa blokira vstop ostalim spermijem in omeji kontakt z ostalimi celicami.

#### 4.3.2 Biopsija zarodka

Pred vstavljanjem zarodka v maternico lahko v namen diagnoze nekaterih dednih bolezni uporabimo laser za izvedbo biopsije.

Pri obdelavi membrane zarodka izrabljamo proces fotoionizacije. S femtosekundnimi svetlobnimi sunki naredimo luknjo v membrano in z optično pinceto skozenjo izvlečemo polarno telesce, ki kasneje sicer propade, vsebuje pa genetski material matere, ki ga lahko analiziramo. Uspešnost biopsije je odvisna od pričvrščenosti polarne telesca na membrano zarodka.

Optična pinceta je priprava, s katero s pomočjo laserskega snopa v gorišče snopa s silo reda velikosti  $10^{-12}$  N ujamemo delec, katerega lomni količnik je višji od lomnega količnika okolice. Zaradi majhnega območja delovanja in možnosti natančnih premikov je naprava zelo uporabna v bioloških raziskavah. Slika 10 prikazuje uporabo optične pincete pri izvedbi biopsije zarodka.



**Slika 10.** Primer biopsije na zarodku. S femtosekundnimi laserskimi sunki naredijo odprtino v membrani (slika 2), z optično pinceto pa povlečejo polarno telesce iz zarodka (sliki 3 in 4) [9].

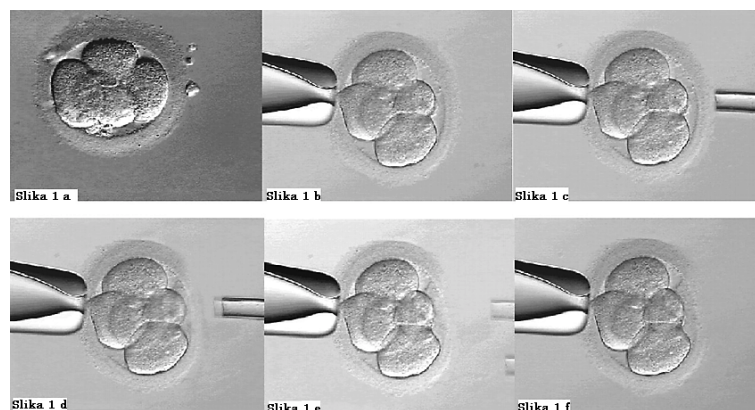
#### 4.3.3 Vgnezditev blastociste

Pri prenosu pripravljenega zarodka v maternico se pogosto pojavi težava pri vgnezditvi. Implantacija zarodkov je klasično uspešna v manj kot 20 % primerov. Izpostavljenost jajčnih celic in zarodkov nenaravnim pogojem izven človeškega telesa naj bi imela negativen učinek na zarodkovo sposobnost vgnezditve.



Največjo vlogo pri uspešnosti vgnezditve zarodka igrajo lastnosti celic zarodka prvih nekaj dni, npr. kvaliteta celične tekočine - citoplazme in kromosomska sestava. Človeška jajčna celica in zarodek v zgodnjih stopnjah razvoja imata zunanjo membrano debeline 13-15 mikrometrov, sestavljeno v večji meri iz beljakovin in ogljikovih hidratov. Ko zarodek prvih nekaj dni raste, se membrana postopoma tanjša, s čimer se pripravlja na vgnezditvev. Vgnezditvev zarodka je proces, pri katerem se zarodek večkrat skrči in raztegne, dokler ni pripravljen za ustalitev v maternici. Pri tem sta bistvenega pomena elastičnost in debelina membrane.

Da bi izboljšali delež uspešnih nosečnosti z laserjem lahko stanjšamo ali naluknjamo zarodkovo membrano, kot je prikazano na sliki 11. (Debelina membrane ne igra glavne vloge, najpomembnejše je, kako prožen je notranji sloj membrane. Posledica je, da je bolj produktivno narediti luknjo v membrano kot ji stanjšati le zunanjo plast.) Tovrstne metode so v uporabi tudi pri vgnezditvi predhodno zamrznjenih zarodkov. Uspešnost postopka je bila v nekaterih študijah opažena pri vseh primerih, le v različnem obsegu. Postopek je bil manj uspešen predvsem pri ženskah, starejših od 38 let, pri zarodkih z debelo zunanjo membrano in pri pacientkah, ki so že večkrat imele neuspešne poskuse implantacije.



**Slika 11.** Primer obdelave membrane zarodka. Na zgornjih treh slikah je membrana zarodka še v enem kosu. Zarodek drži pri miru pipeta na levi strani, iz desne pa se mu približuje laser. Na spodnjih treh slikah ima zarodek močno stanjšani del membrane na desni strani [8].

Poleg laserjev so v uporabi tudi druge tehnike, kot npr. mehanska perforacija membrane in povzročanje lukenj s pomočjo kislega sredstva, kemično tanjšanje membrane itd. Mehanske in kemične metode zahtevajo izjemno natančnost pri delanju lukenj v membrano, daljši čas, ko se zarodek nahaja izven inkubatorja in optimizirane metode za zmanjšanje razlik v temperaturi, zaradi česar so bolj tvegane od uporabe laserja.

Laser zaradi svoje sposobnosti koncentriranja energije na majhno površino kljub tveganju negativnih posledic ostaja idealno orodje za postopek. Laserski žarek je lahko na membrano usmerjen s pomočjo leč ali je voden skozi optično vlakno in se dotika zarodka. Možna negativna posledica pri obdelavi membrane je tako pri optičnih kot tudi pri ostalih metodah poškodovan zarodek ali preveč načeta membrana, ki ne varuje več notranjih celic pred zunanjimi vplivi. Pri procesu se zviša verjetnost enojajčnih dvojčkov, saj se pri delanju lukenj lahko zarodek zatakne v obliki osmice in se dva dela samostojno razvijata naprej [10].

## 5. Zaključek

Proces ionizacije snovi s svetlobo ima široke možnosti uporabe v biomedicini, saj omogoča zelo natančno obdelavo tkiva, omejeno na želeno območje. Ker okolica ostane nepoškodovana, je laser bolj

zanesljivo orodje od uporabe različnih kemičnih in mehanskih metod za iste postopke. Najpomembnejšo vlogo igra visoka gostota energijskega toka, ki jo dosežemo s fokusiranjem kratkih laserskih svetlobnih sunkov.

Proces lahko izrabljamo npr. za pripravo histoloških preparatov, ki so tanjši in boljše kakovosti kot mehansko odrezani, za celično in sub-celično kirurgijo, ter kot vsestransko pomoč pri zunajtelesni oploditvi. Pri slednji fotoionizacija namreč pomaga pri oploditvi jajčne celice, izvedbi biopsije zarodka in vgnezditvi v maternico.

### Zahvala

Prof. dr. Borisu Majaronu se zahvaljujem za mentorstvo.

### LITERATURA

- [1] William T. Silfvast et al, *Fundamentals of Photonics*. University of Connecticut, 2003
- [2] M. Niemz, *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*. Springer, 1996.
- [3] Boris Majaron, prosojnice pri predmetu *Optične metode v medicini*. Dostopno na naslovu [https://ucilnica1617.fmf.uni-lj.si/pluginfile.php/43416/mod\\_resource/content/0/OMM-4.3%20Fotomehanska%20ablacija%20in%20fotoionizacija.pdf](https://ucilnica1617.fmf.uni-lj.si/pluginfile.php/43416/mod_resource/content/0/OMM-4.3%20Fotomehanska%20ablacija%20in%20fotoionizacija.pdf), datum dostopa 21.2.2018. 2017
- [4] Nan Shen et al, Ablation of cytoskeletal filaments and mitochondria in live cells using a femtosecond laser nanoscissor. *Mechanics & chemistry of biosystems*, **2**(1), 17-25, 2005.
- [5] *Laser microtome*. Dostopno na naslovu [https://en.wikipedia.org/wiki/Laser\\_microtome](https://en.wikipedia.org/wiki/Laser_microtome), datum dostopa 16.2.2019.
- [6] Holger Lubatschowski, Laser Microtomy: Opening a New Feasibility for Tissue Preparation. *Optik & Photonik*, **2**(2) 49-51, 2007.
- [7] *LASIK & other refractive procedures*. Dostopno na naslovu <http://mypremiereyecare.com/lasik/>, datum dostopa 10.3.2018.
- [8] Anette Gabrielsen et al, Assisted hatching improves implantation rates on cryopreserved-thawed embryos. A randomized prospective study. *Human Reproduction*, **19**(10), 2258-2262, 2004.
- [9] Inna V. Ilina et al, Noncontact microsurgery and micromanipulation of living cells with combined system "Femtosecond laser scalpel-optical tweezers". *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE*, 16-24, 2012.
- [10] Mohamad Eid Hammadeh, Constanze Fischer-Hammadeh, Khaled Refaat Ali, Assisted hatching in assisted reproduction: a state of the art. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **28**(2), 119-128, 2011.