

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОТЕХНИКИ И ЭЛЕКТРОНИКИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 666.189.2

УСТРОЙСТВО ПРИЕМА СИГНАЛА ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ОНКОФЛУОРИМЕТРИИ БЛИЖНЕГО ИНФРАКРАСНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО ДИАПАЗОНА

© 2021 г. И. П. Шилов^а, * Г. Л. Даниелян^б, С. В. Маречек^а, Л. Ю. Кочмарев^а

^аФрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН,
пл. Введенского, 1, Фрязино Московской обл., 141190 Российская Федерация

^бИнститут общей физики им. А.М. Прохорова РАН,
ул. Вавилова, 38, Москва, 119991 Российская Федерация

*E-mail: laserlab@ms.ire.rssi.ru

Поступила в редакцию 27.11.2019 г.

После доработки 12.04.2020 г.

Принята к публикации 16.05.2020 г.

Разработано малогабаритное высокочувствительное устройство для приема малого оптического сигнала люминесценции в ближнем инфракрасном (ИК) спектральном диапазоне (900...1100 нм) для лазерной онкофлуориметрии. Устройство состоит из корпуса с оптическими линзами, интерференционными фильтрами и разработанного высокочувствительного в ближнем ИК-диапазоне блока фотодиодного модуля с предусилителем, схемой защиты и блоком питания. Показано, что применение интерференционных фильтров типа SL 930–1100 позволяет существенно повысить эффективность работы всей конструкции в целом. Использование блока фотодиодного модуля, у которого пик чувствительности находится в окрестности 960 нм, что максимально совпадает с пиком люминесценции иттербиевых комплексов порфиринов, обеспечивает чувствительность приема малого сигнала люминесценции на уровне нескольких фемтоватт.

DOI: 10.31857/S0033849421010095

ВВЕДЕНИЕ

С конца 90-х годов XX в. в онкологии активно используются возможности люминесцентной диагностики (ЛД) рака, по сути являющейся оптической биопсией [1–3]. Эта диагностика основана на возможности детектирования опухолетропных фотосенсибилизаторов (ФС) по их характерной люминесценции, возбуждаемой излучением определенной длины волны. Для проведения спектрально-флуоресцентных измерений в России к настоящему времени разработаны диагностические установки и флуориметры типа “Спектр-Кластер” и ЛЭСА-01 [4]. Однако имеющиеся в распоряжении врачей спектральные устройства созданы в основном для малоперспективного спектрального диапазона 600...700 нм, часто дающего ложно положительные результаты из-за присутствия в биотканях эндогенных порфиринов. Эта аппаратура работает с ФС типа Фотодитазин, Фотофрин, Аласенс, которые создают при проведении флуоресцентной диагностики опухолей токсичные концентрации синглетного кислорода, разрушающие как больные ткани, так и здоровые. Наиболее перспективным для биомедицинских диагностических исследований является ближ-

ний инфракрасный (БИК) спектральный диапазон из-за большей глубины проникновения фотонов через биоткань и минимальной флуоресценции здоровых тканей в этом диапазоне спектра [2]. Флуориметр с его волоконно-оптическим зондом, по сути, является биофотонным локатором, сканирующем поверхность биообъекта. В настоящее время проводятся интенсивные исследования целой парадигмы наноразмерных малотоксичных иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП), которые являются весьма перспективными субстанциями для ЛД рака в БИК-области спектра (900...1100 нм). В этом диапазоне с присущим ему так называемым “окном прозрачности” практически отсутствует фоновая люминесценция биотканей, обусловленная наличием в них эндогенных порфиринов. Для данного спектрального диапазона необходима разработка портативного переносного флуориметра, основным элементом которого является устройство приема малого сигнала люминесценции.

Скоординированные исследования специалистов в области оптики, биомедицины, биофотоники и волоконно-оптических устройств позволили разработать малогабаритное, экономически

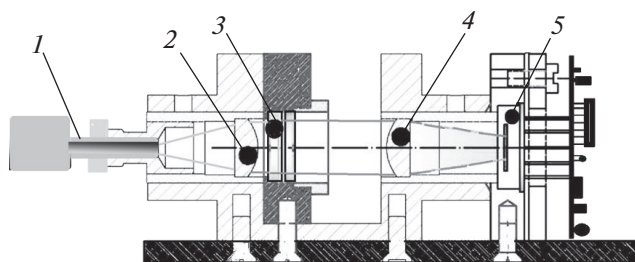


Рис. 1. Схема УПСЛ онкофлуориметра БИК-спектрального диапазона: 1 – оптический коннектор волоконно-оптического зонда (выход сигнала люминесценции), 2, 4 – короткофокусные линзы из чистого кварца, 3 – интерференционные фильтры, 5 – стыковочный блок фотодиодного модуля с предусилителем и со схемой оцифровки сигнала (выход на ПК).

эффективное по себестоимости, высокочувствительное устройство приема сигнала люминесценции (УПСЛ) в БИК-спектральном диапазоне.

1. КОНСТРУКЦИЯ УПСЛ

Конструкция УПСЛ онкофлуориметра для БИК-спектрального диапазона представлена на рис. 1. УПСЛ собран в специальном корпусе, защищенном от электромагнитных помех и от проникновения света. На рис. 2 представлена фотография малогабаритного варианта УПСЛ со снятой крышкой. Функционально онкофлуориметр в целом можно представить в виде четырех основных элементов (рис. 3): блока лазерного возбуждения люминесценции (длина волны 405 нм, мощность

оптического излучения до 50 мВт), волоконно-оптического спектрального зонда рефлексного типа, УПСЛ и компьютера с программой обработки и анализа спектральных характеристик.

Очевидно, что для достижения ряда задач по онкодиагностике в более глубоких мышечных слоях необходимо использование также волоконно-оптических зондов рефлексного типа с применением комбинированных типов оптических волокон, рассчитанных на контроль интенсивности люминесценции с более глубоких слоев биоткани [5]. Разработанный спектральный зонд имеет структуру волоконного жгута с большим количеством волокон, причем для ликвидации паразитного оптического сигнала между волокнами в жгуте типа “кросс-линк” использованы многомодовые кварцевые волокна с металлическим покрытием.

Оптический блок прибора состоит из линз, между которыми смонтированы две ячейки со сменными интерференционными фильтрами (ИФ), диаметром 10...20 мм, толщиной 2...3 мм. Конструкция устройства обеспечивает согласование с числовой апертурой световодов волоконно-оптического зонда (ВОЗ) вплоть до 0.30. Слева через SMA-905-разъем (см. рис. 1) подводятся детектирующие люминесценцию БИК-световоды (содержание в них гидроксил-ионов <1 ppm) многожильного ВОЗ. В правой части устройства размещен блок фотодиодного модуля (ФДМ) с предусилителем и схемой защиты. В блоке ФДМ используется микросхема S8746-01, позволяющая создать ИК-приемник оптимальной чувствительности при заданном быстродействии.

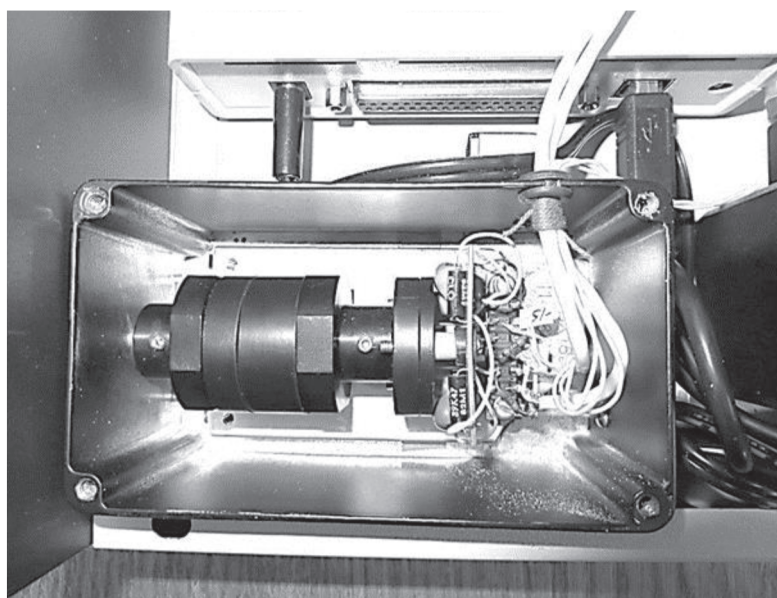


Рис. 2. Фотография УПСЛ (вид сверху).

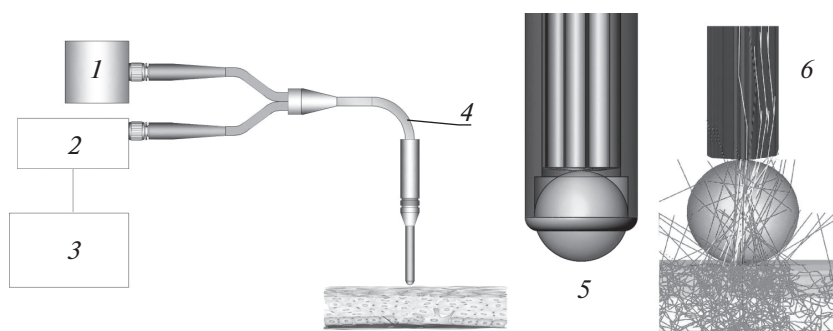


Рис. 3. Блок-схема онкофлуориметра: 1 – блок лазерного возбуждения люминесценции, 2 – основной блок УПСЛ, 3 – ПК со входом оцифрованного сигнала по каналу USB, 4 – одна из разновидностей волоконно-оптического зонда рефлексного типа со сферической сапфировой линзой, прижатой к поверхности кожи, 5 – увеличенное изображение структуры наконечника зонда, 6 – оптимизация/моделирование картины распространения лучей света на специальной пятислойной модели рассеяния внутри слоев кожи.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ

Жесткое размещение в корпусе устройства (см. рис. 1) двух ИФ позволяет существенно повысить надежность и эффективность работы всей конструкции УПСЛ. В качестве ИФ были использованы фильтры типа SL 930-1100. Их спектральные характеристики, выполненные на спектрофотометре “Shimadzu” UV-3600, представлены на рис. 4. Как видно из рис. 4, в оптическом диапазоне 900...1100 нм пропускание может быть вплоть до 80%. При этом степень блокировки возбуждающего излучения составляет не менее $10^{-4}\%$. Короткофокусные линзы ($f \sim 14$ мм) позволяют надежно фокусировать малый сигнал люминесценции на активной площадке ФДМ.

Оптический сигнал люминесценции от объекта исследования (био-ткань) поступает посредством ВОЗ через ИФ на оптический вход блока ФДМ. Уровень оптического сигнала чрезвычайно мал. Фотодиод создает фототок на уровне $10^{-14} \dots 10^{-13}$ А. Это вызывает большие технические трудности для усиления таких малых уровней сигналов. Одну из основных проблем, которую удалось решить, это оптимизация приемно-усилительного тракта по уровню собственных шумов и создание источников питания блока ФДМ с низким уровнем помех. Шумовые явления бывают трех видов: дробовые шумы, или шумы Шоттки; тепловые шумы, называемые также шумами Джонсона, и фликкер-шумы, т.е. шумы вида $1/f$. Эффективное (действующее) значение напряжения теплового шума $V_{ш}$ можно оценить по формуле Найквиста:

$$V_{ш} = \sqrt{4KTR\Delta F},$$

где K – постоянная Больцмана, равная 1.38×10^{-23} Дж/К; T – температура в градусах Кельвина; R – сопротивление источника сигнала в омах; ΔF – полоса пропускания в герцах.

Эффективное (действующее) значение шумового тока $I_{ш}$, возникающего в полупроводниках, называется дробовыми шумами, и вызваны они дискретностью переноса зарядов, которое можно оценить по формуле

$$I_{ш} = \sqrt{2qI\Delta F},$$

где q – заряд электрона, равный 1.6×10^{-19} Кл; I – среднее значение постоянного тока в полупроводнике.

Анализируя эти выражения, можно видеть, что шум растет с увеличением температуры, тока, протекающего через полупроводник, и с увеличением полосы пропускания.

Кроме того, полупроводниковые усилители имеют низкочастотные шумы, называемые фликкер-шумами, или шумами вида $1/f$. Такое название отражает тот факт, что фликкер-шумы обратно пропорциональны частоте, т.е. величина этого вида шума в области нулевой частоты может иметь очень большое значение. Поэтому инфор-

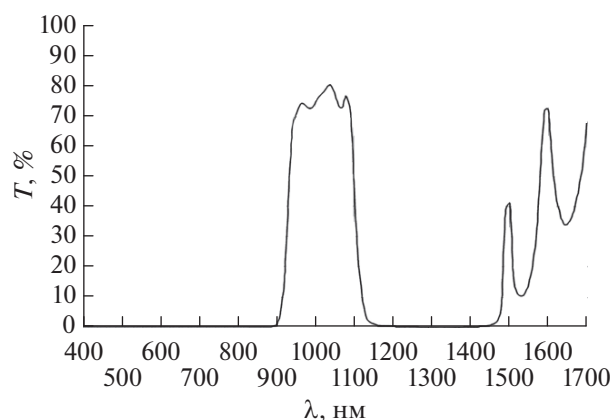


Рис. 4. Спектральные характеристики интерференционных фильтров типа SL 930-1100.

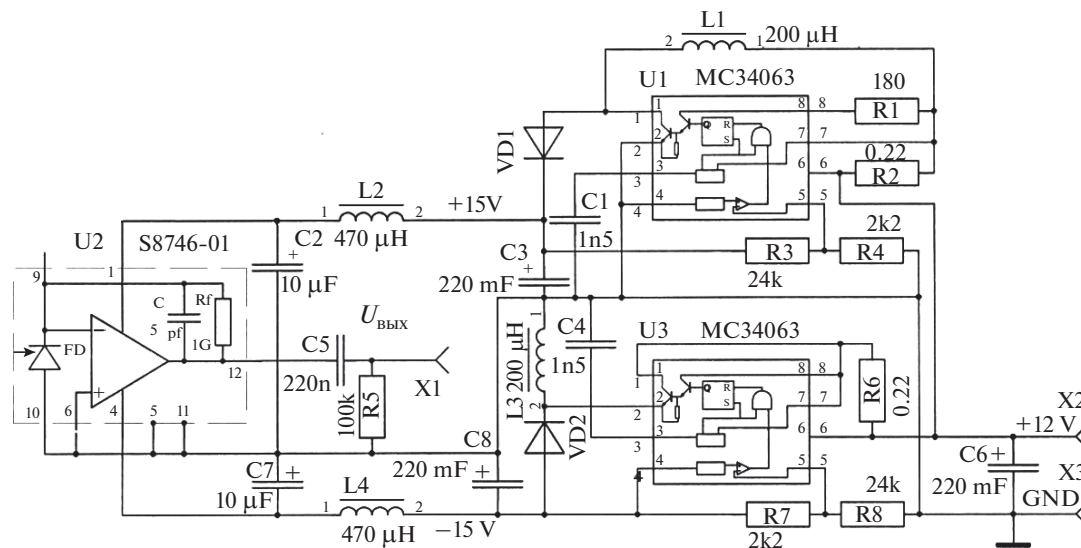


Рис. 5. Схема блока ФДМ с предусилителем, схемой защиты и блоком питания.

мационная часть аналогового сигнала в разработанном устройстве преобразуется (переносится по спектру) в область частот, где фликкер-шум не столь велик. Обычно бывает достаточно перенести спектр сигнала из области частот вблизи нуля в область частот до несколько десятков герц. Для переноса спектра и служит операция модуляции сигнала в месте его генерации. В нашем случае это делается путем модуляции мощности лазера меандром, частота которого порядка 30 Гц. Значительное уменьшение уровня тепловой и дробовой составляющих шума можно достичь путем сужения полосы пропускания фотодиодного блока с предусилителем. Этот эффект обусловлен тем, что для получения информации можно использовать только первую гармонику сигнала. Сам сигнал коррелирован (коэффициент корреляции близок к 1) и имеет узкую полосу, а шумы имеют слабую корреляцию (коэффициент корреляции обратно пропорционален полосе частот, занимаемой шумом), поэтому при уменьшении полосы частот мощность первой гармоники сигнала не уменьшается, а шумовая составляющая уменьшается пропорционально корню из полосы частот. Сигнал с выхода фотодиодного блока с предусилителем поступает на синхронный детектор и интегратор, где осуществляется подавление флуктуаций сигнала и ликвидация помех, асинхронных с частотой модуляции.

Конструктивное оформление данного устройства обеспечивает требуемую защиту от электромагнитных помех разной природы происхождения и минимизацию уровня токов утечек путем использования в качестве изоляционного материала фторопласта.

Схема разработанного блока ФДМ с предусилителем, схемой защиты и блоком питания представлена на рис. 5.

Излучение ИК-диапазона поступает через оптический вход микросхемы U2 (S8746-01) на рабочую поверхность фотодиода FD. В корпусе микросхемы интегрированы фотодиод, малошумящий операционный усилитель с очень малым значением входных токов и элементы отрицательной обратной связи операционного усилителя, состоящие из высокоомного резистора R_1 , номиналом 1 ГОм, и конденсатора C , номиналом 5 пФ, в цепи отрицательной обратной связи. Верхнюю границу полосы пропускания входных сигналов блока ФДМ с предусилителем можно найти по формуле

$$F_b = 1/(2\pi R_1 C).$$

Для обеспечения максимально возможного значения флотационной чувствительности ФДМ были использованы упомянутые выше значения элементов цепи отрицательной обратной связи. При этом верхнее значение частоты полосы усиления ФДМ составило около 30 Гц. В блоке ФДМ было введено ограничение полосы пропускания цепью $R_5 C_5$ для частот менее 10 Гц. Это сделано для ликвидации постоянной составляющей выходного сигнала, что обеспечивает работоспособность блока ФДМ в условиях изменчивости температуры и возможной паразитной засветки сторонними источниками света. Чувствительность блока ФДМ по фототоку можно определить по формуле

$$U_{\text{вых}} = R_1 I_{\text{ф}},$$

где $U_{\text{вых}}$ — напряжение на выходе операционного усилителя; R_1 — резистор цепи отрицательной обратной связи в операционном усилителе; $I_{\text{ф}}$ — ток фотодиода.

Питание блока ФДМ осуществляется напряжением 12 В с использованием двух импульсных преобразователей на выходные напряжения, +15 и –15 В. Преобразователи выполнены на основе микросхемы МС34063, работающих на тактовой частоте 100 кГц. Поэтому в схему введены элементы дополнительной фильтрации питающих напряжений дросселями L_2 , L_4 и танталовыми блокировочными конденсаторами с малым значением внутренних сопротивлений. Тактовая частота преобразователей значительно отличается от частоты модуляции, и поэтому с влиянием импульсных помех такой частоты бороться значительно проще, чем в случае применения источников питания с использованием трансформаторов, работающих на частоте 50 Гц.

Кроме перечисленных выше мероприятий по оптимизации методики приема и регистрации сигналов измерения, осуществлены мероприятия по минимизации шумов и помех, возникающих при непрофессиональной прокладке кабелей и жгутов внутри всего прибора. Для минимизации возможных неблагоприятных воздействий статического электричества и минимизации воздействия блуждающих токов, монтаж жгутов и соединений выполнен в полном соответствии с рекомендациями, изложенными в монографии [7].

Оптические спектральные характеристики ФДМ с предусилителем представлены на рис. 6. Как видно из данного рисунка, пик чувствительности модуля находится в окрестности 960 нм, что максимально совпадает с пиком люминесценции ИКП [6].

Разработанная конструкция УПСЛ имеет следующие характеристики:

Габариты, мм	100 × 50 × 40 (без блока питания)
Тип интерференционных фильтров	SL 930-1100
Тип микросхемы ФДМ с предусилителем	S8746-01
Пороговая чувствительность устройства, фемтоВт	<10
Длина волны максимальной чувствительности, нм	960
Рабочий спектральный диапазон, нм	900...1100
Входное напряжение блока питания ФДМ, В	+12 ± 10%
Выходные напряжения блока питания ФДМ, В	+15 ± 2% и –15 ± 2%
Максимальные значения выходных значений токов блока питания ФДМ, мА	2.0
Амплитуда пульсаций выходных напряжений блока питания ФДМ, мВ	0.1

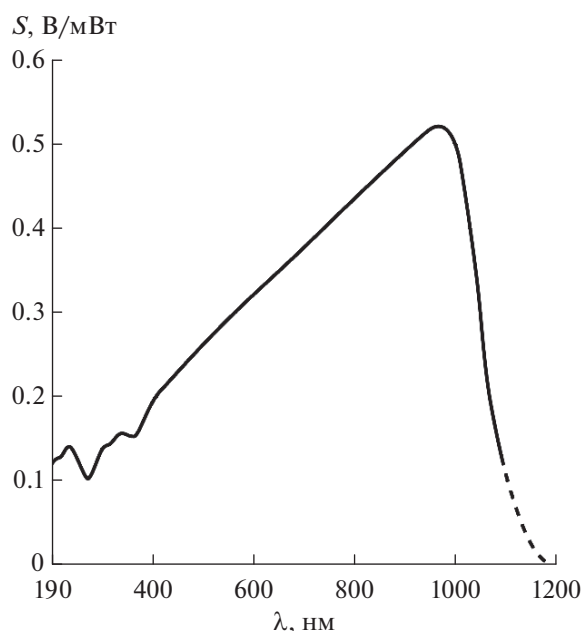


Рис. 6. Спектральные характеристики ФДМ с предусилителем: S — чувствительность ФДМ ($\text{В/Вт} \times 10^{-3}$) при нормальной типовой нагрузке 3×10^3 Ом и температуре 25°C.

Разработанная конструкция УПСЛ была успешно апробирована в составе БИК-онкофлуориметра в клинике ГНЦ «Лазерная медицина» при проведении процесса люминесцентной диагностики (ЛД) кожных новообразований (кератомы, невусы, базальноклеточный рак кожи и др.), а также слизистых оболочек (вульвогиниты, рак шейки матки и др.). Использовался иттербиевый комплекс 2,4-ди(α -метоксиэтил)дейтеропорфирина IX (Yb-ДМДП) в составе геля, который наносился на кожу и слизистые оболочки.

Люминесцентный контрастный индекс (отношение интенсивностей люминесценции больной ткани к соседней здоровой) составлял от 5 до 50 единиц (в зависимости от патологии). При этом минимальная доза Yb-ДМДП при проведении процесса ЛД составила менее 20 мкг/кг веса био-объекта, что соответствует мировому уровню по чувствительности обнаружения фотосенсибилизатора в биотканях (5...20 мкг/кг).

Совместные исследования, проведенные в РОНЦ им. Н.Н. Блохина, также показали, что степень токсического действия Yb-ДМДП определяется величиной дозы в отношении массы тела. Исследования были проведены на мышах линий ВДФ и BALB/C. Эксперименты выполняли в соответствии с международными правилами, изложенными в «Европейской конвенции по защи-

те позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях” (СЕД 123). Показано, что доза ~100 мг/кг является не токсичной дозой. Таким образом, реально применяемые дозы субстанции ^{90}Y -ДМДП являются абсолютно не токсичными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан макетный вариант малогабаритно-высококочувствительного устройства для приема малого оптического сигнала БИК-люминесценции для лазерного онкофлуориметра, работающего в спектральном диапазоне 900...1100 нм.

Проведена успешная апробация устройства в составе БИК-онкофлуориметра в клинике ГНЦ “Лазерная медицина”.

Разработанное устройство может быть рекомендовано к использованию в клинической практике для оснащения им онкофлуориметров ближнего ИК-спектрального диапазона.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме № 003-2019-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Тучин В.В.* Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. М.: Физматлит, 2010. С. 478.
2. *Шилов И.П., Иванов А.В., Румянцева В.Д., Миронов А.Ф.* Биофизические медицинские технологии / Под ред. А.И. Григорьева, Ю.А. Владимирова. М.: Макс Пресс, 2015. Т. 2. С. 110.
3. *Чиссов В.И., Соколов В.В., Булгакова (Жаркова) Н.Н., Филоненко Е.В.* // Рос. биотерапевтич. журн. 2003. Т. 2. № 4. С. 45.
4. *Bulgakova N.N., Kazachkina N.I., Sokolov V.V., Smirnov V.V.* // Laser Physics. 2006. V. 16. № 5. P. 889.
5. *Danielyan G., Shilov I., Zamyatin A.A. et al.* // Proc. SPIE. 2019. V. 11075. P. 1107515.
6. *Stasheuski A.S., Knyukshto V.N., Ivanov A.V. et al.* // J. Appl. Spectroscopy. 2015. V. 81. № 6. P. 938.
7. *Omm Г.* Методы подавления шумов и помех в электронных системах. М.: Мир, 1979. С. 317.