

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
А В Т О М Е Т Р И Я

2003, том 39, № 5

УДК 681.784.8

А. С. Варавва, В. Я. Менделеев, С. Н. Сковородько, В. Ф. Барыбин,
М. Ю. Герасименко, И. П. Поярков

(Москва)

**БИОФОТОМЕТР-СПЕКТРОАНАЛИЗАТОР
ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ***

Представлены схема и принцип работы биофотометра-спектроанализатора – оптического прибора нового поколения для медицинской диагностики и проведения лечебных процедур. Приведены результаты предварительных клинических испытаний прибора, демонстрирующие диагностические возможности аппарата.

Введение. В настоящее время существует несколько направлений в медицине, где используется лазерное излучение: диагностика, внутритканевая термотерапия, малоинвазивная хирургия и терапия, хирургия и фотофорез. Широко применяется лазерное излучение и в онкологии. Успешное лечение в значительной степени зависит от правильного определения дозы излучения, необходимой для воздействия на весь объем опухоли. Дополнительным условием к применению лазерного излучения является необходимость обезопасить прилегающие к опухоли нормальные ткани от поражения. При этом оптические свойства образцов тканей *in vivo* отличаются от оптических свойств образцов тканей *in vitro* или *post mortem*. Для диагностики, построения адекватной модели объекта, определения параметров лазерного излучения, времени воздействия и последующей терапии требуется четкое представление о взаимодействии лазерного излучения с биотканями. Для этих целей проводятся исследования спектральных коэффициентов отражения, пропускания и поглощения. Знание этих коэффициентов позволяет определять глубину проникновения лазерного излучения и распределения дозы излучения по объему.

Биологическая фотометрия – достаточно новый раздел прикладного оптического материаловедения, связанный с исследованием оптических характеристик биологических тканей. Обнаружившаяся в процессе исследований возможность использования оптических параметров в качестве диагностических (например, для определения воспалительных (онкологических) процессов) заметно активизировала научно-исследовательские и опытно-технологические работы. Одновременно это поставило вопрос о необходимости разработки принципов проведения диспансеризации пациентов, диагностированных по оптическим параметрам.

* Работа выполнена при поддержке гранта НШ-1279.2003.8.

В основе экспериментальной биоспектрофотометрии лежит тот факт, что все органические белковые структуры (ферменты, конферменты, их растворы и т. п.), входящие в системы окислительного метаболизма, обладают характерными оптическими спектрами поглощения, отражения, рассеяния и люминесценции в окисленном и восстановленном состояниях. Соотношение окисленных и восстановленных форм компонент исследуемой системы, их концентрация в исследуемой области в конкретный момент времени определяются функциональной активностью различных клеток тканей и органов, в том числе и в немалой степени клеток крови.

При взаимодействии оптического (лазерного) излучения с биологической тканью происходит преобразование интенсивности (отражение, поглощение, пропускание), спектра (перекачка части зондирующего излучения в спектр флуоресценции в зависимости от концентрации флюорохромов), поляризации (в рассеивающей среде векторный характер волн проявляется как возникновение поляризации или как деполяризация излучения), а также когерентности (потеря когерентности при рассеянии света в случайно-неоднородной среде с многократным рассеянием или появление когерентной узконаправленной компоненты в обратнорассеянном излучении). Это позволяет определить биофотометры как приборы с пассивным (интенсивность) и активным (спектр, поляризация) анализом преобразования излучения.

В настоящее время большой фактический экспериментальный материал получен при исследовании отражения (прохождения) излучения от биоткани. Причем специфика биоткани как отражающей среды (рассеивателя) заключается в наличии большой доли объемного рассеяния, что является причиной распространения значительной части излучения в обратном направлении (обратное рассеяние). В результате в пространстве отражения формируется оптический сигнал, обусловленный суперпозицией излучения, отраженного от границы раздела биоткань–среда (воздух), и обратного рассеяния (объемное рассеяние).

Выбор и обоснование методики. В настоящее время проводится интенсивное изучение механизма позитивного (и негативного) действия лазерного излучения и условий его проявления в целях возможного клинического применения для диагностики, лечения и профилактики заболеваний. Используемые для этих целей биофотометры обладают целым рядом недостатков. В силу особенности формулировки понятия коэффициента отражения биологических объектов оптические характеристики указанных объектов определяются некорректно и неоднозначно. Как правило, основным интегрирующим элементом различных конструкций биофотометров является интегрирующая сфера. В работе [1] показано, что геометрические параметры обратнорассеянного пучка излучения непостоянны и зависят как от параметров зондирующего излучения, так и от характеристик рассеивающей среды. Отсутствие регулировки входного отверстия сферы исключает возможность ее правильной реализации. Существующие типы биофотометров не могут измерять коэффициенты отражения на длинах волн автофлуоресценции. Требования к внутреннему покрытию биофотометра не позволяют одновременно измерять коэффициенты отражения на длине волны зондирующего излучения и сопутствующих информативных длинах волн биологических объектов.

Выбор длины волны зондирующего излучения биофотометра. На первом этапе экспериментальных исследований в обоснование оптимальной длины волны зондирующего излучения измерялись интенсивности отражен-

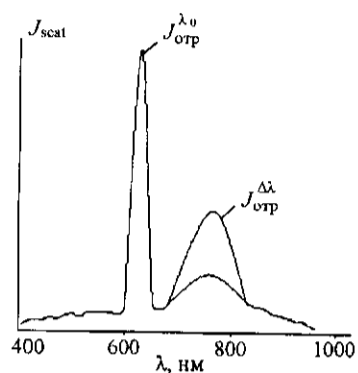


Рис. 1. Спектральное распределение обратнорассеянного биотканью лазерного излучения

ного биотканью излучения J_{scat} на длине волны He-Ne-лазера ($\lambda = 0,63$ мкм). Результаты измерений показаны на рис. 1. Как видно из рисунка, наряду с отражением на основной длине волны $J_{отр}^{\lambda_0}$ (0,63 мкм) имеется максимум в районе длины волны $J_{отр}^{\Delta\lambda}$ (0,76 мкм). Нелинейная (автофлуоресцентная) компонента имеет достаточно протяженную спектральную область 0,645–0,9 мкм, причем неясен ее ход в области длин волн менее 0,645 мкм.

Были проведены измерения коэффициента отражения на том же фрагменте биоткани, но с использованием полупроводникового лазера с длиной волны 0,6886 мкм [2]. В спектре отражения присутствует только основная длина волны – автофлуоресценция не наблюдается. Очевидно, это обусловлено узкоселективным откликом биоткани на длину волны зондирующего излучения. Результат воздействия на биоткань суммарного излучения (0,63 и 0,6885 мкм) показал, что эффект воздействия аддитивен [2]. Механизм активации и пределы использования данной методики обсуждаются в работах [2–6].

Описание конструкции биофотометра. В основе биофотометра лежит фотометрическая головка с подстраиваемым углом зрения (рис. 2). Наиболее оптимальной конструкцией полостного приемника (искусственное абсолютно черное тело) для биофотометра можно считать сферу или цилиндр. При создании биофотометра решалась задача получения равномерного светозаполнения объема приемного устройства (исключение «горячих» и «холодных» внутренних точек). Анализ показывает, что полостные приемники [7, 8] с высокими характеристиками могут быть получены при отражательной способности внутренней поверхности порядка 0,6–0,7. Наиболее оптимальным представляется внутреннее покрытие для полостного приемника, выполненное из $BaSO_4$. Степень совершенства приемного устройства определяется величиной среднего коэффициента светимости отверстия приемника со стороны его внутренней поверхности, который зависит от отношения S_o/S_n (S_o – площадь отверстия приемника, S_n – площадь внутренней по-

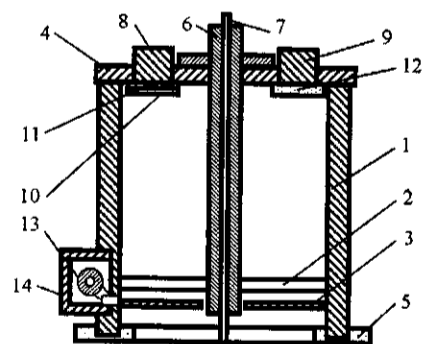


Рис. 2. Фотометрическая головка с подстраиваемым углом зрения: 1 – металлический цилиндр; 2 – светорассеивающая пластина; 3 – регулируемая диафрагма; 4 – крышка цилиндра; 5 – кольцевое уплотнение (антисептическая прокладка); 6 – верхний конец направляющей трубки; 7 – осветительный световод; 8, 9 – фотоприемники (6 шт.); 10 – узкополосный светофильтр (5 шт.); 11 – нейтральный светофильтр; 12 – обрезной светофильтр; 13 – шаговый двигатель диафрагмы; 14 – защитный кожух двигателя

верхности приемника). Конструкция типа интегрирующей сферы не имеет решающих преимуществ перед цилиндрическим приемником (различия составляют лишь несколько процентов), но технологически существенно сложнее. В этой связи в качестве основной была выбрана цилиндрическая геометрия, причем получено отношение S_o/S_n порядка 6.

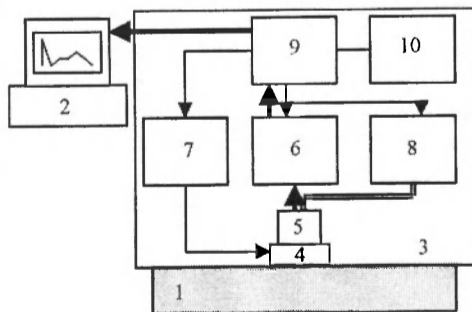
Отличительной особенностью данной конструкции является управляемая диафрагма, диаметр открытия которой соответствует оптимальным условиям измерения [1] и позволяет определять геометрические размеры обратнорассеянного пучка. Геометрические размеры обратнорассеянного пучка несут в себе информацию о рассеивающих свойствах объекта и должны учитываться как оптические характеристики исследуемой среды. Предусмотрено пошаговое управление диафрагмой: по команде пользователя и в режиме автоматической подстройки. Движение диафрагмы обеспечивает шаговый двигатель. Для равномерного светозаполнения объема фотометрического цилиндра использована светорассеивающая пластина, что позволило уменьшить размеры приемного устройства.

Источником излучения прибора является встроенный полупроводниковый лазер с длиной волны $\lambda = 0,63$ мкм. Излучение лазера по световоду, проходящему по оси симметрии фотометрического цилиндра, доставляется на поверхность исследуемого объекта. Прибор фиксирует интенсивность излучения, рассеянного в обратном направлении, посредством фотоприемных устройств в заданном спектральном диапазоне. В оптической головке (см. рис. 2) установлено пять лавинных фотодиодов, оснащенных интерференционными светофильтрами на длинах волн 0,703, 0,715, 0,752, 0,783, 0,797 мкм, и один фотоприемник, принимающий обратнорассеянное излучение во всем исследуемом спектральном диапазоне и имеющий максимум полосы пропускания на длине волны 0,63 мкм. Значения длин волн для измерения выбирались так, чтобы аппроксимировать характерную кривую спектрального распределения, полученную ранее (см. рис. 1). Каждый фотоприемник снабжен усилительным каскадом. Такая схема обеспечивает измерение слабых потоков оптического излучения на длинах волн автофлуоресценции. Использование таких фотодиодов позволяет получать функциональное распределение автофлуоресценции, по которому можно определять некоторые свойства воспалительных процессов в биотканях.

Для использования биофотометра в клинической практике предусмотрена сменная антисептическая прокладка, имеющая непосредственный контакт с исследуемым объектом, позволяющая фотометрической головке наиболее плотно прилегать к исследуемому объекту.

На рис. 3 изображена принципиальная схема построения лабораторного биофотометра. Прибор работает следующим образом. На исследуемую био-

Рис. 3. Структурная схема биофотометра: 1 – исследуемая биоткань; 2 – персональный компьютер; 3 – оптическая головка, состоящая из следующих блоков: 4 – управляемая диафрагма, 5 – блок фотоприемников, 6 – блок АЦП, 7 – блок силовых ключей, 8 – источник оптического излучения (полупроводниковый лазер, $\lambda = 0,63$ мкм), 9 – управляющий блок, 10 – блок питания



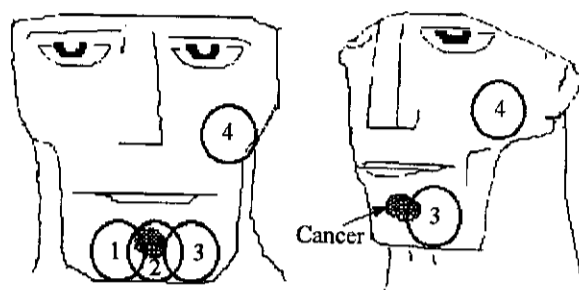


Рис. 4. Зоны измерения в эксперименте

ткань устанавливается оптическая головка. Зондирующее лазерное излучение по световоду доставляется на поверхность исследуемого объекта. Обратнорассеянное и возбужденное флуоресцентное излучения объекта фиксируются фотоприемниками. Сигнал с фотоприемников через АЦП и управляющий блок передается на микроЭВМ. Результаты измерений выводятся на встроенный жидкокристаллический экран. Необходимые результаты можно сохранять и выводить на печать через подключаемый к устройству принтер. Предусмотрена возможность подключения персонального компьютера. Блок управления контролирует оптическую головку. Внешнее управление, обработка данных осуществляются программно либо посредством собственной микроЭВМ, либо посредством подключаемого к прибору персонального компьютера.

Описание экспериментальной установки. Эксперимент. Испытания устройства проведены на базе Московского областного клинического института. Биофотометром были измерены оптические характеристики тканей *in vivo*. Как характерные представлены результаты измерений, полученные на тканях больного раком кожи. Биофотометр помещался в четыре выбранные зоны, показанные на рис. 4. Зондирующее излучение доставлялось в центр зоны, данные принимались интегрально со всей площади пучка обратнорассеянного излучения. Зона 2 полностью перекрывала очаг заболевания, который занимал порядка 70 % от площади сканирования, зондирующее излучение доставлялось в центр зоны поражения. Зоны 1 и 3 частично захватывали очаг заболевания, который занимал не более 15 % от площади сканирования, зондирующее излучение доставлялось в непораженную зону. Зона 4 была выбрана как интактная, находящаяся на значительном расстоянии от больного участка.

На рис. 5 представлены полученные усредненные результаты измерений в относительных единицах. Для повышения информативности интенсивность сигнала, принятого на длине волны зондирующего излучения, уменьшена в 100 раз. Для каждой зоны проведено 6120 измерений. Характерно, что распределение, полученное в зоне 2, имеет более высокие значения интенсивности, чем полученные в других зонах. Спектральное распределение в зоне 2 хорошо согласуется с ранее проведенными исследованиями и подобно распределению на рис. 1. Погрешности измерения прибора не превышают 3 % и складываются из погрешностей усилительного тракта и его стабильности, погрешности АЦП, погрешностей, вносимых изменением параметров электронных компонент в зависимости от изменения температуры.

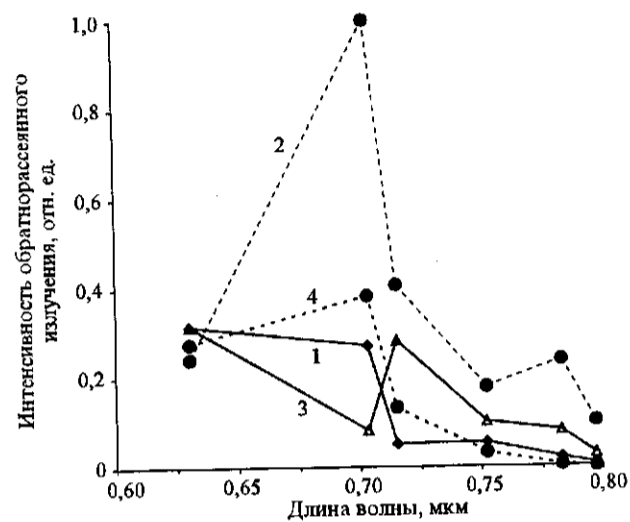


Рис. 5. Спектральное распределение интенсивности обратнорассеянного излучения для характерных зон

Заключение. Разработанный биофотометр позволяет проводить более точное измерение коэффициента отражения биологического объекта на длине волны зондирующего излучения. Он обеспечивает возможность измерения спектральных коэффициентов отражения (автофлуоресценции) для излучений, возникающих в процессе взаимодействия биологического объекта с зондирующим лазерным излучением. Прибор дает также возможность уточнить терапевтические (диагностические) дозы лазерного излучения как на поверхности биологического объекта, так и на разной глубине. Кроме того, можно определить местоположение и характер воспалительного процесса на глубинах, определяемых техническими возможностями биофотометра. Биофотометр способен контролировать ход терапевтического воздействия различных методов лечения (в том числе рентгено- и гамма-терапии) опухолевых заболеваний непосредственно в процессе лечения. В перспективе возможна разработка и создание на базе данного прибора устройств (дефектоскопов) контроля чистоты материалов (определение малых количеств примесей в материалах по люминесцентному (флуоресцентному) признаку). С помощью прибора можно проводить исследования в клинических условиях и получать большое количество статистических данных, а также использовать его в качестве базового в лабораторных исследовательских установках.

Авторы выражают благодарность канд. мед. наук Д. В. Быченкову за помощь в проведении испытаний прибора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Barybin V. F., Varavva A. S., Gerasimenko M. Yu. et al. Experimental investigation of the penetration depth of laser light influence on the distribution of backscattered radiation intensity // SPIE. 2002. 5066. P. 126.

2. **Рогаткин Д. А., Моисеева Л. Г., Барыбин В. Ф., Черный В. В.** Введение в биофотометрию // Актуальные методы лазерной клинической биофотометрии. М.: ВИНТИ, 1997. Ч. 1. С. 23.
3. **Loschenov V. B., Konov V. I., Prokhorov A. M.** Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics // Laser. Phys. 2000. **10**, N 6. P. 1188.
4. **Tuchin V. V.** Selected papers on tissue optics: Applications in medical diagnostics and therapy // SPIE. 1994. **MS102**.
5. **Голублинская И. Н.** Биотехнические системы фотометрической диагностики состояний кожи: Автореф. дис. ... канд. наук /Московский государственный технический университет. М., 1994.
6. **Bown S., Buonocorsi G.** // Lasers Medic. Sci. 1997. **12**. P. 180.
7. **Stephens C. W., Hair A. M.** // Amer. Rocket Soc. Journ. 1961. **31**. P. 51.
8. **Гриликс В. А., Матвеев В. М., Полуэктов В. П.** Солнечные высокотемпературные источники тепла для космических аппаратов. М.: Наука, 1975.

*Институт высоких температур РАН,
 Московский областной научно-исследовательский
 клинический институт,
 Научно-технологический центр
 энергосберегающих процессов и установок РАН,
 E-mail: varavva@mail.ru*

*Поступила в редакцию
 6 мая 2003 г.*