

DOI: <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2023.9.6>

УДК: 669.868:547.979.733:534.4:535.37

МАЛОГАБАРИТНЫЙ ЛАЗЕРНО-ВОЛОКОННЫЙ ФЛУОРИМЕТР ИК-СПЕКТРАЛЬНОГО ДИАПАЗОНА ДЛЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ФОТОДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ

С.В. Маречек, Е.П. Новичихин, И.П. Шилов, А.С. Горшкова

ИРЭ им. В. А. Котельникова РАН, Фрязинский филиал
141190, Россия, Московская область, г. Фрязино, пл. Введенского, 1

Статья поступила в редакцию 1 июня 2023 г.

Аннотация. Представлены результаты разработки малогабаритного лазерно-волоконного флуориметра ИК-спектрального диапазона для люминесцентной фотодиагностики опухолей поверхностной локализации. Данное устройство, работающее совместно с фармацевтической композицией типа «Флюроскан» на основе дикалиевой соли иттербиевого комплекса 2,4-ди (α -метоксиэтил) дейтеропорфирина IX, обеспечивает достижение высоких значений люминесцентного диагностического контрастного индекса новообразование/нормальная ткань. Произведено импортозамещение некоторых основных элементов конструкции разработанного устройства, в частности фотодиодного модуля, на отечественный аналог.

Ключевые слова: малогабаритный лазерно-волоконный флуориметр, фотодиодный модуль, лазер, волоконно-оптический зонд, иттербиевые комплексы порфиринов.

Финансирование: Работа выполнена по Госзаданию Института Радиотехники и Электроники им. В. А. Котельникова РАН № 075-01110-23-01.

Автор для переписки: Шилов Игорь Петрович, laserlab@ms.ire.rssi.ru

Введение

По данным ВОЗ в мире наблюдается неуклонный рост онкологических больных. Только в США за 2021 г. зарегистрировано около 2 млн новых онкобольных [1]. Среди онкологических заболеваний на первые места постепенно начинают выходить кожные заболевания, что говорит о проблемах в области диагностики рака кожи и слизистых оболочек. Причем в более чем 85% случаев раковые заболевания у человека начинаются в эпителии. В последнее время проводятся интенсивные исследования иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП), которые являются весьма перспективными субстанциями для люминесцентной диагностики (ЛД) рака в ближней ИК (БИК)-области спектра (900-1100 нм). В этом диапазоне практически отсутствует фоновая люминесценция от биотканей из-за наличия в них эндогенных порфиринов [2], вследствие чего обеспечивается отсутствие ложноположительных диагнозов в процессе диагностики. Для ЛД новообразований кожи и слизистых оболочек в ФИРЭ РАН и РТУ МИРЭА-МИТХТ была разработана фармкомпозиция (ФК) типа «Флюроскан», состоящая из дикалиевой соли Yb-комплекса 2,4-ди (α -метоксиэтил) дейтеропорфирина IX (Yb-ДМДП) (в концентрации 0.05-0.1 мас. %), люминесцирующая в БИК-области спектра, и различных гелей (кремофор, тизоль) [3]. Однако в настоящее время отсутствует оптоэлектронная аппаратура повышенной чувствительности для детектирования люминесценции малой интенсивности. Имеющиеся в распоряжении врачей спектральные устройства созданы в основном для малоперспективного диапазона 600-700 нм (для работы с фотосенсибилизаторами (ФС) типа «Фотодитазин», «Фотофрин», «Фотогем», «Аласенс» и т.д.) [4].

Целью настоящей работы явилось создание малогабаритного переносного варианта лазерно-волоконного флуориметра (ЛВФ) ИК-диапазона с возможностью импортозамещения, обеспечивающего достижение высоких значений люминесцентного диагностического контрастного индекса (ЛДКИ),

что позволяет с повышенной точностью определять границы распространенности опухолевых поражений кожи.

1. Материалы и методы

В онкологии активно используются методики ЛД. Эти методики основаны на обнаружении опухолетропных ФС по их характерной люминесценции, возбуждаемой излучением определенной длины волны.

При создании малогабаритного переносного ЛВФ нами учитывались особенности разработанного ранее метода БИК-люминесцентной диагностики опухолей с применением ИКП [5].

В основе метода лежат два явления: 1) избирательность накопления люминесцирующего маркера-ФС в тканях новообразований и возможность его обнаружения по характерной люминесценции на освещаемой лазерным излучением области; и 2) различия в интенсивности люминесценции здоровых и патологически измененных тканей при их возбуждении лазерным излучением в ультрафиолетовом диапазоне спектра.

Следует отметить, что 4f-люминесценция Yb^{3+} -иона в ИКП наблюдается в достаточно широком спектральном БИК-диапазоне 920-1060 нм, при возбуждении в диапазоне 300-630 нм. В БИК-диапазоне спектра наблюдаются две основные люминесцентные полосы вблизи 930 нм и 980 нм (наиболее интенсивная) и многочисленные эмиссионные полосы в спектральном диапазоне 900-1100 нм. В связи с этим появляется возможность в конструкции ЛВФ отказаться от использования монохроматора, а использовать для сбора интегрального малого сигнала люминесценции весь спектральный диапазон 900-1100 нм с помощью системы интерференционных фильтров. В качестве диагностикума использовался гель «Флюроскан» (сертификат № РОССРУ.0001.510608). ФК «Флюроскан» состоит из Yb -ДМДП, люминесцирующего в БИК-области спектра (900-1100 нм), и различных гелей с использованием диметилсульфоксида, глюкозамина

и глицерина, обеспечивающих хорошую проникаемость в кожу и слизистые оболочки (так называемые «пенитраторы»).

2. Экспериментальные результаты

На рис. 1 представлена функциональная схема малогабаритного ЛВФ для БИК-люминесцентной диагностики опухолей кожи и слизистых оболочек.

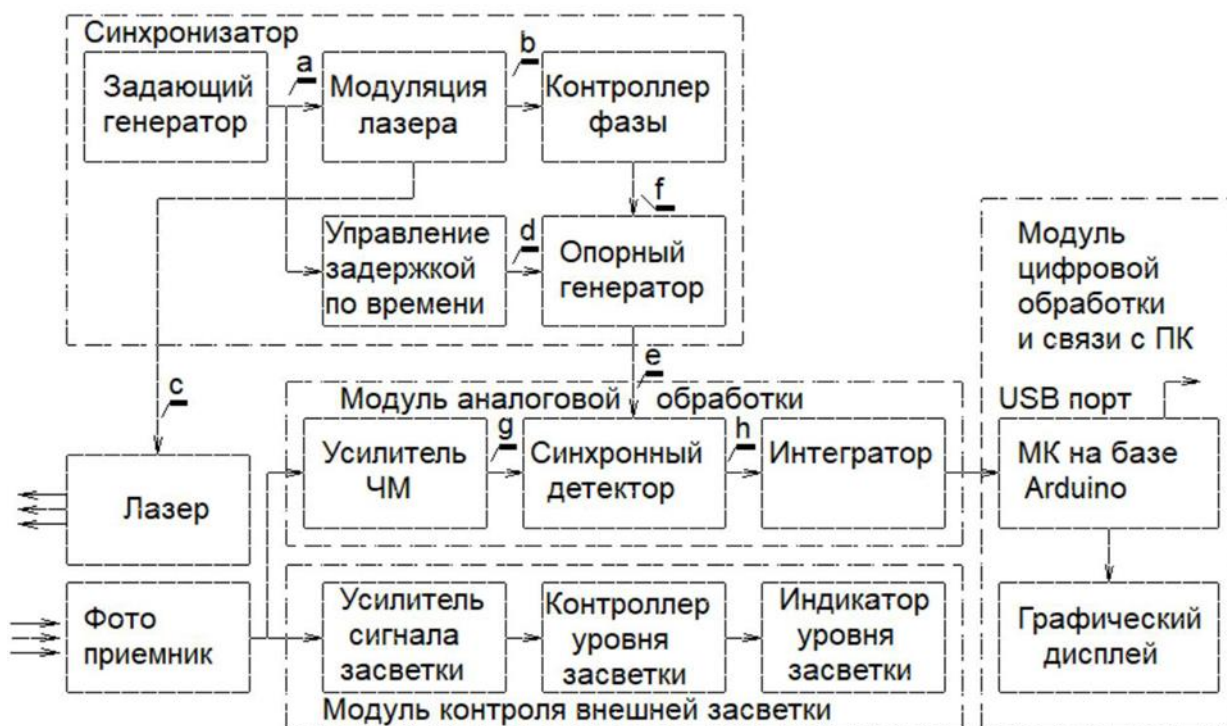


Рис. 1. Функциональная схема флуориметра

Функционально ЛВФ состоит из ряда основных модулей, представленных на рис. 1:

- 1) Компактный полупроводниковый лазер для возбуждения люминесценции. Лазер включает в себя блок питания, драйвер лазерного диода, блок управления драйвером и оптический узел лазерного диода. Оптический узел лазерного диода включает непосредственно лазерный диод, установленный на радиаторе, и фокусирующую оптическую систему, заканчивающуюся оптическим разъемом типа SMA-905;
- 2) Высокоапертурный многожильный волоконно-оптический зонд рефлексного типа (на рис. 1 не показан);

- 3) Блок фотодиодного модуля, включающий в себя рефокусатор со сменными интерференционными фильтрами инфракрасного диапазона с полосой пропускания 900-1100 нм (на рис. 1 не показан) и фотодиодного модуля (ФДМ) с предусилителем (на рис. 1 показан как фотоприемник);
- 4) Модуль аналоговой обработки;
- 5) Модуль цифровой обработки и связи с ПК через USB порт;
- 6) Модуль контроля внешней засветки;
- 7) Модуль «Синхронизатора».

Лазер возбуждения люминесценции работает на длине волны 405 нм и имеет максимальную мощность оптического излучения до 50 мВт. Мощность излучения лазера модулируется внешними импульсами формы меандр частотой 30 Гц, которые поступают из модуля «Синхронизатор».

Для пояснения работы флуориметра на рис. 2 приведены эпюры напряжений в характерных точках функциональной схемы флуориметра.

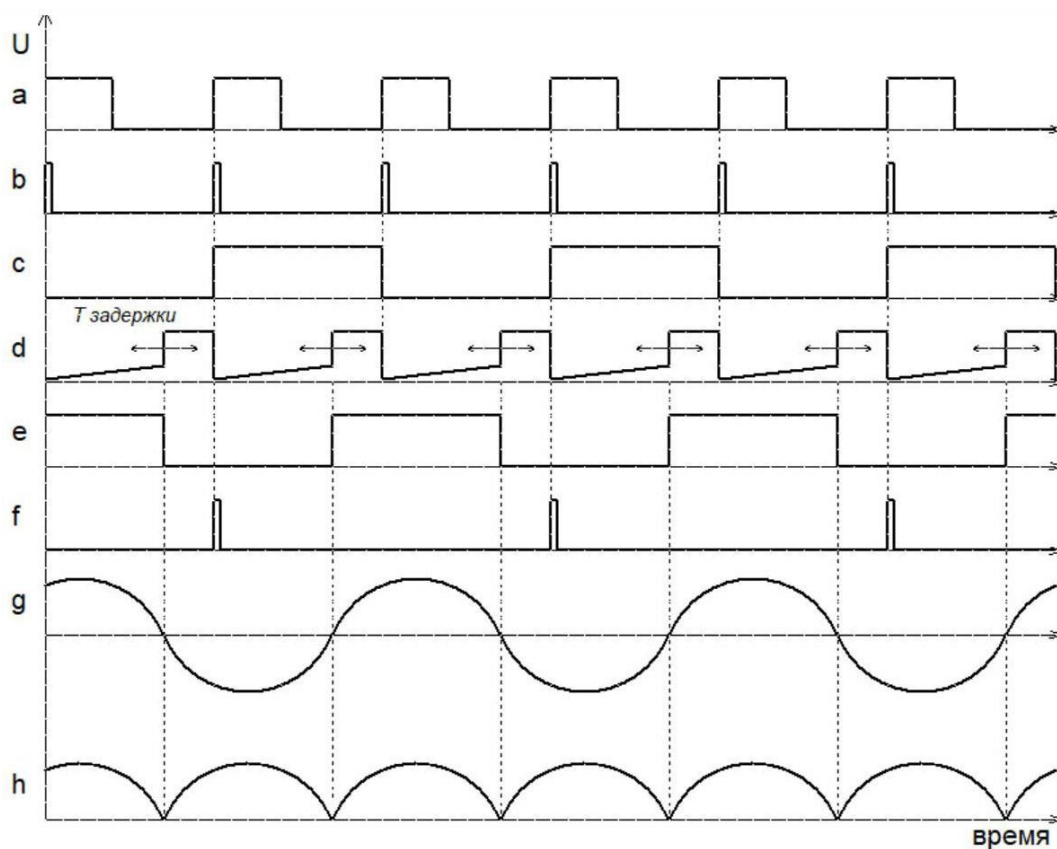


Рис. 2. Эпюры напряжений в характерных точках функциональной схемы флуориметра

Оптическая часть фотодиодного модуля состоит из линз, между которыми смонтированы две ячейки со сменными интерференционными фильтрами (диаметр 10-20 мм, толщина 2-3 мм). Конструкция устройства обеспечивает согласование с числовой апертурой световодов волоконно-оптического зонда вплоть до 0.30. После прохождения оптической фильтрации (выделения спектра длин волн 900-1100 нм) поток принятого и отфильтрованного ИК излучения фокусируется на светочувствительной поверхности фотодиода модуля фотоприемника.

В блоке фотодиодного модуля взамен дорогостоящего ФДМ фирмы «Hamamatsu» (Япония), установленного в предыдущей версии прибора [6], используется микросборка Fpu2-153 отечественного производителя (фирма АО «ТЕХНОЭКСАН», Санкт-Петербург), близкая по техническим характеристикам. Принципиальная электрическая схема фотоприемника показана на рис. 3.

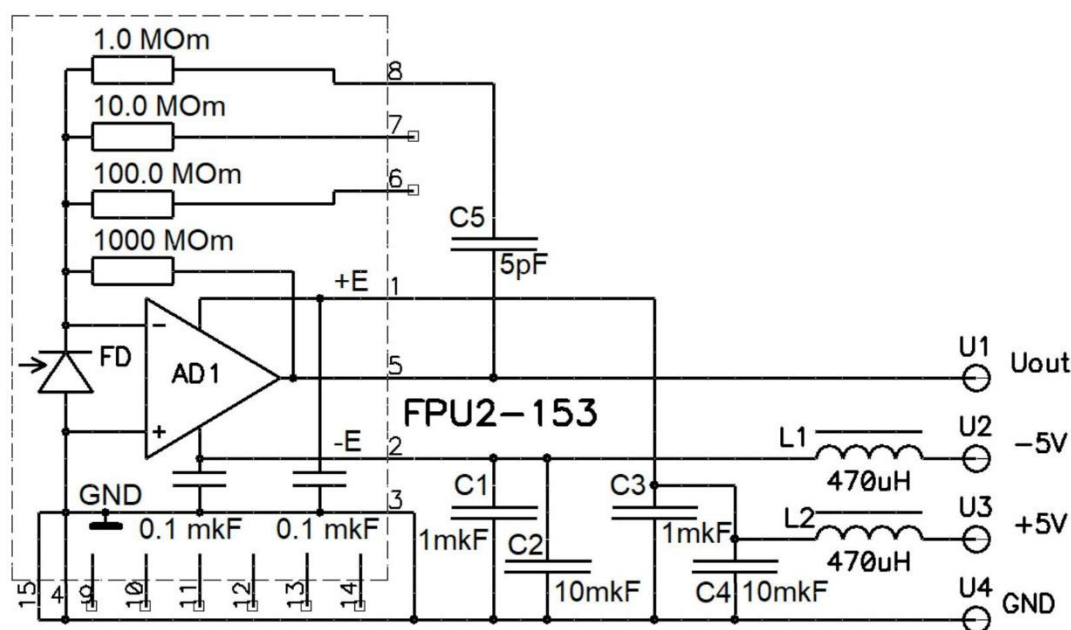


Рис. 3. Принципиальная электрическая схема фотоприемника

Поскольку механизм возбуждения люминесценции мало инерционен (задержка возбуждения не более 10 нс), световой поток на входе фотоприемника имеет огибающую, подобную лазерному возбуждению – прямоугольные импульсы формой меандр (рис. 4).

Меандр – это последовательность прямоугольных импульсов со скважностью 2 и обычно без постоянной составляющей.

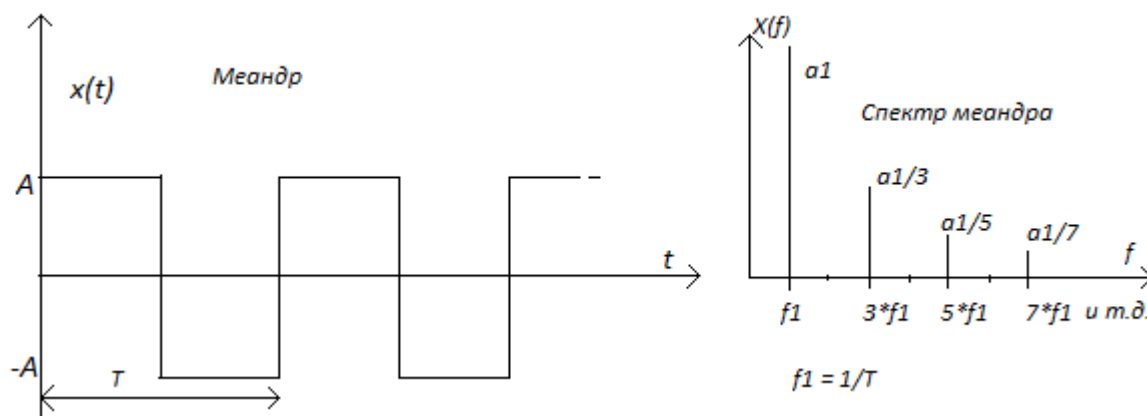


Рис. 4. Форма и спектр сигнала на выходе фотоприемника в предположении бесконечной полосы пропускания операционного усилителя и без постоянной составляющей

Спектр такого сигнала состоит из нечетных гармоник:

$$x(t) = a_1 \left(\sin\omega t + \frac{1}{3} \sin 3\omega t + \frac{1}{5} \sin 5\omega t + \dots \right)$$

где $\omega = 2\pi f_1$, $f_1 = \frac{1}{T}$, T – период импульсной последовательности, $a_1 = \frac{4A}{\pi}$ – амплитуда первой гармоники.

Уровень оптического сигнала чрезвычайно мал. Фотодиод создает фототок на уровне 10^{-14} - 10^{-13} А. Это вызывает большие технические трудности для усиления таких малых уровней сигналов. Одна из основных проблем, которую удалось решить, – это оптимизация приемно-усилительного тракта по уровню собственных шумов.

Значительное уменьшение уровня тепловой и дробовой составляющих шума можно достичь путем сужения полосы пропускания фотодиодного блока с предусилителем. Этот эффект обусловлен тем, что можно для получения информации использовать только первую гармонику сигнала. Использование дополнительно третьей, пятой и т.д. гармонических составляющих не приводит к улучшению отношения сигнал/шум на входе, так как прирост мощности от этих высокочастотных составляющих существенно меньше, чем возрастание уровня шума за счет вынужденного расширения полосы частот фотоприемника.

В целях уменьшения импульсных шумов операционного усилителя (ОУ), уменьшения полосы частот усиления и обеспечения значительного запаса

устойчивости в операционный усилитель фотоприемника введена частотно зависимая отрицательная обратная связь в виде конденсатора 5 пФ (см. рис. 4). Более идеальным было бы размещение конденсатора параллельно высокоомному резистору номиналом 1 ГОм. Однако это по конструктивным соображениям сделать невозможно. Верхняя граница полосы пропускания входных сигналов блока ФДМ с предусилителем составила 33 Гц и для других значений элементов обратной связи может быть найдена по формуле

$$F_B = 1/(2\pi R_1 C)$$

Следует заметить, что при прохождении фототока (входного сигнала) через ОУ фотоприемника, который имеет полосу пропускания с верхней границей, близкой к частоте модуляции, то это приводит к фазовому сдвигу первой гармоники сигнала относительно импульсов модуляции лазера. При обработке таких сигналов в синхронном детекторе введена регулируемая задержка опорного сигнала (коррекция по фазе в диапазоне $0 \div \pi/2$) синхронного детектора.

Для обеспечения максимально возможного значения флуктуационной чувствительности (убираем фликкер-шум) на входе модуля аналоговой обработки было введено ограничение полосы пропускания для частот менее 10 Гц. Это сделано для ликвидации постоянной составляющей выходного сигнала, ослабления фликкер-шума и обеспечения работоспособности блока ФДМ в условиях изменчивости температуры и возможной паразитной засветки сторонними источниками света. Чувствительность блока ФДМ по фототоку можно определить по формуле:

$$U_{\text{вых}} = R_1 I_\phi$$

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

Сигнал с выхода фотодиодного блока с предусилителем поступает на усилитель частоты модуляции, далее сигнал (рис. 1 и рис. 3 эюра «g») поступает на синхронный детектор и интегратор. Выходной сигнал синхронного детектора представлен на рис. 1 и рис. 2, эюра «h», а опорный сигнал – эюра «e».

В синхронном детекторе осуществляется выпрямление сигнала и подавление асинхронных с частотой модуляции помех. Интегратор выходного сигнала имеет постоянную интегрирования 0.3 сек и обеспечивает усреднение выходного сигнала по 20 полупериодам модуляции.

Модуль «Синхронизатора» формирует импульсы модуляции лазера и опорные импульсы синхронного детекторы, которые имеют возможность плавной регулировки по фазе для обеспечения оптимального режима синхронного детектирования.

Модуль контроля внешней засветки анализирует уровень постоянной составляющей входного сигнала, обусловленного паразитной засветкой источниками света окружающего пространства. Сигнализирует о возможной перегрузке фотоприемника.

Следует отметить, что в предыдущей версии прибора дорогостоящее и достаточно габаритное устройство аналого-цифрового преобразователя АЦП-ЦАП (фирмы «L-Card») использовалось для следующих функций:

- формирование модулирующего сигнала (ЦАП);
- получение неотфильтрованных данных и их преобразование (АЦП);
- передача данных компьютеру, где проводилась обработка данных (фильтрация) и их отображение.

В данной версии макетного варианта прибора функции формирования моделирующего сигнала и фильтрация данных переданы электронным компонентам. Это позволяет вместо дорогих устройств использовать удобные, дешевые и малогабаритные программируемые устройства с функцией АЦП типа Arduino (рис. 5). Кроме того, это добавляет новые возможности, в частности, возможность использовать небольшой дисплей, встроенный в прибор, для отображения текущих данных.

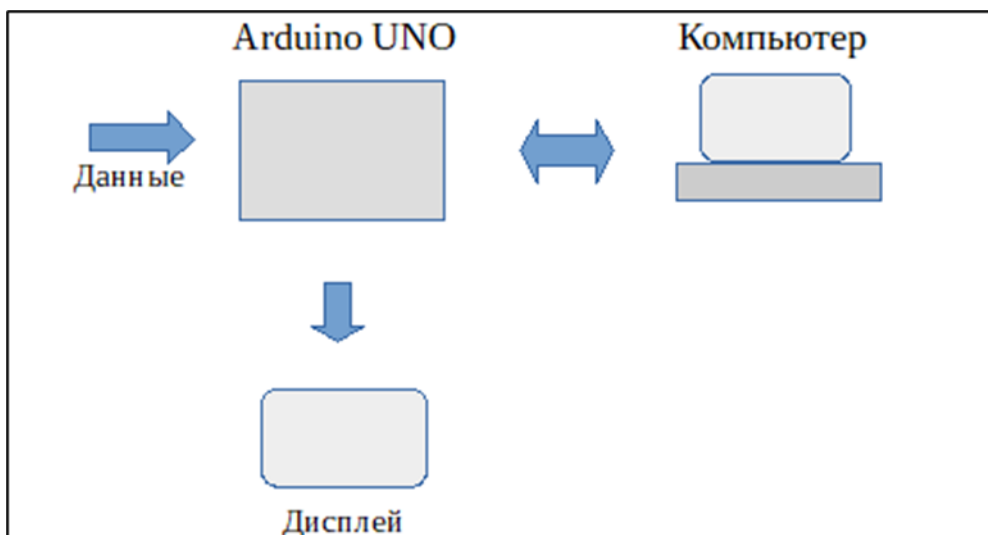


Рис. 5. Схема использования Arduino в приборе

Двунаправленная стрелка между Arduino и компьютером (рис. 5) говорит о возможности оператора посылать управляющие сигналы и тем самым изменять некоторые параметры прибора. Аналогично, в случае установки сенсорного дисплея это можно делать без подключения компьютера, на что указывает двунаправленная стрелка между дисплеем и Arduino.

Еще одним свойством Arduino является возможность подсоединения к нему модуля Bluetooth и передачи данных на устройства типа смартфон.

Технические характеристики устройства представлены в Таблице.

Таблица. Технические характеристики ЛВФ

№	Параметры	Значения
1	Коэффициент пропускания (в полосе спектра 850–1000нм), %	до 70
2	Коэффициент пропускания (в полосе фонового спектра 350–850нм), %	<0.001
3	Спектральный диапазон измерений, нм	900–1100
4	Полоса пропускания фотодиодного модуля с предусилением, Гц	0–33
5	Чувствительность блока ФДМ по фототоку (отношение выходного напряжения к фототоку), mV/pA	1.0
6	Спектральная плотность шумовой составляющей фототока, fA/√Hz	0.6
7	Частота модулирующего сигнала, Гц	30
8	Рабочая длина волны лазера, нм	405
9	Оптическая мощность лазера, мВт	до 50.0

10	Тип волоконно-оптического зонда	многожильный: 19 световодных жил
11	Числовая апертура световодов	до 0.30
12	Вес прибора, кг	1.5
13	Габариты прибора, см	50x30x20
14	Arduino UNO - Микроконтроллер	ATmega328
15	Встроенный экран	TFT-2.4"

С помощью разработанного устройства нами осуществляется процесс изучения ЛДКИ от различных участков кожи и слизистых оболочек. Апробация прибора в части исследования ЛДКИ новообразование/норма при воспалительных и пролиферативных процессах в ранней диагностики базальноклеточного рака проводятся в настоящее время в 1-ом МГМУ им. И.М. Сеченова, МЗ РФ, Москва.

Заключение

- 1) Разработан малогабаритный переносной лазерно-волоконный флуориметр ИК-спектрального диапазона для люминесцентной фотодиагностики опухолей поверхностной локализации, обеспечивающий достижение высоких значений люминесцентного контрастного индекса, что позволяет с повышенной точностью определять границы распространенности опухолевых поражений кожи и слизистых оболочек.
- 2) Произведено импортозамещение одного из основных элементов конструкции разработанного устройства, а именно фотодиодного модуля, на отечественный аналог.

Финансирование: Работа выполнена по Госзаданию Института Радиотехники и Электроники им. В. А. Котельникова РАН № 075-01110-23-01.

Литература

1. Guan Q., Wang M. Core-Shell Structured Theranostics. *Nano Life*. 2021. V.11. №4. P.2141004(1)-2141004(22). <https://doi.org/10.1142/S179398442141004X>
2. Gaiduk M.I., Grigoryants V.V., Mironov A.F. et al. Fibre-laser IR-luminescence diagnostics of malignant tumours using rare earth porphyrins. *Photochemistry and Photobiology, B: Biology*. 1990. V.7. №1. P.15-20. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(90\)85139-n](https://doi.org/10.1016/1011-1344(90)85139-n)
3. Алексеев Ю.В., Румянцева В.Д., Шилов И.П. и др. Перспективы применения иттербиевых комплексов порфиринов в клинической практике. *Лазерная медицина*. 2017. №2. С.20-25. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2016-20-2-20-25>
4. Лощенов В.Б., Стратонников А.А., Волкова А.И., Прохоров А.М. Портативная спектроскопическая система для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля за фотодинамической терапией. *Журнал Российского химического общества им. Д. И. Менделеева*. 1998. Т.XLII. №5. С.50-53.
5. Ivanov A.V., Rummyantseva V.D., Shchamkhalov K.S., Shilov I.P. Luminescence diagnostics of malignant tumors in the IR spectral range using Yb-porphyrin metallocomplexes. *Laser Physics*. 2010. V.20. №12. P.2056-2065. <https://doi.org/10.1134/S1054660X10220032>
6. Shilov I.P., Danielyan G.L., Marechek S.V. et al. Development of laser-fiber fluorimeter for IR-luminescence cancer diagnosis. *Journal of Communications Technology and Electronics*. 2022. V.67. №4. P.463-469. <https://doi.org/10.1134/S106422692204009X>

Для цитирования:

Маречек С.В., Новичихин Е.П., Шилов И.П., Горшкова А.С. Малогабаритный лазерно-волоконный флуориметр ик-спектрального диапазона для люминесцентной фотодиагностики опухолей. // Журнал радиоэлектроники. – 2023. – №. 9. <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2023.9.6>