

УДК 338.51

М.Ф. Богомолов, к.т.н., В.П. Русинчук

Національний технічний університет України "КПІ"

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРЕЦИЗІЙНОГО ДЕТЕКТУВАННЯ ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ В ДІАГНОСТИЧНИХ БІОСИСТЕМАХ

Розроблена система позиціонування реалізована на мікроконтролері та прецизійному двигунові дає можливість забезпечити необхідну точність для знімання та опрацювання зразка. Завдяки використанню даної розробки можна виявляти первинні фактори захворювань ще на початкових етапах виникнення і не допускати їх поширення.

Ключові слова: біоспектроскопія, прецизійна система.

Разработанная система позиционирования реализована на микроконтроллере и прецизионном двигателе дает возможность обеспечить необходимую точность для снятия и обработки образца. Благодаря использованию данной разработки можно выявлять первичные факторы заболеваний еще на начальных этапах возникновения и не допускать их распространения.

Ключевые слова: биоспектроскопия, прецизионная система.

A designed positioning system implemented on microcontroller and a precision engine makes it possible to provide necessary precision for removal and processing of the sample. Using given development allows to identify primary disease factors in the early stages and to prevent their spreading.

Keywords: biospectroscopy, precision system.

Сучасні задачі медичної діагностики, зокрема крові людини і стану здоров'я людини взагалі, вимагають нових підходів до створення сучасних методів і апаратури лабораторної діагностики, високоінформативних і ефективних систем з точки зору їх впровадження в медичну практику. В даний час у більшості країн світу спостерігається інтенсивне впровадження лазерного випромінювання в біологічні дослідження і в практичну медицину. Унікальні властивості лазерного променя відкрили широкі можливості його застосування в різних областях лікування і діагностики [1].

Ефективність лазерної медичної техніки визначається її основними параметрами і характеристиками: довжина хвилі, потужність і режим впливу випромінювання.

До теперішнього часу в області лазерної медичної техніки склалася парадоксальна ситуація. Вона характеризується, з одного боку, широким поширенням у медичній практиці високоефективних лазерних технологій і відповідного апаратурного забезпечення, і з іншого, недостатнім розвитком і недосконалістю необхідного метрологічного забезпечення й обслуговування зазначеної медичної апаратури. Як наслідок розроблені передові методики діагностики і лікування різноманітних захворювань використовуються з меншою ефективністю.

У зв'язку з цим є без сумніву актуальним подальше дослідження ефектів взаємодії лазерного випромінювання (ЛВ) з кров'ю людини з метою удосконалення техніки і технології лазерної діагностики крові людини, а також підвищення ефективності діагностики фізіологічного стану людини в цілому.

Переваги лазерних методів порівняно з традиційними полягають в неінвазивності процедур, стерильності, можливості контактної і безконтактної дії, простоті доставки лазерного випромінювання в різні локалізації за допомогою дзеркальних маніпуляторів або волоконно-оптичних кабелів при повній сумісності з будь-якими ендоскопічними інструментами. Лазери все більше і більше стають доступним і надійним інструментом кожного лікаря в боротьбі за здоров'я людини.

В роботі розглядається експериментальний макет для знімання індикатриси розсіювання мазка крові людини. За допомогою цього макету можна отримати вихідні експериментальні дані для побудови індикатриси розсіювання, та її подальшого аналізу, зокрема визначення кількості та розмірів елементів крові, що дає можливість говорити про відсутність, або наявність захворювання.

Важливу роль у створенні сучасних біохімічних та біосенсорних приладів відіграє необхідність використання новітніх досягнень в області механіки та оптоелектроніки. Класичні методи для дослідження біомолекул, що традиційно застосовуються в лабораторіях, характеризуються використанням дорогих приладів та застарілих методик досліджень. При застосуванні нових оптичних методів тестування структур біологічних матеріалів оцінка тестування виконується визначенням максимуму інтенсивності випромінювання біосубстрату при різних кутах падіння

лазерного випромінювання. Зміна кута падіння лазерного променя установки здійснюється мануально. Такий спосіб зміни кута падіння характеризується відносно великими затратами часу та є недостатньо точним. Застосування системи автоматичного керування кутовим положенням променя лазера значно полегшить процес експлуатації установки для дослідження структур біологічних матеріалів та підвищить його ефективність.

У діагностиці лазерне випромінювання може використовуватися як поза організмом (*ex vivo*), так і для прямого аналізу органів і тканин пацієнта (*in vivo*). Наведемо деякі приклади застосування лазерів в діагностиці [1].

Застосування *ex vivo*. Через тонкий кварцовий капіляр прокачується спеціально оброблена кров (рис. 1.). Випромінювання лазера направляється на прозорий капіляр і викликає флуоресценцію клітин крові. Флуоресцентне світіння уловлюється чутливими датчиками. Це світіння специфічне для кожного типу клітин крові, що використовуються поодиноці в галузі лазерного опромінення. Тому є можливість підрахувати їх кількість в заданому обсязі крові, а також отримувати з високою точністю кількісні показники по кожному типу клітин. Цей принцип використаний в приладі, який називається гемоцитометр. Продуктивність цього приладу в сотні разів перевищує продуктивність аналізу крові лаборантом традиційним способом. І точність, і об'єктивність результатів також істотно вища.

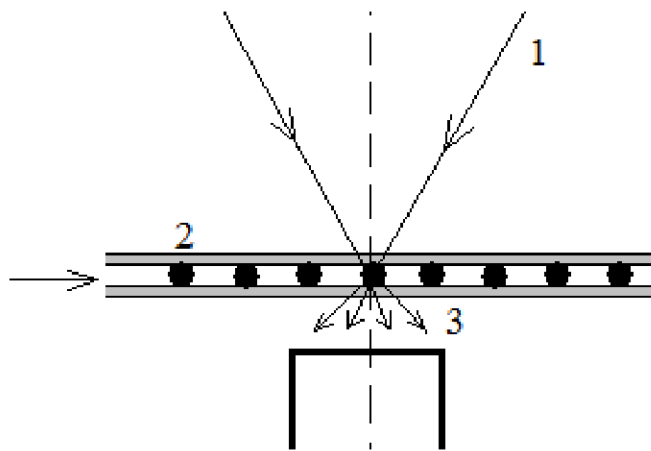


Рис. 1. – Застосування лазерного випромінювання для діагностики крові. 1– вихідний промінь; 2 – досліджуваний об'єкт; 3 – розсіяване випромінювання.

Розсіювання так само як і поглинання, являється основним процесом, який визначає розповсюдження світла в газоподібних, рідких та твердих тілах в тому числі і в біологічних об'єктах. Метод пружного розсіювання зазвичай використовують для дослідження бактерій, формених елементів крові, тканин очей. Ці біооб'єкти характеризуються великим різнобарв'ям форм та розмірів. У видимій області спектру частіше за все досліджувані частинки, в базовій речовині мають мале значення як дійсної $m(1.02 - 1.2)$, так і уявної складової показника заломлення $\delta(10^{-5} - 10^{-2})$, $n = m + i\delta$.

На сучасному етапі якісно картину розповсюдження світла в біотканинах може бути описано досить детально, що дає можливість реалізувати певну оптичну стратегію при дослідженні, а також при терапевтичному та хірургічному дослідженні. Проте в досить багатьох випадках кількісна оцінка дози опромінення, або діагностичного параметру є досить важким, через відсутність точних даних оптичних властивостей біотканини та зміни цих властивостей в процесі опромінення.

Розсіювання світла кров'ю пов'язане з її структурою, яка містить у своєму складі велику кількість випадково розподілених в об'ємі розсіюючих центрів. Процес розсіювання призводить до змін в просторовому розподілі інтенсивності світла, тому однією з основних характеристик при вивченні випромінювання являється індикатриса розсіювання, що визначає інтенсивність світла як функцію від кута розсіювання. Вимірювання індикатриса заключається в освітленні шару крові, поміщеного в ковету, пучком світла та реєстрації інтенсивності розсіяної речовини під різними кутами. Визначення індикатриса розсіювання, а також розподіл інтенсивності світла що пройшло по перетину вихідного пучка дає можливість якісно та кількісно про розміри зони впливу на кров.

Найбільше значення для діагностування та визначення основних характеристик для подальшого аналізу та виявлення патологій є порушення складу плазми крові. При лабораторних дослідженнях було встановлено що в плазмі крові найбільша кількість частинок має розміри 30 – 50 нм та 10 – 200 нм (рис. 2).

Найпершим фактором про наявність патогенних факторів є поява частинок інших розмірів, при чому розміри утворених частинок мають велику залежність від типу патогенного фактору, і чим

більше цих частинок тим в більшій мірі порушується робота організму. Проте на ранніх стадіях порушення, людина може не відчувати захворювання, однак лазерний спектральний аналіз навіть на початкових стадіях розповсюдження мутагену дає можливість виявити його та запобігти подальшому розповсюдженню. Так після зняття даних та їх опрацювання за допомогою сучасних комп'ютерних систем ми можемо порівняти спектри розмірів макромолекулярних комплексів плазми крові людини Рис.2 (здорової) та Рис. 3 (хворої на рак). Тобто ми отримуємо можливість отримати максимальний об'єм необхідної діагностичної інформації та встановити подальші етапи діагностування якщо отримана інформація не є яскраво вираженою [2].

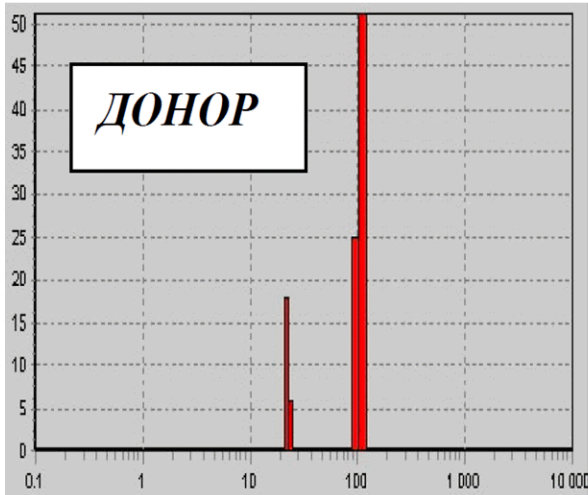


Рис. 2.— Спектр розмірів макромолекулярного комплексу крові здорової людини.

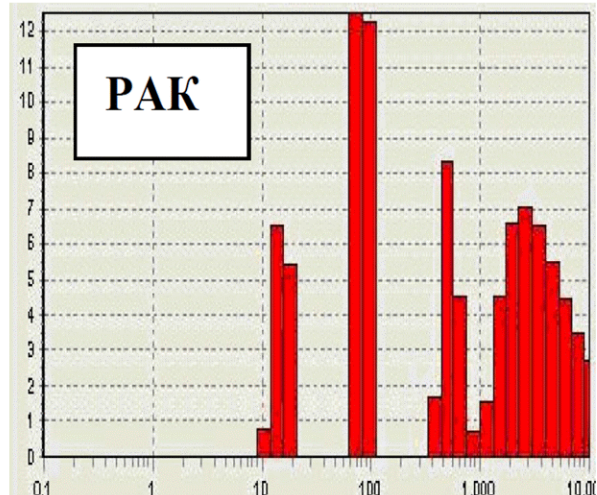


Рис. 3. Спектр розмірів макромолекулярного комплексу крові людини хворої раком.

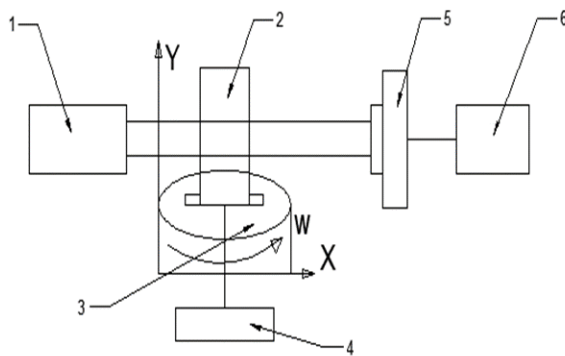


Рис. 4. Структурна схема системи біоспектроскопії з прецизійним двигуном: 1— лазер, 2— скло із мазком крові, 3— позиційна система, 4— блок керування, 5— детектор, 6— система приймання оброблення та реєстрування даних.

Тому для здійснення знімання даної спектральної залежності була розроблена система лінійного та 2л позиціонування зразка плазми крові людини (рис. 4).

Експерименти по визначенню кутової залежності проводились при двох різних концентраціях крові. В ході досліджень використовувалась чиста та розбавлена в 25 раз кров, причому умови проведення експерименту були однакові. Підрахунок кількості еритроцитів відбувався з використанням сітки Горяєва. Кров була розбавлена плазмою. Кількість еритроцитів в одному мікроліті крові становило 3.7×10^6 ШТК/МКЛ та $0,15 \times 10^6$ ШТК/МКЛ для чистої та розбавленої проб крові відповідно. Також було проведено експерименти з кюветами різної товщини. Товщина шару крові змінювалась в межах 0.1 – 1.08мм. При цьому концентрація крові вважалась величиною сталою і була рівна 3.7×10^6 ШТК/МКЛ. Залежність інтенсивності лазерного випромінювання від кута розсіювання для різних концентрацій крові приведена на (рис. 5).

Аналіз отриманих результатів показує, що при зменшенні концентрації крові в 25 раз значення інтенсивності випромінювання змінюється менш стрибкоподібно. Як видно з (рис. 4.) (нормовані значення), крива, що описує кутову залежність розбавленої крові, розташовується вище ніж крива, що описує кутову залежність лазерного випромінювання при проходженні через кров. Це досить добре підкреслює теорію, яка свідчить про те, що основними центрами розсіювання є еритроцити. Суцільну кров розглядають як середовище з великою щільністю частинок, зі збільшенням густини якої зменшується коефіцієнт розсіювання, а відповідно і інтенсивність розсіяного світла. В межах, коли густина частинок досягає свого максимально значення, коефіцієнт розсіювання наближається до

нуля. Зі зменшенням кількості еритроцитів вплив розсіювання лазерного випромінювання вперед значно зростає, а розсіювання у зворотному напрямі значно зменшується. В загальному якісний вигляд діаграми не зміниться.

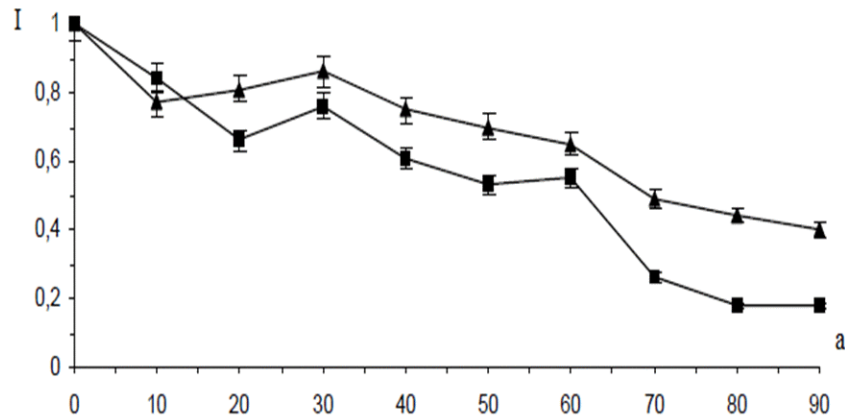


Рис. 5 Залежність кута розподілу лазерного випромінювання для різних концентрацій крові.

Дана розробка забезпечує зняття спектральної складової за допомогою переміщення предметного столику з мазком крові в двох лінійних координатах, а також дає можливість знімання даних при обертанні даного зразка навколо осі свого розміщення. Можливість знімання з точним дискретним кроком як в першому так і в другому випадках забезпечуються завдяки використанню мікроконтролера, а також прецизійного двигуна з малим значенням міри кута обертання. В результаті чого отримуємо наступну спрощену структурну схему зображену на Рис. 5. Вся діагностична система забезпечує точне зняття та оброблення отриманої інформації в досить короткий час, і причому сам пацієнт не піддається впливу жодним діям як при інших методах діагностики. Тому можна говорити про необхідність використання її в більш широкому діапазоні діагностування.

Випромінювання кутової залежності інтенсивності лазерного випромінювання при проходженні через різні товщини шару крові виконувались з використанням того самого макету. В даних експериментах використовувалась чиста кров з концентрацією частинок $N = 3.7 \times 10^6$ ШТК/МКЛ. По отриманим даним була побудована індикатриса розсіювання.

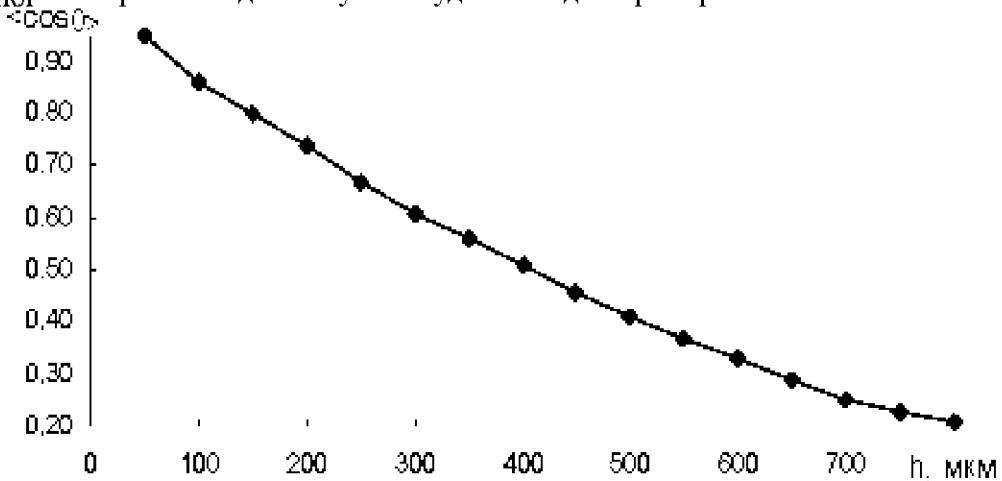


Рис. 6. Залежність середнього косинуса кута від товщини шару крові.

Для порівняння експериментальних даних з теорією були отримані індикатриса розсіювання за допомогою комп'ютерного моделювання. При моделюванні процесу методом Монте-Карло були отримані наступні результати. Розрахунки були проведені при довжині хвилі $\lambda = 360$ нм. За товщину шару крові була взята одна з товщин в діапазоні 0.1 – 1.08 мм. Кількість статичних дослідів $N = 50000$. На різних товщина проводився підрахунок кількості фотонів, які потрапили на кільцеві зони шириною 10 мкм, на які поділені площини, перпендикулярними променями пучка лазерного випромінювання. За винятком початкового етапу повний нормований потік енергії спадає по експоненті в залежності від координати по закону Бугера-Ламберта. Поблизу від точки падіння світла на шар крові втрати енергії, що пов'язані з поглинанням та зворотнім розсіюванням малі, тому зменшення енергії пропорційне пройденому шляхові. Як показали досліди при товщині шару порядку 0,25 мм близько 10% енергії розсіюється у зворотному напрямі і стільки ж поглинається. При глибині проникнення 0,85 мм доля поглинутої енергії становить 39%, а частина енергій яка розсіюється у

зворотному напрямі становить 25% від падаючої енергії. Про зростання оберненого розсіювання свідчить зменшення середнього косинуса кута розсіювання $\cos\theta$ з ростом товщини h . Залежність $\cos\theta$ від h наведена на (рис. 6.). З даного рисунку видно, що із збільшенням значення косинуса кута розсіювання зменшується по закону, близькому до лінійного. Це означає, що для випромінювання розсіяного вперед, зменшується пропорційна товщина шару крові [3].

Перенесення енергії відбувається у вузькій при осевій зоні. Багаторазове розсіювання призводить до віднесення енергії від осі пучка в при осеву область та перерозподіляє її по поперечному перетину [4].

Інформаційні джерела

1. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов; М.: Техносфера, 2007. — 374 с.
2. Мальцев А. Молекулярная спектроскопия; М.: МГУ, 2008. — 271 с.
3. Лопатин В.В., Приезжев А.В., Федосеев В.В. Численное моделирование процесса распространения света в мутных биологических средах // Биометрическая радиоэлектроника, №7. 2000.
4. Ершов А.В, Машин А.И, Касьянов Д.И, Атомная оптическая спектроскопия Издательство: СПбГУ, 2007. — 69 с.

УДК 338.51

М.Ф. Богомолов, к.т.н., М.Б. Соколовський
Національний технічний університет України “КПІ”

ЛАЗЕРНИЙ СПЕКЛ – ІНТЕРФЕРОМЕТР ДЛЯ БІОМЕДИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Розроблена оптична схема лазерного спекл – інтерферометра для дослідження зразка крові. Проведений математичний аналіз даних спекл – картин. Завдяки використанню даної розробки можна мати достовірну і правильну інформацію про хворого.

Ключові слова: спекл, інтерферометрія.

Разработана оптическая схема лазерного спекл – интерферометра для исследования образца крови. Проведенный математический анализ данных спекл – картин. Благодаря использованию данной разработки можно иметь достоверную и правильную информацию о больном.

Ключевые слова: спекл, интерферометрия.

Laser speckl-interferometr optical schema was developed to research blood sample. A mathematical analysis of speckl-pictures data was made. This schema may be used for credible and correct information about patient.

Keywords: speckl, interferometry.

З появою на світовому ринку нових лазерних технологій та методів їх впровадження, виникає необхідність вдосконалення старих і розробки нових засобів оптичного діагностування біологічних об'єктів, що широко будуть використовуватись в медицині.

На ряду з терапевтичним та інвазивним використанням лазерів у медицині все більшої актуальності набуває прицельна діагностика біологічних об'єктів та процесів.

Вимірювання пропускання, відбиття, розсіювання та флуоресценції становлять основу для проведення діагностики з використанням лазерного випромінювання. Складність біологічних об'єктів, значна різноманітність в характері їх взаємодії з когерентним випромінюванням значною мірою обумовлює збільшення методів діагностування, що були розвинуті на протязі останніх 40 років, з винаходом перших рубінових лазерів.

Відомо, що методи з використанням лазерного випромінювання успішно застосовуються для визначення розмірів, концентрації, а також форми оптично-неоднорідних розсіювачів у середовищі біологічних рідин, тканин і розвивається у багатьох напрямках в медицині та хірургії.

У зв'язку з цим є актуальними подальші дослідження взаємодій лазерного випромінювання з біооб'єктами та їх процесами з метою удосконалення та підвищення ефективності лазерної діагностики людини.

При освітленні високо когерентним пучком великої області оптично дуже шорсткої поверхні формується так звана нормально – розвинена спекл – картина (рис.1). Її статистичні властивості не залежать від детальних характеристик мікрорельєфу поверхні. Зображення відбиваючого (проникаючого) об'єкта представляє складну гранулярну структуру, що не має явного зв'язку з