

Лазерный зонд для исследования оптических характеристик
биологических сред

И. Т. Акслимичев, А. А. Кеткович

Лазерные методы исследования биологических объектов широко применяются в экспериментальной и клинической медицине. Уникальные свойства ОКГ - монохроматичность, направленность, когерентность и высокая мощность излучения позволяют создавать принципиально новые методы исследования. Особый интерес представляет применение лазеров в сочетании с волоконно-оптическими элементами (ВОЭ), позволяющими трансформировать излучение в труднодоступные полости и проводить изучение фотобиологических реакций *in vivo* без оперативного вмешательства, что особенно важно в связи с характерным для биологических структур резким изменением свойств вне живого организма. С помощью лазерных эндоскопов можно исследовать характеристики отражения, пропускания, рассеяния и люминесценции света различных тканей организма в норме и патологии.

Применение мощных ОКГ позволяет применять эндоскопы для терапии ряда заболеваний, в том числе язвенной

болезни и рака желудочнокишечного тракта.

Накопленные в настоящее время данные позволяют считать одним из самых перспективных методов лазерной диагностики изучение люминесценции тканей внутренних органов при возбуждении ультрафиолетовым (уф) излучением. Избирательная способность некоторых люминесцирующих веществ, например, тетрациклиновых антибиотиков, накапливаться в патологических измененных тканях позволяет создавать эффективные методики для обнаружения и локализации злокачественных опухолей с помощью лазерных зондов.

Анализ спектральных, временных и поляризационных характеристик люминесцентного излучения тканей позволяет уточнить характер изменений, происходящих в организме. Так, для нормальных и нераковых тканей характерна люминесценция синего цвета, а для пораженных раком - свечение золотисто-желтого цвета. При этом в отличие от псевдофлуоресценции аналогичных оттенков, вызываемой некоторыми воспалительно-деструктивными и некротическими процессами, люминесценция раковых тканей имеет существенно большую яркость [16]. Перспективно применение коротковолнового уф-излучения для стимуляции ультрафиолетовой люминесценции ряда тканевых структур с целью их диагностики [7].

Все это делает актуальным создание соответствующей аппаратуры и методов проведения лазерного УФ-зондирования, недостаточно разработанных в настоящее время. Изучение люминесценции биологических тканей может быть проведено с помощью визуальных эндоскопов, осветительные световоды которых прозрачны для УФ-излучения. Хоряду с этим целесообразным представляется создание специализированных зондов для объективной регистрации УФ-люминесценции с помощью миниатюрных зондов, вводимых непосредственно в мышечные ткани.

Некоторые аспекты создания такого зонда рассмотрены в настоящем сообщении.

Схема лазерного зондирования показан на рис. 1.

Малые диаметры ВОЭ и слабая интенсивность свечения люминесценции биологических объектов обуславливают высокие требования к энергетической эффективности оптической системы УФ-зондов. Необходимость точной количественной оценки яркости люминесценции требует разработки соответствующих средств метрологического обеспечения.

Рассмотрим особенности выбора параметров основных функциональных узлов лазерных зондов.

Лазеры для уф-зондов должны обладать малой угловой расходимостью и однородным модовым составом для точной фокусировки на торец ВОЭ. Минимальный диаметр (d_{min}) светового пятна, в котором можно сфокусировать лазерный луч, определяется из выражения [10]:

$$d_{min} = \frac{4 \lambda f}{T_i d_0}$$

где λ -длина волны излучения лазера, f -фокусное расстояние фокусирующей линзы, d_0 -диаметр пучка на выходе ОКГ.

Серьезную трудность при разработке лазерных микро-зондов представляет пространственное разделение входящих и выходящих из него пучков света. На рис. 1 представлено варианты построения оптического узла зонда, опробованные при его разработке.

В схеме 1а поток разделяется интерференционным зеркалом, отражающим уф-лучи и пропускающим излучение люминисценции. Рис. 1б иллюстрирует метод темного поля. Система конических зеркал преобразует пучок лазера в полый цилиндр, который после отражения от кольцевого плоского зеркала фокусируется периферийной зоной линзы на ВОЭ. Метод фокального (рис. 1в) экранирования основан на вводе лучей ОКГ с малым апертурным углом через центральную

часть линзы после отражения от экранирующего зеркала и выводе потока люминисценции при максимальной апертуре ВОЭ. Простой способ деления пучков с помощью двух ВОЭ показан на рис. 1г. Однако, он отличается низкой светосилой, поскольку половина энергии излучения выходящая из иглы теряется, возвращаясь на входной световод.

Наиболее эффективна схема фокального экранирования. При рационально выбранных параметрах линзы и зеркала потери составляют менее 10% по сравнению с 20-30% в других схемах. При исследовании рассеяния и других оптических свойств нелюминесцирующих объектов сигнал на выходе зонда обычно значительно превышает сигналы от люминисценции, поэтому можно использовать простую схему 1г. Высокие требования предъявляются в УФ-зондах к качеству ВОЭ. ВОЭ из стекла обладают низкой прозрачностью в УФ-области спектра, поэтому были изготовлены световоды из кварцевых моноволокон, хорошо пропускающих излучение УФ-лазеров. Из кварца изготовлены и все линзы зонда. Выходные торцы ВОЭ после склейки и заделки полировались. Контроль светопропускания и других параметров ВОЭ осуществлялся в соответствии с общеизвестной методикой. Хорошие результаты дает соединение выходного торца ВОЭ и фотокатода ФЭУ с помощью иммерсии. Это уменьшает потери на отражение от поверхностей раздела стекло-

воздух и уменьшает паразитной рассеяние на дефектах торца ВОЭ.

Условия применения лазерных зондов требует большой маневренности рабочего органа (иглы). Это легко достигается для схемы рис. 1г. В других случаях необходимо использование зеркальных шарнирных устройств для свободного перемещения зонда в пространстве без нарушения фокусировки луча ОКГ.

Малая яркость люминесценции требует тщательной световой изоляции ВОЭ зонда и применения для фоторегистрации ФЭУ. Вопросы выбора режима работы ФЭУ, схема усиления сигналов и параметров регистрирующей аппаратуры достаточно известны и здесь не рассматриваются [10]. Для анализа спектрального состава люминесценции и ее поляризации может применяться стандартная аппаратура [12].

Для калибровки прибора часть излучения ОКГ отводится в канал сравнения. Применение дифференциальной схемы измерения позволит автоматизировать процесс сравнения.

Для регистрации в канале сравнения коротковолнового уф-излучения, не обнаруживаемому ФЭУ и щелочным фотокатодом, предложено использование конвертора из уранового стекла

ЖС-18, отличающегося высокой стабильностью преобразования уф-пучей в видимый свет с хорошим квантовым выходом. Погрешность измерения амплитуд сигнала составляет при этом 5-10 %.

Дальнейшее повышение точности измерений связано с уменьшением временного дрейфа мощности излучения ОКГ, выпускаемых в настоящее время, а также стабилизацией его пространственного распределения по пучку.

Принципиальная схема макетного образца лазерного зонда показана на рис. 3. В состав прибора входят сменные лазерные источники параметры которых приведены в табл. I.

Табл. I.

характеристики	ЛГИ-26	ЛГ-32	ЛГ-52
рабочее вещество			
характер излучения	импульсный	непрерывный	непрерывный
частота следования импульсов, сек	0,1-100	-	-
Длительность импульсов, сек	10	-	-
Длина волны излучения, мкм	0,337	0,443	0,63
Мощность излучения, мВт	3,0	5,0	10,0
Диаметр пучка, мм	1,0	1,0	1,5
Расходимость луча, угл. минут	10	8	4

Излучение ОКГ с помощью зеркального шарнира и кварцевого ВОЭ, дистальный конец которого диаметром 0,2 мм размещен в стандартной игле для подкожной инъекции, вводится в исследуемую область объекта. Выходящее из ВОЭ излучение дополнительным ВОЭ направляется на вход портативного монохроматора, собранного на основе сферической дифракционной решетки и зеркального коллиматора. Торцы ВОЭ, обращенные к монохроматору, имеют прямоугольную форму, что соответствует форме его спектральных щелей и уменьшает потери излучения. Схема может работать в одноканальном режиме с прямой регистрацией излучения. При этом светоделительное зеркало 2 выводится из хода лучей. Для интегральной оценки яркости люминисценции излучение из зонда с помощью дополнительного ВОЭ может подаваться непосредственно на фЭУ, минуя монохроматор. В этом режиме прибор имеет максимальную обнаруживательную способность к свечению люминисценции.

Для количественной оценки интенсивности выходного сигнала вводится зеркало 2, отражающее часть потока ОКГ (порядка 10%) на конвертор из уранового стекла, люминисцентное излучение которого с помощью ВОЭ поступает на вход блока модулятора с фЭУ, осуществляющего его сравнение с потоком объекта. Для балансирования каналов схемы применен оптический компенсатор (клин из стекла типа ВС-8). В

приборе использован фЭУ-79 с многощелочным катодом и анодной чувствительность порядка 1000 в/лм при напряжении 1300В.

В зависимости от выбранной схемы эксперимента могут быть реализованы импульсные или квазистационарные режимы измерения. В первом случае сигналы фЭУ после усиления поступают на осциллограф. Регистрации медленно изменяющихся сигналов осуществляются цифровым наноамперметром или самописцем с усилителем постоянного тока.

Основные данные уф-зонда.

Диаметр иглы зонда, мм	-0,6 и 1,0
Длина иглы	-40,0 мм
Апертура ВОЭ иглы	-0,3
Направление излучения на выходе иглы	-фронтальное и боковое
Габариты ВОЭ на входе и выходе зонда	диаметр, мм -2,0 длина, мм -400 и 1000
Спектральный диапазон пропускания ВОЭ, мкм	-0,3-3
Фотодетектор	-фЭУ-79
напряжения питания фЭУ, В	-1300
Темновой ток фЭУ, А	-10 ⁻¹²
Режимы регистрации сигналов	-импульсный и стационарный.

Лазерные зонды с волоконно-оптическими датчиками находятся в стадии освоения. Однако первые результаты их применения говорят о перспективности их применения. Они могут найти применение в оксигеометрии, исследованиях микроциркуляции крови, оценки динамики распространения красителей в кровеносных сосудах, изучении естественной биолюминисценции различных органов.

Насущие задачи этой быстроразвивающейся отрасли лазерного приборостроения - повышение чувствительности к излучению и точности измерения, уменьшение диаметров микрозондов, разработка методов обработки результатов измерений на ЭВМ и расширение номенклатуры применяемых ОКГ.

Применение БОЭ в системах лазерного зондирования создаст предпосылки реализации многоканальных методов последовательной и параллельной обработки информации в системах многоточечного контроля.

Л и т е р а т у р а

- [1] Гамалея Н. Ф.: Лазеры в эксперименте и клинике, М., "Медицина", 1972.
- [2] Беренбойли Г. М., Доманский А. Н., Туверов И. К.: Люминисценция биополмеров и клеток, М., Наука, 1966.

- [3] Люминисцентный анализ, под. ред. М. А. Константиновой-Шлезингер, М., Физматгиз, 1961.
- [4] Михайлов В. Г.: Люминисцентный анализ в медицине, Ташкент, Медгиз, УзССР, 1963.
- [5] Юденфренд С.: Флуоресцентный анализ в биологии и медицине, М., Мир, 1965.
- [6] Файн С., Клейн Э.: Биологическое действие излучения лазера, М., Атомиздат, 1968.
- [7] Билявин Г. Д., Поворович Е. А., Маршак А. М.: Использование флуоресценции тетрациклинов и клинике, Труды ВНИИМП, вып. 3, 1972.
- [8] Рубин Л. Б.: Лазерная техника в современной биологии, М., Знание, 1978.
- [9] Сигунов Н. Н.: Оценка спектрального состава ультрафиолетовой люминисценции кожи, труды ВНИИМП, вып. 3, 1972.
- [10] Якушенко Ю. М.: Основы оптико-электронного приборостроения, М., Сов. Радио, 1977.
- [11] Берский И. Я., Поляков Н. И., Якубенас В. А.: Контакт-

ная микроскопия, М., Медицина, 1976.

- [12] Савельева С. А.: О применении волоконного прибора для флуоресцентной ангиоскопии, Труды симпозиума "Проблемы создания медицинской техники с применением волоконной оптики", М., 1975, ВНИИП.
- [13] Шевелевич Р. С. и др.: Биолюминисцентная терапия и автокорреляционные схемы идентификации фотоизображения внутренних органов с использованием ультрафиолетовых волоконно-оптических элементов. Труды симпозиума, М., ВНИИП, 1975.

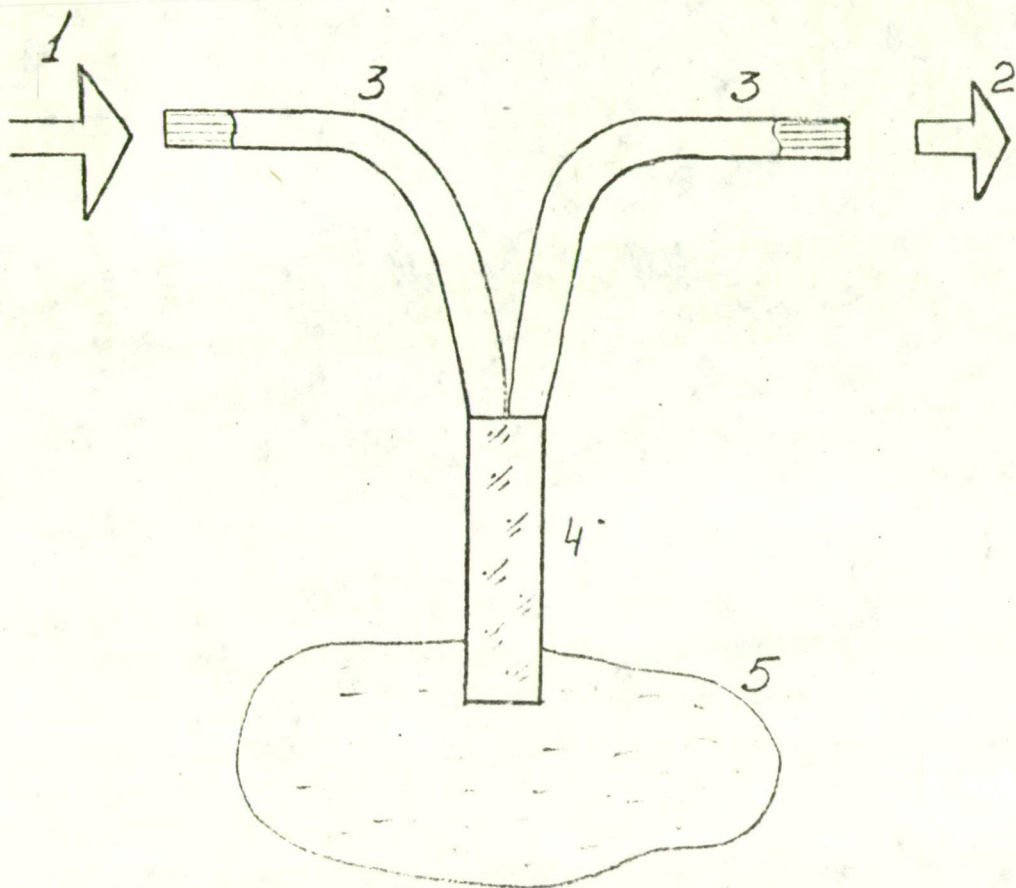


Рис. 1

Схема метода лазерного зондирования

- | | |
|-----------------------------|----------------|
| 1 - лазерное излучение | 3 - световоды |
| 2 - излучение люминисценции | 4 - микровзвод |
| 5 - объект | |

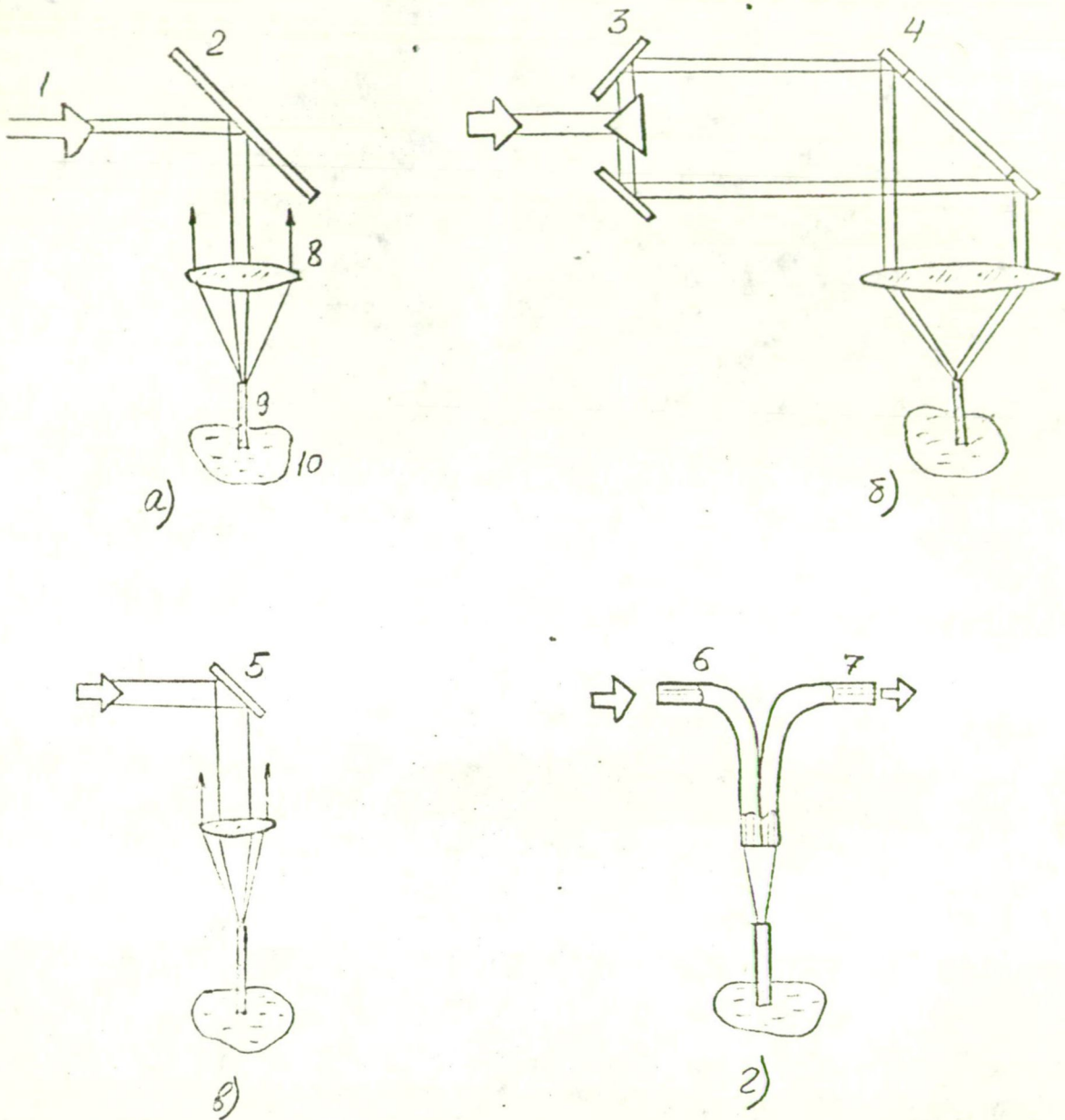


Рис. 2

Принципиальные оптические схемы устройств ввода-вывода лазерного излучения

а) с интерференционным дихроическим фильтром, б) с темнопольным конденсором, в) с экранирующим зеркалом, г) с дуальным ВОЭ.

1 - луч ОКГ, 2 - дихроичное зеркало, 3 - коническое зеркало, 4 - кольцевое зеркало, 5 - отражатель 6,7 - ВОЭ, 8 - линза, 9 - игла с ВОЭ, 10 - объект

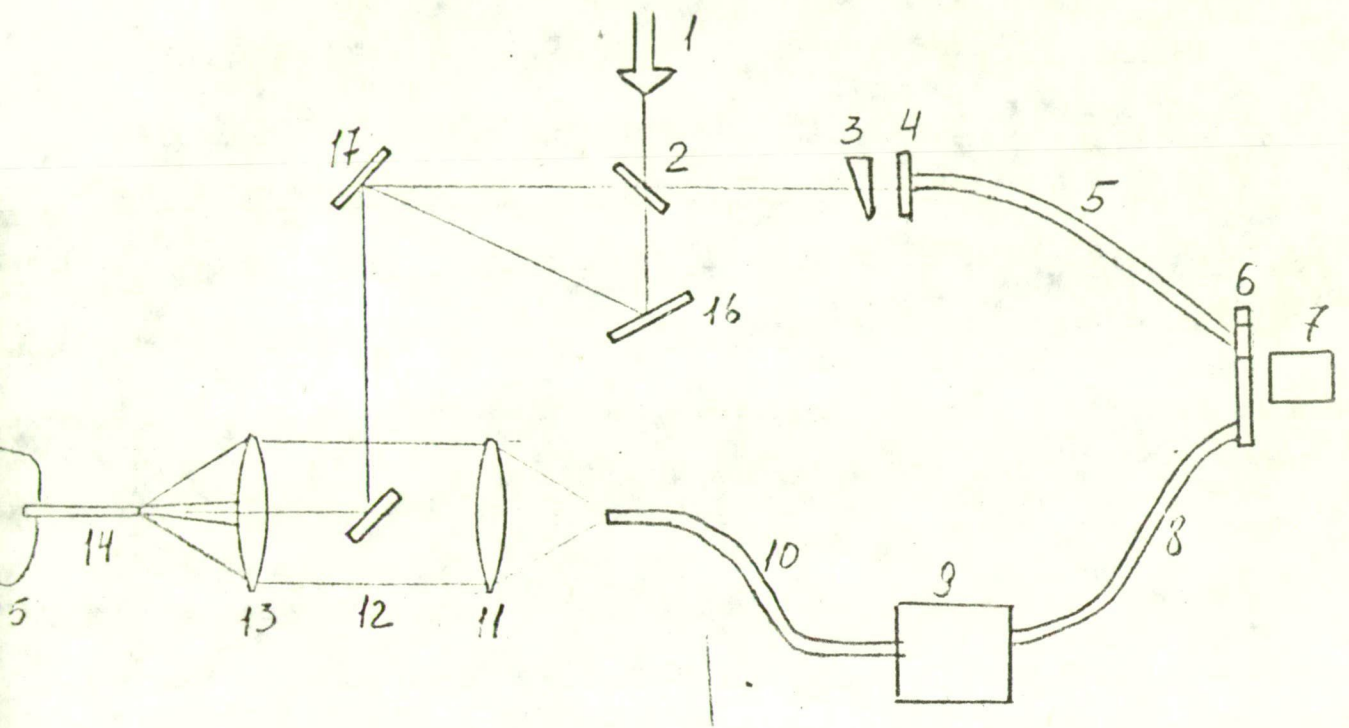


Рис 3

Принципиальная схема лазерного зонда с волоконно-оптическим датчиком

- | | |
|-------------------|-------------------------|
| 1 - луч ОКГ | 6 - модулятор |
| 2 - светоделитель | 7 - фЭУ |
| 3 - компенсатор | 8 - ВОЭ канал измерения |
| 4 - эталон | 9 - монохроматор |
| 5 - ВОЭ | 10 - ВОЭ |
- 11, 13 - линзы
12 - отражатель
14 - ВОЭ иглы зонда
15 - объект
16, 17 - зеркала оптического шарнира