

Простой оптический сканер для просвечивающей визуализации биологических объектов

© А. Ханбекян, С. Шмавонян, П. Саакян, Г. Султанян, М. Мовсисян, А. Папоян

Институт физических исследований НАН Армении,
Аштарак-2, Армения
e-mail: akhanbekyan@gmail.com

Поступила в редакцию 23.08.2024 г.

В окончательной редакции 22.09.2024 г.

Принята к публикации 27.09.2024 г.

Представлена схема установки просвечивающей визуализации для биомедицинских применений, основанная на поточечном пространственном сканировании непрерывным лазерным пучком и преимущественной регистрации прошедших баллистических фотонов. Особенностью схемы является простота микрокомпьютерного управления режимами сканирования и обработки регистрируемого сигнала, а также использование недорогого высокочувствительного фотоприемника с расширенным динамическим диапазоном и высокой линейностью отклика. Работоспособность схемы протестирована на модельных и биологических объектах.

Ключевые слова: оптическое просвечивание, баллистические фотоны, поточечное сканирование, визуализация биологических объектов.

DOI: 10.61011/OS.2024.09.59197.7013-24

Введение

Оптическая визуализация сильно рассеивающих и поглощающих сред продолжает оставаться в центре внимания исследователей как потенциальный механизм неразрушающей диагностики. Особый интерес вызывает визуализация биологических тканей, органов и систем, где применение диагностических техник, связанных с ионизирующим и коагулирующим воздействиями, обратимыми и необратимыми изменениями физиологического состояния, сильно нежелательно.

Оптическая визуализация минимально инвазивна, в то же время эффективная глубина проникновения света в биологические ткани, особенно *in vivo*, чрезвычайно мала, в первую очередь вследствие многократного рассеяния, обусловленного неоднородностями в биологических тканях и приводящего к сильному искажению изображения [1]. Для минимизации влияния рассеяния используются, в частности, методы адаптивной оптики [1], диффузной оптической томографии [2] и оптической когерентной томографии [3], оптического гетеродинного детектирования [4] и другие. Целесообразность применения того или иного метода зависит от оптических свойств исследуемого биологического образца [5].

Перспективным является подход выборочной регистрации так называемых „баллистических“ фотонов — небольшой доли света, который проходит сквозь исследуемый объект, не подвергаясь рассеянию (без изменения направления). Такой свет можно выделить временными воротами при освещении объекта фемтосекундным излучением: не подвергшиеся рассеянию фотоны первыми попадают на фотоприемник [6]. Баллистические фотоны можно выделять и пространственно, ограничи-

вая телесный угол регистрации [7]. В последнее время для визуализации баллистических фотонов успешно используются матрицы однофотонных лавинных диодов (single-photon avalanche diode, SPAD), позволяющие регистрировать одиночные фотоны, при этом обеспечивая необходимое временное разрешение [8].

Целью настоящей работы была разработка простой и недорогой установки просвечивающей визуализации для биомедицинских применений, основанной на поточечном пространственном сканировании непрерывным лазерным пучком и регистрации прошедшего в том же направлении излучения одиночным фотоприемником [9,10]. Преимуществом такого подхода является легкость обработки регистрируемого сигнала (усреднение, демодуляция, фильтрация и т. д.). Особенностью данного исследования является геометрическая конфигурация измерительной системы, выделяющая преимущественно баллистический свет и отсекающая рассеянный, а также использование высокочувствительного фотоприемника с расширенным динамическим диапазоном и высокой линейностью отклика.

Схема сканера

Конструктивно устройство состоит из механической части и электронного блока управления и регистрации (рис. 1). Закрепленные соосно на подвижном каркасе (5) источник коллимированного лазерного излучения (1) и фотоприемник (2) перемещаются в горизонтальной плоскости XU . Сканирование по заданной траектории с заданным шагом осуществляется с помощью двух шаговых двигателей. Размах перемещения по обоим направлениям 60 мм, с погрешностью 0.1 мм.

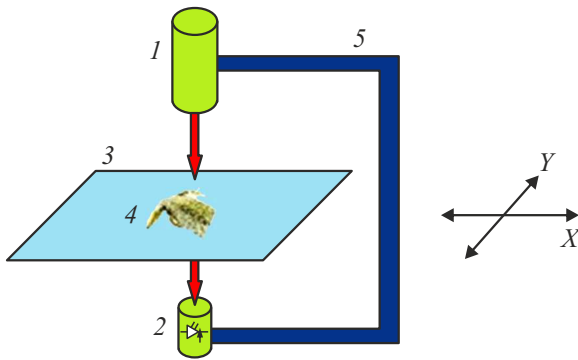


Рис. 1. Схема сканера: 1 — лазерный источник, 2 — приемник излучения, 3 — предметное стекло, 4 — исследуемый объект, 5 — двухмерный подвижный каркас с шаговыми двигателями.

Исследуемый образец (4) устанавливается на неподвижное предметное стекло (3), помещенное в промежутке между лазерным источником и фотоприемником. Выбор длины волны лазерного излучения определяется конкретной целью исследований. В настоящей работе был использован непрерывный лазерный диод с длиной волны 850 nm, попадающей в первое окно прозрачности биологических тканей в ближнем инфракрасном диапазоне (NIR-I, 700–950 nm, так называемое „терапевтическое окно“ [11]). Мощность лазерного излучения составляла 50 mW при диаметре коллимированного пучка 1 mm.

Прошедшее через исследуемый объект лазерное излучение регистрировалось фотоприемником OPT101, который представляет из себя монолитный фотодиод со встроенным операционным трансимпедансным усилителем. Фотоприемник имеет линейный отклик в широком динамическом диапазоне (10^5) с максимальной оптической чувствительностью $6 \text{ V}/\mu\text{W}$ на длине волны 850 nm при сопротивлении резистора обратной связи $R_F = 10 \text{ M}\Omega$. Монолитная конструкция обеспечивает максимальную защиту от внешних электрических наводок.

Высокая чувствительность фотоприемника позволяет реализовать режим преимущественной регистрации баллистических фотонов. При площади фотодиода 5.2 mm^2 и расстоянии между предметным стеклом и фотодиодом 50 mm телесный угол регистрации составляет 2 msr. Для отсека бокового диффузно рассеянного света регистрируемый свет проходит через зачерненную бленду, установленную перед фотоприемником. Бленда также помогает отсечь комнатное освещение.

Электрическая схема сканера представлена на рис. 2. Ее центральным элементом является одноплатный микрокомпьютер Raspberry Pi3 модели B, оснащенный четырехъядерным процессором на частоте 1200 MHz, гарантирующем работу всей системы. Управление перемещения двухмерного подвижного каркаса с лазерным источником и фотоприемником относительно предмет-

ного стекла с исследуемым объектом осуществляется шаговыми двигателями X и Y посредством соответствующих драйверов. Специальный программный код, составленный на языке Python, позволяет установить начальные координаты каркаса, траекторию и шаг перемещения, выбрать скорость и необходимое количество шагов сканирования в направлениях X и Y, а также обеспечивает возврат системы сканирования в исходное положение после окончания цикла измерения.

Выходной сигнал фотоприемника поступает на 10-битный аналого-цифровой преобразователь MCP3008 и подается на цифровой вход микрокомпьютера. В каждой точке (пикселе) сканирования та же программа регистрирует сигнал излучения, прошедшего через исследуемый объект, усредняет его в заданном промежутке времени и сохраняет результаты измерений в csv-формате для дальнейшей обработки. Данные сканирования отображаются в виде графического изображения посредством программы, составленной в среде LabView или Wolfram, которая позволяет также формировать пользовательскую цветовую шкалу соответствия величины сигнала.

Тестирование системы сканирования на модельных и биологических объектах

Проверка работы системы проводилась несколькими этапами. Вначале были протестированы повторяемость последовательных циклов визуализации модельного объекта и точность возврата подвижного каркаса в исходное положение при неизменном режиме сканирования. В качестве модельного объекта была использована пластина с двумя щелями шириной 4 mm и расстоянием между ними 2.5 mm. После первого сканирования и автоматического возврата в исходное состояние второе сканирование показало полное совпадение координат изображений.

На следующем этапе было проведено тестирование сканера с использованием модельного планарного рассеивающего/поглощающего объекта, в качестве которого был выбран металлический диск диаметром 20 mm, установленный в прорезь по центру листа из черного губчатого полиуретана высокой плотности толщиной 12 mm. Сканирование проводилось в области $25 \times 25 \text{ mm}$, причем для определения оптимального шага сканирования были выбраны разные количества пикселей по X и Y : 28 и 160 соответственно.

Результат сканирования, представленный в градациях серого, показан на рис. 3. Отчетливо видно, что получено высококонтрастное изображение с размером, соответствующим оригиналу с погрешностью не более $\pm 0.5 \text{ mm}$ как по X, так и по Y. Из этого можно заключить, что изображение сформировано преимущественно баллистическими фотонами, а уменьшение шага сканирования намного меньше диаметра лазерного

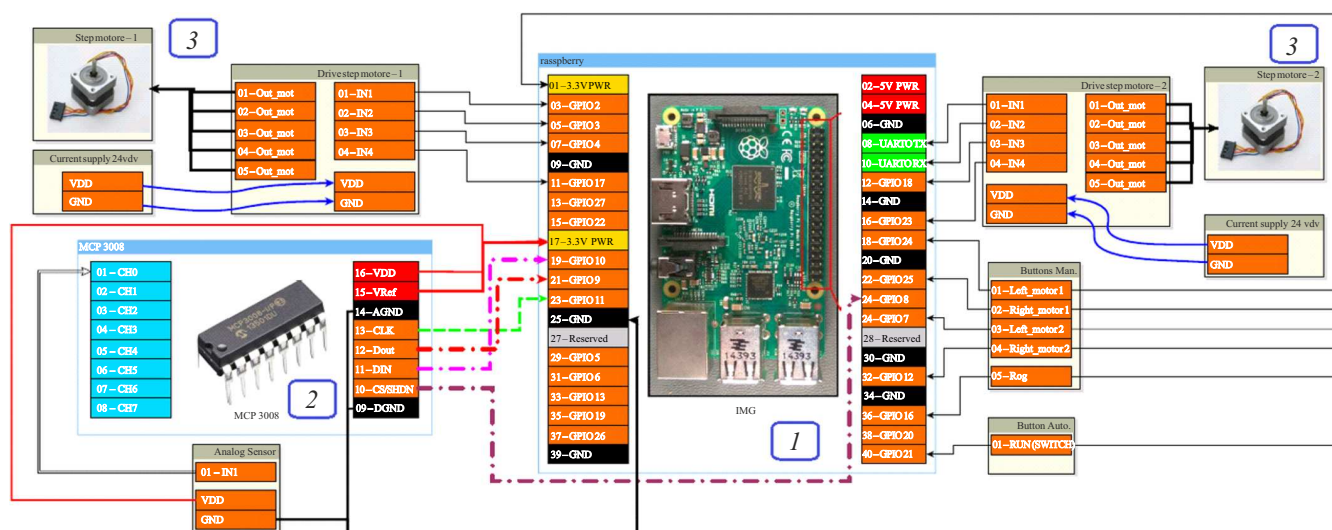


Рис. 2. Электрическая схема сканера. 1 — микрокомпьютер Raspberry Pi3, 2 — аналого-цифровой преобразователь MCP3008, 3 — шаговые двигатели.

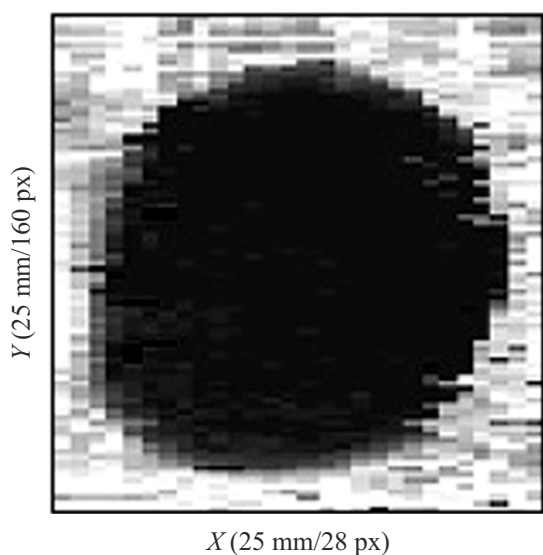


Рис. 3. Просканированное изображение металлического диска диаметром 20 mm, введенного в губчатый полиуретан высокой плотности толщиной 12 mm.

пучка (1 mm) нецелесообразно, так как не приводит к увеличению пространственного разрешения.

В качестве простого биологического объекта с переменной толщиной была исследована высушенная ящерица небольших размеров (длина 50–60 mm). Была отсканирована область 20 mm по X и 40 mm по Y с количеством пикселей 24 и 80 соответственно. Результат сканирования представлен на рис. 4. Следует отметить, что из-за небольшой толщины тела ящерицы уровень сигнала пропускания был высок во всей области сканирования, а на участке лапок толщиной 2–3 mm превышал порог насыщения фотоприемника, вследствие

чего лапки в изображении не проявились. Из-за малого динамического диапазона сигнала в случае данного объекта для лучшей визуализации была применена цветовая шкала изображения. На рис. 4 хорошо различается внутренняя структура ящерицы, выраженная в темных (синих) тонах.

Последним объектом исследования был палец человека (одного из соавторов). Сканирование было проведено с одинаковым шагом 0.7 mm по X и Y с числом пикселей 36 и 38 соответственно. На каждом пикселе (точке сканирования) проводилось 10 последовательных измерений прошедшего сигнала и регистрировалось среднее значение. Цветовое отображение сигнала проводилось в градациях серого (32 уровня), причем для лучшего восприятия визуализированного изображения в условиях сильно меняющегося уровня сигнала использовалась логарифмическая шкала. При полном динамическом диа-

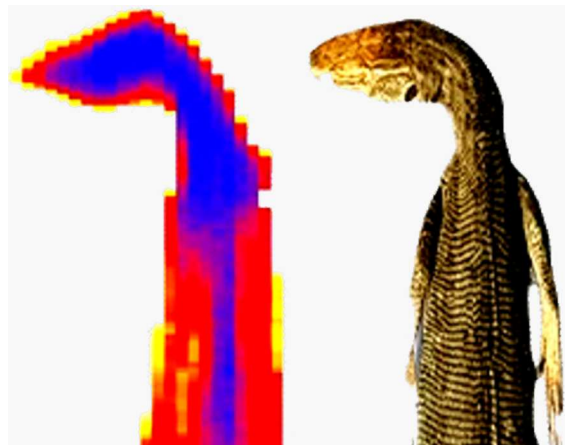


Рис. 4. Просканированное изображение (слева) и фотография (справа) небольшой высушенной ящерицы.

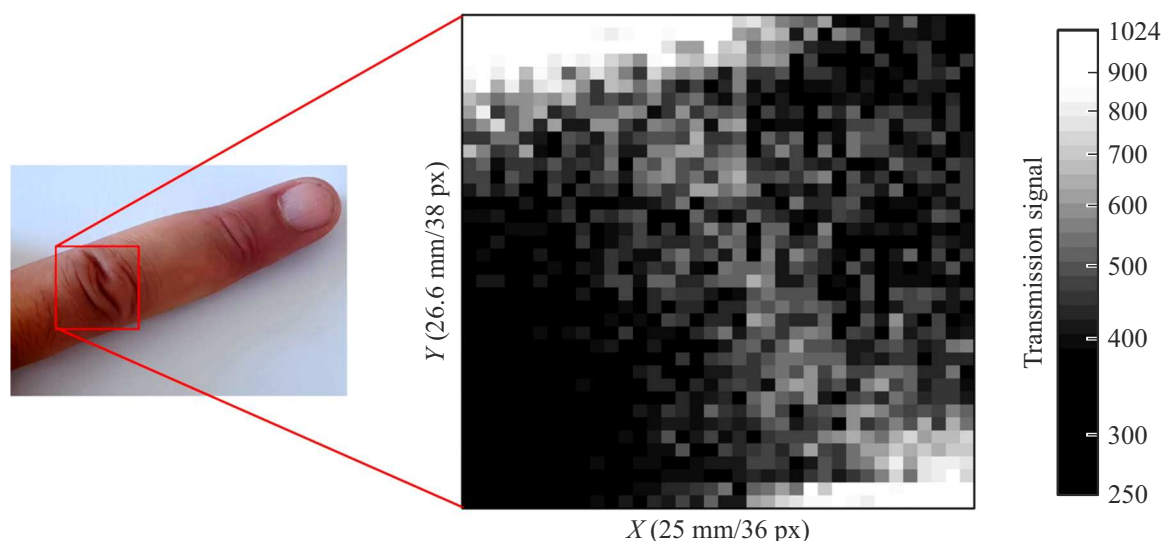


Рис. 5. Просканированное изображение участка среднего пальца руки человека. Светлая область в центральной части соответствует межфаланговому суставу.

пазоне 10-битного аналого-цифрового преобразователя (1024 уровня) средний уровень внешней засветки в освещенной комнате составлял 250.

Результат сканирования участка пальца представлен на рис. 5. Отсканированный участок отмечен на фотографии слева прямоугольником. Максимальная толщина пальца в области межфалангового сустава составляла 22 мм. На отсканированном изображении хорошо видна светлая поперечная область. Очевидно, она соответствует повышенной прозрачности суставной сумки с синовиальной жидкостью и суставного хряща по сравнению с костями фаланг.

Обсуждение результатов

Вышеизложенные результаты подтверждают, что предлагаемый метод, основанный на регистрации баллистических фотонов одиночным (однопиксельным) фотоприемником в режиме пространственного сканирования коллимированным лазерным пучком, позволяет получать изображения приемлемого качества при оптическом просвечивании как планарных модельных образцов, так и биологических объектов большой (и переменной) толщины. Сравним параметры изображений, полученных с помощью предложенной установки, с аналогами, описанными в литературе.

Наиболее близок к предложенной схеме метод, описанный в работе [7], где широкий параллельный пучок лазерного излучения, сформированный телескопической системой на выходе оптического волновода, фокусируется на исследуемый объект, перемещаемый в поперечной плоскости, а прошедшее излучение, попадая в телескопический расширитель, фокусируется на фотоприемник, чем обеспечивается селективная регистрация баллистических фотонов. При такой конфигура-

ции достигается высокое пространственное разрешение ($\sim 25 \mu\text{m}$), если только толщина исследуемого объекта не больше области перетяжки сфокусированного пучка ($\sim 0.5 \text{ mm}$). Разрешающая способность нашего метода, определяется диаметром коллимированного пучка излучения ($\sim 1 \text{ mm}$), однако толщина исследуемого образца при этом может достигать $\sim 20 \text{ mm}$.

Соотношение предельной толщины исследуемого объекта и пространственного разрешения является одной из основных характеристик систем визуализации. Диаграмма, представляющая это соотношение для разных методов визуализации, приведена в обзорной работе [1]. Из этой диаграммы видно, что чем больше толщина исследуемого объекта, тем хуже разрешающая способность, а методом, обеспечивающим наибольшую глубину проникновения (толщина $\sim 10 \text{ mm}$ при пространственном разрешении 1 mm), является фотоакустическая томография, основанная на генерации ультразвука вследствие теплового расширения среды при поглощении оптической энергии [12].

Выводы и перспективы

Разработано и реализовано устройство для оптической просвечивающей визуализации сильно рассеивающих объектов, в частности, биологических. Устройство основано на селективной регистрации высокочувствительным фотоприемником прошедших баллистических фотонов при пространственном сканировании исследуемого объекта коллимированным лазерным излучением. Управление сканированием и регистрация изображения осуществляются программным кодом, установленным в одноплатном микрокомпьютере.

Продемонстрирована возможность использования устройства для визуализации как модельных объектов,

так и биологических образцов толщиной до 20 mm (высушенная ящерица, сустав пальца человека). Преимущественная регистрация баллистических фотонов с минимальным вкладом рассеянного света позволяет исключить необходимость сложной программной обработки полученных изображений.

Пространственное разрешение сканера в отсутствие рассеяния определяется диаметром коллимированного лазерного пучка. Оно может быть улучшено посредством установки телескопической системы, фокусирующей лазерный пучок в исследуемую область, с последующим формированием параллельного пучка излучения, направляемого на фотоприемник.

Следует отметить, что в предлагаемой схеме вклад рассеянного света в изображение подавлен, но полностью не устранен. В случае биологических органов наибольшее рассеяние имеет место на кожном покрове (эпидермис), при этом кожу можно рассматривать как среду со случайным, но однородным распределением рассеивающих частиц [13]: так, приведенный коэффициент рассеяния кожи на длине волны 850 nm составляет $\sim 12 \text{ cm}^{-1}$ [14]. Для ослабления этого рассеяния в дальнейших работах предполагается использование биосовместимых молекулярных агентов, способствующих оптическому просветлению кожного покрова [15].

Дальнейшее усовершенствование устройства предполагает также полное устранение влияния внешней (фоновой) засветки и увеличение скорости записи изображения за счет оптимизации программы и траектории сканирования.

Соблюдение этических стандартов

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическими стандартами институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Благодарности

Авторы благодарят проф. В.В. Тучина за плодотворные обсуждения.

Финансирование работы

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по высшему образованию и науке Республики Армения в рамках научного проекта № 21AG-1C082.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] S. Yoon, M. Kim, M. Jang, Y. Choi, W. Choi, S. Kang, W. Choi. *Nature Reviews Physics*, **2**, 141–158 (2020). DOI: 10.1038/s42254-019-0143-2
- [2] D. Lighter, J. Hughes, I. Styles, A. Filer, H. Dehghani. *Biomedical Optics Express*, **9**, 1445–1460 (2018). DOI: 10.1364/BOE.9.001445
- [3] D.P. Popescu, L.P. Choo-Smith, C. Flueraru, Y. Mao, Sh. Chang, J. Disano, Sh.Sh. Sherif, M. Sowa. *Biophys. Rev.*, **3**, 155–169 (2011). DOI: 10.1007/s12551-011-0054-7
- [4] P. Zhan, W. Tan, J. Si, Sh. Xu, J. Tong, X. Hou. *Appl. Phys. Lett.*, **104**, 211907 (2014). DOI: 10.1063/1.4880115
- [5] I.S. Martins, H.F. Silva, E.N. Lazareva, N.V. Chernomyrdin, K.I. Zaytsev, L.M. Oliveira, V.V. Tuchin. *Biomedical Optics Express*, **14**, 249–298 (2023). DOI: 10.1364/BOE.479320
- [6] J. Cho, S. Kang, B. Lee, J. Moon, Y.S. Lim, M. Jang, W. Choi. *Optics Express*, **29**, 35640–35650 (2021). DOI: 10.1364/OE.438443
- [7] A.T. Mok, J. Shea, Ch. Wu, F. Xia, R. Tatarsky, N. Yapici, Ch. Xu. *Biomedical Optics Express*, **13**, 438–451 (2021). DOI: 10.1364/BOE.441844
- [8] C. Bruschini, H. Homulle, I.M. Antolovic, S. Burri, E. Charbon. *Light: Science & Appl.*, **8**, 87 (2019). DOI: 10.1038/s41377-019-0191-5
- [9] K. Vardanyan, A. Khachaturova, S. Varzhapetyan, A. Badalyan, S. Shmavonyan, A. Papoyan. *Optoelectronics and Advanced Materials — Rapid Commun.*, **4**, 1163–1165 (2010).
- [10] K. Vardanyan, A. Khachaturova, S. Varzhapetyan, A. Badalyan, S. Shmavonyan, A. Papoyan. *Proc. SPIE*, **7998**, 799814 (2011). DOI: 10.1117/12.891718
- [11] D. Sordillo, L. Sordillo, P. Sordillo, L. Shi, R. Alfano. *J. Biomed. Opt.*, **22**, 045002 (2017). DOI: 10.1117/1.JBO.22.4.045002
- [12] J. Xia, J. Yao, L.V. Wang. *Progr. Electromagn. Res.*, **147**, 1–22 (2014). DOI: 10.2528/PIER14032303
- [13] M.J.C. Van Gemert, S.L. Jacques, H.J.C.M. Sterenberg, W.M. Star. *IEEE Transact. Biomed. Engineer.*, **36**, 1146–1154 (1989). DOI: 10.1109/10.42108
- [14] H. Jonasson, I. Fredriksson, S. Bergstrand, C.J. Östgren, M. Larsson, T. Strömberg. *J. Biomed. Opt.*, **23**, 121608 (2018). DOI: 10.1117/1.JBO.23.12.121608
- [15] K.V. Berezin, K.N. Dvoretiskii, M.L. Chernavina, V.V. Nechaev, A.M. Likhter, I.T. Shagautdinova, E.M. Antonova, V.V. Tuchin. *Opt. Spectrosc.*, **127**, 352–358 (2019). DOI: 10.1134/S0030400X19080071