

МЕТОДИ ЗМЕНШЕННЯ ВПЛИВУ ДЕСТАБІЛІЗУЮЧИХ ФАКТОРІВ ПРИ БІОХЕМІЛЮМІНОМЕТРИЧНИХ ВИМІРЮВАННЯХ

В статті розглянуто особливості створення комп'ютерної системи для біохемілюмінесцентних досліджень у медицині та методи підвищення точності вимірювань. Аналізується структура та алгоритми функціонування для забезпечення необхідних метрологічних характеристик.

Вступ

Ефективні дослідження в галузі медичної діагностики неможливі без створення сучасних наукових приладів, забезпечення автоматизації досліджень. Особливо це стосується проблеми діагностики та запобігання онкологічних захворювань внаслідок шкідливих впливів радіоактивного опромінення та хімічного забруднення середовища, що з розвитком цивілізації стає все більш актуальною проблемою.

Одним з найефективніших методів дослідження змін в клітинах при канцерогенезі і злоякісному рості клітин внаслідок променевого ураження вважають метод, що базується на явищі біохемілюмінесценції тканин - біохемілюмінометрія (БХЛ). Явище біохемілюмінесценції тканин живих організмів відкрито відносно недавно і базується на реєстрації надслабкого люмінесцентного світіння живих організмів і біосубстратів у видимій та інфрачервоній областях спектру (400..600 нм) внаслідок попереднього радіаційного впливу на них [1].

БХЛ-дослідження проводились в основному на лабораторних установках, що являють собою об'єднання окремих приладів, як правило, це фотоелектронний помножувач (ФЕП), підсилювачі, самописці і т.п. Такі системи не можуть забезпечити достатню точність, повторюваність і оцінку результатів, а також роблять дослідження громіздкими і довготривалими. Потрібні значні затрати часу на аналіз і обробку результатів за участю кваліфікованого лікаря-оператора, неможливо забезпечити автоматизацію діагностики захворювань за результатами експериментальних даних на основі сучасних теорій обробки та розпізнавання сигналів. Для ефективної реалізації такого методу на практиці необхідне створення автоматизованих високочутливих технічних комплексів, які забезпечили б реєстрацію світлових потоків біопроб у широкому діапазоні - від одиничних фотонів до 10^{10} квант/с. Поряд з метрологічними засобами не менш важливе місце відводиться ефективним алгоритмам керування експериментами та обробки такої інформації.

1 Структура і опис автоматизованої системи БХЛ-досліджень

Запропонована нами автоматизована система для БХЛ-досліджень включає в себе вбудований мікроконтролер для керування режимами реєстрації і попередньої обробки результатів, а також ПЕОМ, що обробляє, накопичує та аналізує результати на вищому рівні. Структурна схема системи БХЛ-вимірювань біопроб показана на рис.1.

В системі можна виділити такі основні частини:

- блок відбору сигналів, до якого входить камера з біопробами, ФЕП, датчик температури;
- блок керування режимами роботи та попередньої обробки інформації з інтерфейсним вузлом спряження з ПЕОМ;
- блок цифрової обробки, аналізу і керування на базі ПЕОМ.

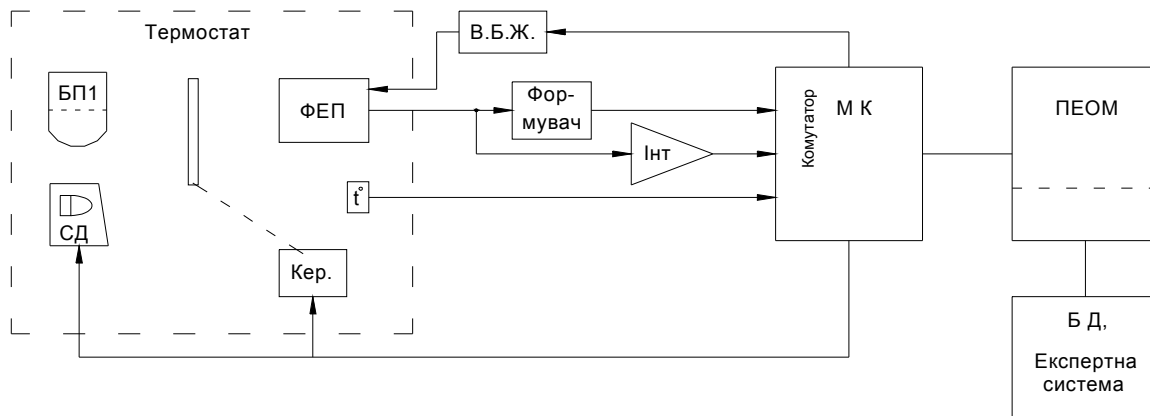


Рисунок 1 - Структурна схема комп'ютерної системи реєстрації БХЛ.

Робота приладу базується на реєстрації фотоелектронним підсилювачем надслабких світлових потоків, які виникають в результаті БХЛ-реакцій, за методом лічби одиничних фотонів. За інтенсивністю світлового сигналу БХЛ-реакцій проводиться оцінка відносної зміни в біопробі біологічно активних речовин, що спричиняють ріст злоякісних клітин. В результаті формування бази даних в ПЕОМ із зареєстрованих графіків перебігу різного типу реакцій закладається можливість автоматизованого вироблення діагностичних рішень в перспективі.

2 Аналіз дестабілізуючих впливів у системі БХЛ-досліджень

Враховуючи невеликий рівень інформаційного сигналу, явище БХЛ-реакції дуже чутливе до різноманітних впливів навколишнього середовища, зокрема фонових освітлень, електромагнітних полів, зміни температури досліджуваної біопроби, тиску і т.п.

Оцінку метрологічних характеристик системи при проектуванні здійснюють аналітично або методом імітаційного моделювання, що ґрунтуються на знаходженні сумарної похибки із складових за допомогою опису вимірювальних процедур відповідними операторами. За допомогою таких аналітичних методів можна виявити найсуттєвіші джерела похибок і запропонувати апаратні чи програмні засоби їх компенсації. Проте, при значній кількості впливаючих факторів і складових похибок, які змінюються в часі важко врахувати всі важливі параметри і створити адекватну модель системи, тому важливе значення має експериментальне дослідження факторів впливу, визначення сумарної похибки, включаючи інструментальну складову через проведення метрологічних експериментів.

Як показали експериментальні дослідження, найсуттєвішими факторами, що впливають на достовірність результатів, є забезпечення ідентичності умов проведення реєстрації, що впливають на метрологічні характеристики ФЕП. Впливи фонового освітлення, зміни в навколишньому середовищі викликають зростання рівня шумів на виході ФЕП. Виходячи з цього, в структуру системи реєстрації БХЛ введено вимірювальний канал для періодичної перевірки і корекції впливу фонового освітлення. До його складу входить світлодіод та фотоприймач, розміщені у спеціальній затемненій камері, програмно керований генератор струму та вимірювальний канал для фотоприймача. За допомогою ЦАП задається величина струму, що відповідає певному значенню світлового потоку на виході СД. Враховуючи розкид параметрів світлодіодів та часові дрейфи параметрів, введено фотоприймач для контролю. Спеціальний корпус із майже світлонепроникного матеріалу служить дільником світлового потоку і відповідно зменшує вплив нестабільності параметрів випромінюючого світлодіода (рис.1).

Завдяки введеним вузлам перед реєстрацією проводиться попереднє калібрування вимірювального каналу. Для цього спочатку фіксується темновий рівень шумів ФЕП,

далі задаються два рівні струму фотодіода з контролем світлового потоку фотоприймачем.

Між джерелом сигналу і ФЕП розміщена шторка, що перекриває вимірювальний світловий канал. Модульований шторкою світловий потік перетворюється в імпульси струму за допомогою ФЕП. Підсилені в блоці детектування одноелектронні імпульси ФЕП поступають на вхід формувача і далі на вузол лічильника фотонів у мікроконтролері. Мікроконтролер забезпечує автоматичне віднімання шумів ФЕП, автоматичний запуск лічильника в момент початку світлової реакції, автоматичне представлення результатів вимірювання у вигляді світлосуми реакцій, шумів ФЕП, амплітудного розподілу сигналів ФЕП.

Вимірювання рівня випромінювання при БХЛ зводиться до підрахунку кількості імпульсів, сформованих за допомогою підсилювача після виходу ФЕП, причому половина періоду циклу вимірювання йде на накопичення відліків “сигнал+шум” $N_c + N_T$, а в другу половину – вимірюється «шум», або темнові імпульси N_T (рис.2).

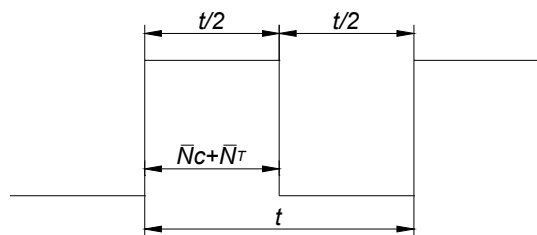


Рисунок 2 - Цикл вимірювання імпульсів ФЕП.

Відомо, що для постійного середнього потоку фотонів з пуассонівською статистикою кількість імпульсів ФЕП, які накопичуються в строго рівні інтервали часу, будуть флюктувати кругом свого середнього значення, стандартне відхилення є мірою подібних флюктуацій. В загальному випадку воно пропорційне кореню квадратному на кількість відліків \sqrt{n} . Вираз для співвідношення сигнал/шум S буде має вигляд

$$S = \frac{N}{\sqrt{N}} = \frac{N}{\sigma(N)}.$$

Для розглядуваного випадку, коли корисні сигнали ФЕП N_c можна виділити шляхом віднімання їх із сумарної кількості відліків “сигнал+шум” ($N_c + N_m$), вираз запишемо у вигляді

$$S = \frac{\overline{N_c}}{\sigma(\overline{N_c} + \overline{N_T})} = \frac{N_c \frac{t}{2}}{\sqrt{N \frac{t}{2} + N_T \frac{t}{2} + N_T \frac{t}{2}}} = \frac{N_c \sqrt{\frac{t}{2}}}{\sqrt{N_c + 2N_T}}, \quad (1)$$

де t – повний цикл вимірювання, який включає накопичення відліків “сигнал+шум”, а також тільки “шум”.

Поріг чутливості відповідає сигналу, рівному або який перевищує стандартні відхилення кількості відліків за прийнятий цикл вимірювання

$$P = \frac{\overline{N_c}}{\sigma(N)} \geq 1.$$

Гранична чутливість вимірювання може бути визначена із виразу

$$P = \frac{\overline{N_c}}{\sigma(N)} = 1$$

або

$$N_c = \sigma(\bar{N}_c) = \frac{\sqrt{N_c + 2N_T}}{\sqrt{t/2}}. \quad (2)$$

Із виразів (1) і (2) випливає, що важливу роль у підвищенні порогу чутливості дає збільшення часу накопичення інформації t , зниження швидкості лічби темнових імпульсів N_T , а також оптимальні співвідношення між N_T і N_c при різних t і дозволених значеннях похибки вимірювання.

Другим важливим фактором зменшення похибок є стабілізація температури біопроби, для чого введено канал вимірювання температури на базі «інтелектуального» датчика, який, крім первинного перетворювача, містить на кристалі підсилювач, АЦП, а також спеціалізований мікроконтролер, що здійснює попередню обробку інформації і передає її головному мікроконтролеру у цифровому вигляді по спеціальному інтерфейсу, т.з. однопровідна шина MicroLAN. Енергія для зчитування, запису і перетворення отримується з лінії передачі даних без застосування зовнішнього джерела, завдяки накопиченню енергії на внутрішньому конденсаторі протягом періоду часу, коли 1- провідна лінія, зайнята передачею коду (високий рівень). Структурна схема вимірювача температури наведена на рис.3.

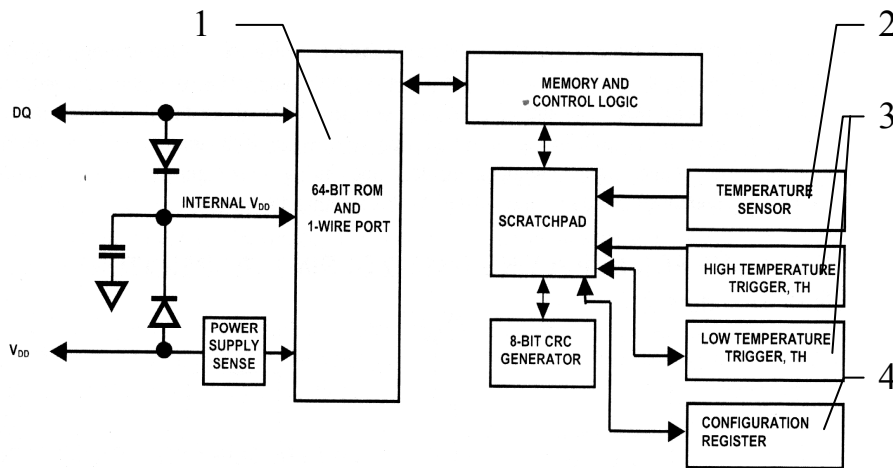


Рисунок 3 - Структурна схема цифрового термометра.

- 1) 64 бітний постійний запам'ятовуючий пристрій (ПЗП);
- 2) температурний датчик;
- 3) вузол контролю граничних значень температури;
- 4) регістр конфігурації.

Датчик може працювати в діапазоні від -50°C до $+150^{\circ}\text{C}$ з похибкою вимірювання $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

Крім того, кожен цифровий термометр такого типу містить унікальний кремнієвий послідовний номер, завдяки чому на одній лінії (шині) можна монтувати багато датчиків для вимірювання розподіленого температурного поля в різних місцях термостата із найменшими затратами провідникових матеріалів.

Завдяки зв'язку контролера з ПЕОМ реєструється весь перебіг процесу реакції з формуванням графіків, а також обчисленням і оцінкою їх параметрів, що дає можливість у подальшому, при накопиченні експериментального матеріалу і формуванні баз даних, проводити автоматизовану діагностику. На рис.4 показано зареєстрований типовий графік перебігу БХЛ-реакції.

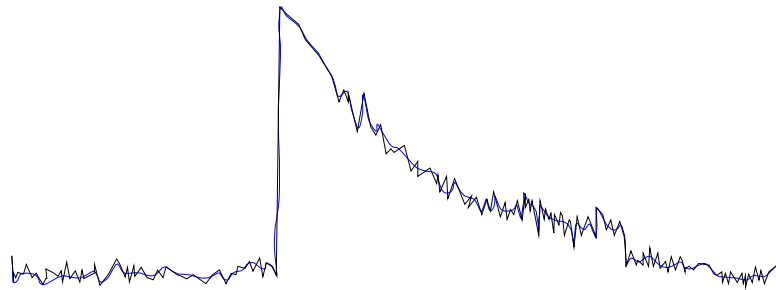


Рисунок 4 - Графік БХЛ реакції.

Завдяки використанню таких мір у системі біохемілюмінометричних досліджень біопроб забезпечується автоматизація процесу вимірювання і обробки даних, самоконтроль системи, підвищення інформативності та спрощення процедури реєстрації і обробки інформації.

Автоматизований біохемілюмінометр забезпечує вимірювання надслабкого світлового потоку в діапазоні електромагнітних хвиль довжиною 200..600 нм.

Діапазон чутливості біохемілюмінометра становить 10^3 .. 10^8 квантів/сек.

Похибка вимірювань в межах $\pm 25\%$.

Живлення від мережі ~ 220 В.

Висновки

Завдяки використанню контролера, додаткових вузлів калібрування, алгоритмів обробки та керування в системі біохемілюмінометричних досліджень забезпечується самоконтроль системи, зменшення впливу дестабілізуючих факторів при реєстрації БХЛ біопроб, підвищення інформативності та спрощення процедури реєстрації, що дає змогу кількісно і об'єктивно оцінювати променеву дію на клітини організму (величину поглинутої дози) і може ефективно використовуватись в онкології, кардіології, наукових медичних дослідженнях..

Впровадження розробленої системи для БХЛ-досліджень у вітчизняних клініках та дослідницьких медичних центрах дала б змогу вдосконалювати як алгоритми обробки і лікарські методики таких досліджень, так і апаратні засоби в цілому на основі співробітництва медичного персоналу і розробників апаратури, так як ці методи знаходяться в більшості на стадії досліджень і розвитку.

In article is considered features of creation of computer system for biochemiluminometric researches at medicine those methods of increase in accuracy of measurements. The structure that algorithms of functioning for maintenance of necessary metrological characteristics are analyzed.

Література

1. Рожицкий Н.Н., Бых А.И., Красноголовец М.А.. Электрохимическая люминесценция. - Харьков: ХТУРЭ, 2000. - 320 с.
2. Ляпандра А.С., Карпінський М.П. Комп'ютерна система для дослідження біопроб // Матер. Міжнар. Наук.-техн. конф "АПІР-2003".-Севастополь: Вид-во СевНТУ.-2003.-С.150.
3. Перекисное окисление и радиация. / В.А.Барабой, В.Э.Орел, И.М.Карнаух, - М.-Киев: Наук. Думка, 1991.-256 с.
4. Карпінський М., Ляпандра А. Аналіз похибок світлових вимірювань при біохемілюмінометричних дослідженнях // Матеріали ІІ міжнародної науково-технічної конференції "Світлотехніка й електротехніка: історія, проблеми й перспективи". (24-27 травня 2005р.). Тернопіль: ТДГУ, 2005 – С.51-52.
5. Хрусталеv К.Л. Метод и устройство электрохемилюминесцентного измерения компонентов биожидкостей на примере гистамина : Дис. канд. техн. наук: 05.11.17.- Харьков, 2002.- 160с.

Одержано 27.09.2005 р.