

## Mesure du NADH par laser microchip YAG triplé

A. Sirgant, S. Mottin, R. Cespuglio\*, C. Pedri et P. Laporte

*Laboratoire Traitement du Signal et Instrumentation, Faculté des Sciences et Techniques  
Jean Monnet, 23 rue du Docteur Paul Michelon, 42023 Saint-Étienne cedex 02, France*

*\* Laboratoire d'Onirologie Moléculaire, Université Claude Bernard, 69373 Lyon cedex 08,  
France*

**Résumé :** Nous présentons une instrumentation compacte, transportable, développée à l'origine pour mesurer la fluorescence induite par laser du NADH cérébral chez l'animal libre de ces mouvements. La source laser microchip Nd<sup>3+</sup>:YAG est triplée en fréquence. Une fibre optique amène la lumière laser jusqu'à la zone cible du cerveau et cette même fibre récupère la fluorescence de cette microzone (noyau du raphé dorsal). L'acquisition de données se fait via un monochromateur suivi soit d'un photomultiplicateur et d'un Box-car soit d'une caméra à balayage de fente. Les premières expériences réalisées sur un rat non anesthésié ou in vitro avec les deux systèmes d'acquisition nous ont permis de vérifier que le niveau de fluorescence était suffisant pour être détecté. Les applications de ce capteur, développées actuellement, sont la détection des effets de certains médicaments au niveau du système nerveux central, l'analyse des variations du NADH lors de l'alternance des états de vigilance, ainsi qu'une étude de l'épilepsie.

### 1. INTRODUCTION

Le but de ce travail est de mettre au point un appareil simple, compact, de faible coût destiné aux biologistes. Les résultats présentés sont les premiers obtenus avec cette nouvelle génération de capteur chez l'animal in vivo non anesthésié. Le même dispositif optique a été testé avec deux chaînes de traitement et d'acquisition différentes.

### 2. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

#### 2.1 Partie Optique

La source laser utilisée est une source microchip Nd<sup>3+</sup>:YAG doublée en fréquence extra cavité et Q-switchée de manière passive. Cette source a été développée par le LETI [1]. Il s'agit d'un cristal de Nd<sup>3+</sup>:YAG solidaire par croissance épitaxiale d'un cristal de Cr<sup>4+</sup>:YAG qui sert d'absorbant saturable. Le laser intègre un cristal de KTP de manière à obtenir une onde à 532 nm. Il délivre une puissance moyenne de 50 mW à 1064 nm et de 9 mW à 532 nm. Le taux de répétition est de 15 KHz et la largeur d'impulsion du deuxième harmonique est de 600 ps environ. Nous utilisons les deux ondes pour obtenir par sommation de fréquence la troisième harmonique à 355 nm à l'aide d'un cristal de BBO. La puissance obtenue est de 500 μW (amélioration en cours).

On injecte ensuite dans une fibre optique multi-mode l'onde à 355 nm. La fibre utilisée est une fibre PCS de 200 μm de cœur qui présente l'avantage d'avoir une grande ouverture numérique (O.N = 0.4). La puissance en bout fibre est de 300 μW. Le montage est mono fibre, c'est donc la même fibre qui amène la longueur d'onde excitatrice et qui récupère la fluorescence. L'aiguillage optique permettant de séparer l'excitation de la fluorescence est constitué d'un miroir sphérique troué en son centre pour l'injection. La fluorescence (la fibre fonctionnant à pleine ouverture) se réfléchit sur ce miroir et est ré-injectée dans une autre fibre qui la conduit vers les systèmes d'analyse.

## 2.2 Systèmes d'acquisition

Dans le premier système la fluorescence est analysée par un double monochromateur couplé à un photomultiplicateur. Après amplification les impulsions sont envoyées vers un Box car, appareil permettant l'intégration du signal vu pendant l'ouverture d'une porte électronique réglable en temps (minimum 2 ns). Ce système est relié à une carte d'acquisition et un ordinateur (figure 1a).

Dans le deuxième cas la fluorescence est analysée par un monochromateur couplé à une caméra à balayage de fente. Ce système permet d'avoir une image bi-dimensionnelle de la fluorescence[2]. On a le temps sur une dimension et la longueur d'onde sur l'autre. La résolution temporelle est de 30 ps, on peut donc voir le déclin de la fluorescence. Ces déclin sont environ de 0,3 à 3 ns suivant l'état de la molécule de NADH d'où l'intérêt de la largeur d'impulsion du laser (inférieure à 1 ns)(figure 1b)

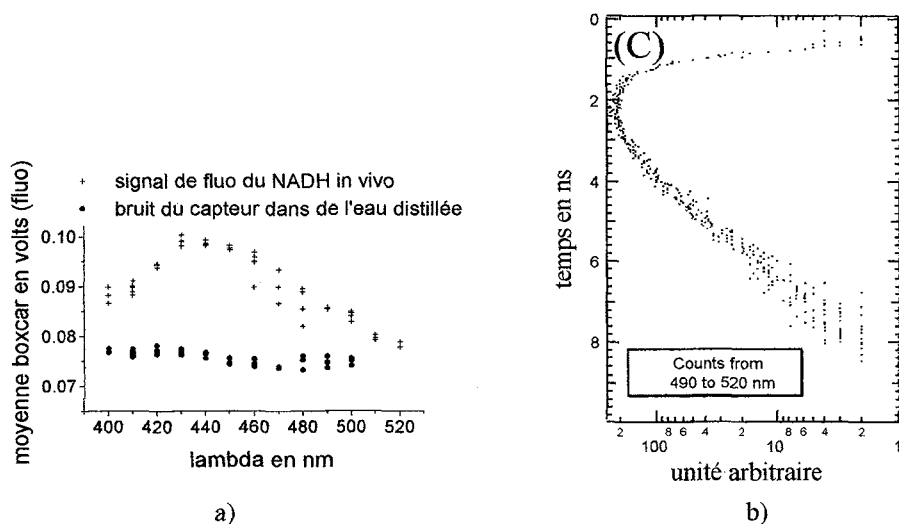


figure 1 : spectres du NADH obtenus avec le capteur et deux systèmes d'acquisition différents chez un rat sain non anesthésié . a) spectre obtenu avec le Box-car, b) déclin temporel obtenu par projection de l'image de la caméra

## 3. CONCLUSION

Les premières expérimentations chez le rat in vivo montrent que la chaîne est suffisamment sensible pour détecter le NADH cérébral d'une microzone. Les améliorations en cours portent sur le triplement du laser (à l'aide d'un cristal de LBO, d'une lame de phase et d'une compensation du Walk Off) et la mise en place d'une électronique rapide (échantillonnage à 1GHz). On souhaite réaliser ainsi un capteur capable de mesurer les variations de temps de déclin sans utilisation de la caméra à balayage de fente (de coût très élevé). Les applications visées sont la détection des effets de certains médicaments au niveau du système nerveux central, et l'étude de l'épilepsie. Ceci peut s'étendre à d'autres secteurs d'application où la microfluorescence UV peut se révéler intéressante.

## Références

1. D. Guillot, EuroPhotonics, Août/Septembre 1997.
2. S. Mottin, Hamamatsu Photonique Informations, 14.