

screen. 25. Litwiller D. CCD vs CMOS: facts and fictions // *Photonics spectra*. Laurin Publishing Co. Inc. – 2001. – № 1. – P. 18–21. 26. Memis G.O., Mohseni H. Inspired by nature, IR detector targets long-wavelength applications // *Laser Focus World*, April, 2007. – P. 75–78. 27. *Uncooled infrared imaging arrays and systems*. Edited by Skatrud D., Kruse P. // *Semiconductors and Semimetals*, Vol. 47, Academic Pr., 1997. – 314 p.

УДК 621.397+681.723

Ю.М. Матієшин

Національний університет “Львівська політехніка”

ОСОБЛИВОСТІ ДОСЛІДЖЕННЯ ДИНАМІЧНИХ МІКРООБ’ЄКТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ТЕЛЕВІЗІЙНОГО СКАНУВАЛЬНОГО ОПТИЧНОГО МІКРОСКОПА

© Матієшин Ю.М., 2010

Розглядаються питання використання телевізійного сканувального оптичного мікроскопа для дослідження різних типів динамічних мікрооб’єктів з метою визначення основних параметрів цих мікрооб’єктів. Описано особливості побудови телевізійного сканувального оптичного мікроскопа для різних біологічних та медичних досліджень.

Questions of use of a television scanning optical microscope for research of various types of dynamic microobjects are considered with the purpose of definition of key parameters of these microobjects. It is described features of a structure of a television scanning optical microscope for various biological and medical researches.

Вступ. Завдання, пов’язані із динамічними мікрооб’єктами (МО), досить успішно розв’язуються переважно програмно у камерній мікроскопії [1, 2]. В цих роботах розглядаються: 1) аналіз переміщення та рухливості МО; 2) методика виявлення та утримання МО у полі зору мікроскопа; 3) аналіз зображень для отримання надійних та відтворюваних даних про кількість, положення, фазу руху та швидкість МО у мікробіології та медицині. Аналізуються такі основні групи динамічних МО: 1) мікроорганізми, 2) структурні елементи крові, 3) клітини у ракових пухлинах; 4) живі клітини організму; 5) елементи мікрооптичних та мікроелектромеханічних систем (наприклад, мікродзеркальні дисплеї або деталі годинникових механізмів); 6) потоки частинок [3, 4] тощо.

Важливість завдань дослідження МО зумовлена великою потребою удосконалення методик дослідження живих організмів у таких галузях, як медицина та біологія. Зокрема, у медицині необхідно вивчати динаміку рухливості клітин у ракових пухлинах, що відповідає активності розвитку хвороби і швидкості появи новоутворень. Не менш важливим є розв’язання великої кількості задач, пов’язаних із аналізом клітин крові та штучним заплідненням.

Типи динамічних МО, придатних для дослідження методами телевізійної сканувальної оптичної мікроскопії. Телевізійний сканувальний оптичний мікроскоп (ТСОМ) дає змогу досліджувати об’єкти живої та неживої природи із розмірами від часток мікрметра до часток міліметра, що здійснюють певний рух і, отже, можуть характеризуватися основними параметрами руху. До основних параметрів руху МО належать швидкість, прискорення та траєкторія руху.

Прикладами таких МО (рис. 1) є клітини крові (КК): еритроцити, лейкоцити та тромбоцити (розмір 2...22 мкм [5]); атипові живі клітини (АЖК) (розмір, наприклад, ракових клітин 20...80 мкм

[6]); агрегати ракових клітин (їх розмір сягає 100 мкм); найпростіші та інші одноклітинні (ОКМ) та багатоклітинні мікроорганізми (БКМ) із досить різкими границями на однорідному та неоднорідному робочому фоні; розрізнені живі клітини (ЖК) тканин багатоклітинних організмів як тваринного, так і рослинного походження [7]; планктон (П), що за відповідного освітлення може мати вигляд рухомих блискучих крапок на темному фоні [8]; сперматозоїди (СМ) людини та свійських тварин у ході розв'язання задачі штучного запліднення (розмір сперматозоїдів людини коливається в межах 52...70 мкм [9]); мікроби та бактерії (МТБ); біополімери (БП); мікробульбашки (МБ); потоки частинок (ПЧ) різного походження та мікроелементи, які входять до складу мікрооптичних (МОС) та мікроелектромеханічних систем (МЕМС).

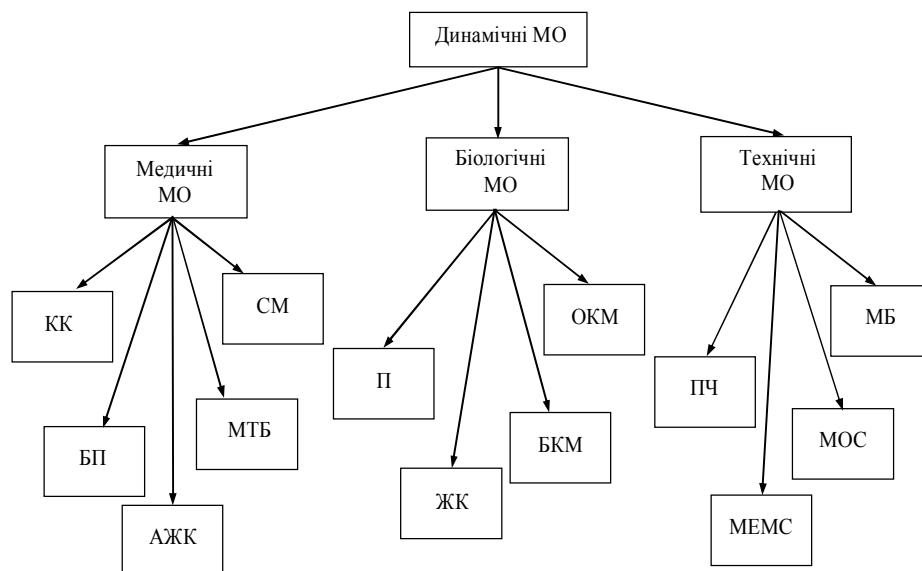


Рис. 1. Типи динамічних МО, які можна досліджувати за допомогою ТСОМ

У широкому змісті динамічним можна вважати також МО, що змінює розміри, форму або стан (колір свічення, інтенсивність свічення) із плином часу. При цьому можна говорити лише про такі проміжки часу між змінами, що є більшими за тривалість формування одного кадру зображення. У цьому випадку такі МО можуть бути досліджені за допомогою ТСОМ, що працює в телевізійному стандарті.

Огляд науково-технічної та патентної літератури з питань використання мікроскопів для дослідження динамічних МО дав змогу встановити галузі, в яких можна застосовувати ТСОМ. До них належать: прикладна фізика, органічна хімія, біологія, медицина, криміналістика, екологія, мікромеханіка тощо. Зокрема, в біології та медицині існує необхідність дослідження живих МО, а в екології та колоїдній хімії – неживих динамічних МО.

Основні фактори, які необхідно враховувати при використанні ТСОМ, такі:

- а) необхідний коефіцієнт збільшення;
- б) мінімальний розмір сканувального елемента на досліджуваному МО, який визначає максимальну роздільну здатність мікроскопа;
- в) побудова оптичного каналу сканувальної частини ТСОМ;
- г) необхідність використання зменшення розміру сканувального растра з метою збільшення зображення окремих фрагментів досліджуваного МО без втрати роздільної здатності;
- д) розмір екрана індикаторного пристрою та його роздільна здатність;
- е) необхідність формування кольорового зображення МО;
- є) необхідність формування стереоскопічного зображення МО;
- ж) конструктивні особливості робочого стола ТСОМ, на якому розташовується МО тощо.

Встановлено типи динамічних МО, які можна дослідити за допомогою ТСОМ:

– дрібні частинки під час дифузії, яка приводить до вирівнювання концентрації речовини. За допомогою мікроскопа можна досліджувати дифузію в газах, рідинах та твердих тілах, причому

дифундуючими можуть бути як розчинені в речовині дрібні сторонні частинки, так і частинки самої речовини. Дослідження дрібних частинок під час дифузії можуть широко застосуватися в процесі абсорбції, адсорбції, десорбції, розчинення барвників тощо;

- дрібні частинки в рідині або газі під час безладного руху (броунівський рух). Рух дрібних частинок стає помітним, якщо їх розмір є не меншим від декількох мікрометрів. Для дослідження броунівського руху необхідне збільшення мікроскопа близько $1000 \div 5000^{\times}$;

- дрібні частинки під час їх збільшення при коагуляції, яка використовується для очищення води, для отримання синтетичних волокон та плівок;

- повітряні бульбашки, які утворюються при кавітації – порушенні суцільності рідини. Кавітаційні бульбашки переміщуються разом з потоком рідини і потрапляють в ділянку з тиском, вищим від критичного, де відбувається гідравлічний удар, що призводить до пошкодження поверхні, наприклад, лопаток турбін, гребних гвинтів кораблів тощо;

- частинки, які змінюють свої розміри та форму під час переходу речовини з рідкої фази в газоподібну (явище випаровування);

- дрібні частинки, які рухаються в електростатичному полі;

- потоки частинок у приповерхневому шарі. В цьому шарі швидкості частинок рідини змінюються від нуля на поверхні тіла до швидкості потоку на зовнішній границі шару;

- поверхні механізмів мікромеханіки в динамічному режимі з метою визначення спрацювання поверхні;

- механізми мікромеханіки в мікродинамічному режимі, зокрема, з метою вивчення впливу теплових процесів на розвиток втомленості металу;

- мікроруйнування матеріалів;

- мікроорганізми – з метою вивчення їх поведінки, росту, зміни стану, взаємодії з навколишнім середовищем тощо;

- колонії мікроорганізмів з метою вивчення їх розвитку та взаємодії між собою;

- окремі клітини з метою вивчення їх руху *in vivo*;

- кров з метою вивчення її коагуляції на різних поверхнях (жива кров);

- мікроводорості та планктон;

- мікроорганізми у воді, для вивчення їх поведінки та взаємодії;

- біологічні мікроорганізми, з метою вивчення їх розвитку та руху при впливі зовнішніх факторів;

- комахи з метою вивчення динаміки руху їх крил;

- мікророслини з метою вивчення процесу їх зародження та розвитку;

- кристали води з метою вивчення динаміки кристалізації води тощо.

Застосування ТСОМ для медичних та біологічних досліджень. Важливим може бути використання ТСОМ для дослідження очного яблука – кон'юктиви та внутрішньої оболонки – сітківки, що належать до тих структур організму людини, в яких сьогодні застосовується безпосереднє спостереження та фіксування за допомогою фотографування [10]. За допомогою ТСОМ можна досліджувати рухливість ока. Спостереження зором є результат взаємодії сенсорних та рухомих механізмів, які змушують зображення навколишнього світу на сітківці ока зміщуватися кожні 200 – 600 мс [11]. Наш мозок створює цілісну та безперервну картину навколишнього світу з послідовності дискретних зображень на сітківці, які трохи відрізняються в лівому та правому оці за законами геометричної оптики і змінюються від одного моменту фіксації до іншого.

Рухи, які змінюють напрямок погляду спостерігача, встановлюють око в таке положення, за якого зображення цікавого поля об'єкта потрапляє якраз на те місце сітківки, де гострота зору максимальна. Якщо цей об'єкт недостатньо великий, погляд проходить по всіх його ділянках за рахунок різких стрибків ока (саккад). Тривалість саккад 10 – 80 мс. Амплітуда їх може становити лише декілька мінут (мікросаккади), або при повільному переведенні погляду – 90° . Якщо людина дивиться прямо перед собою, зміщення погляду менше ніж на 10° забезпечується головно рухом

очей. За великих кутів зміщення саккади завжди супроводжуються поворотом голови. Кутова швидкість руху очей під час саккади пропорційна до її амплітуди і досягає приблизно $500^\circ/\text{с}$ під час великих саккад (понад 60°). Якщо людина оглядає навколишнє середовище з чітко вираженою візуальною структурою, саккади розділяються періодами фіксації тривалістю 0,2 – 0,6 с. Частота таких мікрорухів становить 20 – 150 Гц, а їх амплітуда більша за 15 – 20 мкм.

ТСОМ може бути використаний для біомікроскопії [12]. Існують два види біомікроскопії ока: неконтактний (за допомогою щілинних ламп) та контактний (за допомогою контактних мікроскопів). При візуальному спостереженні сучасні щілинні лампи забезпечують збільшення в 10 – 60 разів. Однак при фотобіомікроскопії за допомогою сучасних щілинних ламп максимально на фотонегативі досягається лише шестикратне збільшення. Біомікроскопія за допомогою щілинних ламп дає змогу виявити патологічні зміни кон'юнктивальних мікросудин, отримувати дані про характер кровотоку в них (гомогенний, зернистий, фрагментований), бачити агрегати еритроцитів. Недолік неконтактною мікроскопії – мале збільшення при фотографуванні і, внаслідок цього, – малі розміри зображення мікросудин на фотоплівці. Ця обставина не дає змоги виконувати достатньо точне вимірювання розмірів мікросудин і якісно оцінювати їх локальні зміни (ампулоподібні розширення, мікроаневризми, зміни діаметра). При контактній біомікроскопії збільшення на негативі може бути 36-кратним, що дає змогу робити виміри спряжених (які йдуть паралельно) артерій та вен, детальніше вивчати їх морфологічні зміни і визначати артеріо-венулярний коефіцієнт. В нормі артеріо-венулярний коефіцієнт лежить у межах 0,7 – 0,8, при гіпертонічній хворобі цей показник становить 0,3 – 0,5. Застосування ТСОМ дає змогу значно спростити процес дослідження в біомікроскопії, підвищити точність вимірювання та збільшити швидкість обробки матеріалів досліджень. Застосування ТСОМ зможе з успіхом замінити використовувані контактні мікроскопи та щілинні лампи в біомікроскопії.

Доцільним є використання ТСОМ при дослідженні гемодинаміки ока, вимірюванні швидкості руху крові в очній артерії [13–15], визначенні пульсового об'єму ока, який є основним показником, що характеризує стан його кровопостачання, визначенні тиску крові в очній артерії [16, 17].

Перспективним є застосування ТСОМ для дослідження архітекtonіки поверхні клітин крові [18, 19]. При цьому загальний коефіцієнт збільшення мікроскопа повинен бути близьким до $10000\times$. Такий коефіцієнт збільшення можна отримати при використанні об'єктива $40\times$. Просторова роздільна здатність мікроскопа повинна становити десяті частки мікрметра, що дасть змогу виявити рельєф поверхні еритроцита. Дослідження архітекtonіки поверхні клітин крові, зокрема еритроцитів, дасть змогу спостерігати процес фізіологічного старіння та дослідити вплив на нього різних факторів. Таке дослідження є особливо інформативним при виявленні впливу інфузії різних трансфузійних ліків на клітини крові. Сьогодні для аналізу крові використовують сканувальні електронні мікроскопи, що мають недоліки, які полягають в необхідності розміщення досліджуваного МО у вакуумі, а це, своєю чергою, передбачає довготривалу, складну та дорогу підготовку МО. Ця підготовка охоплює також фіксацію МО, його зневоднення, висушування та підвищення електричної провідності. Очевидно, що процес підготовки унеможлиблює дослідження динамічних МО за допомогою сканувального електронного мікроскопа.

Для аналізу архітекtonіки поверхні еритроцита необхідно, щоб ТСОМ формував тривимірне зображення МО. Проблема формування стереоскопічного зображення за великих коефіцієнтів збільшення може бути вирішена, якщо сумістити функції сканування та сприйняття розсіяного світла в обох оптичних каналах, тобто обидва об'єктиви повинні одночасно виконувати функції як формувача світлового зонду, так і сприйняття світлового потоку, відбитого від досліджуваного МО.

Під час аналізу стану МО ТСОМ може працювати в двох режимах: на просвічування, коли сигнал на виході перетворювача “світло-сигнал” пропорційний до кількості світла, яке пройшло через МО, і на відбиття, коли сигнал пропорційний до кількості світла, відбитого від МО. Перший режим мікроскопа доцільно використовувати під час дослідження напівпрозорих МО, а другий – непрозорих МО.

Для дослідження крові використовується відбивний мікроскоп, у якого на фотоелектронний помножувач (ФЕП) потрапляє світло, що поширюється в тілесному куті, обмеженому числовою апертурою об'єктива, який сприймає розсіяне світло [20]. Сигнал на виході ФЕП є істотно меншим порівняно з роботою мікроскопа на просвічування, коли світло після МО збирається конденсором. Мале значення вихідного сигналу ФЕП вимагає використання перетворювача з граничною максимальною чутливістю при прийнятому відношенні сигнал/шум та збільшення інтенсивності свічення світної плями на екрані ЕПТ. Досягти підвищення чутливості роботи мікроскопа і підвищити відношення сигнал/шум за великих коефіцієнтів збільшення можна також за рахунок сканування МО в малокадровому режимі, записування електричного сигналу, що відповідає формованому зображенню МО, у проміжний блок пам'яті і зчитування інформації в телевізійному стандарті для передавання її в персональний комп'ютер через відеобластер. Якщо зображення МО записане в проміжну пам'ять з роздільною здатністю, що перевищує телевізійний стандарт, то доцільно використати введення зображення в персональний комп'ютер через USB–порт.

Рациональний варіант побудови стереоскопічного ТСОМ для дослідження крові повинен складатися зі сканера на ЕПТ високої роздільної здатності з розміром екрана, який дає змогу формувати два поруч розташовані растри, об'єктивів, які формують паралельні пучки, двох металевих дзеркал, які спрямовують пряме та відбите світло, та двох ФЕП, що перетворюють світловий сигнал на електричний, який в подальшому подається на персональний комп'ютер з метою формування стереоскопічного зображення досліджуваного МО на екрані монітора.

За допомогою такого мікроскопа можна реєструвати динамічні процеси для вивчення кінетики біологічних явищ на мікрорівні; вивчення біологічної рухливості (внутрішньоклітинна рухливість, рухливість МО, динамічна міжклітинна взаємодія, динаміка росту клітинок тощо); вивчення кінетики взаємодії клітинок з хімічними факторами та барвниками; реакції клітинок на дію фізичних факторів та мікроін'єкцій хімічних фармакологічних сполук та генетичного матеріалу (клонування клітин); кінетики ферментативних процесів у клітинках та тканинах (аналіз ферментів *in situ*, тобто безпосередньо в зрізах тканини) тощо.

Під час дослідження напівпрозорих біологічних МО можливим є використання роботи ТСОМ на просвічування, що дає змогу отримати значно більший світловий потік, який пройшов через МО, за рахунок конденсора і, відповідно, значно збільшений електричний сигнал на виході ФЕП, що, своєю чергою, підвищить чутливість роботи мікроскопа при збільшенні відношення сигнал/шум.

Ураховуючи подібність експлуатаційних параметрів ТСОМ для дослідження крові в медицині та для дослідження МО в біології їх раціональні варіанти побудови можуть бути однаковими.

Особливо ефективним є застосування ТСОМ при дослідженні біологічних рухомих МО, що дасть змогу отримати додаткову інформацію про динамічні характеристики МО. Завдяки використанню растрового принципу сканування динамічного МО за великих коефіцієнтів збільшення мікроскопа уможливується сканування більшого робочого поля при більшій глибині різкості порівняно з камерними та оптичними мікроскопами, що дасть змогу відслідковувати траєкторію переміщення МО в автоматичному режимі. Враховуючи істотно меншу вартість ТСОМ порівняно з електронними мікроскопами, простоту в експлуатації та можливість дослідження динамічних МО у реальному масштабі часу, можна розраховувати на широке використання таких мікроскопів для розв'язання різноманітних задач, пов'язаних з дослідженням динамічних біологічних МО.

Обговорення, проведені зі спеціалістами Інституту біології клітин НАНУ (м. Львів), Львівського НДІ патології крові та трансфузійної медицини, Інституту екології Карпат, Національного університету “Київський політехнічний інститут”, підтвердили актуальність і необхідність подальших вимірювань за допомогою ТСОМ таких процесів:

- кристалізації води з метою виявлення екологічного стану навколишнього середовища;
- поведінки живих мікроорганізмів та клітин під час впливу зовнішніх факторів;
- розвитку і росту рослин, зокрема моху;
- коагуляції крові на різних поверхнях.

Можливим є також використання ТСОМ для:

- вимірювання рухливості мікромолекул у живих клітинах [21]. Кількісні характеристики можна отримати, визначивши флуоресценцію за допомогою ФЕП з виділенням вікон квадратної форми розміром 5×5 мкм у досліджуваній частині МО;

- виконання досліджень у лабораторії функціональної гістохімії [22]. Застосування мікроскопа дасть змогу вивчати можливість реєстрації кінетики ферментів *in situ* на прикладі моноаміноксидози (МАО) і ацетилхолінестерози (АХЗ). Під час виконання такої роботи можуть бути розроблені методи для вивчення кінетики взаємодії клітинок з барвниками, вивчення активності цих ферментів в тканинних препаратах і розроблено ряд ферментативних біосенсорів з оптичною та електрохімічною детекцією на основі АХЗ та МАО для фармакології екологічного моніторингу; токсикології та кліткової біохімії [23];

- дослідження циклічних мікробних процесів, як доказів, у крові хронічно хворих пацієнтів [24], для дослідження доцільно використовувався ТСОМ зі збільшенням до $1000\times$;

- флуоресцентної мікроскопії, флуоресцентної діагностики онкозахворювань, зчитування гель-електрофореграм, спектрального аналізу високої роздільної здатності, електронної хронографії тощо [25]. Основним детекторним елементом системи може бути елемент розміром $8,6 \times 8,3$ мкм;

- вивчення старіння фібробластів людини та миші, які культивуються *in vitro* (в умовах організму) [26]. Таке вивчення є високоінформативним підходом під час дослідження процесів диференціювання, проліферації та смерті клітин у популяції фібробластів людини та миші, а також початкових станів злоякісного переродження (трансформації) клітин миші. Цей аналіз дав змогу вивести ряд процесів, які докорінно змінюють уявлення про поведінку культивованих фібробластів. До них слід зарахувати явища “відшнуровування” частини цитоплазми, яке на фіксованих препаратах часто виглядає як мітотичний поділ, велику різницю в кількості великих клітин, які діляться, в людини та миші, відсутність чіткої кореляції за формою у батьківських та дочірніх клітинах;

- визначення швидкості згортання крові [27–29], швидкість осідання еритроцитів становить $2 - 2,5$ мкм/с, а швидкість згортання крові – $30 - 50$ мкм/с;

- вивчення руху еритроцитів [30–32]. Середня швидкість руху еритроцитів 50 мкм/с, а максимальна – до $0,7$ мм/с;

- реєстрація фототропічної реакції та способу руху рослин [33, 34]. Фототропічна реакція може бути зареєстрована через $20 - 25$ хвилин;

- визначення швидкості росту та розмноження мохів [35, 36];

- вивчення кріозбереження великих біологічних об’єктів [37]. Дослідження дасть змогу вивчити можливість збереження живих організмів або окремих органів у стані глибокого замороження, що сприятиме створенню банку органів для трансплантації і тим самим допоможе врятувати життя тисяч людей;

- дистанційного визначення розмірів рухомого об’єкта, наприклад, зазору між ливарним тиглем та охолодженим барабаном. Розміри зазору не перевищують 300 мкм і змінюються під час процесу плавлення. Для забезпечення технологічних умов плавлення цей зазор необхідно підтримувати постійним [38];

- дослідження процесів кристалізації води з метою вивчення динаміки росту кристалів.

Параметри динамічних МО, які можна визначати ТСОМ. Рухомі МО можна поділити на три основні групи: 1) МО, рух яких здійснюється під впливом середовища їх перебування (дифузія, різниця температур тощо); 2) МО, що мають можливість самостійно здійснювати рух (більшість живих МО); 3) броунівський рух мікрочастинок. Вони характеризуються такими основними параметрами руху: швидкість, прискорення, траєкторія руху та напрямок руху.

Здебільшого рух МО не можна зарахувати до прямолінійного, адже причиною руху є переважно вплив навколишнього середовища їх перебування (співударання із іншими макро- та мікрооб’єктами, дифузія, різниця температур), що зумовлює випадковий характер руху. Проте іноді технологічні процеси, а також дослідження у галузі біології та медицини вимагають контролю

швидкості МО, які рухаються прямолінійно зі стабільною у часі площинною траєкторією. Прикладом таких МО, зокрема, можуть слугувати еритроцити, які рухаються по капілярах, що при великому збільшенні мають вигляд прямолінійних ділянок. Внутрішній діаметр капілярів є співрозмірним, а іноді і меншим від діаметра вільного еритроцита (близько 7,5 мкм) [39]. Це дає змогу говорити про можливість аналізу кожного окремого еритроцита при його русі вздовж капіляра.

Найповніше динаміку руху МО характеризує вектор швидкості. Тому вирішення завдань, пов'язаних із визначенням та відображенням вектора швидкості у вигляді, що є наочним для оператора і може дати йому максимальну кількість інформації про поведінку МО, є пріоритетним. Унаочнення результатів аналізу динаміки спрощує та пришвидшує роботу працівників у сферах науки, промисловості, медицини, природознавства тощо.

Прикладом ефективного та вдалого використання симбіозу комп'ютерних технологій та вимірювальних систем є комплекс CASA (Computer-aided sperm analysis), що описаний у [40]. Графічне зображення основних параметрів руху, що визначаються за допомогою комплексу CASA, подано на рис. 2.

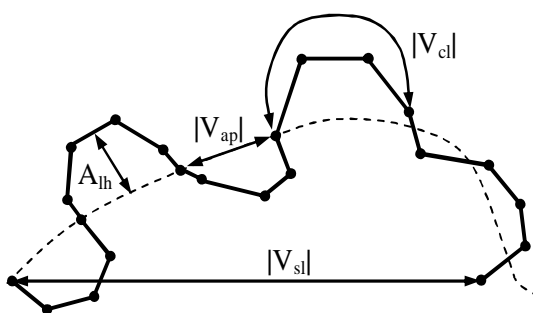


Рис. 2. Графічне подання параметрів, що вимірюються у системі CASA

На рисунку використано позначення: $|V_{cl}|$ (мкм/с) – усереднена криволінійна швидкість; $|V_{sl}|$ (мкм/с) – усереднена прямолінійна швидкість; $|V_{ap}|$ (мкм/с) – швидкість вздовж усередненої траєкторії; A_{1h} (мкм) – амплітуда поперечного зміщення головки сперматозоїда. Серед допоміжних параметрів, що обчислюються із вже згаданих, можна виділити параметр, що називається лінійністю руху: $L = |V_{sl}| / |V_{cl}|$. Її можна інтерпретувати як ефективність руху сперматозоїда.

Аналіз показав, що основними параметрами, які необхідно опрацьовувати в процесі аналізу динамічних МО, є:

- швидкість руху МО;
- прискорення руху МО;
- траєкторія та напрямок руху МО;
- швидкість зміни розмірів, форми чи просторової орієнтації МО;
- частотні параметри динаміки МО.

Аналіз літературних джерел показав, що максимальна швидкість руху МО лежить у межах 1 – 2 мм/с, а мінімальна – 0,1 мкм/с. Швидкість зміни розмірів МО порівняно зі швидкістю руху є значно меншою і не перевищує 0,1 номінального розміру за 1 с. Наприклад, швидкість росту МО можна визначити як зміну площі МО за одиницю часу, тобто відношення зміни площі МО, обмеженого контуром його зображення до часу, який зумовлений періодом сканування.

Динамічні МО можуть здійснювати коливальний рух. Параметрами коливального руху, які може визначити ТСОМ, є амплітуда коливань та частота коливань МО. Амплітуду коливань визначатимемо як половину віддалі між двома крайніми положеннями МО. Частоту коливань будемо визначати як величину, обернену до періоду коливань, а період коливань – як період часу, необхідний для переміщення МО з одного свого крайнього положення в інше та назад. Частота

коливального руху динамічних МО не перевищує 200 Гц. Амплітуда коливань МО не перевищує декількох його розмірів.

Висновки. Застосування ТСОМ для визначення динамічних параметрів МО передусім у таких галузях, як мікробіологія, клінічна та наукова медицина, дасть змогу підвищити можливості цих галузей щодо точності та ефективності профілактики та діагностики різних хвороб. ТСОМ також дає змогу спростити та пришвидшити процеси дослідження та вимірювання динамічних параметрів МО у інших галузях науки та техніки (наприклад, у фізиці, колоїдній хімії, криміналістиці, екології, мікромеханіці тощо).

1. Briquet-Laugier F. Analysis of Moving Biological Objects in Video Microscopy Sequences / F. Briquet-Laugier, C. Boulin, J.-C. Olivo-Marin // Proc. of SPIE. – 1992. – V. 3642. – P. 4–12.
2. Herman M. Application of the PIPE Image Processing Machine to Scanning Microscopy / M. Herman // Proc. of SPIE Scanning Microscopy Technologies and Applications. – 1988. – V. 897. – P. 169–173.
3. Single Particle Tracking and Laser Optical Tweezers Studies of Individual Molecule Dynamics / Mirchev R., Harris T., Thatte H. [et al.]. – Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston (USA). – Режим доступу: e-mail – dgolan@hms.harvard.edu.
4. [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query).
5. Иваницкий Г. Р. Автоматический анализ микрообъектов / Иваницкий Г. Р., Литинская Л. Л., Шихматова В. Л. – М. : Энергия, 1967. – 224 с.
6. Полоник В. С. Телевизионные автоматические устройства / Полоник В. С. – М. : Связь, 1974. – 216 с.
7. [Http://www.cellbio.ru](http://www.cellbio.ru).
8. Полоник В. С. Прикладное телевидение / Полоник В. С. – М.: Госэнергоиздат, 1962. – 160 с.
9. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии / [В.И. Кулаков, Б.В. Леонов, Л.Н. Кузьмичёва и др.]. – М.: Медицинское информационное агентство, 2005. – 592 с.
10. Бунин А. Я. Микроциркуляция глаза / Букин А. Я., Канцельсон Л. А., Яковлев А. А. – М. : Медицина, 1984. – 176 с.
11. Физиология человека : в 3 т. / [под ред. Шмидта Р., Тевса Г.] ; пер. с англ. – М. : Мир, 1996. Т. 1. – 1996. – 323 с.
12. Канцельсон Л. А. Сосудистые заболевания глаз / Канцельсон Л. А., Форофонова Т. И., Бунин А. Я. – М. : Медицина, 1990. – 272 с.
13. [Http://eyecenter.com.ua/doctor/degener](http://eyecenter.com.ua/doctor/degener).
14. Борисова С. А. Ультразвуковое доплерографическое исследование кровотока в орбитальных сосудах у больных с первичной глаукомой / С. А. Борисова, Ю. М. Никитин, В. П. Еричев // Ультразвуковая диагностика. – 1997. – № 2. – С. 8.
15. Харлап С. И. Современные ультразвуковые методы исследования в клинической офтальмологии. История проблемы и перспективы развития / С. И. Харлап // Вестник РАМН. – 2004. – № 2. – С. 32–38.
16. Effect of a nifedipine induced reduction in blood pressure on the association between ocular pulse amplitude and ocular fundus pulsation amplitude in systemic hypertension / M. Bayerle-Eder, J. Kolodjaschna, M. Wolzt [et al.] // Br.J.Ophthalmol. – 2005. – Vol. 89, № 6. – P. 704–708.
17. Нестеров А. П. Внутриглазное давление / Нестеров А. П., Бунин А. Я., Кацнельсон Л. А. – М. : Наука, 1974. – 381 с.
18. Hrytskiv Z. D. Television Scanning Optical Stereomicroscope for Surface Architectonics of Blood Cells Research / Z. D. Hrytskiv, A. D. Pedan // Telecommunications in Modern Satellite, Cable and Broadcasting Services TELSIKS'2003 : Int. Conf., 1–3 October 2003 : Proceedings of Papers. - Nis (Serbia and Montenegro), 2003. – P. 500–502.
19. Hrytskiv Z. D. Television Scanning Optical Stereomicroscope for Surface Architectonics of Blood Cells Research / Z. D. Hrytskiv, A. D. Pedan // Conference of Electronics Faculty of Electrical Engineering University of Banjaluka : Int. Conf., May 2004 : Proceedings of Papers. - Banjaluka (Serbia and Montenegro), 2004. – Vol. 8, № 1. – P. 41–43.
20. Педан А. Формування сигналу на виході фотоелектронного помножувача в скануючому телевізійно-оптичному відбивному мікроскопі / Анатолій Педан, Володимир Шклярський // Вісник Нац.ун-ту ²Львівська політехніка² “Радіоелектроніка та телекомунікації”. – 2004. – № 508. – С. 121–127.
21. [Http://www.nature.ru](http://www.nature.ru).
22. [Http://www.iteb.serpuchov.su/rus/budancev.htm](http://www.iteb.serpuchov.su/rus/budancev.htm).
23. Буданцев А. Ю. Микротония тканей для световой микроскопии (блочно-модульный конструктор) / А. Ю. Буданцев // Медицинская техника. – 1993. – № 6. – С. 129–140.
24. [Http://www.enly.se/deutsch/aufsatz/4/die-praesenz-zyklischer-prozesse-nach](http://www.enly.se/deutsch/aufsatz/4/die-praesenz-zyklischer-prozesse-nach).
25. [Http://equipment.medlib.ru/29149/shtml](http://equipment.medlib.ru/29149/shtml).
26. [Http://www.smu.psn.ru](http://www.smu.psn.ru).
27. [Http://Udaff.com/authors_andrew_and_rac/9950.html](http://Udaff.com/authors_andrew_and_rac/9950.html).
28. [Http://Content.mail.ru/arch/5339/855620.html](http://Content.mail.ru/arch/5339/855620.html).
29. [Http://www.sobachnik.org/modules.php](http://www.sobachnik.org/modules.php).

name. 30. [Http://www.medmedia.ru/andrology/besplodie/a38143889](http://www.medmedia.ru/andrology/besplodie/a38143889). 31. [Http://www.medmedic.ru/gynecology/infertility/3802297/a3802301](http://www.medmedic.ru/gynecology/infertility/3802297/a3802301). 32. [Http://www.neuro.net.ru/bibliot/b003/sx17051.html](http://www.neuro.net.ru/bibliot/b003/sx17051.html). 33. [Http://www.issep.rssi.ru/pdf/980/021.pdf](http://www.issep.rssi.ru/pdf/980/021.pdf). 34. [Http://www.pereplet.ru/obrasovanie/stsoros/467.html](http://www.pereplet.ru/obrasovanie/stsoros/467.html). 35. [Http://www.oranta.ru](http://www.oranta.ru). 36. [Http://www.ecsotika.com](http://www.ecsotika.com). 37. [Http://bio.1september.ru](http://bio.1september.ru). 38. Hrytskiv Z. D. A Television System for Gap Visualization, Measurement and Adjustment / Z. D. Hrytskiv, A. D. Pedan, G. O. Turkinov, V. I. Shkliarskyi // *Modern Problems of Radio Engineering Telecommunications and Computers Science TCSET'2006 : Int. Conf., 28 February – 4 March 2006 : Proceedings. - Lviv-Slavsko (Ukraine), 2006. – P. 333–335.* 39. *Физиология человека : в 3 т. / [под ред. Шмидта Р., Тевса Г.] ; пер. с англ. – М. : Мир, 1996. Т. 2. – 1996. – 641 с.* 40. Aitken R. J. *World Health Organization (WHO) laboratory manual. For the examination of human semen and sperm – cervical mucus interaction / Aitken R. J., Comhair F., Baker H.W.G. ; 4th edition. – United Kingdom : Cambridge University Press, 1999. – 129 p.*

УДК 621.385.832.82

А.Д. Педан, Б.І. Любинецька, В.І. Шклярський
Національний університет “Львівська політехніка”

СКАНУВАЛЬНИЙ ОПТИЧНИЙ МІКРОСКОП НА БАЗІ ЕЛЕКТРОННО-ПРОМЕНЕВОЇ ТРУБКИ ДЛЯ КРІОБІОЛОГІЇ ТА НАНОТЕХНОЛОГІЙ

© Педан А.Д., Любинецька Б.І., Шклярський В.І., 2010

Розглянуто проблеми сканувальної оптичної мікроскопії, пов’язані з впливом на досліджуваний препарат низьких температур. Запропоновано схему оптичного каналу із запобіганням конденсації атмосферної вологи. Розроблено охолоджувач препарату на елементах Пельтьє з регульованою температурою до -100°C та перенесенням тепла тепловою трубою.

It is considered problems of scanning optical microscopy connected with influence on a researched preparation of low temperatures. The circuit of the optical channel with courtesy of condensation of an atmospheric moisture is offered. The cooler of a preparation on Pelties' elements with adjustable temperature up to -100°C and carry of heat by a thermal pipe is developed.

Вступ. Сканувальний оптичний мікроскоп (СОМ) – це оптичний аналог растрового електронного мікроскопа (РЕМ), як структурно, так і алгоритмічно. В ньому, як і в РЕМ, є вакуум, є електронно-оптична система, яка формує електронний зонд, є електромагнітне поелементне сканування зондом досліджуваного об’єкта, є давачі перетворення світлового сигналу від об’єкта на електричний сигнал, є обробка електричного сигналу та синтез зображення досліджуваного об’єкта на моніторі комп’ютера чи дисплеї. Принципова відмінність полягає лише в тому, що в СОМ досліджуваний об’єкт розташовується поза межами вакууму, а вакуум не поновлюється.

Для здійснення сканування досліджуваного об’єкта поза вакуумом необхідно трансформувати кінетичну енергію корпускулярного електронного зонда в енергію електромагнітного випромінювання у світловому діапазоні, яке може через вакуумнощільне оптичне вікно безперешкодно вийти поза межі герметизованого вакууму, в якому створюється і формується електронний зонд. Трансформацію енергії доцільно реалізовувати з використанням люмінесцентного монокристала з огляду на його ідеальну просторову структуру та можливість штучно впливати на спектр та квантовий вихід люмінесценції.