

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет радіоелектроніки

Факультет Електронної та біомедичної інженерії
(повна назва)

Кафедра Фізичних основ електронної техніки
(повна назва)

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
Пояснювальна записка

рівень вищої освіти другий (магістерський)
МЕДИЧНА ЛАЗЕРНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ
(тема)

Виконала:
здобувачка 2 курсу, групи ФТОІм-23-1
Колесник О.В.
(прізвище, ініціали)

Спеціальність 175 Інформаційно-вимірювальні технології
(код і повна назва спеціальності)

Тип програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Освітня програма «Фотоніка та оптикоінформатика»
(повна назва освітньої програми)

Керівник проф. каф. ФОЕТ Курський Ю.С.
(посада, прізвище, ініціали)

Допускається до захисту

Зав. кафедри _____
(підпис)

Гнатенко О.С.
(прізвище, ініціали)

2025 р.

Харківський національний університет радіоелектроніки

Факультет Електронної та біомедичної інженерії
(повна назва)
Кафедра Фізичних основ електронної техніки
(повна назва)
Рівень вищої освіти другий (магістерський)
Спеціальність 175 Інформаційно-вимірювальні технології
(код і повна назва)
Тип програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)
Освітня програма «Фотоніка та оптоінформатика»
(повна назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Зав. кафедри _____

(підпис)

« _____ » 20 ____ р.

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ

здобувачці Колесник Олександрі Віталіївні
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Медична лазерна візуалізація

затверджена наказом університету від « 22 » листопада 2024 р. № 1230 Ст _____

2. Термін подання студентом роботи до екзаменаційної комісії 28 січня 2025 р.

3. Вихідні дані до роботи: медичні дослідження; лазерна візуалізація; 3D сканування; обробка даних; конфокальна мікроскопія.

4. Перелік питань, що потрібно опрацювати в роботі _____

1 Дослідження фізико-математичних основ медичної лазерної візуалізації.

2 Аналіз основних видів лазерної візуалізації.

3 Дослідження лазерної візуалізації на основі 3D сканування та конфокальній мікроскопії.

5. Перелік графічного матеріалу із зазначенням креслеників, схем, плакатів, комп'ютерних ілюстрацій
Демонстраційний матеріал – 15 слайдів.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів роботи	Терміни виконання етапів роботи	Примітка
1	Огляд інформаційних джерел про лазерні технології візуалізації в біологічних дослідженнях	02.09.24–27.09.24	Виконано
2	Дослідження лазерних технологій візуалізації	01.10.24–20.10.24	Виконано
3	Методики лазерної візуалізації	25.10.24–08.11.24	Виконано
4	Аналіз візуалізації на основі 3D сканування	10.11.24–21.11.24	Виконано
5	Оформлення пояснювальної записки	23.11.24–18.12.24	Виконано
6	Оформлення демонстраційних матеріалів	20.12.24–26.12.24	Виконано
7	Проходження нормоконтролю та перевірки на академічний плагіат	28.12.24–16.01.25	Виконано
8	Отримання відгуку та рецензії	18.01.25–20.01.25	Виконано
9	Підготовка та захист кваліфікаційної роботи	21.01.25–29.01.25	Виконано

Дата видачі завдання 02 вересня 2024 р.

Здобувачка _____
(підпис)

Керівник роботи _____ проф. каф. ФОЕТ Курський Ю.С.
(підпис) (посада, прізвище, ініціали)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до кваліфікаційної роботи: 47 с., 15 рис., 3 табл., 1 додаток, 12 джерел.

ЛАЗЕР, ЛАЗЕРНЕ ВИПРОМІНЮВАННЯ, ЛАЗЕРНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ, 3D ЛАЗЕРНЕ СКАНУВАННЯ, КОНФОКАЛЬНА ЛАЗЕРНА МІКРОСКОПІЯ, ТЕХНОЛОГІЇ ЛАЗЕРНОЇ ВІЗУАЛІЗАЦІЇ.

Об'єкт дослідження — лазерні технології візуалізації, що використовуються в медичних та біологічних дослідженнях.

Мета роботи – дослідження фізико-математичних основ, конструкцій та застосування технологій та систем сучасних методів медичної лазерної візуалізації.

Метод дослідження – теоретичне дослідження лазерної візуалізації.

Для досягнення мети у роботі поставлено та вирішено такі запитання:

1. Дослідження фізико-математичних основ медичної лазерної візуалізації.
2. Дослідження технологій та конструкцій 3D лазерного сканування.
3. Дослідження технологій та конструкцій конфокальної лазерної мікроскопії.
4. Аналізування перспективних технологій медичної лазерної візуалізації.

ABSTRACT

Explanatory note to the qualification work: 47 p., 15 fig., 3 tables, 1 appendix, 12 sources.

LASER, LASER RADIATION, LASER VISUALIZATION, 3D LASER SCANNING, CONFOCAL LASER MICROSCOPY, LASER VISUALIZATION TECHNOLOGIES.

The object of research is laser visualization technologies used in medical and biological research.

The purpose of the work is to study the physical and mathematical foundations, designs and application of technologies and systems of modern methods of medical laser visualization.

The research method is a theoretical study of laser visualization.

To achieve the goal, the following questions were posed and solved in the work:

1. Study of the physical and mathematical foundations of medical laser visualization.
2. Study of technologies and designs of 3D laser scanning.
3. Research into technologies and designs of confocal laser microscopy.
4. Analysis of promising technologies of medical laser visualization.

ЗМІСТ

Скорочення та умовні позначення.....	7
Вступ.....	8
1 Теоретичні основи лазерної візуалізації	10
1.1 Взаємодія лазерного випромінювання з тканинами	10
1.2 Основні типи лазерів у медичній візуалізації	12
1.3 Практичне застосування лазерної візуалізації	13
1.4 Переваги лазерної візуалізації	14
1.5 Недоліки лазерної візуалізації	14
1.6 Ефективність лазерної візуалізації в порівнянні з традиційними підходами	15
2 3D лазерна візуалізація та сканування.....	16
2.1 Приклади використання лазерної візуалізації в медицині.....	16
2.1.1 Анатомічна візуалізація.....	16
2.1.2 Хірургічне планування та моделювання	17
2.1.3 Навчання пацієнтів.....	18
2.1.4 Проектування медичних виробів.....	19
2.1.5 Прогресування та візуалізація захворювань	20
2.1.6 Відкриття ліків та фармацевтичне дослідження.....	20
2.2 Професійний 3D-сканер для охорони здоров'я	21
3 Конфокальна лазерна скануюча мікроскопія	24
3.1 Принцип роботи конфокального мікроскопа.....	25
3.2 Переваги конфокального лазерного мікроскопа.....	29
3.3 Візуалізація живих клітин	30
3.4 Використання конфокальних лазерних мікроскопів.....	33
4 Перспективи розвитку лазерної медичної візуалізації.....	34
4.1 Технічні досягнення в галузі медичної візуалізації	34
4.2 Технічні досягнення в галузі конфокальної мікроскопії	39
Висновки	45
Перелік джерел посилання	46
Додаток А Демонстраційний матеріал.....	48

СКОРОЧЕННЯ ТА УМОВНІ ПОЗНАКИ

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота(ДНК);

КЛСМ – конфокальна лазерна скануюча мікроскопія (КЛСМ);

КМ – конфокальна мікроскопія (КМ);

КТ – комп'ютерна томографія (КТ);

ЛДТ – лазерна дифузійна томографія (ЛДТ);

МРТ – магнітно-резонансна томографія (МРТ);

ОКТ – оптична когерентна томографія (ОКТ, optical coherence tomography);

PSF – функція розсіювання крапки (англ. point spread function, PSF);

RCM – конфокальний мікроскоп повторного сканування (RCM);

VCSEL – вертикальна поверхня порожнини, що випромінює лазер (VCSEL).

ВСТУП

Медична лазерна візуалізація є ключовим напрямком сучасної діагностичної медицини, що використовує лазерне випромінювання для створення високоякісних 2D та 3D зображень. Завдяки застосуванню лазерів забезпечується надзвичайно точна та чітка візуалізація тканин, а також можливість виявляти найдрібніші патологічні зміни. Унікальна здатність лазерів проникати на різні глибини тканин, змінюючи відображення та розсіювання залежно від типу й щільності тканин, розширює можливості діагностики захворювань і моніторингу лікувального процесу.

Ця технологія забезпечує високу роздільну здатність зображень і дозволяє налаштувати глибину проникнення лазерного променя. Лазери використовуються в офтальмології для візуалізації структури ока, в онкології для раннього виявлення пухлин та в дерматології для аналізу стану шкіри й підшкірної клітковини. Крім того, лазерна візуалізація також широко використовується в хірургії, що допомагає проводити точні операції, зменшуючи хірургічну травматизацію та ризики. Лазерна візуалізація дозволяє лікарям можливість точно оцінювати стан органів і тканин без потреби в хірургічному втручанні.

Метод є неінвазійний, не використовує іонізуюче випромінювання і є безпечним для пацієнта. Лазерна візуалізація надає можливість лікарям не тільки ставити якісні діагнози, але й контролювати ефективність лікування, що особливо важливо при довготривалому лікуванні хронічних та пухлинних захворювань. Таким чином, розробки в галузі лазерної візуалізації відкривають нові перспективи в медицині та роблячи медичну допомогу більш точною, безпечною та ефективною [1–3].

Конфокальна мікроскопія (КМ) – це сучасний інструмент для візуалізації та вивчення внутрішньоклітинних і позаклітинних структур, а також аналізу клітинних процесів у біологічних і біомедичних дослідженнях, що базується на флуоресцентній мікроскопії. Методи КМ дозволяють отримувати «оптичні зрізи» товщиною до 100 мкм і відстанню від 0,3 мкм до 0,5 мкм один від одного можна отримати з живих або фіксованих клітин.

Конфокальна лазерна скануюча мікроскопія (КЛСМ) відрізняється від звичайної мікроскопії тим, що дозволяє спостерігати зразок у відбитому, а не прохідному світлі. Щоб змусити зразок випромінювати світло, його забарвлюють різними флуоресцентними барвниками, які випромінюють світло при зв'язуванні з певними молекулами: наприклад, ДНК, вуглеводами і білками. Це дозволяє не тільки побачити зразок, але й визначити його склад.

Метою цієї кваліфікаційної роботи є дослідження фізико-математичних основ, конструкцій та застосування технологій та систем медичній лазерної візуалізації сучасних методів медичної лазерної візуалізації на прикладі 3D лазерного сканування.

1 ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ЛАЗЕРНОЇ ВІЗУАЛІЗАЦІЇ

Лазерна візуалізація – це передовий діагностичний метод, що застосовує властивості лазерного випромінювання для отримання високоякісних зображень тканин і органів. Метод базується на оптичних характеристиках тканин та унікальних властивостях лазерного випромінювання, таких як монохроматичність, когерентність, висока інтенсивність і здатність до колімації. У цьому розділі розглянуто фізичні й технічні особливості лазерної візуалізації, типи лазерів, які використовуються в медицині, та їх застосування в різних сферах медичної практики.

1.1 Взаємодія лазерного випромінювання з тканинами

Взаємодія лазерного випромінювання з тканинами залежить від довжини хвилі лазера, типу тканини, її щільності та ступеня зволоження. Існує кілька типів взаємодії, таких як відбиття, поглинання, розсіювання та проходження, які впливають на якість зображення та глибину проникнення.

Поглинання відбувається у випадку пігментованих тканин, таких як меланін у шкірі чи гемоглобін у крові. Ця властивість використовується при лазерній флуоресцентній візуалізації, де поглинання світла збуджує флуоресценцію тканин, що дозволяє визначити ділянки з підвищеним пігментним вмістом, наприклад, при діагностиці раку шкіри [4].

На рисунку 1.1 показано залежність коефіцієнта поглинання і глибини проникнення лазерного випромінювання від властивостей біологічної тканини. Як видно з рисунка, максимальна глибина проникнення відповідає терапевтичному вікну (від 600 нм до 1300 нм), де випромінювання найглибше проходить через тканини завдяки низькому поглинанню і високому розсіюванню. Саме тому для фотоелектричного вимірювання артеріального тиску використовують діодні лазери в червоному та ближньому інфрачервоному діапазоні випромінювання.

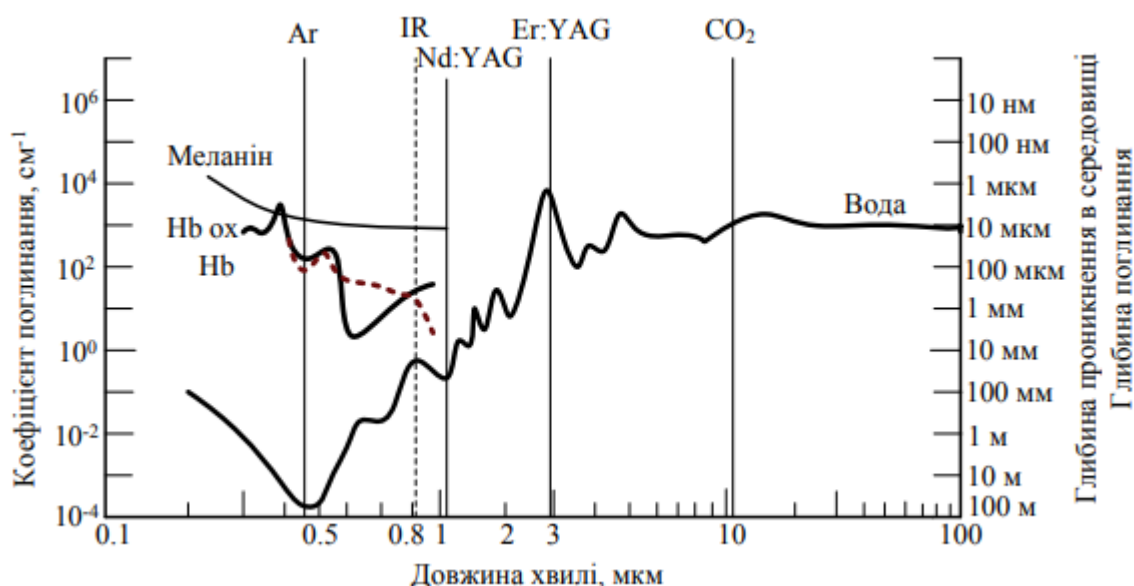


Рисунок 1.1 – Коефіцієнт поглинання та глибина проникнення лазерного випромінювання у воді, гемоглобіні та меланіні в залежності від довжини хвилі

Знання глибини проникнення випромінювання на певній довжині хвилі є більш критичним для керівництва лазерною фототерапією. Ослаблення лазерного променя інтенсивністю I_0 в товщі тканини на глибині z розраховується таким чином:

$$I(z) \approx I_0 b_s \exp(-\mu_{\text{eff}} z), \quad (1.1)$$

$$\mu_{\text{eff}} = [3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)]^{1/2} \quad (1.2)$$

де μ_a – коефіцієнт поглинання,

μ_s – коефіцієнт розсіювання

b_s – враховує додаткове опромінення верхніх шарів тканини внаслідок багаторазового зворотного розсіювання та повного внутрішнього відбиття на межі тканина/навколишнє середовище.

Розсіювання лазерного випромінювання використовується в методах лазерної дифузійної томографії (ЛДТ), що дозволяє візуалізувати внутрішні шари тканин. ЛДТ має значення для оцінки підшкірних утворень або пухлин.

Залежність коефіцієнта розсіювання шкіри від довжини хвилі шкіри описується наступним виразом:

$$\mu_s(\lambda) = \mu_s(\lambda_0) \left(\frac{\lambda}{700\text{нм}} \right)^{-3/2}. \quad (1.3)$$

Тепловий ефект є результатом розсіювання та поглинання лазерної енергії (табл. 1.1).

Таблиця 1.1 – Зміна стану тканини при різних температурах

Температура	Візуальна зміна	Біологічні зміни
37–60°C	без візуальних змін	потепління, зварювання
60–65 °C	бланшування	коагуляція
65–90 °C	білий/сірий	денатурація білка
90–100 °C	зморщування	сушіння
100 °C	шлейф диму	пароутворення, карбонізація

1.2 Основні типи лазерів у медичній візуалізації

У медичній візуалізації використовуються різні типи лазерів, кожен з яких має певні властивості, що впливають на їх застосування:

Інфрачервоні лазери – використовуються для глибокого проникнення у тканини та є основними в ОКТ. Завдяки цьому методу можна проводити візуалізацію внутрішніх структур ока без хірургічного втручання.

Ультрафіолетові лазери – мають високу енергію і використовуються для поверхневих тканин, наприклад, у дерматології для діагностики пігментних плям і меланом.

Лазери видимого спектру – застосовуються в багатьох методах, наприклад, в ангиографії для дослідження кровоносних судин. Такий лазер забезпечує візуалізацію завдяки відбиттю від еритроцитів, що дозволяє оцінити стан судинної системи.

1.3 Практичне застосування лазерної візуалізації

Лазерна візуалізація широко використовується в різних галузях медицини, зокрема в дерматології, онкології та офтальмології. Завдяки своїм унікальним властивостям, лазерні технології забезпечують високу точність у діагностиці та лікуванні.

1. Застосування в дерматології:

– у дерматології лазерна візуалізація активно використовується для діагностики та лікування різноманітних шкірних захворювань. Один із основних методів — конфокальна лазерна скануюча мікроскопія (КЛСМ), яка дозволяє отримувати детальні зображення шкіри на клітинному рівні. Завдяки цьому методу можливе раннє виявлення новоутворень, таких як меланома, що забезпечує ефективніше лікування [2].

2. Використання в онкології:

– лазерна візуалізація є важливим інструментом в онкології для ранньої діагностики пухлин та моніторингу ефективності терапії. Серед найпоширеніших методів — лазерна флуоресцентна візуалізація, де застосовуються флуоресцентні барвники для підсвічування ракових клітин. Це дозволяє хірургам точно окреслювати межі пухлини під час операцій, знижуючи ризик залишення злоякісних тканин.

– іншим важливим методом є оптична когерентна томографія (ОКТ), яка дозволяє отримувати детальні зображення внутрішніх структур тканин без необхідності хірургічного втручання. ОКТ широко використовується для оцінки пухлин у шкірі, молочних залозах та інших органах. У онкології лазерна візуалізація допомагає визначати стадію пухлин та оцінювати результати хіміко- і променевої терапії.

3. Лазерна візуалізація в офтальмології:

– лазерна візуалізація стала невід'ємною частиною офтальмологічної практики, адже завдяки високій роздільній здатності й точності цей метод дозволяє діагностувати очні захворювання на ранніх стадіях, що значно підвищує

ефективність лікування. Одним з найбільш застосовуваних методів є оптична когерентна томографія (ОКТ), яка дає змогу отримувати надзвичайно чіткі зображення внутрішніх структур ока, таких як сітківка, зоровий нерв, макула та інші тканини. ОКТ використовує низькоенергетичне інфрачервоне світло для формування детальних зображень шарів сітківки, які неможливо побачити звичайними методами.

1.4 Переваги лазерної візуалізації

1. Висока роздільна здатність: лазерна візуалізація дозволяє отримувати зображення з мікрометровою роздільною здатністю, що забезпечує детальний огляд внутрішніх структур тканин і клітин. Це особливо корисно в офтальмології, дерматології та інших галузях, де важлива точність.

2. Мінімальна інвазивність: багато методик лазерної візуалізації, таких як оптична когерентна томографія (ОКТ) і лазерна флуоресцентна візуалізація, не вимагають хірургічного втручання, що знижує ризики для пацієнта та скорочує час на відновлення.

3. Точність діагностики: лазерні методи дозволяють виявляти патологічні зміни на ранніх стадіях, коли інші методи можуть бути менш ефективними. Наприклад, ОКТ дозволяє виявити ранні зміни в сітківці ока, що важливо для профілактики сліпоти.

4. Швидкість отримання результатів: лазерна візуалізація забезпечує швидке отримання зображень, що є важливим у ситуаціях, коли потрібна оперативна діагностика.

1.5 Недоліки лазерної візуалізації

1. Висока вартість обладнання: лазерні системи, такі як ОКТ або конфокальні мікроскопи, є дорогими, що може обмежувати їхнє використання в менших медичних закладах.

2. Вимоги до спеціалістів: робота з лазерним обладнанням вимагає високої кваліфікації медичного персоналу. Це може збільшити витрати на навчання і підвищити загальні витрати на медичні послуги.

3. Обмеження глибинної візуалізації: хоча лазерна візуалізація є ефективною для поверхневих і середньо глибоких структур, її ефективність може знижуватися для глибоких тканин через розсіювання і поглинання світла.

1.6 Ефективність лазерної візуалізації в порівнянні з традиційними підходами

1. Порівняння з рентгенографією: лазерна візуалізація, на відміну від рентгеновських методів, не використовує іонізуючого випромінювання, що знижує ризик опромінення пацієнта. Проте рентгенографія залишається більш ефективною для візуалізації кісток і глибоких структур, де лазерні методи можуть бути менш ефективними.

2. Порівняння з ультразвуковою діагностикою: ультразвук є більш доступним і дешевшим методом, проте має обмежену роздільну здатність у порівнянні з лазерною візуалізацією. Лазерні методи можуть забезпечити значно вищу деталізацію, але ультразвук залишається більш універсальним для дослідження внутрішніх органів.

3. Порівняння з магнітно-резонансною томографією (МРТ): МРТ забезпечує високу якість зображень глибоких тканин, але є більш тривалою і дорогою процедурою. Лазерна візуалізація може бути швидшою та ефективнішою для дослідження поверхневих структур, але не може конкурувати з МРТ в дослідженні глибоких органів.

Лазерна візуалізація пропонує низку унікальних переваг, таких як висока роздільна здатність, мінімальна інвазивність та швидкість отримання результатів. Водночас, традиційні методи візуалізації, такі як рентгенографія, ультразвукова діагностика і МРТ, залишаються необхідними інструментами, особливо для візуалізації глибоких структур і органів. Оптимальне використання кожного методу залежить від конкретної клінічної ситуації, що дозволяє максимально підвищити точність діагностики і ефективність лікування.

2 3D ЛАЗЕРНА СКАНУВАННЯ ТА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ

В галузі медичної візуалізації 3D-візуалізація розширює наші можливості діагностувати стани з високою точністю. Вона дозволяє хірургам упевнено планувати складні процедури, знижуючи ризики та покращуючи результати для пацієнтів. Більше того, вона передає силу розуміння та прийняття рішень безпосередньо до рук пацієнтів, дозволяючи їм з ясністю та впевненістю орієнтуватися у своїй медичній подорожі.

3D-візуалізація також відіграє важливу роль у навчанні або підготовці медичного персоналу, хірургів та лікарів тощо, пояснюючи нові медичні продукти та технології. У ході цього дослідження ми заглибимося в різні програми 3D-візуалізації в охороні здоров'я, від її ролі в медичній візуалізації до її впливу на освіту пацієнтів.

2.1 Приклади використання лазерної візуалізації в медицині

2.1.1 Анатомічна візуалізація

Однією з найбільш значних переваг 3D-візуалізації у медичній ілюстрації є рівень анатомічної точності, який він пропонує. Медичні ілюстратори можуть створювати надзвичайно точні та реалістичні анатомічні моделі за допомогою програмного забезпечення для 3D-візуалізації, що спрощує студентам та медичним працівникам розуміння просторових відносин між органами, тканинами та структурами. Безпрецедентна деталізація додається до анатомії людини за допомогою 3D-візуалізації. Анатомічні структури, такі як серце, мозок або скелетна система можуть бути змодельовані в 3D з неймовірною точністю та інтерактивністю медичними ілюстраторами. Ці моделі мають вирішальне значення для медичної освіти, оскільки вони дозволяють експертам та студентам досліджувати людське тіло з різних точок зору. Вони здатні аналізувати цифрові трупи, розуміти просторові відносини і глибоке розуміння складної структури

анатомії людини. На рисунку 2.1 показано 3D-візуалізацію нормального живого серця [5].

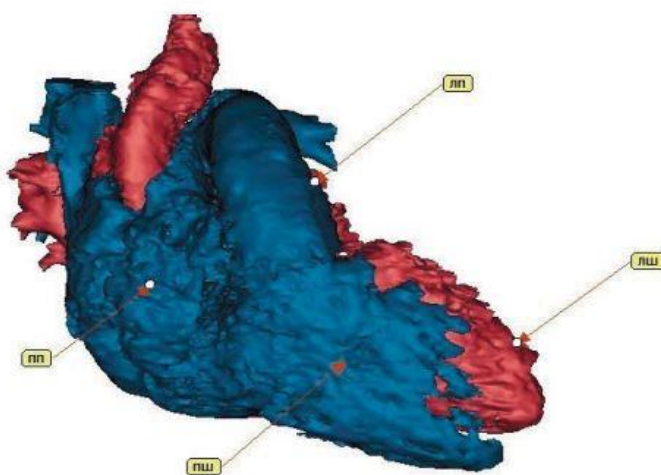
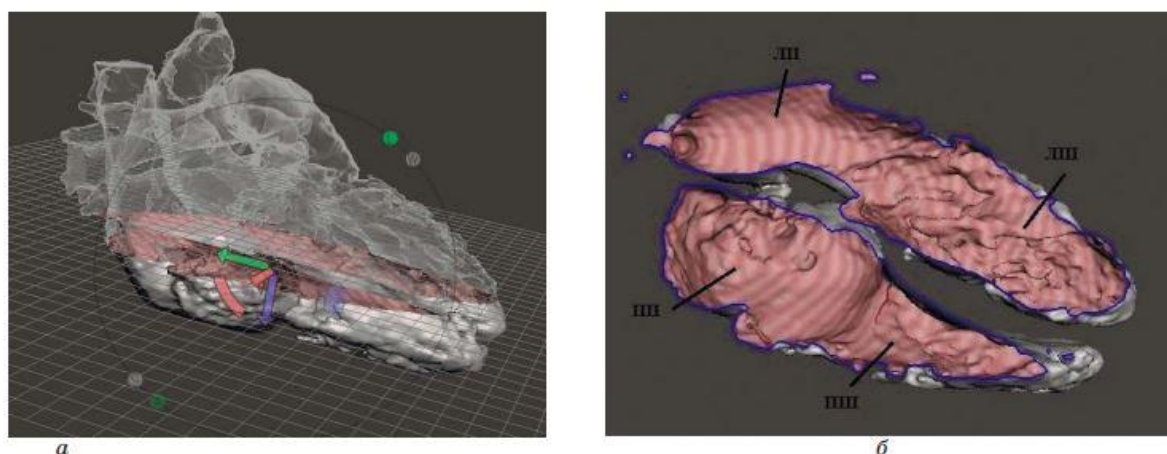


Рисунок 2.1 – 3D-візуалізація серця

2.1.2 Хірургічне планування та моделювання

Хірургічне планування та винахід були змінені 3D-візуалізацією. На основі даних медичної візуалізації, таких як КТ або МРТ, хірурги тепер можуть вимагати 3D-моделі для конкретного пацієнта. Ці моделі точно відображають конкретну анатомію та патологію кожного пацієнта. Наявність доступної 3D-моделі потрібна для складних операцій, особливо тих, які пов'язані з пухлинами, аномаліями чи реконструкцією. Щоб точніше організувати процедуру та скоротити час операції, хірурги можуть проаналізувати модель перед входом до операційної. Оскільки вона дозволяє хірургам практикувати та вдосконалювати свою техніку у віртуальному середовищі без ризику, ця технологія особливо корисна для планування складних операцій, таких як ортопедичне або нейрохірургічне лікування. Таким чином, хірургічна точність підвищується, ускладнення зменшуються, а результати лікування пацієнтів зрештою покращуються. Наприклад на рисунку 2.2 показано віртуальний розтин серця на їх трьох вимірних реконструкціях.



а) схема рoстину; б) вигляд зверху.

Рисунок 2.2 – віртуальний розтин серця

2.1.3 Навчання пацієнтів

У медичній ілюстрації навчання пацієнтів є одним із найважливіших застосувань 3D-візуалізації. Складні медичні розлади та доступні методи лікування можуть бути складними для розуміння пацієнтами. Ефективні навчальні ресурси включають 3D-моделі та анімацію. Людям може бути страшно і важко мати справу з медичними методами лікування та проблемами. 3D-візуалізації заповнює прогалину між медичними термінами та розумінням пацієнта. Медичні ілюстратори здатні створювати 3D-симуляції конкретних захворювань, механізмів захворювань та терапевтичних варіантів.

Можливості досить точних 3D моделей і методів візуалізації прижиттєвої анатомії пацієнта та патологічних процесів дозволили розробити ряд методик і програмних засобів по передопераційного та інтраопераційного планування хірургічного втручання та забезпечити підтримку прийняття рішень при підготовці хірургічних операцій. Змодельовані на комп'ютері людські органи можна буде не тільки обстежити візуально, але навіть проводити віртуальну «пальпацію» за допомогою тривимірної комп'ютерної миші. Дана технологія дозволить також діагностувати важкі захворювання внутрішніх органів на ранніх стадіях.

3D-модель серця може використовуватися для опису проблеми, запропонованого лікування та очікуваних результатів, коли у пацієнта діагностують складне захворювання, таке як серцева аномалія. Використовуючи інтерактивну 3D-графіку, лікарі можуть чітко та легко повідомляти пацієнтам медичні діагнози, методи лікування та потенційні небезпеки. Пацієнти можуть краще приймати рішення про своє власне лікування, маючи можливість візуалізувати свою власну анатомію та проблеми зі здоров'ям, що посилює взаємодію пацієнта та лікаря [5].

2.1.4 Проєктування медичних виробів

Динамічні освітні інструменти в охороні здоров'я стали можливими завдяки 3D-візуалізації. Сьогодні медичні навчальні заклади використовують мультимедійні програми та 3D-анімацію для залучення студентів та фахівців до навчання. За допомогою цих інструментів користувачі можуть обертати, збільшувати та навіть відтворювати різні медичні операції за допомогою 3D-моделей. Завдяки оптимізації процесів прототипування та тестування ця технологія скорочує процес розробки та знижує витрати. Крім того, вона спрощує модифікацію пристроїв відповідно до конкретних анатомічних вимог кожного пацієнта. Студенти-медики можуть репетирувати хірургічні процедури онлайн, перш ніж використовувати їх на реальних пацієнтах, наприклад, за допомогою інтерактивної програми з 3D-рендерінгом.

Також застосування 3D-принтерів в медицині дозволяє здійснювати швидкі оперативні втручання. Також вони детально відтворюють точну копію вихідного матеріалу, який необхідний для відпрацювання прийомів, що дає гарантію для проведення успішної операції. У наш час 3D-принтери успішно використовуються в ортопедичній стоматології, де за рахунок тривимірного друку отримують протези, моделі, брекети та імплантати без необхідності використання традиційних матеріалів, у найкоротші терміни, порівняно з класичною технологією виробництва. На 3D-принтері можна надрукувати імплантати будь-якої форми та

розміру, створивши точну копію потрібної частини тіла. І оперувати можна значно швидше, ефективніше та дешевше, ніж це дозволяли традиційні методи [6].

2.1.5 Прогресування та візуалізація захворювань

Можливість показати процеси захворювань у 3D з надзвичайною чіткістю. Розвиток пухлин, еволюція остеоартриту або вплив нейродегенеративних захворювань на мозок – все це може бути представлене медичними ілюстраторами. Завдяки своїй здатності проливати світло на механізми захворювань та їх вплив на організм ці 3D-моделі безцінні для досліджень, діагностики та навчання пацієнтів.

Перспективи лазерної візуалізації включають розробку портативних пристроїв, які можна використовувати в польових умовах, інтеграцію технології з роботизованими системами та розширення спектру застосування в персоналізованій медицині. Зокрема, розробка нових контрастних речовин має потенціал для подальшого підвищення точності діагностики.

2.1.6 Відкриття ліків та фармацевтичне дослідження

Фармацевтична розробка та відкриття ліків значною мірою залежать від 3D-візуалізації. Він використовується дослідниками для моделювання взаємодії ліків та біологічних речовин. Це підтримує дослідження молекулярних шляхів та відкриття потенційних терапевтичних кандидатів. Це може полегшити розуміння того, як системи доставки ліків працюють усередині організму.

Використання 3D-візуалізації в медичній ілюстрації повністю змінило те, як ми бачимо та взаємодіємо зі складними медичними термінами, анатомічними деталями та процесами захворювань. Майбутнє охорони здоров'я та медичних знань формується цією технологією, яка є потужним інструментом для всього: від планування хірургії до спілкування з пацієнтом та навчання. Можливості 3D-візуалізації в галузі медичної ілюстрації безмежні, оскільки він розвивається і стає

дедалі доступнішим, пропонуючи точніші діагнози, безпечніші операції та більш поінформованих пацієнтів.

2.2 Професійний 3D-сканер для охорони здоров'я

Ручний 3D-сканер iReal 2E від Scantech iReal 3D (рис. (2.3, 2.4), призначений для сканування тіла, а також середніх та великих об'єктів, став популярним 3D-сканером у медичних цілях завдяки наступним перевагам:

а) безконтактне сканування: просте та швидке отримання високоточних 3D-даних;

б) сканування без світла: безпечне та комфортне, пацієнтам не потрібно турбуватися про світлове випромінювання;

в) підтримка сканування у темному середовищі: найкраще сканування, коли пацієнт сканується оголеним;

г) простота та зручність в експлуатації: надвелике поле зору 580*550 мм, велика глибина різкості сканування 720 мм (відстань сканування: 280–1000 мм), легке склеювання сканованих даних, тому лікарі можуть почати сканування без особливої практики;

д) точність до 1 мм: для забезпечення точності сканованих даних людини та надання підтримки даних для персоналізованого медичного захисту;

ж) сумісність даних: скановані дані можуть бути виведені в поширених форматах, які можна легко інтегрувати з програмним забезпеченням для ортопедичного проектування, 3D-друком та гравіювальними верстатами.



Рисунок 2.3 – Ручний 3D-сканер iReal 2E від Scantech iReal 3D



Рисунок 2.4 – Структура 3D-сканера iReal 2E

Ручний 3D-сканер iReal 2E використовує метод структурованого декодування розсіяного світла, який є методом оптичного вимірювання, заснований на принципі тріангуляції (табл. 2.1). Він включає проектування неперіодичного випадкового цифрового розсіювання на поверхню об'єкта, а потім морфологія випадкового цифрового розсіювання модулюється інформацією на поверхні. Через випадковість цифрового розсіювання інформація про висоту будь-

який точки на поверхні об'єкта може бути однозначно визначена крихітним полем зображення розсіювання там, і, таким чином, тривимірні інформація про поверхню об'єкта може бути точно виміряна, а потім хмара точок реконструюється для формування трикутної сітки за допомогою алгоритму сітки, і виходить тривимірні модель об'єкта [7].

Таблиця 2.1 – Технічні характеристики

iReal 2E			
Джерело світла	Категорія	Інфрачервоне структуроване світло VCSEL	
	Видимість	Невидимий	
	Технології	Інфрачервоне лінійне структуроване світло	
	Кольорове сканування	Підтримує	
Можливості сканування	Режими вирівнювання без маркерів	Текстура/елемент/змішане вирівнювання	
	Сканування людського тіла	Сканування невидимого світла/волосся/темного середовища; автоматичне видалення шарів тремтіння тіла	
	Об'єкт середнього/великого розміру	Оптимальний діапазон відстаней сканування	300 мм–500 мм
		Ефективний робочий діапазон	280 мм–1000 мм
Максимальна площа сканування		до 580 мм × 550 мм	
Швидкість вимірювання	Максимум	1 200 000 точок/с	
Деталь	Відстань між точками	0,200 мм–3 мм	
Точність	Базова точність	До 0,100 мм	
	Точність вимірювання	До 0,300 мм/м	
Виведення даних	Формати виведення	OBJ, STL, PLY, ASC, SK	
	3D друк	Підтримує	
Апаратне забезпечення	Робоча температура	0°C–40°C	
	Розміри	140 мм × 94 мм × 258 мм	

3 КОНФОКАЛЬНА ЛАЗЕРНА СКАНУЮЧА МІКРОСКОПІЯ

Конфокальна мікроскопія – це сучасний інструмент для візуалізації та вивчення внутрішньоклітинних і позаклітинних структур, а також аналізу клітинних процесів у біологічних і біомедичних дослідженнях, що базується на флуоресцентній мікроскопії (рис. 3.1). Методи КМ дозволяють отримувати «оптичні зрізи» товщиною до 100 нм і відстанню від 0,3 нм до 0,5 нм один від одного можна отримати з живих або фіксованих клітин. Цей принцип був запатентований у 1957 році.

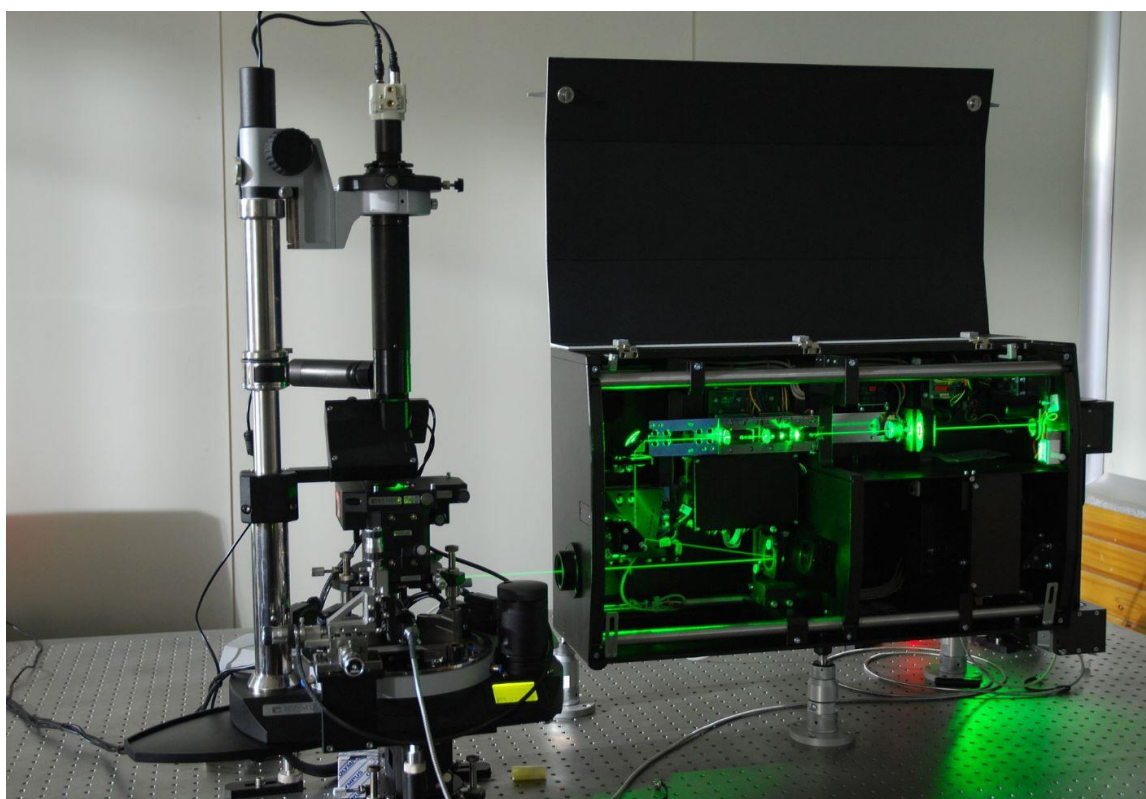


Рисунок 3.1 – Лабораторний макет конфокального лазерного мікроскопа

Лазерна скануюча конфокальна мікроскопія дозволяє отримувати тривимірні зображення об'єкта (так звана 3D-реконструкція). Сучасна КМ широко використовується в клітинній біології. Типовими прикладами є дослідження локалізації цитоскелету, ядра, хромосом і навіть генів. При вивченні локалізації білків у клітинах їх попередньо мітять флуоресцентними барвниками. Також

вивчають динамічні процеси в живих клітинах, наприклад, рух іонів кальцію та інших речовин через клітинну мембрану [7–8].

Мультифотонна мікроскопія ґрунтується на можливості двофотонного або трифотонного збудження флуоресценції. За допомогою чотиривимірної багатофотонної мікроскопії зараз можна спостерігати подовження і скорочення аксонів і рух цілих клітин.

Конфокальна лазерна скануюча мікроскопія (КЛСМ) відрізняється від звичайної мікроскопії тим, що дозволяє спостерігати зразок у відбитому, а не прохідному світлі. Щоб змусити зразок випромінювати світло, його забарвлюють різними флуоресцентними барвниками, які випромінюють світло при зв'язуванні з певними молекулами: наприклад, ДНК, вуглеводами і білками. Це дозволяє не тільки побачити зразок, але й визначити його склад. Ще однією важливою перевагою КЛСМ є те, що когерентність лазерного променя дозволяє оптично розрізати об'єкт на фокальній площині, вирізаючи розфокусоване світіння. В результаті 3D-структура об'єкта може бути відома з високим рівнем деталізації.

3.1 Принцип роботи конфокального мікроскопа

Основним принципом конфокальної мікроскопії є збіг фокальних площин мікроскопа (рис. 3.2). Об'єктив оптичного мікроскопа має дві площини: фокальну площину, в якій знаходиться досліджуваний об'єкт, і конфокальну площину, в якій проектується співвіднесений з нею об'єкт. Цю проекцію спостерігач зазвичай бачить через окуляр. Точкова конфокальна діафрагма розташовується в конфокальній площині так, щоб її проекція точно збігалася з фокусом джерела монохроматичного випромінювання.

Принцип і робота сучасної лазерної конфокальної мікроскопії полягає в наступному. Когерентне світло, що випромінюється лазером, проходить через отвори двох точкових діафрагм (перед джерелом випромінювання і перед детектором на фотоелектронному помножувачі). Коли лазерне світло відбивається від дихроїчного дзеркала і сканується в певній фокальній площині вздовж

предметного столика, вторинна флуоресценція повертається через предметний столик в тій же фокальній площині і фокусується як конфокальна на апертурному детекторі точкової діафрагми. Діаметр діафрагми контролює товщину оптичного зрізу, оскільки вона відсікає флуоресцентне світло, випромінюване об'єктами, що знаходяться поза фокальною площиною. Звичайні флуоресцентні мікроскопи реєструють флуоресценцію від всієї освітленої частини зразка (в тому числі поза фокусом), що призводить до отримання низько контрастних зображень з низькою роздільною здатністю. Значна частина флуоресцентного випромінювання над і під фокальною площиною об'єктива не фокусується в точці апертури (розфокусовані промені), утворюючи широкий повітряний диск в площині апертури. Лише невелика кількість розфокусованого флуоресцентного випромінювання проходить через апертуру точкової діафрагми, а решта периферійного світла не реєструється у фотоелектронному помножувачі і тому не відіграє важливої ролі у формуванні конфокального зображення. Важливим аспектом реєстрації є забезпечення якомога меншого діаметру апертури детектора, що може бути досягнуто лише за умови використання достатньо потужного джерела світла –лазера. Поєднання цих особливостей дозволяє значно підвищити роздільну здатність (до 100–200 нм) і контрастність зразка порівняно зі звичайною оптичною мікроскопією [8–10].

Конфокальний лазерний мікроскоп в основному складається з чотирьох частин (рис. 3.2.):

1. Оптична система мікроскопа.
2. Пристрій сканування.
3. Лазерне джерело світла.
4. Система виявлення.

Весь комплект приладів керується комп'ютером, а перемикання операцій між різними компонентами можна зручно та гнучко здійснювати в інтерфейсі операційної платформи комп'ютера.

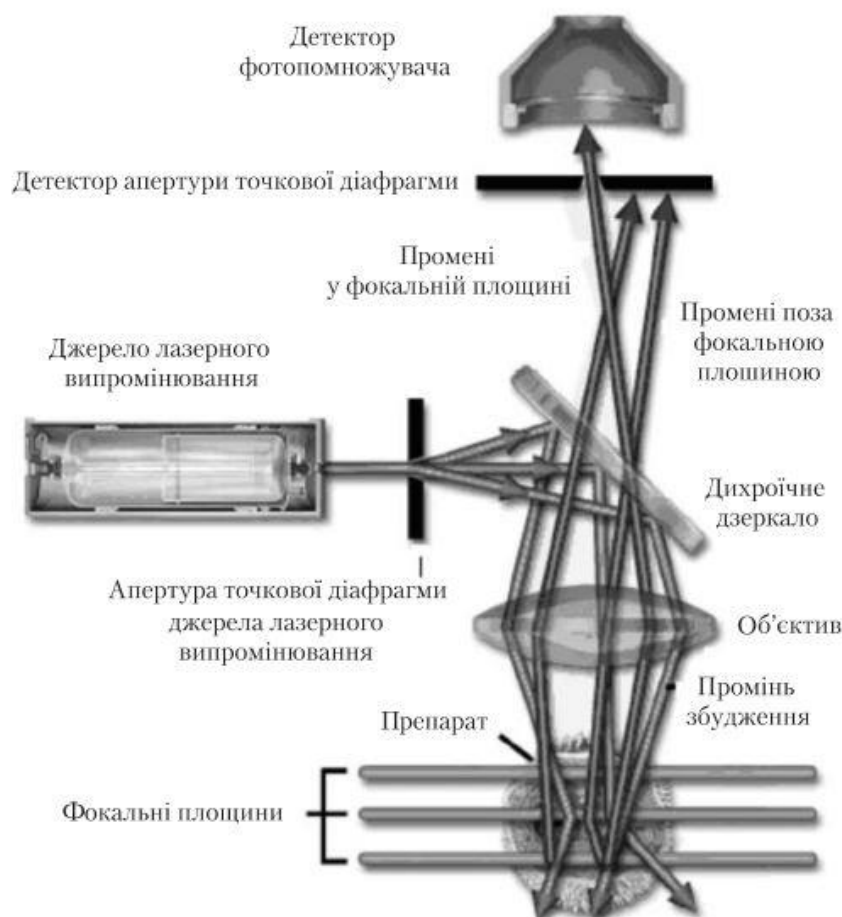


Рисунок 3.2 – Принципова схема поширення лазерного променя та основні компоненти конфокального мікроскопа

У сучасних скануючих конфокальних мікроскопах зразок освітлюється трьома-п'ятьма лазерними системами, керованими акустично-оптичними фільтрами, які точно налаштовують довжину хвилі та інтенсивність лазерного випромінювання. Завдяки наявності фотопомножувачів з квантовою ефективністю в ультрафіолетовій області спектра, такі мікроскопи дозволяють проводити дослідження в діапазоні від 400 нм до 759 нм.

Сучасна конфокальна мікроскопія широко використовується в клітинній біології.

Для визначення розподілу певного типу макромолекул між ядром і цитоплазмою, потрібно розмістити вікно зображення на оптичному зрізі ядра і визначити інтенсивність флуоресценції (P_p) від нього, потім розмістити таке ж

вікно на зрізі цитоплазми на тому ж оптичному зрізі і визначити інтенсивність флуоресценції (P_s) від нього. Залежність характеризуватиме розподіл флуоресцентно мічених молекул між ядром і цитоплазмою на цьому оптичному зрізі за рівнянням:

$$A = \frac{P_p}{P_s}. \quad (3.1)$$

У оптичній мікроскопії роздільна здатність визначається числовою апертурою (N_A) об'єктива, властивостями зразка (показником заломлення) та довжиною хвилі світла. Бічна роздільна здатність конфокального мікроскопа визначається здатністю системи формувати дифракційно обмежені плями на зразку. Формування дифракційно обмежених плям залежить не тільки від якості скануючої оптики і об'єктива, але і від якості лазерного променя. Якість променя зазвичай досягається використанням одномодового оптичного волокна для освітлення лазерного променя як точкового джерела з гауссовим розподілом, який потім колімується і фокусується в промінь з дифракційними обмеженнями. У системах візуалізації без аберацій, що використовують оптичні елементи найвищої якості, розмір сфокусованої плями при рівномірному освітленні є функцією довжини хвилі збудження (λ_{EX}) і апертури об'єктива (N_A):

$$Spot\ size = \frac{1.22\lambda_{EX}}{N_A}. \quad (3.2)$$

Бічна роздільна здатність системи візуалізації визначається як мінімальна відстань, на якій дві точки можна спостерігати як окремі об'єкти. Для конфокальних (і багатофотонних) ЛСМ зазвичай експериментально зручно визначати латеральний дозвіл (бічний) відповідно до повної ширини на піввисоті окремих точок спостереження; використовуючи визначення повної ширини на піввисоті, бічну роздільну здатність конфокальної ЛСМ можна подати таким чином:

$$R_{lateral} = \frac{0,5\lambda_{EX}}{N_A}. \quad (3.3)$$

А осьовий дозвіл складає:

$$R_{axial} = \frac{0.88\lambda_{EX}}{n - \sqrt{n^2 - (N_A)^2}}, \quad (3.4)$$

де R_{axial} – осьова роздільна здатність;

$R_{lateral}$ – бокова роздільна здатність;

λ – довжина хвилі світла, що випромінюється;

n – показник заломлення середовища кріплення (швидкість, з якою світло поширюється через матеріал);

N_A – числова апертура об'єктива.

У конфокальній мікроскопії бічна роздільна здатність визначається виключно довжиною хвилі збудження. Це відрізняється від широкопольної мікроскопії, де бічна роздільна здатність визначається виключно довжиною хвилі випромінювання. Щоб визначити відповідний розмір конфокальної апертури, помножте розмір плями збудження на загальне збільшення мікроскопа [8]:

$$D_{pinhole} = M_{objective} \cdot M_{scan\ head} \cdot Spot\ size. \quad (3.5)$$

Теоретично, загальна роздільна здатність конфокального мікроскопа залежить від розміру плями збудження і розміру апертури детектування. Це означає, що роздільну здатність оптичної системи можна покращити, зменшивши розмір отвору. З практичної точки зору, обмеження діаметра отвору покращує роздільну здатність і конфокальність, але також зменшує кількість сигналу, що потрапляє на детектор.

3.2 Переваги конфокального лазерного мікроскопа

Конфокальна лазерна мікроскопія забезпечує вищу роздільну здатність, ніж звичайна оптична мікроскопія, дозволяє одночасно спостерігати кілька

флуоресценцій і створює чіткі тривимірні зображення. При дослідженні біологічних зразків конфокальна лазерна мікроскопія має такі переваги:

1) безперервне сканування живих клітин, тканин і зрізів клітин дозволяє отримувати детальні тривимірні зображення цитоскелету, хромосом, клітинних органел і систем клітинних мембран;

2). вища контрастність і роздільна здатність, ніж у звичайної флуоресцентної мікроскопії;

3) багатовимірні зображення, такі як 7D зображення сканування, сканування часових рядів, ротаційне сканування, сканування області, спектральне сканування, одночасно зручні для обробки зображень;

4) внутрішньоклітинні іони, флуоресцентне маркування, рН і концентраційні залежності для іонів натрію, кальцію і магнію, одна або декілька міток для виявлення динамічних змін в клітині;

5) флуоресцентне маркування живих клітин або зразків зрізів, маркованих зондами, біологічного матеріалу живих клітин, маркування мембран, імунного матеріалу, імунних реакцій, рецепторів або лігандів, нуклеїнових кислот та інших. нуклеїнових кислот та інших спостережень. Одночасне маркування декількох матеріалів може бути виконано на одному зразку в один і той же час спостереження.

6) Точність, надійність і відтворюваність без шкоди для виявлення клітин. Зображення даних можна виводити за кілька годин і зберігати протягом тривалого часу.

3.3 Візуалізація живих клітин

Однією з головних переваг ЛСМ є можливість зображення живих клітин і тканин. На жаль, деякі побічні продукти флуоресценції можуть бути цитотоксичними. Тому необхідно дотримуватися тонкого балансу між отриманням високоякісних зображень і збереженням життя клітин. Одним з важливих моментів є насичення флуорофорів. Насичення відбувається, коли збільшення потужності

лазера не призводить до одночасного збільшення сигналу флуоресценції. Це відбувається, коли лише 10 % флуоресцентного барвника знаходиться у збудженому стані [9–10].

Фотографія ракових клітин під час поділу зроблена за допомогою конфокального флуоресцентного мікроскопа. Завдяки введенню флуоресцентних маркерів у спеціальний спосіб та використанню декількох світлофільтрів можна спостерігати кілька об'єктів одночасно (рис. 3.3).

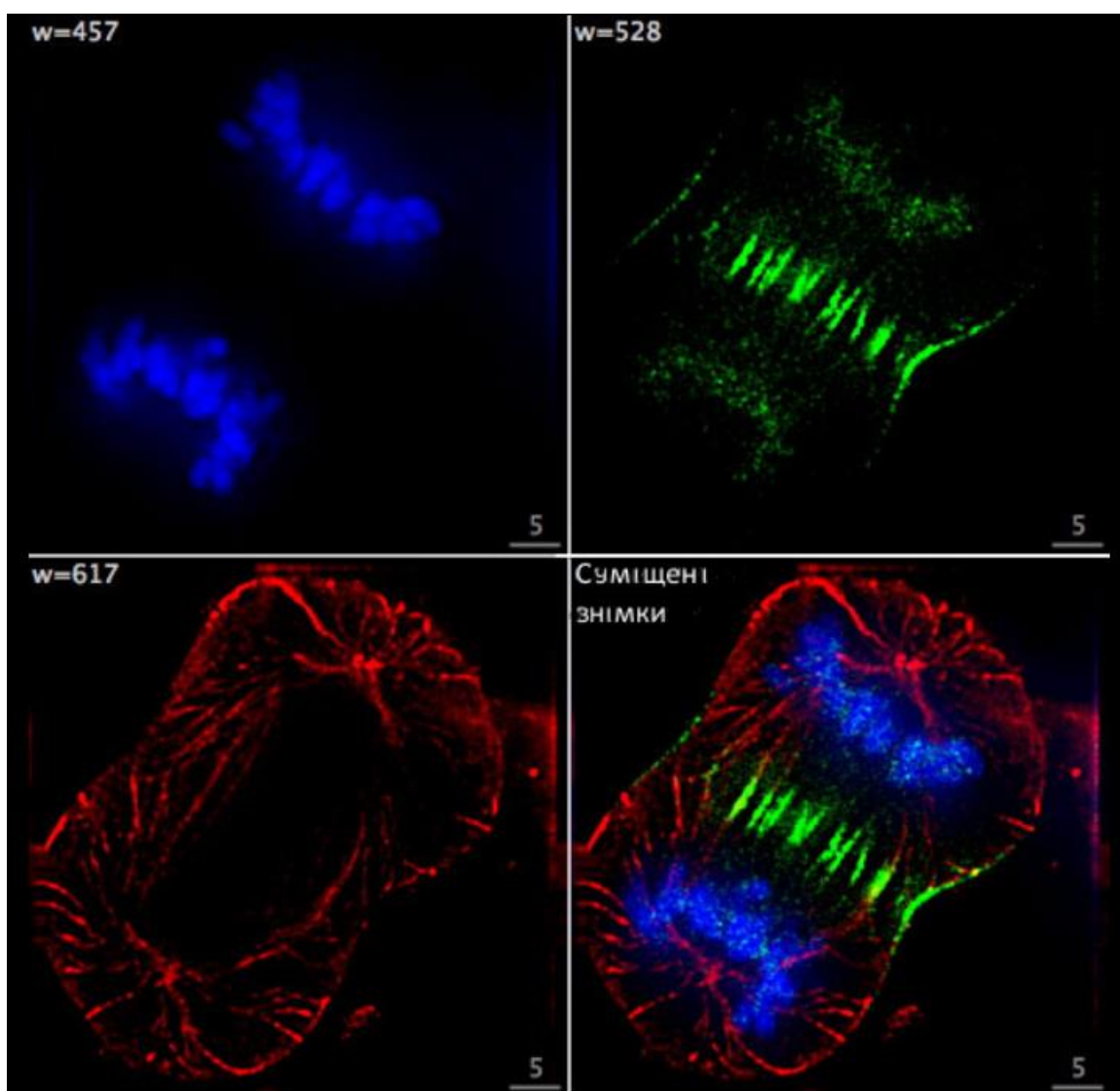


Рисунок 3.3 – Ракові клітини під час поділу

Причиною насичення є час, який потрібен люмінофору для повернення в основний стан після збудження. Хоча шлях флуоресценції є відносно швидким (від кількох сотень пс до кількох нс), це лише один з механізмів релаксації. Перетворення в триплетний стан і безвипромінювальний розпад вимагають набагато більшого часу релаксації. Крім того, повторне збудження до того, як люмінофор повернеться в основний стан, може призвести до незворотного знебарвлення люмінофора. Клітини мають власні внутрішні механізми, щоб впоратися з цитотоксичністю, пов'язаною з флуоресценцією, якщо збудження відбувається повільно.

Одним із способів зменшити фотознебарвлення і пов'язану з ним цитотоксичність є швидке сканування. Якщо зменшити час перебування лазера в певній точці зображення, кількість виявленого сигналу пропорційно зменшиться, але деякі механізми знебарвлення також можна зменшити, якщо дозволити флуорофору повністю повернутися в основний стан до того, як лазер повернеться в цю точку. Якщо максимальна швидкість не є критичною проблемою, можна усереднити кілька рядків або повних кадрів і накопичити втрачений сигнал за допомогою короткого часу інтеграції.

Довші довжини хвиль збудження і здатність багатофотонного ЛСМ до невиродженого детектування дають змогу глибше візуалізувати біологічну тканину. Довші довжини хвиль менш чутливі до розсіювання на зразку через зворотну залежність квадратури ($I \propto 1/\lambda^4$) розсіювання від довжини хвилі. Типова глибина проникнення багатофотонного ЛСМ становить від 250 мкм до 500 мкм, порівняно з ~ 100 мкм для конфокального ЛСМ, а в літературі повідомлялося про візуалізацію на глибину до 1 мм.

3.4 Використання конфокальних лазерних мікроскопів

Конфокальна лазерна мікроскопія в даний час широко використовується в наступних областях досліджень [10]:

а) клітинна біологія: структура клітини, цитоскелет, структура мембран, плинність, рецептори, зміни структури і розподілу органел, апоптоз клітин і т.д.;

б) біохімія: ферменти, нуклеїнові кислоти, рецепторний аналіз і т.д.;

в) фармакологія: вплив ліків на клітини і їх кінетика і т.д.;

г) фізіологія: мембранні рецептори, іонні канали, вміст, розподіл та кінетика іонів тощо;

д) генетика та гістогенетика: наприклад, ріст клітин, диференціація, зміни в процесі дозрівання, тривимірна структура клітин, хромосомний аналіз, експресія генів, генетична діагностика.

ж) нейробіологія: структура нейронів, склад, транспорт і передача нейромедіаторів і т.д.

з) мікробіологія і паразитологія: морфологія і структура бактерій і паразитів і т.д.

к) патологія і клінічні застосування патології: експрес-діагностика біоптатів, діагностика пухлин, аутоімунних захворювань, діагностика захворювань і т.д.

л) біологія, імунологія, екологічна медицина і харчування: імунофлуоресцентне мічення (одинарне, подвійне і потрійне мічення).

Лазери серії ELITE Bioseries спеціально розроблені для біологічного виявлення та аналізу, медичної $M2 \leq 1,2$ з передовою технологією лазерного поля, що охоплює довжини хвиль від ультрафіолетового світла 375 нм до близької інфрачервоне світло 785 нм , ідеально підходить для застосування в лазерній конфокальній мікроскопії [10].

4 ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ЛАЗЕРНОЇ МЕДИЧНІЙ ВІЗУАЛІЗАЦІЇ

4.1 Технічні досягнення в галузі медичній візуалізації

Захоплення метаболічної динаміки цілих і живих біосистем має важливе значення в біомедицині від фундаментальних досліджень до клінічної патології. Безміткова двофотонна автофлуоресцентна (2PAF) візуалізація відновленої форми нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату [NAD(P)H] і флавінаденіндинуклеотиду (FAD) забезпечує неруйнівну, високодозвільну та тривимірну (3D) візуалізацію та характеристику клітинної метабол. Використання двофотонного (2P) збудження візуалізації NAD(P)H було прийнято в основних типах тканин та захворюваннях для неінвазивної оцінки окисного фосфорилування та катаболізму глюкози в живих клітинах. Однак візуалізація NAD(P)H рідко виходить за межі 300 мкм через розсіювання світла та нерізкого фону. У порівнянні з широко поширеною візуалізацією на основі мічених 2P, ця проблема обмеженої глибини проникнення при візуалізації NAD(P)H посилюється двома внутрішніми властивостями автофлуорофору NAD(P)H [11]:

а) поперечний переріз 2P NAD(P)H приблизно на три-чотири порядку нижче, ніж у міток, що зазвичай використовуються;

б) молекулярна структура та енергетичні рівні NAD(P)H вимагають більшого зміщення довжин хвиль збудження в синю сторону порівняно з існуючими маркерами [~ 750 нм для NAD(P)H порівняно з ~ 930 нм для зелених флуоресцентних білків], що призводить до збільшення розсіювання у глибоких тканинах.

Межа глибини візуалізації NAD(P)H може бути розширена до більш ніж 700 мкм, використовуючи живі сконструйовані людські багатоклітинні мікротканини в якості тестових зразків і приймаючи засноване на багатомодовому волокні (MMF) низькочастотне повторення високої пікової потужності 3P збудження NAD(P)H, що дозволяє проводити глибоку та динамічну візуалізацію SLAM (dSLAM). Висока пікова потужність, що перевищує 0,5 МВт в діапазоні 1100 ± 25 нм, була отримана

шляхом адаптивної модуляції поширення нелінійного багатомодового імпульсу за допомогою компактного формувача волокон.

Для створення високопікової потужності та доступного джерела волокна в діапазоні 1100 нм був вибраний стандартний SI MMF з кварцовим сердечником в якості середовища через його відносно велику площу моди та масштабованість потужності та компактний формувач волокна з накладкою в якості пристрою керування через його низьку вартість і простоту використання. Показана схема принципів роботи (рис. 4.1).

Високоенергетичні надкороткі імпульси від лазера накачування (до 350 нДж, 219 фс) на 1030 нм вводилися в SI MMF, де поширення багатомодальних нелінійних імпульсів адаптивно модулювався компактным формувачем волокна, який застосовував контрольований макровигин. Спектрально відфільтрований вихід волокна на 1100 нм направлявся в систему мікроскопії для метаболічної та структурної візуалізації без міток, де сигнал візуалізації використовувався як зворотний зв'язок для управління формувачем волокна [11].

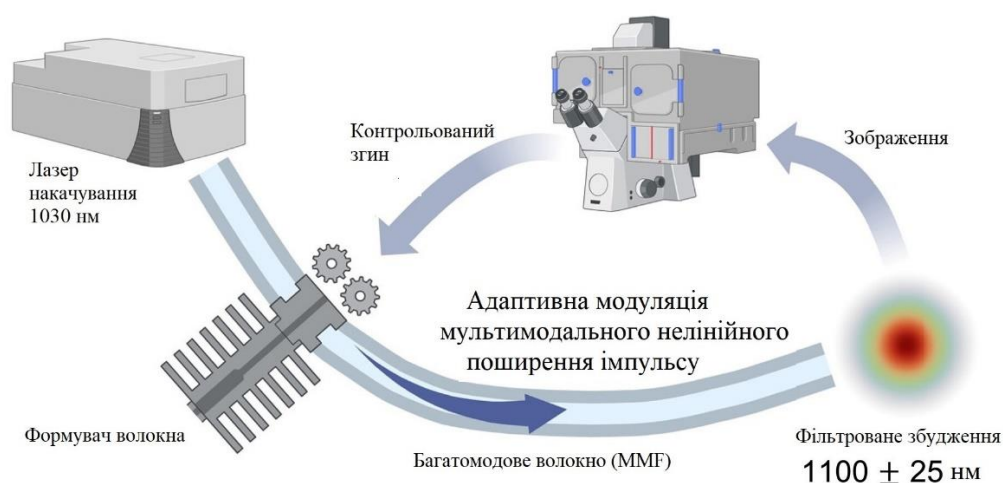


Рисунок 4.1 – SI MMF як компактне, доступне та високоякісне джерело зображень без маркування

Для дослідження обмеження глибини візуалізації NAD(P)H та ефективності використання 1100 нм для розширення межі глибини в роботі виконано автофлуоресцентну візуалізацію NAD(P)H із збудженням 2P при 750 нм та збудженням 3P при 1100 нм. Для порівняння, візуалізація 2PAF NAD(P)H була виконана з використанням шляху сигналу від ОРА при 750 нм, а візуалізація 3PAF NAD(P)H у тому ж місці була виконана з використанням джерела на основі MMF 1100 нм з використанням 3D мікросудинної мережі, з різною енергією імпульсу відповідно до глибини візуалізації. Мікросудинна мережа являє собою сконструйовану людську багатоклітинну мікротканину, що складається з щільної і складної тривимірної мережі, утвореної судинними ендотеліальними клітинами, яка була обрана як тестовий зразок, оскільки судинні ендотеліальні клітини демонстрували стабільні сигнали НАД(Ф)Н на всій глибині 720 мкм (рис.4.2) [11].

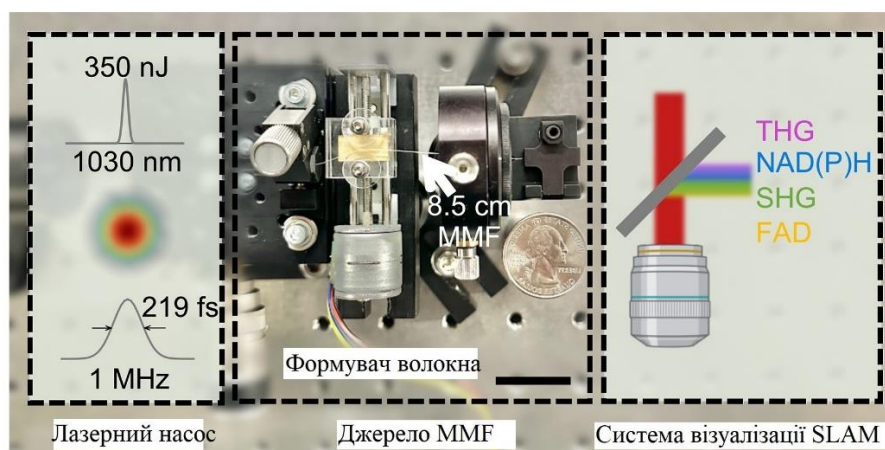


Рисунок 4.2 – SI MMF як компактне, доступне та високоякісне джерело зображень без маркування

На рисунку фотографія (в середині) джерела MMF на основі компактного формувача накладного волокна та її порівняння з четвертаком США, що підкреслює компактність та модульну природу джерела MMF.

У поверхневих шарах ($Z \leq 200$ нм), зображення NAD(P)H, отримані з використанням 2PAF, мають зівставні SNR і роздільну здатність, як і 3PAF з використанням 1100 нм. Однак, оскільки зображення стає глибшим, через не

сфокусований фоновий сигнал, SBR погіршується набагато швидше в 2РАФ. Наприклад, на глибині $Z=600$ нм, SBR 2РАФ впав до 1,12 порівняно з 6,68 для 3РАФ. Низький SBR може призвести до невдачі в ідентифікації клітин $Z=400$ нм та структури (рис.4.3).

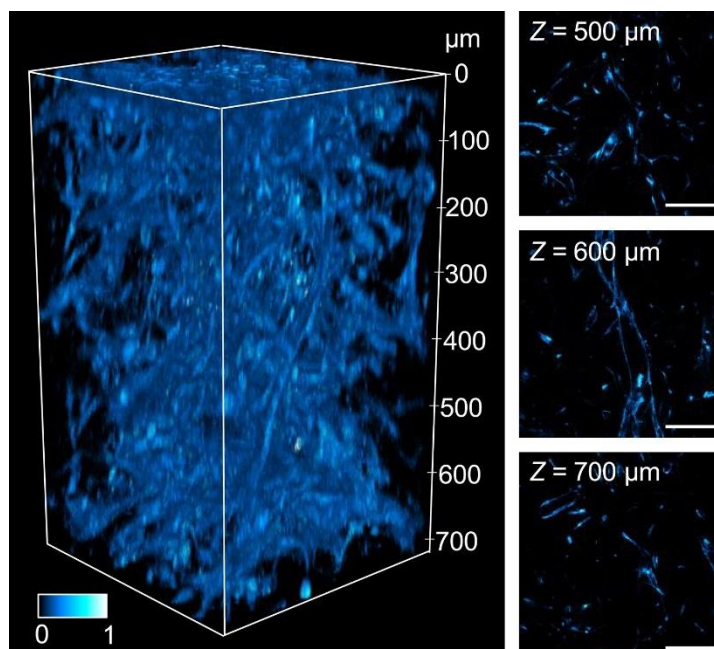


Рисунок 4.3 – Зображення 3РАФ NAD(P)H тривимірної мікросудинної мережі на глибині 720 нм, причому 2D-зображення показані на різних глибинах зображення (кольорова смуга для нормалізованої інтенсивності сигналу)

Була оцінена деградація зображення та згасання сигналу нелінійних процесів 2P та 3P залежно від глибини візуалізації на рисунку 4.4. Було помічено, що істотний внесок у деградацію зображення 2РАФ NAD(P)H вносять переважний фон і розмиті високочастотні деталі в просторовій області зрізу 2D-зображення, що відповідає домінуванню низькочастотної зони, що суттєво зросло, і зменшенню покриття високочастотної зони в частотній області, як показано спектром перетворення Фур'є, показане на вставках рисунку 4.4. Також вирахували та побудували ширину спектра перетворення Фур'є. 3D Відкривається у засобі перегляду зображень з різних глибин. У міру збільшення глибини візуалізації

деградація роздільної здатності відбувається набагато швидше у схемі збудження 2P 750 нм [11].

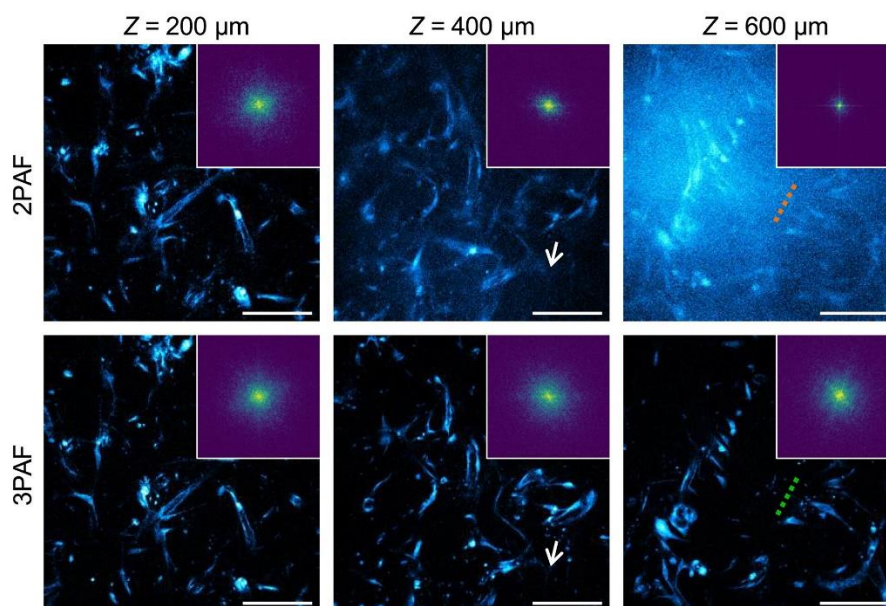


Рисунок 4.4 – Порівняння зображень 2PAF та 3PAF NAD(P)H неушкодженої 3D мікросудинної мережі на різних глибинах із застосуванням ідентичних налаштувань контрастності для зображень 2PAF та 3PAF на одній і тій самій глибині

Ці дослідження показують, що для візуалізації NAD(P)H у глибоких тканинах потрібне збудження 3P з піковою потужністю 1100 нм для отримання зображень з високою роздільною здатністю та високою контрастністю по всій глибині тривимірної мікросудинної мережі, що підкреслює потенціал dSLAM для глибокої та динамічної метаболічної візуалізації (рис. 4.5).

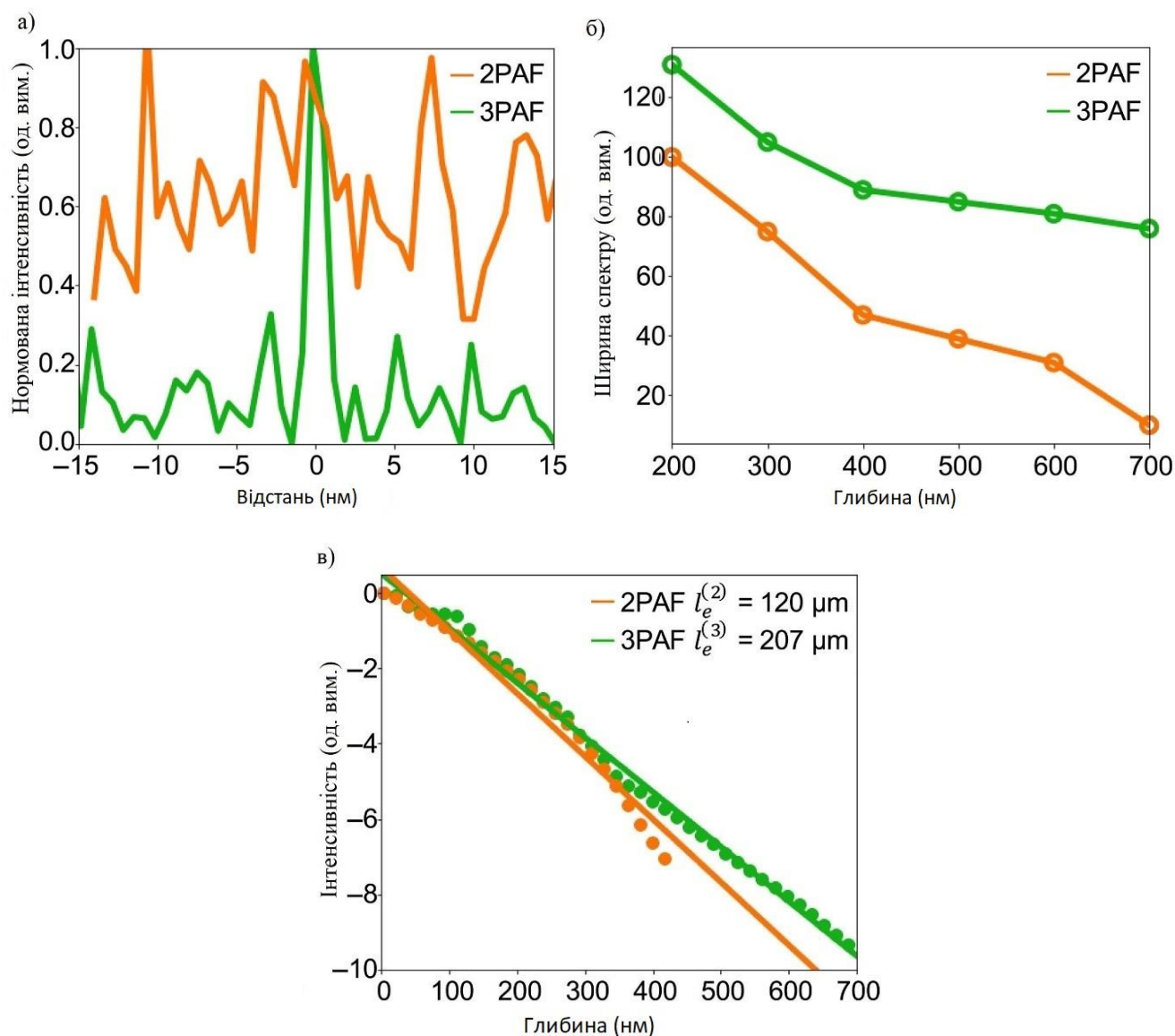


Рисунок 4.5 – Динамічна метаболічна візуалізація: а) нормалізовані профілі інтенсивності вздовж суміщених ліній на рис. 4.4; б) ширина величини перетворення Фурье на різних глибинах у зображеннях 2PAF і 3PAF NAD(P)H; в) Інтенсивність сигналу 2PAF і 3PAF як функція глибини зображення, виміряна в тому ж місці рис.4.3

4.2. Технічні досягнення в галузі конфокальної мікроскопії

Хоча більшість конфокальних мікроскопів заснована на принципі Мінська, було зроблено кілька удосконалень для покращення їхньої функціональності. Діскові та конфокальні мікроскопи, що обертаються, з розгорткою поля, а також

резонансні скануючі дзеркала збільшують швидкість отримання конфокальних даних (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Порівняння конфокальних методів

№	Принцип	Переваги	Недоліки
Лазерна скануюча конфокальна мікроскопія (ЛСКМ)	Відхиляє нефокусоване світло через точковий отвір	Дифракційно-обмежений дозвіл, універсальність, оптичне секціонування	Фототоксичність, низька швидкість, аксіальний дозвіл на глибині
Конфокальна мікроскопія з диском, що обертається (SDCM)	Висвітлення за допомогою кількох отворів	Дозвіл, обмежений дифракцією, оптичне секціонування, швидше, ніж ЛСКМ	Перехресні перешкоди від точкових отворів, артефакти від синхронізації диска та камери, фіксований розмір точкових отворів, фототоксичність
Повторне сканування конфокальної мікроскопії (RCM)	Повторно сканує шлях випромінювання на камеру з великим кутом сканування	$\sqrt{2}$ покращена роздільна здатність, може бути доданий до більшості підстав мікроскопа	Повільне фотознебарвлення
AiryScan	32 детектори діють як система дуже маленьких отворів	Дозвіл по осях x, y та z покращено в 1,7 рази	Час обробки, потрібний у 32 рази більше даних, ніж при ЛСКМ, фототоксичність
Конфокальна мікроскопія зі стрічковим скануванням	Резонансні сканери із прецизійним столиком для отримання смуг зображень	Збільшена швидкість під час роботи з дуже великими зразками	Фотознебарвлення, час обробки
Резонансна скануюча конфокальна мікроскопія	Швидкі дзеркала швидко переміщують промінь по полю зору.	Збільшена швидкість	Нижче відношення сигнал/шум при надкороткому часі затримки, вирівнювання для двонаправленого сканування
Конфокальна мікроскопія з розгорнутим полем (SFC)	Дзеркала проектують зображення освітлених отворів на зразок	Збільшена швидкість	Перехресні перешкоди від точкових отворів, фототоксичність

Однак, оскільки швидкість є історично обмежуючим фактором для конфокальної мікроскопії, збільшення швидкості збору даних, як і раніше, залишається в центрі уваги технічних удосконалень. Однією з останніх

конфігурацій є стрічковий конфокальний скануючий мікроскоп. Він функціонує за рахунок використання резонансних сканерів та високоточного x, y-столика для безперервного отримання смуг по всьому зразку, що зшиваються разом. Основною перевагою цієї системи є швидкість, з якою можна отримувати багатосіткові зображення високої роздільної здатності. Для великих фіксованих зразків ця технологія скорочує час збирання даних для 3D-стеків.

Як і у випадку з будь-якою технікою мікроскопії за останнє десятиліття, спостерігається прагнення підвищення дозволу для можливості візуалізації дедалі дрібніших об'єктів. В області конфокальної мікроскопії технологія Airyscan забезпечує в 1,7 рази більшу роздільну здатність по осях x, y і z. Airyscan має 32-канальну матрицю детекторів із гексагональною матрицею мікролінз, які діють як система дуже маленьких отворів. У цій системі основне покращення полягає у відношенні сигнал/шум за допомогою перепризначення пікселів та підсумовування зібраних зображень з усіх детекторів. Конфокальний мікроскоп повторного сканування (RCM) - це нещодавно випущена на ринок конфокальна технологія, яка покращує латеральну роздільну здатність на 1,4 ($\sqrt{2}$). RCM включає блок повторного сканування, що складається з пари дзеркал повторного сканування між пінхолом і детектором, що дозволяє розділити збільшення об'єкта і скануючої плями. У цій системі дзеркала повторного сканування можуть бути налаштовані на подвоєння кутової амплітуди перед направленням світла на детектор CCD або sCMOS, що збільшує розмір сканування та видиму відстань між плямами. Тут бічна роздільна здатність не залежить від пінхолу, але аксіальна роздільна здатність така ж, як у стандартному LSCM.

Airyscanning – це метод, заснований на конфокальній лазерній скануючій мікроскопії. Ми представляємо концепцію детектора, яка радикально покращує сигнал, використовуючи світло, яке інакше відхиляється конфокальним отвором. Збільшене відношення сигнал/шум може використовуватися для отримання інформації з високою роздільною здатністю [12].

Як детекторний елемент Airyscan використовується матриця точкових детекторів. Це має перевагу у вигляді швидкого часу зчитування та дуже низького

темного шуму. Центральний елемент детектора лежатиме на оптичній осі та, отже, створювати класичне конфокальне зображення самостійно. Інші елементи детектора зміщені щодо оптичної осі. Кожен елемент детектора, якщо він досить малий за розміром, можна розглядати як окремий отвір. Щодо точкового випромінювача, який відображається, його бічна PSF виявлення буде, отже, скануватися (рис. 4.6). Оскільки елементи детектора зміщені щодо оптичної осі, те саме буде відбуватися і із записаними PSF елементів. Тому кожен елемент детектора є окремою фазою зображення. У результат кожного елемента детектора буде реєструватися все зображення в міру сканування об'єкта. Окремі записані зображення також будуть просторовими зміщені щодо один одного. Чим більше зміщення елемента детектора (або ФРТ виявлення) від оптичної осі, тим вже буде ширина ефективної ФРТ [12].

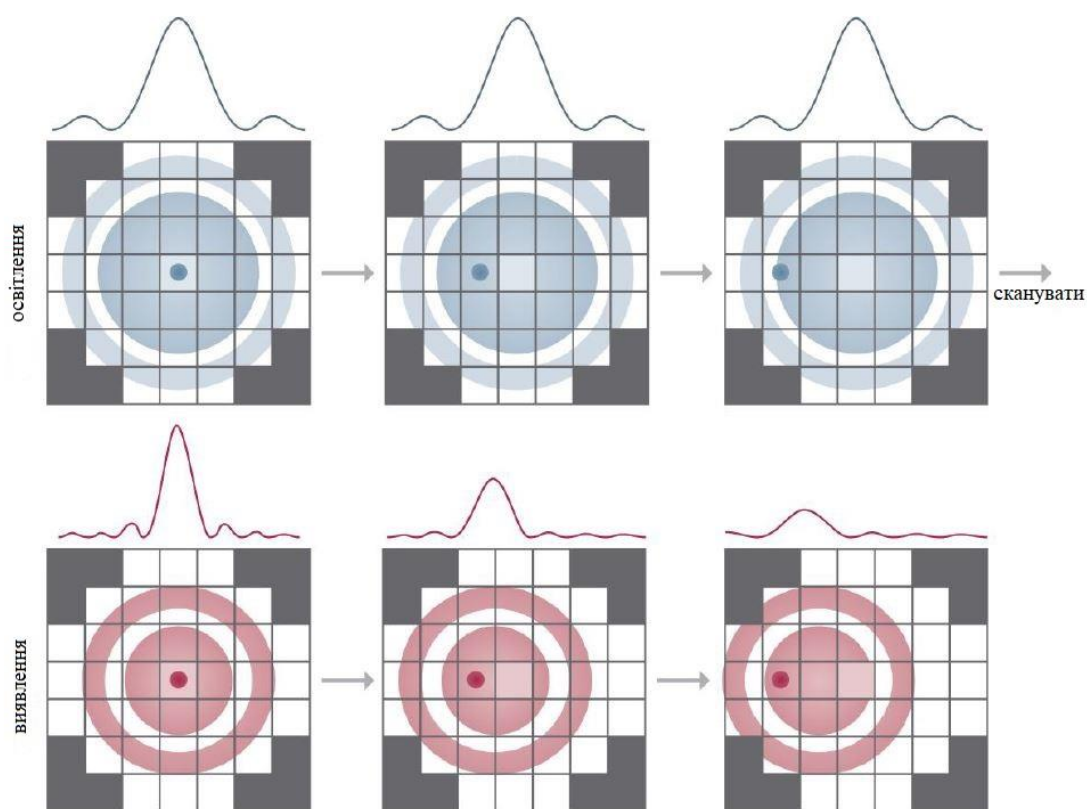


Рисунок 4.6 – Сканування Ейрі

Точкове джерело (темна точка), розташоване в площині об'єкта, збуджується лазерним променем з ймовірністю, пропорційно розподілу інтенсивності PSF

освітлення (синій; верхня панель). Оскільки кожен елемент детектора залишається фіксованим на осі освітлення (позначеної затіненим центральним квадратом), об'єкт переміщатиметься щодо детектора в міру сканування променя. В результаті локалізація точкового джерела в площині зображення зміститься приблизно половину відстані порівняно зі зміщенням елемента детектора. Що далі елемент детектора, то менше буде амплітуда його ефективного виявлення PS.

AiryScan складається з масиву детекторів з 32 елементів, які розташовані у вигляді складного ока, що забезпечує високу гнучкість для режиму візуалізації (рис. 4.7).

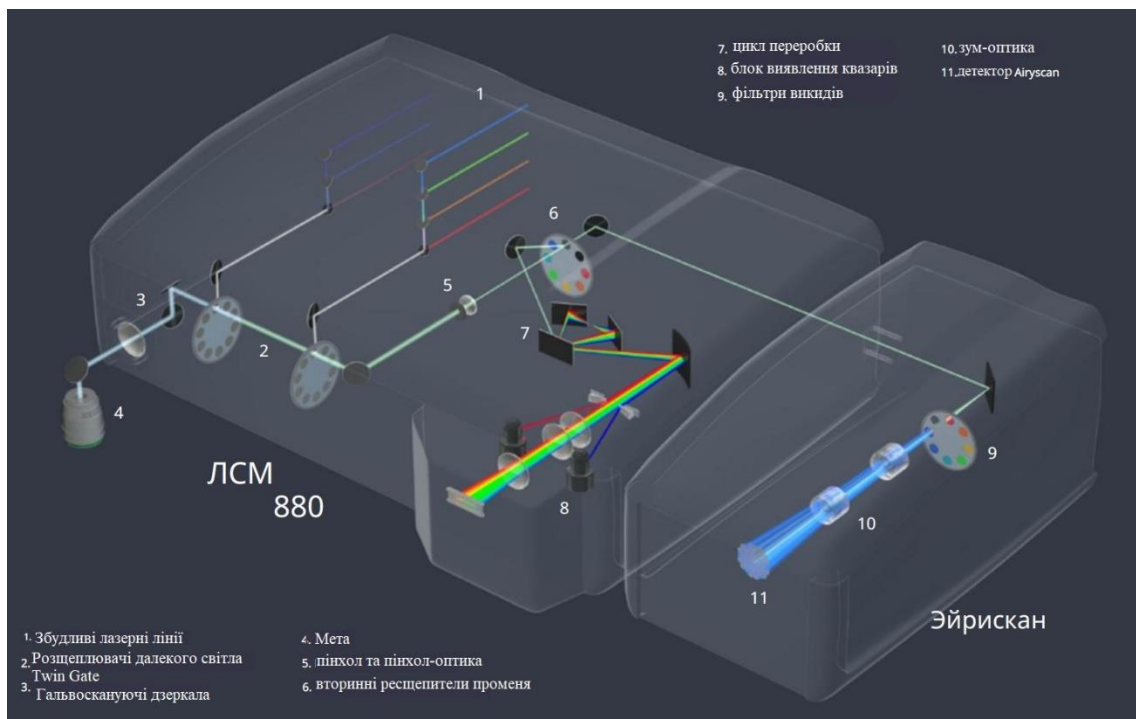


Рисунок 4.7 – Пристрій AiryScan підключений до Zeiss LSM 880

По-перше, AiryScan може використовуватись у «стандартному режимі», де сигнали, зібрані окремими елементами детектора, сумуються, і AiryScan функціонує як стандартний детектор GaAsP з роздільною здатністю, регульованим фізичним отвором LSM 880. По-друге, його можна налаштувати для роботи у «віртуальному режимі отвору», де 4 AU відображаються на масиві детекторів. Після отримання можна вибрати та об'єднати. Це означає, що відповідні елементи

детектора для отримання зображень між 1 і 4 AU і таким чином можна обміняти чутливість на дозвіл та навпаки. По-третє, можна отримати зображення 1,25 AU на матриці детектора та за допомогою належної передискретизації запустити детектор у режимі наддозвіл (SR). У цьому режимі можливе покращення дозволу в усіх просторових напрямках у 1,7 раза [12].

По суті, Airyscan пропонує безліч переваг, розширюючи можливості конфокального лазерного скануючого мікроскопа.

ВИСНОВКИ

Метою кваліфікаційної роботи було дослідження фізико-математичних основ, конструкцій та застосування технологій та систем сучасних методів медичної лазерної візуалізації.

У роботі було проаналізовано теоретичні основи лазерної візуалізації.

Також розглянула два методи лазерної візуалізації, а саме 3D лазерне сканування та конфокальна лазерна скануюча мікроскопія.

3D-лазерне сканування використовується для створення деталей тривимірних моделей великих анатомічних структур, таких як скелети, органи та зуби. Це особливо важливо для хірургічного планування, протезування та діагностики.

Конфокальна лазерна мікроскопія дозволяє аналізувати тканини та клітини на мікроскопічному рівні. Вона може проаналізувати кровообіг у судинах чи виявити мікроструктурні зміни у тканинах.

Аналізування перспективних технологій медичної лазерної візуалізації.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Курський Ю. С. Дослідження параметрів лазерного випромінювання. Радіоелектроніка та молодь у ХХІ столітті: матер. міжнар. молод. фор. 16–18 квітня 2019 р. Харків: ХНУРЕ, 2019. С. 264–265.
2. Preim B., Bartz D. Visualization in Medicine, Morgan Kaufmann, Burlington, 2007. Amsterdam: Elsevier, 2007. 680 p.
3. Мамута.О.Д. Застосування імпульсного лазерного випромінювання фемтосекундної тривалості для діагностики біологічних тканин та ідентифікації патологічних утворень: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.03.07. Київ: КПІ, 2017. 157с.
4. Preim B., Baer A., Cunningham D., Isenberg T., Ropinski T. A survey of perceptually motivated 3D visualization of medical image data. // Computer Graphics Forum. Vol. 2016. 35. No. 3. P. 501–525.
5. Ljung P., Krüger J., Groller E., Hadwiger M., et al. State of the art in transfer functions for direct volume rendering // Computer Graphics Forum. 2016. Vol. 35. No. 3. P. 669–691.
6. Романюк О. Н. Захарчук М. Д. Коробейнікова Т. І. Використання тривимірної графіки у медичній галузі: матеріали молодіжної науково-практичної інтернет-конференції студентів аспірантів та молодих науковців «Молодь в науці: дослідження, проблеми, перспективи (МН-2020)»: збірник матеріалів. Вінниця: ВНТУ, 2021. 3 с.
7. Portable 3D Scanner and 3D Software. URL: <https://www.3devok.com/products/ireal-2e-3d-scanner/> (дата звернення 10.11.2024р.)
8. Герус А.М. Конфокальна лазерна скануюча мікроскопія. Харків: НТК Радіоелектроніка у ХХІ столітті. 2016. 4с.
9. Confocal-microscopy-operating principles-examples-research. URL: <https://rumex.ru/information/konfokalnaya-mikroskopiya-princip-deystviya-primery-issledovaniya-351/> (дата звернення 15.10.2024р.).

10. Amicia D. Confocal Microscopy: Principles and Modern Practices
URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6961134/> (дата звернення
20.10.2024р.).

11. Deep and dynamic metabolic and structural imaging in living tissues
URL: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.adp2438> (дата звернення
11.12.2024р.).

12. Klaus Weisshart. The Basic Principle of Airyscanning // Technology Note.
2014. 22 с.