

07

Возможность использования метода голографической интерференционной микроскопии для исследования живых фазовых объектов

© В.А. Бабенко, В.Б. Константинов, А.Ф. Малый

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, С.-Петербург
E-mail: V.Konstantinov@mail.ioffe.ru

Поступило в Редакцию 2 ноября 2006 г.

Рассмотрена возможность использования методов голографической интерферометрии для исследования эритроцитов крови человека в живом виде.

PACS: 42.40.Kw, 81.71.Fy

Воздействие на биологические системы повреждающих факторов и патологий внешней и внутренней среды приводит к изменению свойств мембран эритроцитов. Состояние мембран эритроцитов отражается на изменении формы эритроцитов.

Кровь в организме человека является одной из важнейших систем поддержания гомеостаза организма. Исследование состояния клеток крови, и в первую очередь эритроцитов, представляет научный и медицинский интерес. Исследование эритроцитов затруднено тем, что они практически не изменяют интенсивность проходящего через них излучения и остаются невидимыми при обычных методах микроскопии. Эритроциты здорового человека представляют собой микрообъекты размером $7-8\ \mu\text{m}$ в диаметре и максимальной толщиной около $2\ \mu\text{m}$. Для визуализации таких микрообъектов в медицине применяют окрашивание препарата, но это приводит к нарушению жизнеспособности клеток и изменению их свойств. Такой метод визуализации не позволяет оценить трехмерные изображения микрообъектов. Электронная микроскопия позволяет реконструировать трехмерные изображения специальным образом подготовленных (фиксация, металлизация и т.п.) фазовых микрообъектов. Недостатком упомянутых методов является то, что воздействие производится на сам микрообъект. Другим способом

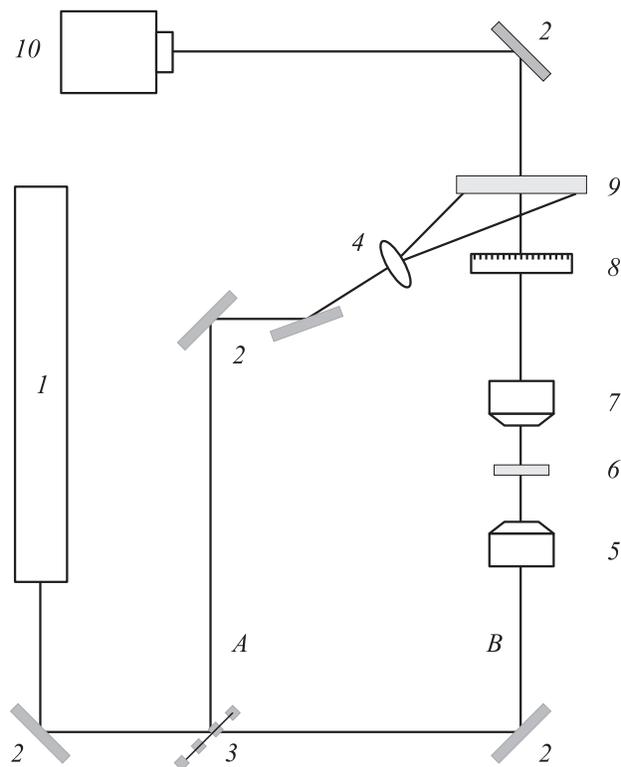


Рис. 1. Оптическая схема голографического микроскопа: 1 — лазер, 2 — зеркала, 3 — светоделитель, 4 — микролинза, 5–7 — оптическая система микроскопа, 6 — объект, 8 — матовое стекло, 9 — фототермопластический носитель, 10 — телевизионная камера, A — опорный пучок, B — объектный пучок.

является способ воздействия на прошедшую через него волну. В микроскопии для визуализации фазовых микрообъектов применяют метод фазового контраста Цернике и интерферометрию. Эти методы обладают существенными недостатками, в частности низким контрастом изображений при использовании метода Цернике и трудностью создания двух

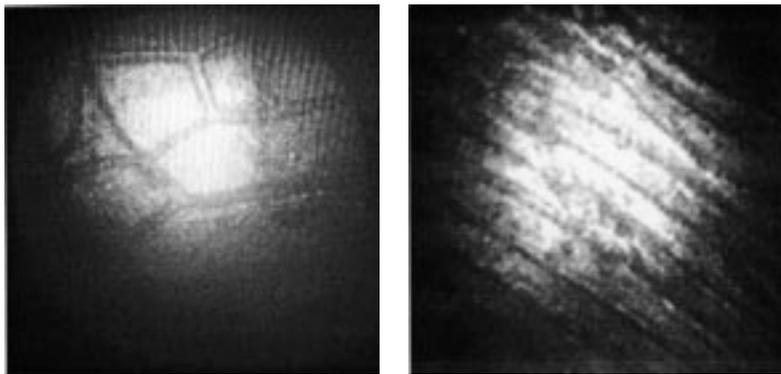


Рис. 2. Фотографии голограмм клеток лука.

идентичных волновых фронтов в интерферометрии. В ГИРВ записанная и восстановленная волна является точной копией исходной волны.

Голографическая интерференционная микроскопия позволяет исследовать фазовые микрообъекты в реальном времени и реконструировать их трехмерные изображения, наблюдать динамику изменения формы микрообъектов под влиянием различных воздействий внешней и внутренней среды [1].

Голографическая интерферометрия обеспечивает количественный анализ принципиально новых параметров клеток без воздействия на образец. По критерию Рэля определяется предел разрешения при оценке линейных характеристик объекта, а фазовый сдвиг определяется трехмерными характеристиками распределения показателя преломления внутри клетки [2]. Анализ изменений, происходящих в исследуемом прозрачном в оптическом диапазоне объекте, может быть осуществлен с помощью голографического интерферометра — коррелятора [3].

В работе исследовалась возможность голографической микроинтерферометрии для воссоздания трехмерных изображений эритроцитов крови. Было проведено тестирование микрообъектов — эпидермиса чешуи клеток лука. Для проведения исследований выбор такого тест-объекта объясняется такими параметрами, как прозрачность, толщина пленки. Голографический микроскоп позволяет после записи микрообъекта на голограмму просматривать увеличенное изображение последовательно по глубине и полю.

Оптическая схема устройства показана на рис. 1. Свет от лазера (1) после зеркала (2) светоделителем (3) делится на опорный пучок *A*, формируемый микролинзой (4), и объектный пучок *B*, который проходит через оптическую систему стандартного микроскопа (5–7), освещая объект (6). После матового стекла (8) свет от объекта попадает на регистратор (9). Восстановленное изображение объекта можно наблюдать с помощью CCD-камеры (10). Получены голограммы чешуи лука (рис. 2). По частоте интерференционных полос можно оценить оптические неоднородности клетки, вызванные неравномерностью показателя преломления.

Показано, что использование голографической интерферометрии позволяет наблюдать объекты микронных размеров.

Авторы выражают благодарность В.М. Левушкину за участие в постановке работы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 06-08-00219.

Список литературы

- [1] Гинзбург В.Н., Степанов Б.М. Голографические измерения. М.: Радио и связь, 1981. 296 с.
- [2] Ганжерли Н.М., Гуревич С.Б., Катушкина Н.В., Константинов В.Б. и др. // Применение методов оптической обработки изображений. Л., 1985. С. 88–90.
- [3] Бабенко В.А., Гуревич С.Б., Константинов В.Б., Левушкин В.М., Малый А.Ф. // Письма в ЖТФ. 2003. Т. 29. Вып. 12. С. 83–88.