

Раздел I. Фундаментальные основы медицинского приборостроения

УДК 615.478

Д.С. Алексеев

БИОТЕХНИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИЛИАРНОГО АППАРАТА: ПУТИ РАЗВИТИЯ

Рассматриваются возможные пути развития систем исследования двигательной активности цилиарного аппарата вне видимого диапазона света. Приведена специфика цилиарного аппарата как объекта исследования. Рассмотрены пути построения подходящего источника зондирующего излучения в мягком рентгеновском диапазоне «водяного окна».

Биотехнические системы; двигательная активность цилиарного аппарата; «водяное окно».

D.S. Alekseev

BIOTECHNICAL SYSTEMS EXAMINING THE CILIARY ACTIVITY: WAYS OF DEVELOPMENT

The possible ways of development of systems examining the ciliary activity outside the visible range of light are considered. The specificity of the ciliary apparatus as an object of study is shown. The ways of constructing a suitable source of probing radiation in the soft X-ray "water window" range are considered.

Biotechnical systems; ciliary activity; "water window".

Последние десятилетия наблюдается всплеск публикаций по исследованию двигательной активности цилиарного аппарата. Это обусловлено успехами развития видеотехники, давшими пригодный поток данных, и компьютеров, способных анализировать этот поток в реальном масштабе времени. Однако прогресс быстро столкнулся в старые границы – в пределы применимости световой микроскопии.

Толщина реснички цилиарного аппарата на порядок меньше длины волны видимого света. Поэтому, как и раньше, вместо реснички в световом микроскопе в действительности видны некие тени. Это не даёт возможности полноценного изучения движения реснички. При исследовании биения ресничек, как правило, единственный параметр, определяемый до сих пор, – это частота биений ресничек, определяемая при помощи фурье-анализа видеопотока. Выход за пределы применимости светового микроскопа дал бы возможность исследовать множество иных диагностически значимых параметров двигательной активности цилиарного аппарата, недоступных на современном уровне медицинской техники. Менее доступные, но более разрешающие приборы – это электронные микроскопы; они позволили получить ряд важнейших научных результатов, в том числе информацию о структуре ресничек, но они работают в вакууме на неживых образцах, и изучение движения живых ресничек всё так же не доступно.

Для прорыва в построении биотехнических систем исследования двигательной активности ресничек требуется техника, обеспечивающая исследование живо-

го препарата и разрешающую способность не хуже десятков нанометров, то есть на порядок меньше диаметра реснички (250 нанометров), а изучаемым объектом является таким образом биологический нанообъект.

Итак, возможности прорыва следует искать в области нанотехнологий.

Специфика. Уменьшение длины волны ниже ближнего ультрафиолета невозможно, потому что начинается полоса фундаментального поглощения, которая простирается вплоть до рентгеновского диапазона, объект трудно просвечивается.

Рентгеновское окно прозрачности для тонких образцов начинается уже в районе мягкого рентгеновского диапазона порядка 1 кэВ и даже менее. Это соответствует длинам волн порядка единиц нанометра, так что проблема ограничения разрешающей способности длиной волны в первом приближении снимается, и разрешающая способность ограничивается иными проблемами рентгенотехники.

Биотехническая система для исследования двигательной активности цилиарного аппарата в таком случае включает источник излучения ближнего рентгеновского диапазона, рентгеночувствительную видеокамеру, лабораторный световой микроскоп, видеокамеру видимого диапазона, блок термостатирования, компьютер с платой видеозахвата, программное обеспечение, реализующее процедуру анализа параметров двигательной активности цилиарного аппарата и технологическую цепочку подготовки препаратов.

С точки зрения наибольшей контрастности изучение биологических нанообъектов следует проводить в мягком рентгеновском диапазоне в «рентгеновском водяном окне» между К-скачком поглощения углерода (280 эВ, что соответствует длине волны 4,4 нм = 44 Å) и К-скачком кислорода (540 эВ – 23 Å). Это объясняется тем, что основным поглощающим элементом реснички являются атомы углерода, а поглощающим элементом перичилиарной жидкости, в которой реснички осуществляют биения и состав которой мало отличается от воды, является кислород (рис.1).

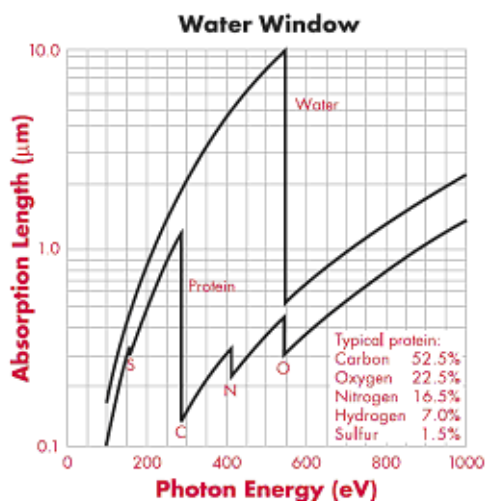


Рис. 1. Спектры пропускания воды и белка в мягком рентгеновском диапазоне («рентгеновское водяное окно») [1]

По обе стороны «водяного окна» характеристики ослабления излучения по кислороду и углероду очень близки ввиду близости атомных номеров, и следует ожидать низкой контрастности изображения ресничек, зато внутри окна массовый

коэффициент поглощения углерода на порядок больше, чем у кислорода. То есть требуется источник излучения в диапазоне 300 – 500 эВ. В данном диапазоне излучение поддается фокусированию при помощи зонных пластинок (проблема – ахроматизация) или при помощи сферического зеркала, а поглощение в объекте таково, что исследуемые образцы должны иметь толщину порядка микрометра, поскольку длина ослабления в воде в данном диапазоне составляет единицы мкм. Кроме того, препарат должен находиться между двумя слоями лавсановой плёнки толщиной не более 1 мкм с покрытием, которые дают сравнительно небольшое ослабление в мягком рентгеновском диапазоне и прозрачны также в видимом свете, что даёт возможность предварительного исследования в световом микроскопе. Предложение исследования биологических объектов в «водяном окне» появилось в 1991 г. [2].

Идеальное объектное поле зрения можно представить в виде прямоугольника размером 20 x 15 мкм, разделенного на матрицу 800 x 600 элементов размером 25 x 25 нм.

Пути построения источника

1) Наиболее экономичным путём может представляться разработка специальной трубки низкого напряжения под нужный диапазон напряжений со сравнительно большим, но всё же в разумной степени микрофокусным пятном и последующим фокусированием при помощи зеркала или зонной пластинки. ФИАН делает такие зеркала с радиусом кривизны более 20 мм, диаметром от 20 до 55 мм под длину волны 32 Å (характеристическая линия азота) с отражением 3,3 % и под 45 Å (характеристическая линия углерода) с отражением 14 %.

2) Несколько более сложный вариант – разработка источника под нужный диапазон с наноразмерным пятном на основе технологий электронной оптики, применяемых в сканирующем электронном микроскопе. Источник в таком случае изготавливается на основе электронного микроскопа.

3) Наконец, ещё один вариант предполагает использование ускорителя электронов и ондулятора / вигглера.

В литературе описана лабораторная установка, решающая близкую задачу. В ней в качестве рентгеновской оптики применен объектив Шварцшильда, который состоит из двух концентрических сферических зеркал. В установке такой объектив был реализован на диапазон 200 Å, с увеличением в 26 раз. Анализ [3] показал, что достижимо разрешение 0,2-0,3 мкм на объекте. Описана работающая установка с этим объективом с таким разрешением [4].

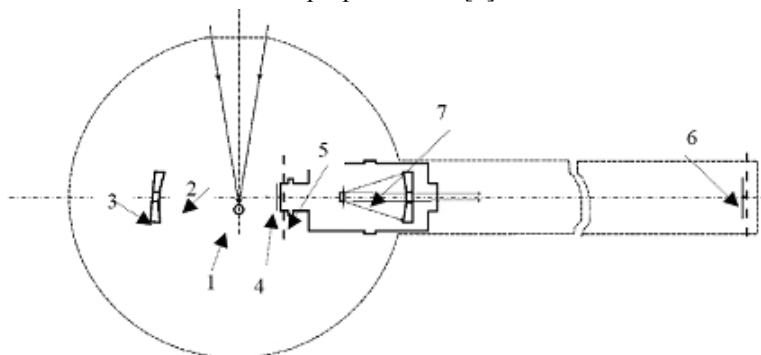


Рис. 2. Схема рентгеновского микроскопа: 1 – массивная мишень из вольфрама, 2 – лазерная плазма, 3 – конденсор, 4 – алюминиевые фильтры, 5 – тест-объект, 6 – фотопленка, 7 – объектив Шварцшильда

Модификация установки в принципе даёт возможность исследования движения ресничек не в вакууме, если переделать её на диапазон водяного окна (3 нм) и поставить вместо фотоаппарата рентгеновскую видеокамеру. И вероятно, для того, чтобы что-то увидеть, потребуется более мощный источник на основе ускорителя.

Объектив Шварцшильда доступен как закупочный компонент [5]. В объективе используются зеркала диаметром 50 и 10 мм; при заявляемом отражении 3,3 % полезное пропускание на двух поверхностях составит лишь порядка 0,1 % [6].

Рентгеновская видеокамера – например, Hamamatsu C8000-20 (без просветляющего покрытия) с диапазоном 300 эВ – 10 кэВ, дающая 30 кадров в секунду в прогрессивной развёртке разложением 640 x 480 [7].

Идеальное объектное поле зрения для исследования двигательной активности цилиарного аппарата можно представить в виде прямоугольника размером 20 x 15 мкм, разделенного на матрицу 800 x 600 элементов размером 25 x 25 нм.

Размер пикселя у камеры Hamamatsu C8000-20 составляет 14 мкм, т.е. требуется обеспечить рентгеновское увеличение объектива Шварцшильда примерно в 100 раз.

Заключение

Разработка технологии и изготовление описываемого комплекса даст возможность с помощью освещения в мягком рентгеновском диапазоне получить качественное изображение цилиарного аппарата в движении и исследовать недоступные ранее диагностически важные параметры двигательной активности ресничек. Кроме прорыва в области исследования ресничек, разработка может найти применение в иных областях нанотехнологий. Это в первую очередь биомедицина, биотехнические системы, включающие биообъекты в водной среде.

Благодарю д.т.н., проф. Е.П. Попечителя за поддержку этой работы и д.т.н., проф. Н.Н. Потрахова за дельное обсуждение и ценные замечания.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Soft X-Ray Microscopy // Princeton Instruments. <http://www.piacton.com/xray/microscopy.aspx>.
2. Walker, A.B.C., Jr.; Hoover, R.B.; Baker, P.C.; Barbee, T.W., Jr.; Shealy, D.L. X-ray microscopy in the water window. Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, 1991., Conference Record of the 1991 IEEE, 2-9 Nov. 1991 P. 1907 – 1911 vol. 3 <http://ieeexplore.ieee.org/search/wrapper.jsp?arnumber=259247>.
3. Малютин А.А. Анализ применения объектива Шварцшильда в мягкой рентгеновской и ВУФ областях спектра // КЭ. – 24. – №2 (1997), – С. 187.
4. Андреев А.В., Асадчиков В.Е., Артюков И.А., Бузмаков А.В., Виноградов А.В., Дудчик Ю.И., Зрюев В.Н., Касьянов Ю.С., Кольчевский Н.Н., Комаров Ф.Ф., Кондратенко В.В., Мчедлишвили Б.В., Пономарев Ю.В., Попов А.В., Постнов А.А., Савельев С.В., Сенин Р.А., Сулоев И.В. Рентгеномикроскопические методы в исследовании трековых мембран и биологических объектов // Критические технологии. Мембраны. – 2005. – №3 (27). – С. 17.
5. Объектив Шварцшильда для мягкого рентгеновского диапазона. http://sites.lebedev.ru/LRO/show.php?page_id=664.
6. Многослойные зеркала для мягкого рентгеновского диапазона. http://sites.lebedev.ru/LRO/show.php?page_id=663.
7. Back-thinned CCD Video Camera C8000-20 Data Sheet // Hamamatsu Photonics K.K., Systems Division: <http://sales.hamamatsu.com/assets/pdf/hpspdf/C8000-20.pdf>.

Алексеев Дмитрий Станиславович

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ»,
Научно-производственная компания «Азимут».

E-mail: alekseev@azimut.spb.ru.

195223, г. Санкт-Петербург, ул. Курчатова, 10, тел.: (812)5526738.

Кафедра биомедицинской электроники и охраны среды, аспирант.

Alekseev Dmitry Stanislavovich

Saint-Petersburg state electrotechnical university «LETI», Scientific and Manufacturing Company “Azimut”.

E-mail: alekseev@azimut.spb.ru.

10, Kurchatova, Saint-Petersburg, 195223, Russia, Phone: (812)5526738.

Department of Biomedical Electronics and Ambience Protection, post-graduate student.

УДК 616.8-072.7(035)

О.С. Борисова, И.Б. Старченко

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЛИНЕЙНОЙ ДИНАМИКИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА

В статье рассматривается модель сигналов, состоящая из восьми дифференциальных уравнений, которые описывают поведение системы (электрическую активность мозга). Исследуются приступоподобные состояния. Установлено, какие параметры влияют на наступление приступоподобных осцилляций в динамике. Изменения этих параметров учтены в модели. Построены аттракторы системы для различных состояний (перед приступом, во время приступа и после него). Выполнено сравнение этих показателей.

Электроэнцефалограмма; приступ; модель; потенциал; аттрактор.

O.S. Borisova, I.B. Starchenko

MODELING OF CHARACTERISTICS OF NONLINEAR DYNAMICS OF CORTEX ELECTRICAL ACTIVITY

In the article is considered signal simulation, which consists of eight differential equations describing behavior of the system (cortex electrical activity). The seizurelike state is analyzed here. It is found that there are two parameters – owing to them seizurelike oscillations start in dynamics of the brain. Changes of these parameters are considered in the model. Attractors of the system for different states (before, during and after seizure) are done. Comparison of these results is performed.

EEG; seizure; the model; potential; attractor.

Одним из путей изучения закономерностей переработки информации мозгом является анализ электроэнцефалограммы (ЭЭГ) человека. ЭЭГ – один из самых информативных показателей локальных и общих физиологических и патологических перестроек функционального состояния мозга человека, например, таких как эпилепсия. Эпилепсия – периодические ничем не спровоцированные приступы. Пациенты подвергаются хирургическому вмешательству для удаления эпилептической зоны – области мозга, в которой происходит зарождение приступов. Перед операцией необходимо определить, где эта зона находится. Для этого снимают неинвазивную (ЭЭГ) и инвазивную (электрокортикограмма ЭКоГ) записи электрической активности кортекса [1, 6, 7].

Для исследования электрической активности мозга человека, записанной во время приступа, были разработаны многочисленные модели [1]. Существует математическая модель для описания поведения одиночного нейрона и сети нейронов во время приступа. Чтобы смоделировать данные, полученные с одного электрода, необходимо воспроизвести поведение приблизительно 10^5 отдельных нейронов. К сожалению, используя физиологически точные математические модели, эту за-