

**МИКРОРЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКАЯ И ГОНИОМЕТРИЧЕСКАЯ ТОМОГРАФИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МНОГООСНОЙ РОБОТИЗИРОВАННОЙ МАШИНЕРИИ НА БАЗЕ СТОЛИКА ФЕДОРОВА, ГИБРИДИЗОВАННОГО С ПУШ-ИНТЕГРАТОРОМ ГЛАГОЛЕВА И ИНТЕГРИРУЮЩЕЙ ПЛАТФОРМОЙ АНДИНА, УПРАВЛЯЕМЫМИ ШАГОВЫМИ ДВИГАТЕЛЯМИ ЧЕРЕЗ PIC-КОНТРОЛЛЕР И МОДУЛИ “САМАС”**

***О.В. Градов<sup>1</sup>, А.В. Нотченко<sup>2</sup>, В.А. Оганесян<sup>3</sup>***

<sup>1</sup>Москва, Институт Энергетических Проблем Химической Физики РАН,

<sup>2</sup>Москва, Институт Проблем Передачи Информации, РАН,

<sup>3</sup>Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана.

**Резюме:** В статье рассматривается возможность создания новой технологии оптической рефрактометрической и гониометрической микротомографии с применением многоосной роботизированной механики (мехатроники) на базе столика Федорова, гибридного с пуш-интегратором Глаголева и интегрирующей платформой Андина, ведомыми шаговыми двигателями с управлением от PIC-контроллера и модуля МУШЖ КАМАК (САМАС).

**Ключевые слова:** микрорефрактометрия, гониометрия, микротомография, КАМАК, столик Федорова, PIC-контроллер, пуш-интегратор, интеграционный столик Андина

---

**Brief communication:**

**MICROREFRACTOMETRIC AND GONIOMETRIC TOMOGRAPHY BASED ON MULTI-AXIS ROBOTIZED FEODOROV STAGE HYBRIDIZED WITH PUSHINTEGRATOR AND INTEGRATING ANDINE PLATFORM CONTROLLED BY STEPPER MOTORS BASED ON MODIFIED HARVARD ARCHITECTURE MICROCONTROLLER AND CAMAC MODULES**

***O.V. Gradov<sup>1</sup>, A.V. Notchenko<sup>2</sup>, V.A. Oganesssian<sup>3</sup>***

<sup>1</sup>Moscow, Institute for Energy Problems of Chemical Physics, RAS,

<sup>2</sup>Moscow, Institute for Information Transmission Problems, RAS,

<sup>3</sup>Moscow, Bauman Moscow State Technical University.

**Abstract:** We propose to design a novel technique of microrefractometric and goniometric tomography based on multi-axis robotized Feodorov stage hybridized with pushintegrator and integrating Andine platform controlled by stepper motors based on modified Harvard architecture microcontroller and CAMAC modules.

**Keywords:** microrefractometry, goniometry, microtomography, Feodorov stage, CAMAC, Harvard architecture microcontroller, pushintegrator, Andine platform, stepper motors, PIC

## **Введение**

В классической физико-химической медицине общеизвестно диагностическое значение микрорефрактометрических измерений для анализа эндокринологических функций [1-3] и клинико-микробиологических исследований [4-6]. Необходимость их внедрения в микротомографическую практику доказывается тем фактом, что в новых работах по безмаркерной (label-free) визуализации [7], оптофлюидике полимерных и биомолекулярных сред, учитывающей капиллярные явления [8], а также технологии биологических волокон [9], т.е. – в качественно различных прикладных приложениях, приборостроители вынуждены использовать микрорефрактометрические сенсоры и ссылаться на ранние работы с использованием подходов микрорефрактометрии.

Имеющиеся работы по совмещению томографии и рефрактометрии, равно как и работы по совмещению рефрактометрии и конфокальной микроскопии (или двух-фотонной микроскопии с 3D-реконструкцией) [10-14] не являются оптимальными по критериям вращения образца. Для оптимальной визуализации и 3D-репрезентации биологических структур в таких случаях необходимо большее число осей вращения и максимальная дискретизация угловых положений образца относительно источника и детектора.

## **Предлагаемая конструкция**

Нами предлагается использование для этих целей гониометрического ротационного столика Федорова, обладающего в различных модификациях 3-, 4-, 5-осевым устройством [15-19] (с точки зрения оптики, столик Федорова представляет собой микрорефрактометр). В данном случае возникает много специфических задач, связанных с математической базой самой процедуры синхронизированных угловых морфометрических, гониометрических и рефрактометрических измерений. К числу таковых относится, в частности, создание программного пакета, обеспечивающего в режиме реального времени не только стандартную для томографии и конфокальной микроскопии 3D-визуализацию, но и выражение данных измерений в кватернионах и / или углах Эйлера, а также вспомога-

тельные матричные операции в аналитической механике подвижной части измерительной системы.

Вполне очевидно, что это требует наличия обратной связи между подвижной и измерительной частями установки, обеспечиваемой за счет сенсоров и одометров в конструкции ротационной микротомографической установки. Наиболее корректным, с метрологических позиций, в данном случае является комплексирование установки как модульной системы, каждый сенсор и движущийся узел которой управляется от отдельного функционального модуля, совокупность которых выводит данные на ПК с визуализацией окон результатов измерений и задатчиков угловых параметров в GUI.

### **Образцы-прототипы**

Нами исходно был использован стандарт магистрально-модульной шины САМАС, в рамках которого несколько крейтов, в слотах которых фиксировались контроллеры и функциональные модули, сопрягались по Highway-каналу. Максимальное количество сенсоров, с которых осуществлялся контроль, составляло 16, однако технологически возможно и большее количество. Управление динамикой установки осуществлялось с помощью модулей управления шаговыми двигателями (МУШД). Нами проведена альтернативная распайка крейтов, в рамках которой контроллер крейта может быть размещен не в крайне-правых слотах, а в наиболее пригодных – по эргономическим соображениям. Исходно использовались модули и крейты POLON, часть из которых была подвергнута кардинальной модернизации. Создано программное обеспечение, совместимое с Windows, а также проведена работа по ряду драйверов.

С оптико-механических позиций, конструкция установки включала: микроскоп с фиксируемым на нем столиком Федорова, вращаемым шаговыми двигателями; сам объект, по которому осуществлялась центровка и фокусировка пучка; манипулятор с источником света (в последней версии – 2 манипулятора) типа KSR-1 (аналогично к работе [20]); фильтры и оптический тракт с объективами, через которые подавалось и регистрировалось излучение (было создано также несколько версий с различными лазерными головками, отличны-

ми по длине волны и энергии / мощности в пучке); автоматизированный подъёмник столика с подачей сигнала от МУШД.

### **Усовершенствованная механика**

Столкнувшись с проблемой получения больших данных при компартиментации морфометрируемых биологических структур и текстур, авторы вынуждены были разработать отличный от стандартного столика Федорова гибридный столик, основанный на интегрирующем столике Андина (с шестью барабанными микрометрическими винтами), на котором фиксировался усеченный в нижней части столик Федорова.

Впоследствии функции интегрирования были делегированы вычислительной части программно-аппаратного комплекса; на промежуточном этапе был осуществлен монтаж полуавтоматической системы, в которой вращение барабанов столика Андина производилось с помощью шаговых двигателей (и также контролировалось сенсорами). Стандартная система столика Андина позволяла работать также в люминесцентной модальности в случае, когда число красителей, характеризующихся разными цветами свечения (без учета колокализации) не превышало пяти. Таким образом, подобная система может быть пригодна в анализе многоцветных нейроморфологических визуализаций – аналогов Brainbow [21]. Для аналогичных целей в систему была введена цифровая эмуляция пуш-интегратора Глаголева, работающая на уровне перехвата сигнала с окулярной камеры при регистрации морфологии и on-line-морфометрии с 3D-реконструкцией.

### **Возможные усовершенствования**

Прогресс данной схемы измерений видится в микроминиатюризации модулей управления. В настоящее время создана в формате прототипа гибридная система, содержащая не только крейт CAMAC, но также и параллельные PIC-контроллеры, подключаемые через USB. Реализована также альтернативная по ряду принципиальных признаков дистанционная система управления МУШД.

## **Современное состояние**

На данный момент работа по полному переводу измерений на новую элементную базу с созданием портативной версии системы свернута из-за отсутствия финансирования и минимально необходимых для её продолжения ресурсов. Авторы, отчасти, надеются продолжить работу в данном направлении, так как предложенная методология позволяет визуализировать структуры, которые не могут быть визуализированы методами обычной конфокальной микроскопии.

## **БЛАГОДАРНОСТИ**

*Авторы благодарны всем энтузиастам, участвовавшим в краудфандинге проекта. Особенная благодарность выражается сотрудникам ОМСИ ГЕОХИ РАН, благодаря помощи которых эти ОКР была начаты в 2011 году [22].*

## **ЛИТЕРАТУРА.**

- [1] G.Gerzeli, E.Mira. A microrefractometric study of the salivary glands of the rat after ligation of the excretory ducts // Acta Anat. Vol. 65, No. 1 – 1966, pp. 256-274.
- [2] G.Gerzeli, E.Mira, G. Bernocchi. A microrefractometric study of dry mass changes in isoproterenol enlarged salivary glands of the rat // Acta Anat., Vol. 88, No. 2 – 1974, pp. 245-266.
- [3] G. Gerzeli, S. Barni. Modifications in some rat liver cell components following stimulation with isoprenaline (a cytospectrophotometric, microrefractometric and cytoelectrophoretic study) // Riv. Istochim. Norm. Patol., Vol. 20, No. 1-3 – 1976, pp. 67-88.
- [4] Б.Ю. Шустерю. Комплексное применение микрорефрактометрического и культурального методов для анализа состава популяции брюшнотифозных бактерий // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, Том 44, Вып 6 – 1967, стр. 28-33.
- [5] Б.А. Фихман, М.Д. Прядкина. Применение метода иммерсионной микрорефрактометрии для прямого определения соотношения живых и мертвых клеток

в противочумной живой вакцине // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, Том 32, Март 1961, стр. 60-64.

[6] Фихман Б.А. Показатели преломления живых бактериальных клеток // В. сб.: «Научные основы производства вакцин и сывороток», М., Медицина, 1965, стр. 36-44.

[7] G. Gauglitz, G. Proll. Strategies for label-free optical detection // Adv. Biochem. Eng. Biotech., Vol. 109, 2008, pp. 395-432.

[8] K.J. Rowland, A. François, P. Hoffmann, T.M. Monro. Fluorescent polymer coated capillaries as optofluidic refractometric sensors // Opt Express. 2013 May 6;21(9):11492-505.

[9] B. Wittgren, M. Stefansson, B. Porsch. Interactions between sodium dodecyl sulphate and non-ionic cellulose derivatives studied by size exclusion chromatography with online multi-angle light scattering and refractometric detection // Journ. Chromatogr. A., Vol. 1082, No. 2 – 2005, pp. 166-175.

[10] A. Zvyagin, K.K. Silva, S. Alexandrov, T. Hillman, J. Armstrong, T. Tsuzuki, D. Sampson. Refractive index tomography of turbid media by bifocal optical coherence refractometry // Opt. Express., Vol. 11, No. 25 – 2003, pp. 3503-3517.

[11] A.P. Raphael, T.A. Kelf, E.M Wurm., A.V. Zvyagin, H.P. Soyer, T.W. Prow. Computational characterization of reflectance confocal microscopy features reveals potential for automated photoageing assessment // Exp. Dermatol., Vol. 22, No. 7 – 2013, pp. 458-463.

[12] A.I. Yusipovich, M.V. Zagubizhenko., G. Levin, A. Platonova, E.Y. Parshina, R. Grygorczyk, G.V. Maksimov, A.B. Rubin, S.N. Orlov. Laser interference microscopy of amphibian erythrocytes: impact of cell volume and refractive index // Journ. Microsc., Vol. 244, No. 3 – 2011, pp. 223-229.

[13] J. Binding, J. Ben Arous, J.F. Léger, S. Gigan, C. Boccara, L. Bourdieu. Brain refractive index measured in vivo with high-NA defocus-corrected full-field OCT and consequences for two-photon microscopy // Opt. Express., Vol. 19, No. 6 – 2011, pp. 4833-4847.

- [14] S. Kim, J. Na, M.J. Kim, B.H. Lee. Simultaneous measurement of refractive index and thickness by combining low-coherence interferometry and confocal optics // *Opt. Express.*, Vol. 16, No. 8 – 2008, pp. 5516-5526.
- [15] A.F. Hallimond, E.W. Taylor. An Improved Polarizing Microscope. IV. The Fedorov Stage (Three-Axis) // *Mineralogical Magazine*, Vol. 29, No 209 – 1950, pp. 150-162.
- [16] P.R.J. Naidu. 4-Axes Universal Stage // Madras, Com. Print. & Pub. House, 1958, 106 p.
- [17] M. Berek. Mikroskopische Mineralbestimmung mit Hilfe der Universaldrehtischmethoden // Berlin, Gebrüder Borntraeger, 1924, 168 p.
- [18] E.S. Fedorov. Eine neue Methode der optischen Untersuchung von Krystallplatten in parallelem Lichte // *Tschermak's Mineral. und Petrograph. Mittheil.*, Vol. 12 – 1892, pp. 505-509.
- [19] E.S. Fedorov. Universal- (Theodolith-) Methode in der Mineralogie und Petrographie // *Zeitschrift für Kristallographie und Mineralogie*, Vol. 22 – 1894, pp. 229-268.
- [20] A.V. Notchenko, O.V. Gradov. A Five-Axis Arm-Manipulator Laser System and an Algorithm for Digital Processing of Output Data for Recording and Morpho-Topological Identification of Cell and Tissue Structures in Histomorphogenesis // *Visualization, Image Processing and Computation in Biomedicine*, Vol. 2 – 2013, DOI: 10.1615/VisualizImageProcComputatBiomed.2013005967.
- [21] T.A. Weissman, J.R. Sanes, J.W. Lichtman, J. Livet. Generating and imaging multicolor Brainbow mice // *Cold Spr. Harb. Protoc.*, 7 – 2011, pp. 763-769.
- [22] Градов О.В. Новая многоосная микроскопическая техника для наблюдения реакционно-диффузионных процессов и автоколебательных реакций в объеме с учетом градиента и анизотропии // Препринт [30 экз.; для сотр. ГЕОХИ РАН], 2011, 50 с.