



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012140513/28, 21.09.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.09.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
08.10.2011 DE 102011115944.8

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2014 Бюл. № 9

(45) Опубликовано: 10.08.2014 Бюл. № 22

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2145109 C1, 27.01.2000. EP 2279690
A1, 02.02.2011. US 2009101839 A1, 23.04.2009.
US 4481418 A, 06.11.1984

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

**КЕНИГ Карстен (DE),
ВАЙНИГЕЛЬ Мартин (DE)**

(73) Патентообладатель(и):

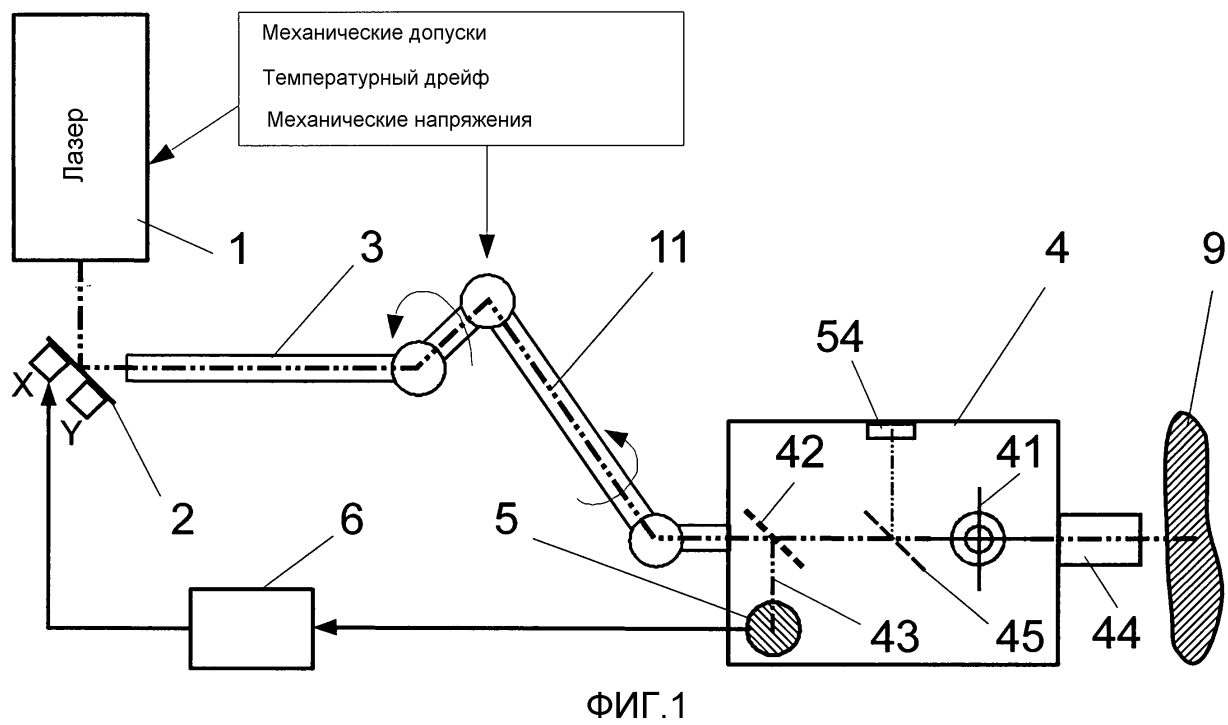
ЙЕНЛАБ ГМБХ (DE)

**(54) ГИБКИЙ НЕЛИНЕЙНЫЙ ЛАЗЕРНЫЙ СКАНИРУЮЩИЙ МИКРОСКОП ДЛЯ
НЕИНВАЗИВНОГО ТРЕХМЕРНОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к нелинейному лазерному сканирующему микроскопу для гибкого неинвазивного трехмерного детектирования, в частности на тканях человека и животных, а также на неживой материи. Измерительная головка (4) гибко соединена через передающую оптику (3) с по меньшей мере одним источником (1) света, свободно позиционируемым в пространстве. Для ориентации возбуждающего луча (11) по меньшей мере одно управляемое откидное зеркало (2) расположено так, чтобы ориентировать возбуждающий луч (11) через передающую оптику (3) в любой позиции измерительной головки (4) concentрично

оптическому элементу (44) измерительной головки (4) с ограниченной апертурой. Тестовый луч (43), отведенный из возбуждающего луча (11), расположен на фотодетекторе (5) в позиции, сопряженной с целевой позицией (41) возбуждающего луча (11), который контролируется на среднюю ориентацию тестового луча (43). Управляющий блок (6) управляет откидным зеркалом (2), в зависимости от определенного отклонения реализуется стабилизация направления возбуждающего луча (11). Технический результат - повышение разрешения, повышение эффективности подсветки. 14 з.п. ф-лы, 6 ил.





FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2012140513/28, 21.09.2012**(24) Effective date for property rights:
21.09.2012

Priority:

(30) Convention priority:
08.10.2011 DE 102011115944.8(43) Application published: **27.03.2014** Bull. № 9(45) Date of publication: **10.08.2014** Bull. № 22

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, stroenie 3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**KENIG Karsten (DE),
VAJNIGEL' Martin (DE)**

(73) Proprietor(s):

JENLAB GMBH (DE)(54) **FLEXIBLE NON-LINEAR LASER SCANNING MICROSCOPE FOR NON-INVASIVE 3D DETECTION**

(57) Abstract:

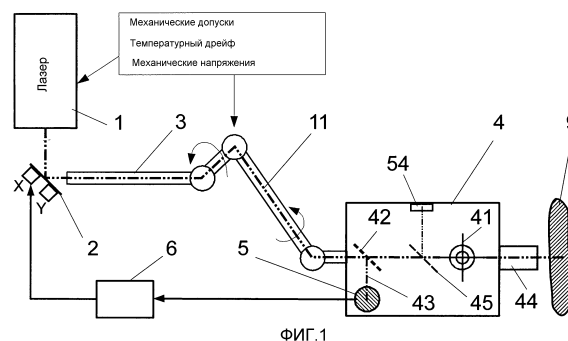
FIELD: instrumentation.

SUBSTANCE: invention relates to a non-linear laser scanning microscope for flexible non-invasive detection, in particular, on human and animal tissues as well as in non-living matter. The measuring head (4) is flexibly connected (via transmitting optics (3)) to at least one light source (1) freely positioned in the space. For orientation of the excitation beam (11) at least one controllable flap-down mirror (2) is positioned so that to orient the excitation beam (11) through the transmitting optics (3) in any position of the measuring head (4) concentrically to the optical element (44) of the measuring head (4) with a restricted aperture. The testing beam (43) drawn from the excitation beam (11) is positioned on the photodetector (5) in a position conjugated with the target position (41) of the excitation beam (11) controlled for the medium orientation of the testing

beam (43). The control unit (6) controls the flap-down mirror (2) with the excitation beam (11) direction stabilisation implemented depending on the determined deviation.

EFFECT: increased resolution and enhanced highlighting efficiency.

15 cl, 6 dwg



Изобретение относится к нелинейному лазерному сканирующему микроскопу для гибкого неинвазивного трехмерного детектирования, в частности на живой материи (in vivo), предпочтительно на коже животных, растениях и клеточных культурах, а также на неживой материи, например минералах, текстиле и художественных произведениях. Под нелинейным лазерным сканирующим микроскопом или микроскопом с мультифотонным (MP) возбуждением в настоящей заявке понимается микроскоп с двух- или мультифотонным возбуждением.

Известны двухфотонные микроскопы и мультифотонные томографы (MPT), в которых флуоресцентные сигналы и сигналы генерации второй оптической гармоники (SHG) в биологических молекулах живого организма возбуждаются в ближнем инфракрасном диапазоне посредством импульсного лазерного излучения и детектируются посредством высокочувствительного и быстродействующего приемника (например, US 5 034 613 A, DE 201 17 294 U1; DE 203 06 122 U1). Кроме того, с помощью CARS-микроскопов и CARS-томографов (CARS - когерентное антистоксово рамановское рассеяние) могут отображаться не флуоресцирующие и не SHG-активные компоненты, такие как вода и липиды (см., например, предварительно неопубликованную заявку DE 10 2010 047 578 A1).

С помощью этих нелинейных оптических микроскопов и томографов достигаются горизонтальные разрешения в субмикронном диапазоне и в диапазонах сканирования (объектных диапазонах) порядка нескольких сотен микрон по трем измерениям.

Подобные нелинейные микроскопы и томографы реализуются на основе применения жестких структур и демпфированных оптических структур стола. Они могут эксплуатироваться либо как прямые (вертикальные), либо как инверсные оптические структуры микроскопа. Однако не известны высокоразрешающие системы формирования изображения (с латеральным разрешением, составляющим около 1 мкм или меньше) для нелинейной микроскопии или томографии, которые при требуемом латеральном или осевом разрешении в субмикронном диапазоне допускают свободное позиционирование измерительной головки.

Требуемая для этого передача луча может быть реализована посредством оптических волоконных систем или как система передачи свободного луча. На точность лазерных передающих систем свободного луча, известных, например, в форме шарнирных рычагов зеркала, оказывают влияние механические отклонения, механические напряжения и температурный дрейф внутри механической многоэлементной структуры этих рычагов. Влияние на механическую ось шарнирного рычага зеркала (например, из-за температурного дрейфа) приводит при различных конфигурациях шарнирного рычага к отклонению положения лазерного излучения на выходе шарнирного рычага по отношению к целевой позиции или механической оси, так что надежное сканирование измеряемого объекта посредством высокоразрешающей фокусирующей оптики при различных ориентациях измерительной головки возможно лишь в ограниченных пределах. Колебания положения лазерного излучения на выходе оптического шарнирного рычага могут быть определены с помощью термина «точность передающей системы».

Кроме того, на точность передачи лазерного луча оказывают влияние длина оптического хода луча шарнирного рычага и стабильность положения луча (англ. pointing stability-стабильность ориентации) лазера.

В качестве стабильности ориентации в данном случае обозначается изменение стабильности направления лазерного излучения непосредственно на выходе лазера, которое является результатом термически обусловленного влияния конфигурации

резонатора лазера.

Ввод лазерного излучения в шарнирный рычаг зеркала является особенно критичным. Оптимальный ввод получается, если оптическая ось лазерного излучения совпадает с механической (входной) осью шарнирного рычага (коллинеарность). Возникающие при этом отклонения дополнительно к вышеупомянутым механически и термически обусловленным отклонениям шарнирного рычага оказывают влияние на точность.

Хотя при применении волоконной передающей оптики сокращаются подлежащие компенсации отклонения в направлении луча исключительно при вводе и выводе луча, однако остается основная проблема нежелательного отклонения лазерного луча в целевой позиции. В частности, также существует опасность нежелательного ввода в оболочку волокна (cladding-оболочка).

Из US 5463215 A известно устройство для ориентирования светового луча с целью его ввода в оптическое волокно, в котором часть лазерного луча, которая не введена в диаметр волокна, отводится на детекторное устройство посредством двух кольцевых конических зеркал, размещенных в виде ретрорефлекторов, а также посредством зеркала, вращающегося на кольце под 45° . За счет синхронизации детектора с положением вращающегося зеркала можно распознавать отклонение от коллинеарности оси лазера и оси волокна, а также расфокусировку. Кроме того, требуется перекрывающая подсветка волоконного входа (то есть диаметр луча больше, чем диаметр волокна), и тем самым уже с самого начала неизбежно уменьшение интенсивности.

Уровню техники свойственны, таким образом, следующие недостатки:

- обычные двухфотонные микроскопы и мультифотонные томографы (МРТ) имеют, за счет их жесткой структуры, ограниченную область применения и, например, не пригодны для мультивалентных исследований на человеческом организме;

- для реализации гибкой структуры механические допуски систем, направляющих луч, слишком велики, чтобы обеспечивать достаточное постоянство подсветки измерительного пятна для воспроизводимого облучения зоны сканирования, которое допускает субмикронное разрешение; и

- в случае мультифотонной микроскопии ограничение формирования изображения детектированием автофлуоресценции аутологичных веществ и нелинейным умножением частоты определенных молекул часто является отрицательным фактором, причем желательная комбинация с CARS-системами до настоящего времени из-за высоких требований коллинеарности могла быть реализована только в жесткой системе.

Поэтому в основе изобретения лежит задача создать мобильный, гибко используемый нелинейный лазерный сканирующий микроскоп для неинвазивного трехмерного детектирования для мультивалентных высокоразрешающих нелинейных исследований, в частности кожи, тканей в мочеполовой области, полости рта и области глаз человеческого тела, а также растений, животных, клеточных культур и неживой материи, который обеспечивает возможность воспроизводимой подсветки фокусирующей оптики при неограниченной гибкости измерительной головки. Также в основе изобретения лежит задача реализации воспроизводимого, согласованного, одновременного применения двух ходов лучей с целью комбинирования различных способов измерений, предпочтительно MP- и CARS-томографии, в общей гибкой измерительной головке.

В соответствии с изобретением эта задача в гибком нелинейном лазерном сканирующем микроскопе для неинвазивного трехмерного детектирования, содержащем по меньшей мере один источник излучения, который формирует возбуждающий луч для инициирования вторичного излучения, эмитируемого атомами и молекулами;

гибкую передающую оптику для передачи излучения к измерительной головке с фокусирующей оптикой, с помощью которой излучение фокусируется на измеряемом объекте и эмитированное вторичное излучение возвращается и направляется на по меньшей мере одну детекторную систему, решается тем, что измерительная головка с

5 возможностью свободного наклона, поворота в пространстве и гибкого позиционирования соединена с по меньшей мере одним источником излучения, так что микроскопия может выполняться вертикально, инверсно, а также под любыми пространственными углами, при этом по меньшей мере одно управляемое откидное зеркало для отклонения и ориентации по меньшей мере одного возбуждающего луча

10 импульсного лазерного излучения по меньшей мере одного источника излучения расположено так, чтобы направлять по меньшей мере один возбуждающий луч посредством передающей оптики в измерительную головку таким образом, что возбуждающий луч в любом положении измерительной головки размещен концентрично оптическому элементу с ограниченной апертурой измерительной головки, причем в

15 измерительной головке перед фокусирующей оптикой расположен делитель луча для отвода тестового луча из возбуждающего луча; (позиционно-чувствительный) фотодетектор, обладающий локальным разрешением, для обнаружения позиции возбуждающего луча, определяемой в целевой позиции, расположен в позиции тестового луча, сопряженной с целевой позицией, причем центрированная ориентация тестового

20 луча на фотодетекторе соответствует нормальной ориентации возбуждающего луча в целевой позиции, и при этом имеется управляющий блок для управления управляемым откидным зеркалом в зависимости от обнаруженного отклонения тестового луча от его центрированной ориентации на фотодетекторе, так что достигается стабилизация направления лазерного луча независимо от величины позиционно обусловленного

25 ограничения передающей оптики.

Предпочтительным образом управляемое откидное зеркало приводится в действие посредством держателя зеркала на основе принципа привода из группы, включающей в себя емкостные, индуктивные или пьезо-исполнительные элементы, шаговые двигатели или двигатели постоянного тока.

30 При этом управляемое откидное зеркало целесообразно может быть реализовано посредством двухосного или посредством двух одноосных держателей зеркала.

В качестве целевой позиции для стабилизированной ориентации по меньшей мере одного возбуждающего луча предпочтительно выбирается входное отверстие объектива фокусирующей оптики или другого оптического элемента с ограниченной апертурой.

35 Целесообразно, если делитель луча для формирования тестового луча в зависимости от направления по меньшей мере одного возбуждающего луча в измерительной головке выполнен либо как отражающий, либо как пропускающий делитель луча.

Делитель луча для отвода тестового луча может предпочтительным образом выполняться также как дихроичное зеркало для коллинеарного ввода двух различных

40 возбуждающих лучей.

Позиционно-чувствительный фотодетектор для детектирования тестового луча как эквивалента возбуждающего луча в целевой позиции предпочтительно представляет собой круглый фотодиод. В качестве альтернативы, также могут использоваться прямоугольная или другая форма детектора, а также позиционно-чувствительные

45 (разделенные) приемники, обладающие локальным разрешением, такие как квадрантные фотодиоды, ортогонально расположенные диоды с боковым эффектом, перекрестно расположенные детекторные элементы (CCD или CMOS), CCD- или CMOS-матрицы.

Предпочтительным образом с помощью позиционно-чувствительного фотодетектора,

дополнительно к регулированию стабильности луча в передающей оптике, может определяться и корректироваться стабильность ориентации лазера.

Детекторная система для вторичного излучения, эмитированного из объекта измерений, предпочтительно образована детектором для MPT- или SHG-формирования изображения, так что имеется гибкая система диагностирования флуоресцирующих веществ, которая посредством гибкого оптического шарнирного рычага незначительной механической точности обеспечивает любое свободное позиционирование измерительной головки в пространстве и воспроизводимое MPT-формирование изображения.

Детекторная система для вторичного излучения особенно предпочтительным образом может быть реализована с несколькими детекторами для MPT-, SHG- и для CARS-формирования изображения, так что в результате имеется гибкая система диагностирования флуоресцирующих и нефлуоресцирующих веществ в живой материи, которая посредством общего гибкого оптического шарнирного рычага допускает любое свободное позиционирование в пространстве совместно используемой измерительной головки и формирует одновременное и одинаковое по местоположению изображение из MPT-, SHG- и CARS-сигналов. При этом скомбинированная таким образом система диагностирования флуоресцирующих и нефлуоресцирующих веществ также целесообразно посредством гибкого оптического шарнирного рычага и отдельного оптического волокна допускает любое свободное позиционирование в пространстве совместно используемой измерительной головки. Кроме того, возможно, в случае гибкой комбинированной системы диагностирования посредством двух отдельных оптических волокон реализовать любое свободное позиционирование общей измерительной головки для одновременного и одинакового по местоположению формирования изображения.

Кроме того, детекторная система для вторичного излучения в компактном варианте может иметь измерительный детектор для MPT-формирования изображения и для CAES-формирования изображения, причем предусмотрены средства для временного прерывания CARS-возбуждения, которые позволяют осуществлять отделение MPT-формирования изображения относительно комбинированного отображения сигналов.

Предпочтительным образом детекторная система для коррелированного по времени счета отдельных фотонов имеет TCSPC-детекторы для MPT-формирования изображения. При этом детекторная система целесообразно снабжена дионистором, который использует отражение обратной стороны делителя луча, предусмотренного в измерительной головке для отвода измерительного сигнала.

В предпочтительном варианте выполнения гибкого лазерного сканирующего микроскопа измерительная головка механически опирается посредством гибкого фиксируемого в любом положении опорного рычага на мобильном основном приборе, который обязательным образом содержит передающую оптику, причем в основном приборе имеются по меньшей мере один источник излучения для формирования импульсного возбуждающего излучения, оптический блок для синхронизации импульсного возбуждающего излучения и для ориентации на по меньшей мере одну передающую оптику по направлению к измерительной головке, а также управляющий блок для стабилизации направления возбуждающего излучения в измерительной головке и блок оценки для обработки сигналов, передаваемых детекторной системой измерительной головки, для отображения изображения с помощью индикаторного блока.

Изобретение основывается на идее, что в случае шарнирных рычагов зеркала имеются две основные возможности обеспечения точности гибкой передачи луча, а именно

путем применения чаще всего крупногабаритных, тяжелых и дорогостоящих оптико-механических многоэлементных систем или путем применения отвечающей высоким требованиям стабилизации направления лазерного излучения.

Изобретение реализует эти противоречивые требования с помощью технологически простой, экономичной и характеризующейся малым объемом стабилизации направления для лазерного излучения (или также некогерентного излучения), которая для минимизации отклонения предусматривает использование детектора, управляющего блока и исполнительного элемента. В зависимости от обнаруженного отклонения в сопряженной целевой плоскости внутри неограниченно гибкой измерительной головки посредством управляющего блока (простой логической схемы) осуществляется коррекция направления лазерного луча, прежде чем он вводится в систему подсветки и приема (фокусирующую оптику) измерительной головки. К тому же посредством этой стабилизации также обеспечивается коллинеарность измерительного излучения, если применяется несколько возбуждающих лучей.

За счет этого снижаются требования, предъявляемые к механической многоэлементной структуре шарнирного рычага зеркала, в отношении требуемой точности направления луча, и получаемая в результате экономия в отношении объема и веса согласуется с гибкостью и мобильностью измерительной системы микроскопа (например, томографа). Преимущества стабилизации направления, например компактная и характеризующаяся малым объемом конструктивная форма и экономичность, предусматриваются, в частности, для ввода волокна в волоконных передающих системах.

Соответствующее изобретению устройство отличается, кроме того, тем, что исследуемое место объекта может исследоваться системой формирования изображения с помощью микроскопа с гибкой измерительной головкой посредством различных методов измерений, например посредством флуоресцентной мультифотонной микроскопии высокого разрешения, SHG-микроскопии и/или CARS-микроскопии. При этом различные возбуждающие лучи от одного или нескольких короткоимпульсных лазеров могут передаваться посредством одного и того же гибкого оптического шарнирного рычага или посредством гибкого оптического шарнирного рычага и дополнительного оптического волокна или через два оптических волокна и могут контролироваться и регулироваться тем же самым устройством стабилизации.

С помощью изобретения возможно реализовать компактный гибкий нелинейный лазерный сканирующий микроскоп, предназначенный для неинвазивного трехмерного детектирования для исследований с субмикронным разрешением, предполагающих формирование изображений, который обеспечивает возможность воспроизводимой подсветки измерительного объекта при неограниченной гибкости микроскопа. Кроме того, траектории лучей, различных способах измерений, предпочтительно флуоресцентной мультифотонной микроскопии высокого разрешения, SHG-микроскопии и/или CARS-микроскопии, могут комбинироваться в общей гибкой измерительной головке и при этом реализовывать одинаковую воспроизводимую подсветку и точное поточечное (точное поэлементное) сканирование.

Ниже изобретение поясняется на примерах выполнения. С помощью чертежей, на которых показано:

Фиг. 1 - принципиальная схема изобретения для ориентации лазерного луча на целевую точку в измерительной головке с применением шарнирного рычага зеркала в качестве системы направления луча;

Фиг. 2 - представление принципа детектирования отклонения луча в сопряженной

целевой плоскости с применением круглого фотодиода;

Фиг.3 - трехмерное представление варианта выполнения изобретения как мобильного, используемого мультивалентным образом лазерного сканирующего микроскопа со свободно позиционируемой в пространстве измерительной головкой для

5 томографических исследований на человеческой коже;

Фиг. 4 - схематичное представление варианта выполнения изобретения в гибком лазерном сканирующем микроскопе с двумя детекторными системами с применением совместно используемого шарнирного рычага зеркала в качестве системы направления луча к измерительной головке, которая ориентирована для исследований на

10 вертикальном объекте измерений (в положении, составляющем 90°), как, например, неживого вещества на картине,

Фиг. 5 - схематичное представление варианта выполнения изобретения в гибком лазерном сканирующем микроскопе с двумя детекторными системами с применением совместно используемого шарнирного рычага зеркала и оптического волокна в качестве

15 систем направления луча к общей измерительной головке, которая ориентирована для исследования на живой ткани животных, например мыши, в нормальном положении (0°),

Фиг. 6 - схематичное представление варианта выполнения изобретения в гибком лазерном сканирующем микроскопе с двумя детекторными системами с применением

20 двух оптических волокон в качестве систем направления луча к общей измерительной головке, которая ориентирована как инверсный микроскоп (в положении, составляющем 180°) для исследования любых веществ, например, в жидком растворе в чашке Петри.

На Фиг. 1 показана принципиальная структура системы. Лазер 1, предпочтительно одномодовый лазер (трансверсальный тип) с круглым профилем луча (или также

25 отклоняющимся профилем луча, как, например, эллиптические или многомодовые лазерные лучи), излучает лазерный луч 11 на регулируемое откидное зеркало 2, с помощью которого лазерный луч 11 вводится в передающую оптику 3 и направляется в целевую позицию 41 внутри измерительной головки 4. От лазерного луча 11, посредством делителя 42 луча, расположенного в измерительной головке 4, на

30 фотодетектор 5, обладающий локальным разрешением, отводится незначительная часть (например, $<10\%$) в качестве тестового луча 43. Позиция фотодетектора 5, обладающего локальным разрешением, расположена сопряженно по отношению к целевой позиции 41, так что фотодетектор 5 является чувствительным к позиционным отклонениям профиля 13 (показано только на фиг. 2) лазерного луча 11 (или отведенного

35 из него тестового луча 43) от нормального или центрального положения. Это означает, что тестовый луч 43 по отношению к лазерному лучу 11 имеет отклоняющуюся оптическую ось (например, под углом 90°).

Управляющий блок 6 (который может быть реализован как простой логический

40 блок) оценивает выходной сигнал фотодетектора 5 и управляет угловой ориентацией регулируемого откидного зеркала 2 для максимизации сигнала фотодетектора в зависимости от отклонения тестового луча 43 (центра или центра мощности профиля 13 луча, как представлено на фиг. 2) от центрального положения фотодетектора 5.

На фиг. 2 показан фотодетектор 5, обладающий локальным разрешением, как

45 отдельный большой по площади круглый фотодиод 51 внутри заштрихованного квадрата. Однако имеется множество других возможностей для детектирования позиционных отклонений профиля 13 лазерного луча 11. Это может быть реализовано посредством детекторов, измеряющих с локальным разрешением, таких как квадрантный фотодиод, посредством двух ортогонально расположенных диодов с боковым эффектом

(англ. PSD position sensitive device - позиционно-чувствительный прибор), скрещенно расположенных детекторных элементов (англ. CCD - charge-coupled device - ПЗС, прибор с зарядовой связью или CMOS - complementary metal oxid semiconductor - комплементарный металл-оксидный полупроводник), посредством CCD- или CMOS-матриц, причем
 5 двумерные матрицы датчиков выполняются с круговыми взаимосвязанными (Binning - биннинг) плоскостными элементами или размещаются интегрально во взаимодействии со световодным волокном. Кроме того, могут использоваться более редкие детекторные системы с подвижным зазором (англ. scanning slit detector сканирующий щелевой детектор).

10 При изменении угловой позиции регулируемого откидного зеркала 2 (согласно фиг. 1) профиль 13 (в данном случае круглый) лазерного луча 11 отклоняется внутри заштрихованного квадрата. При частичном наложении площадей профиля 13 луча и фотодетектора 5, который предпочтительно в соответствии с круглым профилем 13
 15 луча должен выполняться как круглый фотодиод 51, генерируется выходной сигнал, который основывается на фототоке фотодетектора 5, выработанном посредством падающего лазерного излучения.

Целью конфигурации согласно фиг. 1 является непрерывное центрирование профиля 13 луча в центре фотодетектора 5. Позиция профиля 13 луча при этом определяется координатами X и Y в прямоугольной системе координат, которая соответствует
 20 идеальной позиции лазерного луча 11 в целевой позиции 41 измерительной головки 4. Та же самая система координат приведена в соответствие с сопряженной позицией, в которой размещен фотодетектор 5, и представляет собой основу регистрации отклонения луча. Начало прямоугольной системы координат целевой позиции 41 на фиг. 1 коррелировано с центром круглого фотодиода 51, так как он расположен в сопряженной
 25 плоскости относительно целевой позиции 41.

Выходной сигнал фотодетектора возникает за счет позиционно-зависимого наложения или свертки распределения чувствительности круглого фотодиода 51 с функцией интенсивности профиля 13 луча, так как оно представлено на фиг. 2, например, как
 30 приближенное гауссово распределение для компоненты 52 сигнала по X-координате и как качественно подобная компонента 53 сигнала по Y-координате внутри заштрихованного квадрата (принятой системы координат). Вследствие разделения выходного сигнала на X- и Y-компоненты позиция профиля 13 луча может изменяться посредством углового отклонения регулируемого откидного зеркала 2 и поэтапно регулироваться (например, сначала для X-, а затем для Y-координаты до максимизации
 35 сигнала фотодиода).

Отклонение профиля 13 луча в X-направлении прямоугольной системы координат генерирует позиционно-зависимую компоненту 52 сигнала с глобальным максимумом 521. Амплитуда компоненты 52 сигнала зависит от наложения (круглого) профиля 13
 40 луча и круглого фотодиода 51 или, точнее сказать, от свертки функции интенсивности лазерного луча 11 с функцией чувствительности фотодиода 51. Угол отклонения лазерного луча 11, относящийся к максимуму 521, представляет собой искомую координату в X-направлении. Тем самым искомая позиция коррекции X-оси откидного зеркала 2 определяется и выверяется. Исходя из этой X-координаты, отклонение в ортогональном направлении (Y-оси системы координат) приводит ко второй компоненте
 45 53 сигнала круглого фотодиода 51, максимум 531 которой коррелирован с искомой координатой в Y-направлении. Искомая позиция коррекции Y-оси откидного зеркала 2 определяется таким способом, и откидное зеркало 2 может соответственно юстироваться. Амплитуда компоненты 53 сигнала, вследствие первого отслеживающего

перемещения из-за увеличенного наложения профиля 13 луча и площади фотодиода 51 по отношению к компоненте 52 сигнала, увеличивается или максимизируется.

Для идеально круглого гауссова профиля 13 луча и идеально круглого фотодиода 51 достаточно однократное определение координат. При этом после перемещения координат в X- и Y-направлении начало прямоугольной системы координат целевой позиции 41 коррелируется с центром или центром тяжести профиля 13 луча.

Для неидеального (отклоняющегося от круглого гауссова) профиля 13 луча или не круглого фотодиода 51 процесс нахождения координат по X- и Y-направлению должен повторяться несколько раз. Результат первой юстировки в данном случае может быть снова проверен с помощью тестового луча 43, и, при необходимости, откидное зеркало 2 еще раз регулируется.

В соответствии с этим, посредством многократного применения процесса центрирования наряду с круглыми (одномодовыми) профилями луча также так называемые многомодовые или несимметричные профили 13 луча могут центрироваться на целевую позицию 41 (итерационное приближение). В этом случае выверяется не центр идеального круглого профиля 13 луча, а центр интенсивности профиля 13 луча.

С помощью информации обеих компонент 52 и 53 сигнала круглого фотодиода 51 в координатах X и Y регулируемое откидное зеркало 2 юстируется посредством управляющего блока 6 таким образом, что сигнал фотодиода 51 возрастает и тем самым профиль 13 луча (или его центр тяжести интенсивности) сдвигается в центр целевой плоскости 41.

Для максимальной точности этого принципа регулирования компоненты 52 и 53 сигнала должны иметь максимум 521 или 531, не имеющий пологого участка кривой. Это может осуществляться посредством коррекции диаметра круглого фотодиода 51 относительно диаметра профиля 13 луча, причем диаметр фотодиода 51 должен быть вдвое больше, чем радиус луча при $1/e^2$ интенсивности лазерного луча 1. Другая возможность максимально точно определить максимум 521 или 531 компоненты 52 или 53 сигнала состоит в последующей обработке сигнала (например, гауссово согласование или фильтрация нижних частот). Это обеспечивает возможность работы системы также с лазерными источниками излучения длительной когерентности, в которых сигнал содержит помехи из-за многократного зеркального отражения на делителях луча.

Динамический диапазон компонент 52, 53 сигнала может быть повышен за счет применения логарифмических усилителей (не показаны), что обеспечивает функцию стабилизации направления также в случае лазеров с переменной выходной мощностью.

Для формирования тестового луча 43 может использоваться либо отражение (как показано на фиг. 1), либо пропускание лазерного луча 11 на делителе 42 луча (как показано на фиг. 4), в зависимости от того, в каком направлении должен далее направляться лазерный луч 11 в измерительной головке 4.

При применении волоконной передающей оптики (такой как на фиг. 5) на ввод лазерного луча 11 и соответственно на передачу системы оказывает влияние термический дрейф и механические напряжения внутри оптического блока 72. Если применяются одномодовые волокна, диаметры сердцевины которых очень малы, то возможно снижение передачи в течение лишь нескольких минут на несколько десятков процентов. При этом наряду с недостаточной лазерной мощностью в измерительной головке 4, может произойти разрушение волоконной передающей системы из-за термических взаимодействий внутри волокна, которые обязательно следует избегать.

Принцип действия коррекции лазерного луча 11 или его центрирование в сердцевине

волоконной передающей системы осуществляется аналогично схеме, представленной на фиг. 1, причем функция описанного на фиг. 2 круглого фотодиода 51 может быть показана посредством круглого внутреннего диаметра сердцевины передающей оптики 3, выполненной как волокно, и посредством фотодетектора 5, размещенного за оптикой 3 и поглощающего весь передаваемый свет. При этом световодное волокно 32 моделирует эквивалентным образом совместно с расположенным за ним фотодетектором 5 любой формы функцию для регулирования с круглым фотодиодом 51, описанную согласно фиг. 1 и фиг.2.

Пример выполнения 1

Как показано на фиг. 3, измерительная система, выполненная как мобильный, гибкий нелинейный сканирующий микроскоп, состоит из мобильного основного прибора 7 на колесах для свободно выбираемого размещения. На этом основном приборе посредством опорного рычага 8 закреплена измерительная головка 4, свободно перемещаемая в пространстве. Дополнительно для оптического направления луча лазерного излучения, необходимого для лазерного сканирования, обеспечивающего формирование изображения, между основным прибором 7 и измерительной головкой 4 размещены две различные оптические передающие системы 3, шарнирный рычаг 31 зеркала и оптическое волокно 32. Они предусмотрены для передачи возбуждающего излучения для различных способов детектирования, например, - без ограничения общности, - для мультифотонной и CARS-томографии, причем различные возбуждающие лучи накладываются в измерительной головке 4 коллинеарно. Для этого в измерительной головке 4 используется система, схематично показанная на фиг. 1, для стабилизации луча с позиционно-чувствительным фотодетектором 5, управляющим блоком 6 и управляемым откидным зеркалом 2. За счет этого возможна показанная на фиг.3 свободная ориентация измерительной головки 4 на расположенный в пространстве любым образом участок кожи 91 человека в качестве объекта 9 измерения (человека), при этом не возникают изменения (ухудшения) условий возбуждения из-за многообразных возможностей отклонений измерительной головки 4.

Дальнейшие различные технические выполнения соответствующего изобретению сканирующего микроскопа, включая некоторые из многообразных возможностей применения, поясняются более детально на нижеследующих примерах.

Пример выполнения 2

Соответствующий изобретению микроскоп согласно фиг. 4 состоит, как описано выше со ссылкой на фиг. 3, из мобильного основного прибора 7 на колесах для свободно выбираемого размещения.

Для мультифотонного формирования изображения в основном приборе 7 содержится короткоимпульсная лазерная система 71 (5 фс-500 пс; с профилем луча гауссовой формы, например титан-сапфировый лазер), а также оптический блок 72, в котором управляемое откидное зеркало 2 в качестве двухосного откидного зеркала 21 вводит лазерный луч 11, поступающий от короткоимпульсной лазерной системы 71, в гибкую передающую оптику 3 в форме шарнирного рычага 31 зеркала. Лазерный луч 11 в этом первом примере посредством гибкого шарнирного рычага 31 зеркала направляется к оптической измерительной головке 4. Подвижный и фиксируемый в любом положении многосвязный опорный рычаг 8 обеспечивает возможность свободного позиционирования оптической измерительной головки 4, так что шарнирный рычаг 31 зеркала соответственно в принудительном порядке совместно направляется. Измерительная головка 4 со своей фокусирующей оптикой 44 может позиционироваться в любом направлении на объект 9 измерения, в случае положения под углом в 90° - к объекту 9 измерения с

перпендикулярной поверхностью, в данном примере по направлению к висящей картине 92, состав которой (материал и структура слоев) подлежит исследованию. При этом на основе постоянного контроля и отслеживания направления оси лазерного луча 11 целевая плоскость 41 постоянно равномерно подсвечивается, так что можно избежать
 5 ошибок измерения, которые являются результатом колеблющегося возбуждающего излучения.

Второй источник излучения, необходимый для CARS-формирования изображения (дополнительно к МРТ-формированию изображения), с длиной волны, отличающейся от короткоимпульсного лазера 71, генерируется короткоимпульсным лазером 71 за
 10 счет того, что посредством делителя 725 луча примерно половинная доля излучения отводится из лазерного луча 11 и подается на преобразователь 73 частоты в качестве лазерного луча 11'. Получаемый в результате лазерный луч 12 с отличающейся длиной волны также вводится в оптический блок 72, причем лазерный луч 12 посредством
 15 второго управляемого по двум осям откидного зеркала 22 (с той же функцией, что и двухосное откидное зеркало 21) дополнительно направляется через телескопическую систему 722 с переменным линзовым расстоянием и через переменный оптический элемент 723 задержки и после прохождения через юстируемое зеркальное устройство 724 и дихроичное зеркало 726 ориентируется коллинеарно с лазерным лучом 11 короткоимпульсного лазера 71 (пространственное наложение обоих компонентов луча
 20 вдоль одной и той же оси). Оба лазерных луча 11 и 12 после дихроичного зеркала 726 коллинеарно вводятся в шарнирный рычаг 31 зеркала и передаются к измерительной головке 4. Совпадение осей обоих лазерных лучей 11 и 12 затем непрерывно контролируется в измерительной головке 4 тем, что установленная по центру подсветка позиционно-чувствительного фотодиода 51 контролируется в тестовом луче 43,
 25 отведенном из пути луча к фокусирующей оптике 44 посредством делителя 42 луча, и корректируется установленное посредством управляющего блока 6 отклонение посредством управляемых по двум осям откидных зеркал 21 и 22 оптического блока 72 для каждого из лазерных лучей 11 и 12. Тем самым при любой ориентации шарнирного рычага 31 зеркала обеспечивается, что входное отверстие объектива
 30 фокусирующей оптики 44 (целевая плоскость 41) освещается однородно. Вместо входного отверстия объектива фокусирующей оптики 44 может также применяться ограничение апертуры другого оптического элемента, применяемого в измерительной головке 4.

Временное наложение отдельных лазерных импульсов обоих лазерных лучей 11 и
 35 12 реализуется посредством ручной или механической регулировки переменного оптического элемента 723 задержки. Разделенные после фокусирующей оптики 44 за счет дисперсии позиции фокуса лазерных лучей 11 и 12, различающихся по длине волны, могут подвергаться наложению посредством телескопической системы 722 внутри
 объекта 9 измерения (в данном примере внутри картины 92).

В измерительной головке 4 основная доля лазерного излучения обоих лазерных
 40 лучей 11 и 12 посредством делителя 42 лучей направляется в сканирующий блок 46, предусмотренный для двумерного сканирования. После сканирующего блока 46 лазерное излучение посредством телескопической системы 47 направляется во входное отверстие объектива фокусирующей оптики 44 и с помощью фокусирующей оптики 44
 45 фокусируется на исследуемой картине 92.

Сканирующий блок 46 обеспечивает возможность двумерного отклонения лазерных лучей 11 и 12 в фокальной плоскости фокусирующей оптики 44, так что может осуществляться растровое двумерное сканирование или возбуждение картины 92.

Томографическое трехмерное представление объекта 9 измерения (в качестве пакетной съемки различных слоев картины 92) обеспечивается за счет систематического регулирования фокусирующей оптики 44 посредством блока 48 позиционирования по Z-оси.

- 5 Сигналы, сгенерированные в фокальной плоскости фокусирующей оптики 44 в картине 92, соответственно, различными возбуждающими лучами (лазерными лучами 11 и 12 с отличающейся длиной волны и последовательностью импульсов), принимаются интегрированным образом с помощью фокусирующей оптики 44 измерительной головки 4 и посредством двух дихроичных делителей 451 и 452 луча, предназначенных для
10 отвода измерительных сигналов, например сигналов авто-флуоресценции и SHG-сигналов, отделяются от отраженного возбуждающего излучения и направляются на два измерительных детектора, МР-детектор 54 и CARS-детектор 55. Оценка МР-сигналов и CARS-сигналов осуществляется в основном приборе 7 в блоке 61 оценки и может отображаться на индикаторном блоке 62 как многомерное распределение шкалы серого.
- 15 Для съемки изображения, осуществляемой на основе коррелированного во времени счета одиночных фотонов (англ. Time Correlated Single Photon Counting-TCSPC), с целью спецификации атомов и молекул и их окружения посредством измерения времен затухания колебаний атомов и молекул, измерительные детекторы 54 и 55 могут заменяться детекторами с более высоким временным разрешением, и их сигналы
20 обрабатываются в блоке 61 оценки. Для запуска, требуемого для TCSPC-измерений, предусматривается динистор 56, который использует паразитное отражение обратной стороны одного из делителей 451 или 452 луча. В этом примере применяется отражение обратной стороны делителя 451 луча.

- Опционально для позиционно-чувствительного фотодиода 51, с помощью выходного
25 сигнала которого управляющий блок 6 посредством двухосных откидных зеркал 21 и 22 управляет стабильным положением лазерных лучей 11 и 12 относительно целевой плоскости 41, определяемой в измерительной головке 4, может использоваться паразитное отражение обратной стороны одного из делителей 451 или 452 луча. Для этого на фиг. 4 эта альтернативная фотодиоду 51 позиция показана пунктиром и
30 обозначена фотодиодом 51', причем используется паразитное отражение обратной стороны делителя 452. Этот альтернативный фотодиод 51' может, так как он расположен ближе к целевой плоскости 41 (входное отверстие объектива фокусирующей оптики 44), быть предпочтительным, и в данном случае отпадает необходимость в фотодиоде 51, расположенным в тестовом луче 43. Делитель 42 луча может в этом случае быть
35 заменен выпуклым зеркалом (не показано).

При этом стабилизированным лазерным лучом возбуждения измеряемой картины 92 стабильность направления улучшается в 10-20 раз. Подобное улучшение обеспечивает однородную подсветку поля изображения во всех позициях измерительной головки 4 и, таким образом, воспроизводимые, сопоставимые результаты измерений.

40 **Пример выполнения 3**

На Фиг. 5 показана измерительная система с применением шарнирного рычага 31 зеркала и с оптическим волокном 32 в качестве двух отдельных направляющих луч оптических передающих систем 3.

- Короткоимпульсный лазер 71 аналогичным образом, как и во втором примере, с
45 помощью оптического блока 72 через откидное зеркало 21 вводится в гибкий шарнирный рычаг 31 зеркала и направляется к оптической измерительной головке 4.

Преобразователь 73 частоты, применяемый для формирования дополнительного CARS-изображения, снабжается посредством лазерного луча 11', отведенного делителем

725 луча, через отклоняющее зеркало 721 выходной длиной волны, выработанной короткоимпульсным лазером 71, и излучает лазерный луч 12 с длиной волны, отличающейся от короткоимпульсного лазера 71. Лазерный луч 12, в отличие от предыдущего примера, после того как он пройдет через телескопическую систему 722, посредством первого одноосного откидного зеркала 23 и расположенного ортогонально ему второго одноосного откидного зеркала 24 перед оптическим элементом 723 задержки отдельно ориентируется по двум координатным направлениям. Он проходит, как описано со ссылкой на фиг. 4, также элемент 723 задержки и зеркальное устройство 724. Затем лазерный луч 12 - также в отличие от фиг. 4 - не проходит через дихроичный делитель 726 луча для соединения с лазерным лучом 11, а отдельно вводится в световодное волокно 32 и с помощью него направляется к измерительной головке 4.

В измерительной головке 4 лазерный луч 12 через подходящий дихроичный делитель 421, который к тому же принимает на себя функцию отклонения лазерного луча 11, а также функцию делителя для отвода тестового луча 43 на фотодиод 51, коллинеарно накладывается на лазерный луч 11, направляемый из шарнирного рычага 31 зеркала, и фокусируется на ткани мышцы 93 (в качестве конкретного объекта 9 измерения).

Дальнейшая регистрация и обработка сигналов, возвращаемых из ткани мышцы 93, осуществляется в этом примере путем отвода через делитель 451 луча с помощью общего детектора 57 для выработанных МР- и CARS-сигналов, причем посредством блокирования одного из лазерных лучей 11 или 12 или альтернативно посредством изменения фазового положения (временное отношение) обоих лазерных лучей 11 и 12 по отношению друг к другу CARS-сигналы с помощью группы элементов 723 задержки могут отделяться от МР-сигналов, за счет чего детектор 57 принимает только МР-сигналы. Кроме того, посредством синфазного возбуждения обоих лазерных лучей 11 и 12 CARS- и МР-сигналы из ткани мышцы 93 могут детектироваться совместно (с наложением).

Пример выполнения 4

Другое предпочтительное выполнение лазерного сканирующего микроскопа представлено на фиг. 6, причем два оптических волокна 32 и 33 применяются в качестве оптических передающих систем 3, направляющих луч.

Оба лазерных луча 11 и 12 с различной длиной волны направляются в оптическом блоке 72, как и в третьем примере, ориентируются и согласуются друг с другом, но не накладываются один на другой. Лазерный луч 12, в отличие от предыдущих примеров, генерируется во втором лазерном источнике 74 и вводится в световодное волокно 32 после несколько более трудоемкой фазовой синхронизации посредством группы элементов 723 задержки и расположенного вслед за ней зеркального устройства 724 (как в третьем варианте согласно фиг. 5). Лазерный луч 11 в этом случае вводится во второе волокно, предпочтительно одномодовое волокно 33. Оба волокна 32 и 33 затем коллинеарно накладываются посредством дихроичного делителя 421 в измерительной головке 4, аналогично тому, как это выполняется в третьем примере. Стабилизированная коллинеарная ориентация лазерных лучей 11 и 12, а также регистрация возбужденных при этом сигналов происходят аналогично тому, как это описано во втором примере выполнения.

Заполненная жидким или твердым веществом чашка 94 Петри - в качестве объекта 9 измерения - может жестко фиксироваться в измерительной головке 4 (в простейшем случае, например, с помощью двусторонней клейкой ленты) или может быть установлена подвижным образом с помощью позиционируемого столика (например, двух- или трехосного крестового столика, не показан). Это обеспечивает возможность

формирования изображения с помощью микроскопа при очень незначительных технических затратах. Вместо чашки 94 Петри могут также исследоваться пластины с микротитрами на содержащиеся в них вещества. Инверсная конфигурация микроскопа, показанная схематично на фиг. 6, позволяет, таким образом, выполнять исследования любых проб, например проб, помещенных в питательные растворы, твердых порошкообразных или гранулированных веществ или также твердых тел (приповерхностных областей).

Преимущества описываемой МРТ-системы с CAES-детектированием по сравнению с обычными или негибкими системами заключаются в измерительной головке 4 с малым весом, свободно позиционируемой в пространстве посредством оптического шарнирного рычага 31 и/или световодных волокон 32, 33, и в мобильном основном приборе 7. Такое устройство позволяет оператору в короткое время воспроизводимым образом выполнять комбинированные измерения (экономия времени и затрат) с высоким разрешением и при этом иметь в своем распоряжении измерительное устройство для микроскопии, которое для поверхностей объектов, ориентированных любым образом, может выполнять множество абсолютно равноценных (совместимых) измерений на различных частях объекта 9 измерения (в особенности тела человека или животного) и без перемещения объекта измерения (например, перемещений пациента) или без отбора проб с объекта 9 измерения.

Кроме того, гибкое позиционирование измерительной головки 4 обеспечивает возможность так называемого инверсного формирования изображения, обычно используемого в традиционной микроскопии.

В отличие от обычных систем микроскопии, которые доступны только как вертикальный микроскоп (0°) или также как инверсный микроскоп (180°), предлагаемое изобретение с неограниченно подвижной измерительной головкой 4 допускает также положение под 90° и любые отклонения от данного положения. Тем самым также возможны измерения на вертикальных объектах, как, например, исследования культур плесени на стенах, исследования частей растений на плантациях, анализ материалов (см. фиг. 4), исследования животных (см. фиг. 5), исследования кожи на людях (фиг. 3), а также криминалистические исследования различного типа, а также возможно использование в качестве инверсного лазерного сканирующего микроскопа для исследования любых жидких или твердых веществ (фиг. 6).

С помощью соответственно согласованной насадки (не показана) на измерительной головке 4, кроме того, возможно применять позиционирующий столик (крестовый столик) на измерительной головке 4, чтобы предоставлять обычные функциональные возможности микроскопа, которые за счет мобильности сканирующего микроскопа (основного прибора 7) в любом месте обеспечивают возможность проведения исследований с высоким разрешением в макроскопической области образца.

Преимущества соединения формирующих изображение диагностических систем мультифотонной флуоресцентной микроскопии, SHG-микроскопии и/или CARS-микроскопии по сравнению с соответственно отдельными диагностическими системами заключаются в комбинации способов мультифотонного, SHG- и CARS-возбуждения и формирования изображения в одном компактном мобильном основном приборе 7 с гибкой измерительной головкой 4. Предложенное устройство с гибким шарнирным рычагом 31 или оптическими волокнами 32, 33 обеспечивает возможность свободного позиционирования измерительной головки 4 без ограничений разрешения и без искажений сигнала вследствие неточной регулировки возбуждающего излучения, за счет того что сигнал регистрируется и корректируется надежным способом, и тем самым

обеспечивается формирование изображения и оценка с минимальными погрешностями.

Перечень ссылочных позиций

- 1 лазер
- 11 лазерный луч (возбуждающий луч)
- 5 12 лазерный луч (второй возбуждающий луч)
- 13 профиль луча
- 2 (управляемое) откидное зеркало
- 21, 22 двухосное откидное зеркало
- 23, 24 одноосное откидное зеркало
- 10 3 передающая оптика
- 31 шарнирный рычаг зеркала
- 32 световодное волокно
- 33 одномодовое волокно
- 4 измерительная головка
- 15 41 целевая позиция
- 42 делитель луча
- 421 дихроичный делитель
- 43 тестовый луч
- 44 фокусирующая оптика
- 20 45 делитель для отвода сигнала
- 451 дихроичный делитель луча
- 452 дихроичный делитель луча
- 46 блок сканирования
- 47 телескопическая система
- 25 48 позиционирование по Z-оси
- 5 (позиционно-чувствительный) фотодетектор
- 51 (круглый) фотодиод
- 52, 53 компоненты сигнала (в X-, Y-направлении)
- 521, 531 максимум
- 30 54 (MP-)детектор
- 55 (CARS-)детектор
- 56 дионистр
- 57 общий детектор
- 6 управляющий блок
- 35 61 блок оценки
- 62 блок индикации
- 7 (мобильный) основной прибор
- 71 короткоимпульсный лазер
- 72 оптический блок
- 40 721 отклоняющее зеркало
- 722 телескопическая система
- 723 элемент задержки
- 724 зеркальное устройство
- 725 делитель луча
- 45 726 дихроичное зеркало
- 73 преобразователь частоты
- 74 второй лазерный источник
- 8 опорный рычаг

- 9 объект измерения
- 91 человеческая кожа
- 92 картина
- 93 ткань мышцы
- 5 94 чашка Петри (с жидким веществом)

Формула изобретения

1. Гибкий нелинейный лазерный сканирующий микроскоп для неинвазивного трехмерного детектирования, содержащий по меньшей мере один источник излучения, который формирует возбуждающий луч для инициирования вторичного излучения, эмитируемого атомами и молекулами, гибкую передающую оптику для передачи излучения к измерительной головке с фокусирующей оптикой, с помощью которой излучение фокусируется на объекте измерения и эмитированное вторичное излучение возвращается и направляется на по меньшей мере одну детекторную систему, отличающийся тем, что
- измерительная головка (4) с возможностью свободного наклона, поворота в пространстве и гибкого позиционирования соединена с по меньшей мере одним источником (1; 71; 74) излучения, так что микроскопия может выполняться вертикально, инверсно, а также под любыми пространственными углами,
 - по меньшей мере одно управляемое откидное зеркало (2) для отклонения и ориентации по меньшей мере одного возбуждающего луча (11; 12) импульсного лазерного излучения по меньшей мере одного источника излучения расположено так, чтобы по меньшей мере один возбуждающий луч (11; 12) направлять посредством передающей оптики (3) в измерительную головку (4) таким образом, что возбуждающий луч (11; 12) в любом положении измерительной головки (4) размещен концентрично относительно оптического элемента измерительной головки (44) с ограниченной апертурой,
 - в измерительной головке (4) перед фокусирующей оптикой (44) расположен делитель (42) луча для отвода тестового луча (43) из возбуждающего луча (11; 12),
 - фотодетектор (5), обладающий локальным разрешением, для обнаружения позиции возбуждающего луча (11; 12), определяемой в целевой позиции (41), расположен в позиции тестового луча (43), сопряженной с целевой позицией (41), причем центральная ориентация тестового луча (43) на фотодетекторе (5) соответствует нормальной ориентации возбуждающего луча (11; 12), и
 - предусмотрен управляющий блок (6) для управления управляемым откидным зеркалом (2) в зависимости от определенного отклонения тестового луча (43) от его центральной ориентации на фотодетекторе (5), так что достигается стабилизация направления лазерного луча независимо от величины позиционно обусловленного ограничения передающей оптики (3).
2. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что управляемое откидное зеркало (2) приводится в действие посредством управляемого держателя зеркала на основе приводного принципа из группы, включающей в себя емкостные, индуктивные или пьезо-исполнительные элементы, шаговые двигатели или двигатели постоянного тока.
3. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что управляемое откидное зеркало (2) реализовано посредством двухосного держателя (21; 22) зеркала или посредством двух одноосных держателей (23, 24) зеркала.
4. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что в качестве

целевой позиции (41) по меньшей мере одного возбуждающего луча (12; 12) выбрано входное отверстие объектива фокусирующей оптики (44) или другого оптического элемента с ограниченной апертурой.

5 5. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что делитель (42) луча для формирования тестового луча (43) в зависимости от направления по меньшей мере одного возбуждающего луча (11; 12) в измерительной головке (4) выполнен либо как отражающий, либо как пропускающий делитель луча.

10 6. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что делитель (42) луча для отвода тестового луча (43) выполнен в то же время как дихроичное зеркало для коллинеарного ввода двух различных возбуждающих лучей (11; 12).

7. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что фотодетектор (5) представляет собой круглый фотодиод (51).

15 8. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что, дополнительно к регулированию стабильности, в передающей оптике (3) обеспечивается возможность определения и корректировки стабильности наведения лазера.

20 9. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что детекторная система для вторичного излучения выполнена с детектором (54) для MPT- или SHG-формирования изображения, так что имеется гибкая система диагностирования флуоресцирующих веществ, которая через гибкий оптический шарнирный рычаг (31) незначительной механической точности допускает любое свободное позиционирование измерительной головки (4) в пространстве и обеспечивает воспроизводимое MPT-формирование изображения.

25 10. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что детекторная система для вторичного излучения выполнена с детекторами (54, 55) для MPT-формирования изображения и CARS-формирования изображения, так что имеется гибкая система диагностирования флуоресцирующих и не флуоресцирующих веществ в живой материи, которая через общий гибкий оптический шарнирный рычаг (31) допускает любое свободное позиционирование в пространстве совместно используемой измерительной головки (4) и формирует одновременное и одинаковое по положению
30 изображение из MPT- и CARS-сигналов.

35 11. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что детекторная система для вторичного излучения выполнена с возможностью MPT-формирования изображения и CARS-формирования изображения так, что имеется гибкая система диагностирования флуоресцирующих и не флуоресцирующих веществ в живой материи, которая через гибкий оптический шарнирный рычаг (31) и отдельное оптическое волокно (32) допускает любое свободное позиционирование совместно используемой измерительной головки (4) в пространстве и генерирует одновременное и одинаковое по местоположению сформированное изображение из MPT- и CARS-сигналов.

40 12. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что детекторная система для вторичного излучения выполнена с возможностью MPT-формирования изображения и CARS-формирования изображения, так что имеется гибкая система диагностирования флуоресцирующих и не флуоресцирующих веществ в живой материи, которая через два отдельных оптических волокна (32; 33) допускает любое свободное позиционирование в пространстве совместно используемой измерительной головки (4)
45 и генерирует одновременное и одинаковое по местоположению сформированное изображение из MPT- и CARS-сигналов.

13. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что детекторная система для вторичного излучения имеет общий измерительный детектор (57) для MPT-

формирования изображения и для CARS-формирования изображения, причем предусмотрены средства для временного прерывания CARS-возбуждения, которые обеспечивают возможность отделения МРТ-формирования изображения относительно комбинированного отображения сигнала.

5 14. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что детекторная система содержит TCSPC-детекторы для МРТ-формирования изображения и динистор (56), который использует отражение обратной стороны делителя (451) луча, предусмотренного для отвода измерительного сигнала.

10 15. Лазерный сканирующий микроскоп по п. 1, отличающийся тем, что измерительная головка (4) механически опирается посредством гибкого, фиксируемого в любом положении опорного рычага (8) на мобильном основном приборе (7), и обязательным образом содержит передающую оптику (3), причем в основном приборе (7) имеются по меньшей мере один источник (71) излучения для формирования импульсного возбуждающего излучения (11; 12), оптический блок (72) для синхронизации импульсного
15 возбуждающего излучения (11; 12) и для ориентации на по меньшей мере одну передающую оптику (31; 32; 33) к измерительной головке (4), а также управляющий блок (61) для стабилизации направления возбуждающего излучения (11; 12) в измерительной головке (4) и блок (6) оценки для обработки передаваемых от детекторной системы (54, 55) измерительной головки (4) сигналов для отображения
20 изображения с помощью индикаторного блока (62).

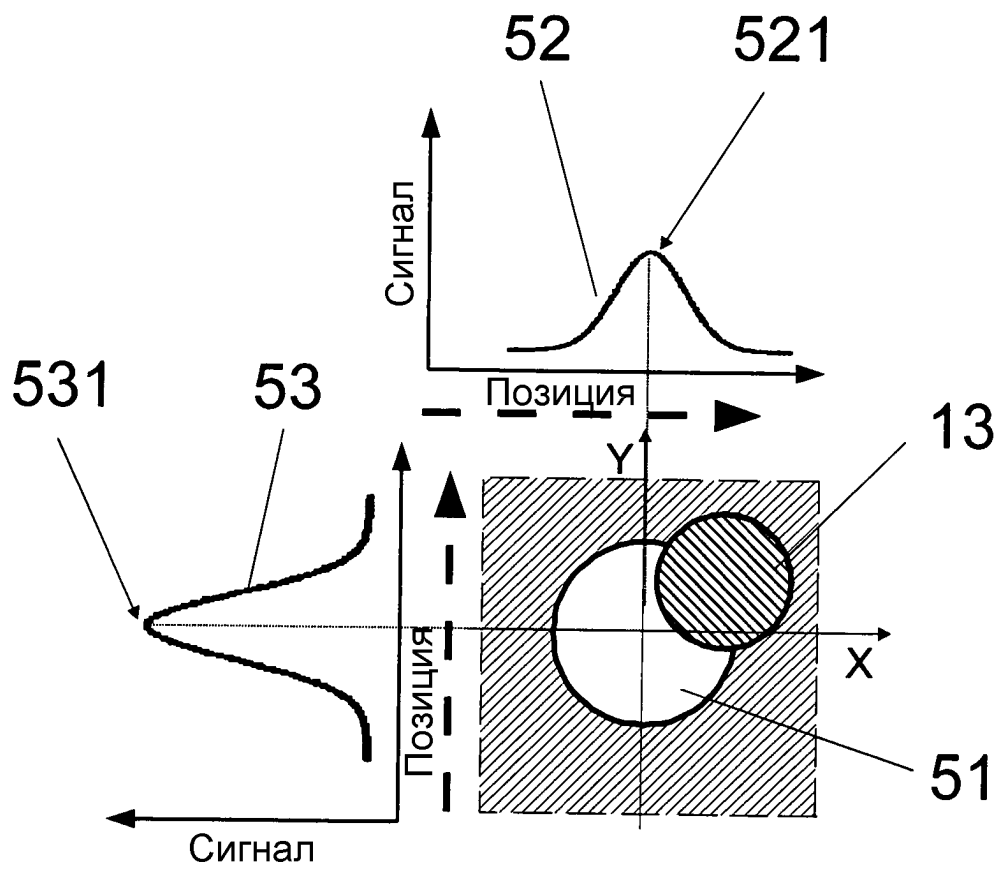
25

30

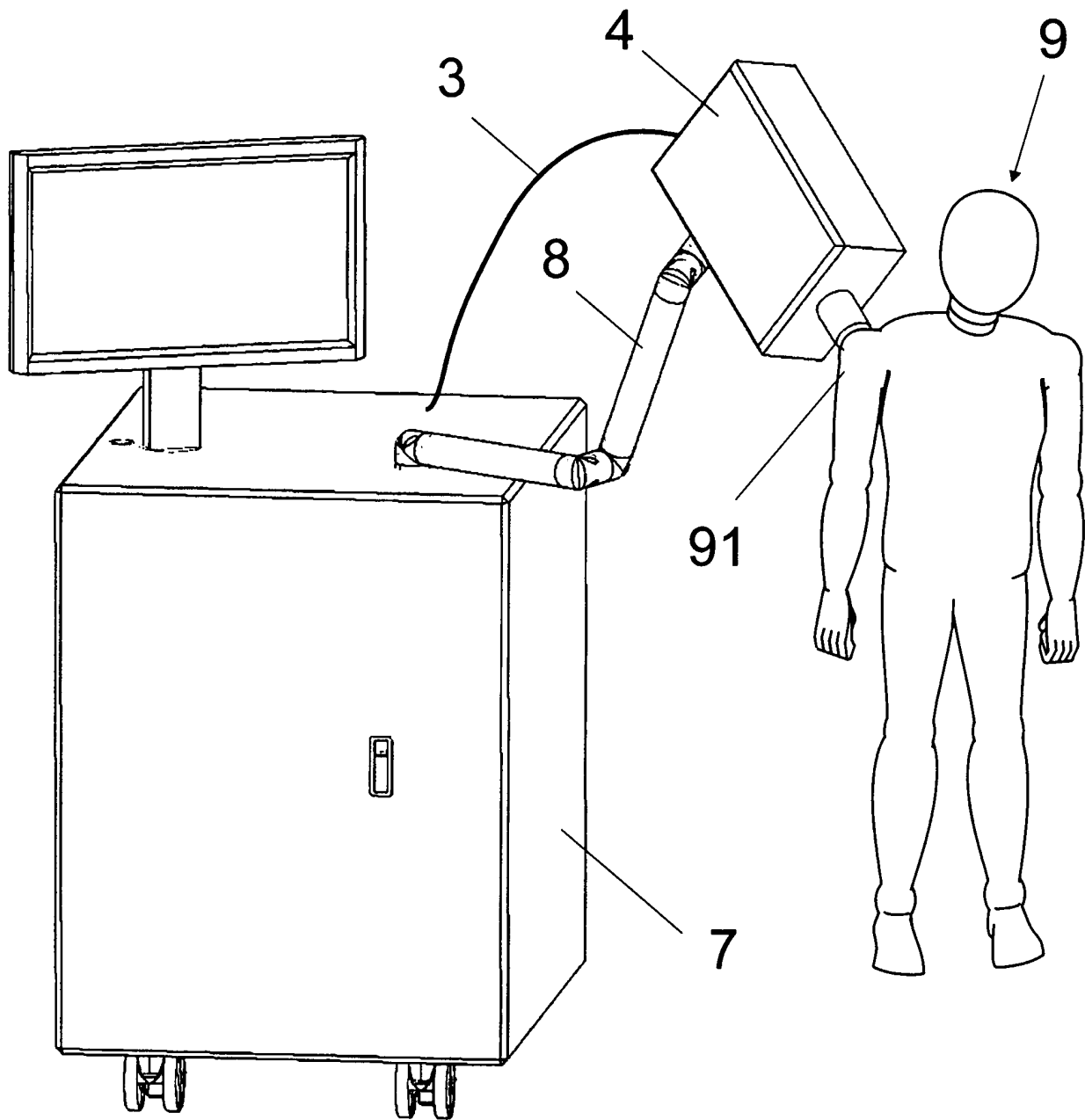
35

40

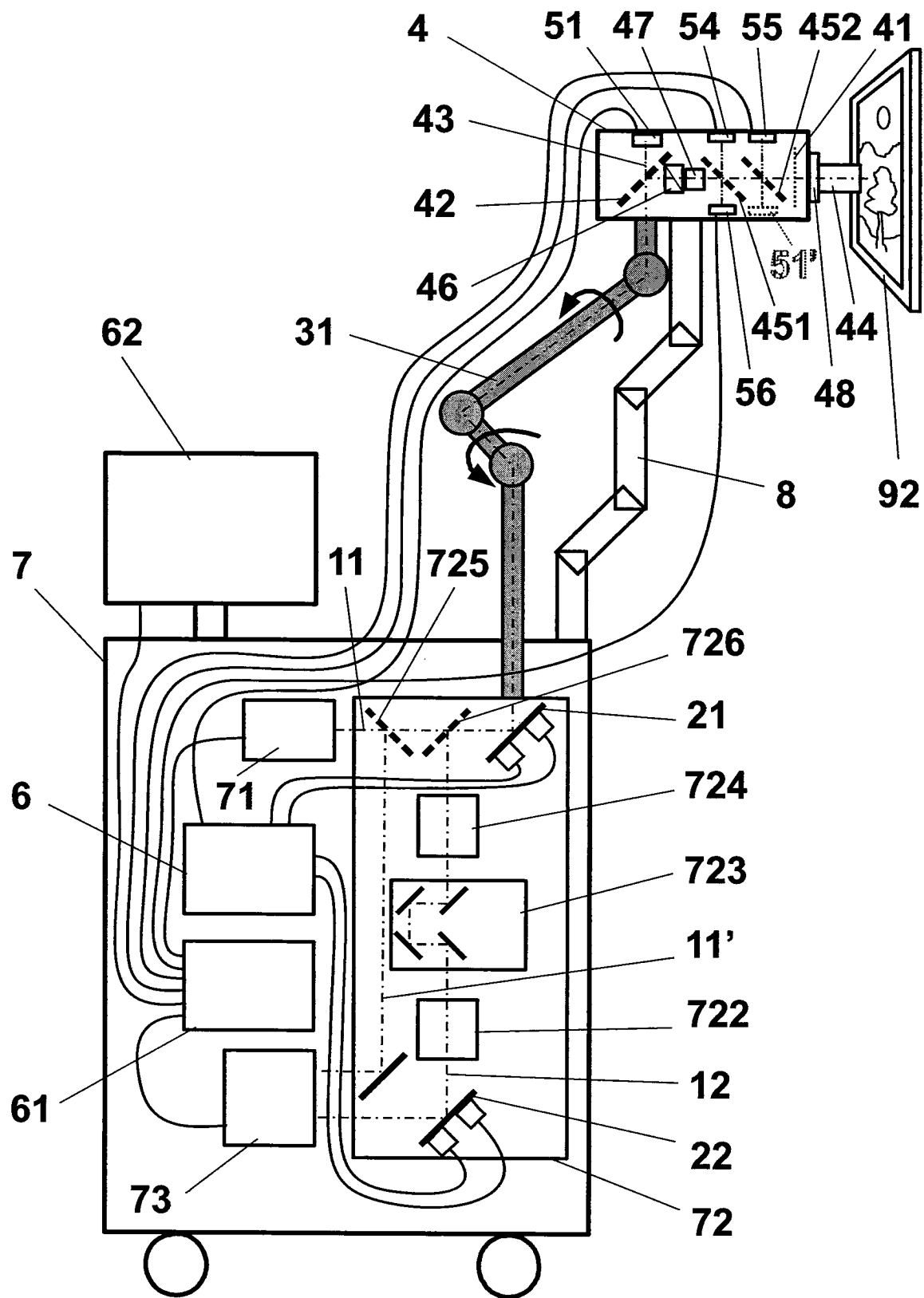
45



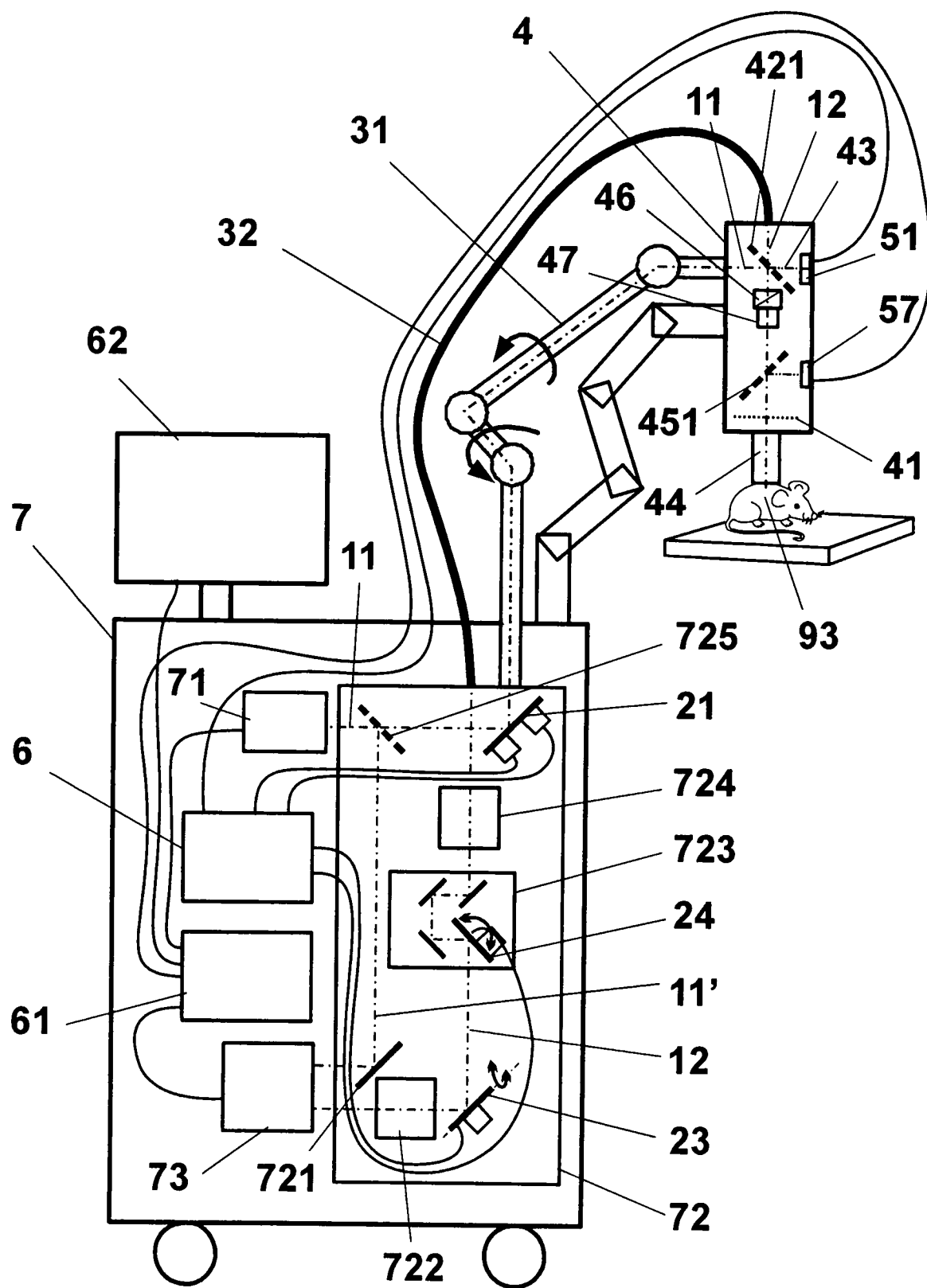
ФИГ.2



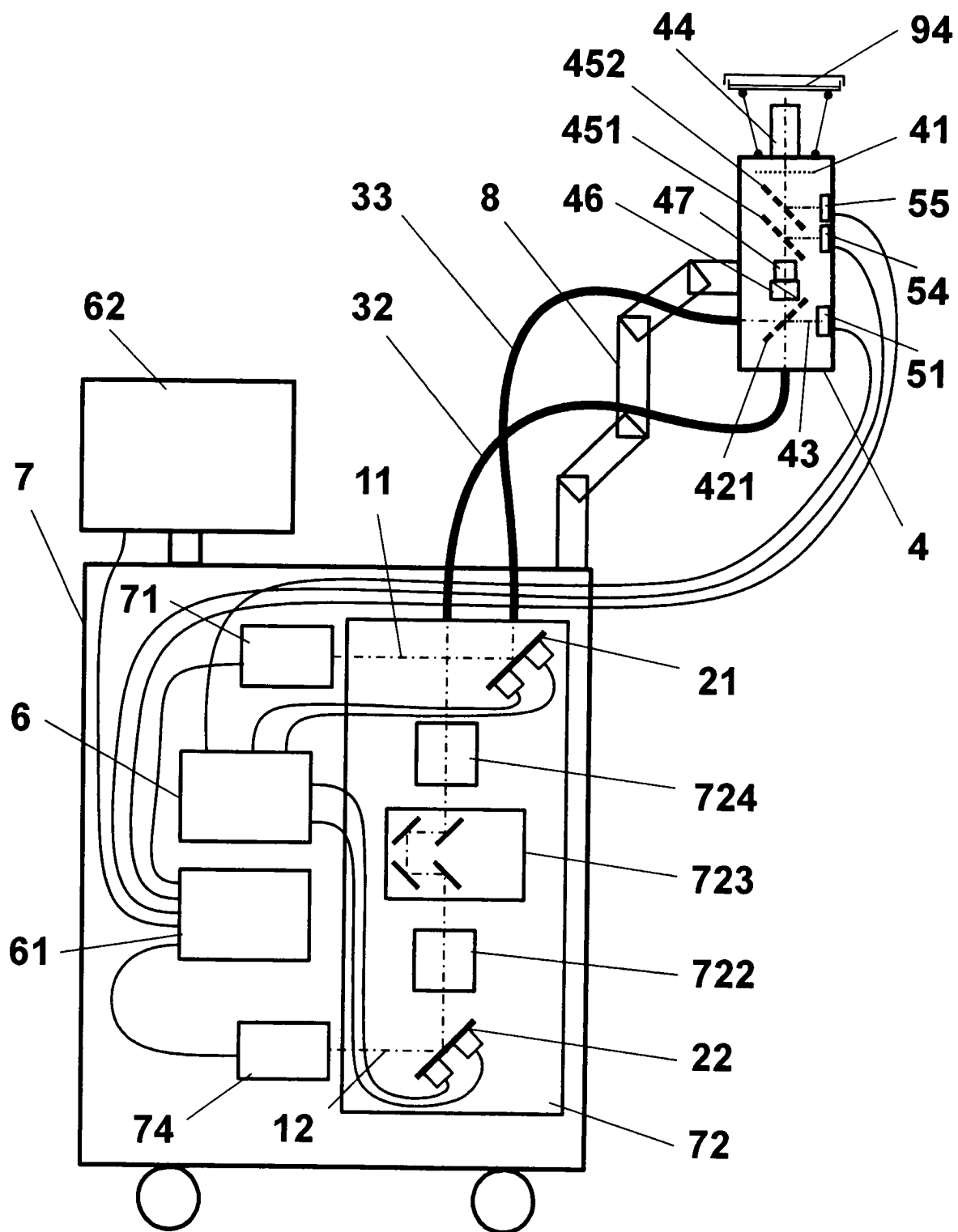
ФИГ.3



ФИГ.4



ФИГ.5



ФИГ.6