



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Optické laboratorní přístroje, Optické diagnostické přístroje

Mgr. Naděžda Vaškovická

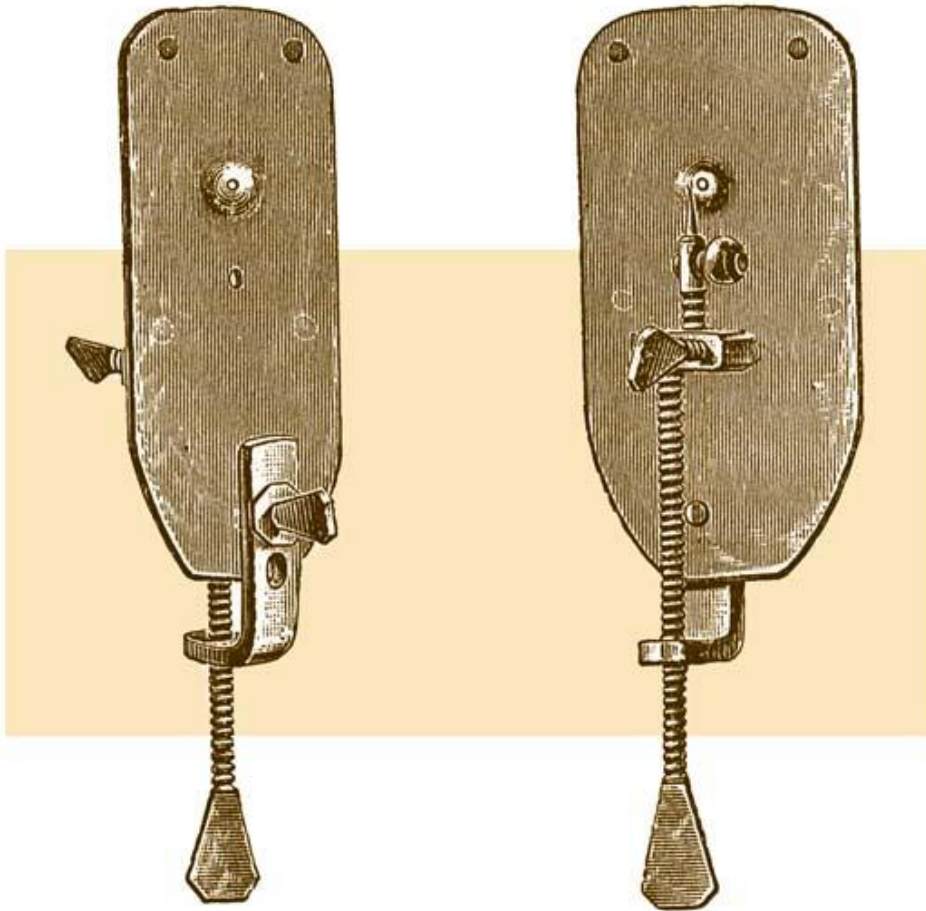
Obsah přednášky

- Mikroskopie
 - Optický mikroskop
 - Stereomikroskop
 - Fázový kontrastní mikroskop
 - Fluorescenční mikroskop
 - Konfokální laserový mikroskop
- Spektrofotometrie, Refraktometrie, Polarometrie
- Endoskopie
- Lasery
- Diagnostické přístroje využívané v optometrii

Úvod

- První mikroskop byl vyroben v Nizozemsku na konci 16. století. Anthony van Leewenhoek (1632-1723) zdokonalil jeho konstrukci po roce 1650 (rozlišení může být kolem 2000 čar na mm).
- Sestrojení elektronového mikroskopu (ve 30. letech 20. století). Rozlišení se zlepšilo přibližně 1000x oproti dosavadním mikroskopům, takže bylo možno spatřit velké molekuly (řádově nm). Dnes můžeme pozorovat jednotlivé atomy.
- V zásadě můžeme použít jakékoliv vlnění pro zobrazení mikroskopických objektů. Jedinou podmínkou je, aby vlnová délka byla kratší než rozměry pozorovaného objektu.

První použitelný mikroskop (17. století)



[www.arsmachina.com/images/
loeuwenhoek_thmb.jpg](http://www.arsmachina.com/images/loeuwenhoek_thmb.jpg).

První mikroskop

- Robert Hook 1670

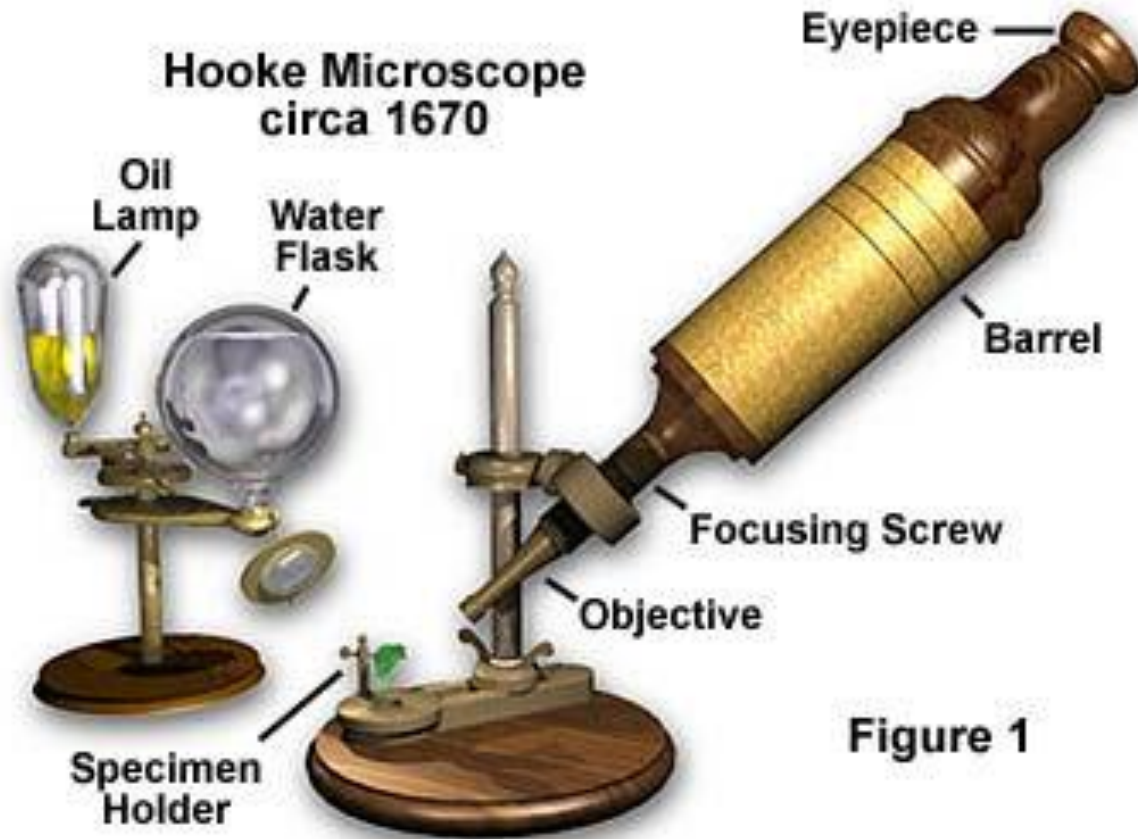
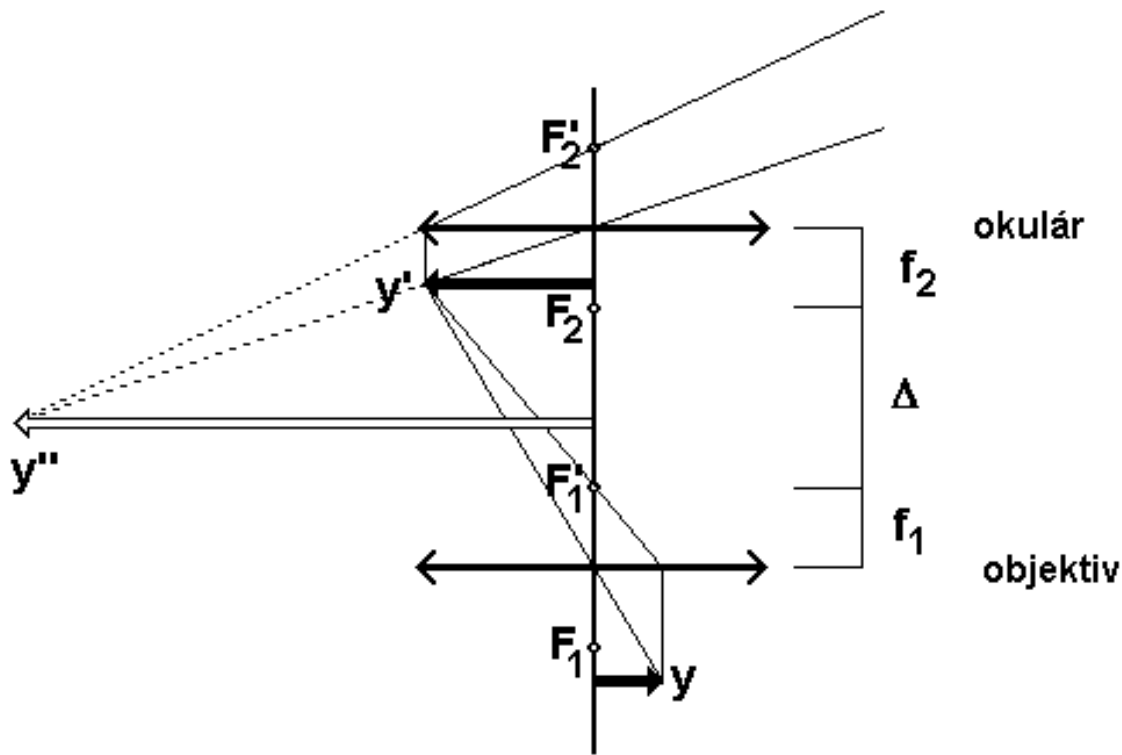


Figure 1

Optické schéma a zvětšení mikroskopu



F – ohniska,

f – ohniskové vzdálenosti,

y – předmět,

y' – skutečný obraz předmětu tvořený objektivem,

y'' – neskutečný obraz viděný v okulárem,

Δ – optický interval mikroskopu.

$$M = M_{ob} \cdot M_{ep} = \frac{\Delta \cdot d}{f_{ep} \cdot f_{ob}}$$

d – konvenční zraková vzdálenost (0,25 m), Δ – optický interval mikroskopu, f_{ob} a f_{ep} jsou ohniskové vzdálenosti objektivu a okuláru.

Schéma mikroskopu a vlastnosti jeho optického systému

- Hlavní části: dvě soustavy spojných čoček - objektiv a okulár.
- Z hlediska kvality obrazu je nejdůležitější částí mikroskopu **objektiv**, který vytváří skutečný, zvětšený a převrácený obraz. Pozorovaný objekt musí být umístěn mezi ohnisko a dvojnásobek ohniskové vzdálenosti objektivu (objektiv lze považovat za spojnou čočku s velmi krátkou ohniskovou vzdáleností – pro zajištění vysokého rozlišení).
- Mechanická část spojující objektiv s okulárem se nazývá **tubus**. Obraz vytvořený objektivem (umístěný hned za předmětové ohnisko okuláru) je pozorován **okulárem** jako jednoduchou lupou. Výsledkem je velmi zvětšený, převrácený a neskutečný obraz.
- **Kondensor** je optickým systémem soustřeďujícím světlo na pozorovaný objekt, zajišťuje jeho dokonalé osvětlení.

Objektivy mikroskopů

60x Plan Apochromat Objective



Objektivy mikroskopů



Různé objektivy vybavené apochromatickou korekcí optických vad objektivu

<http://micro.magnet.fsu.edu/>

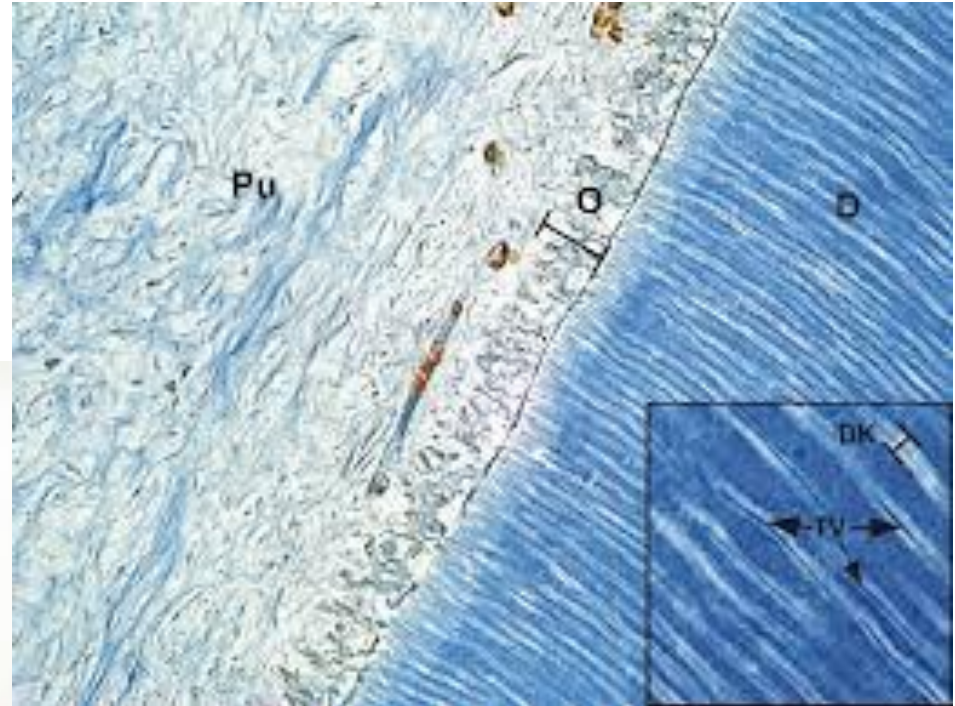
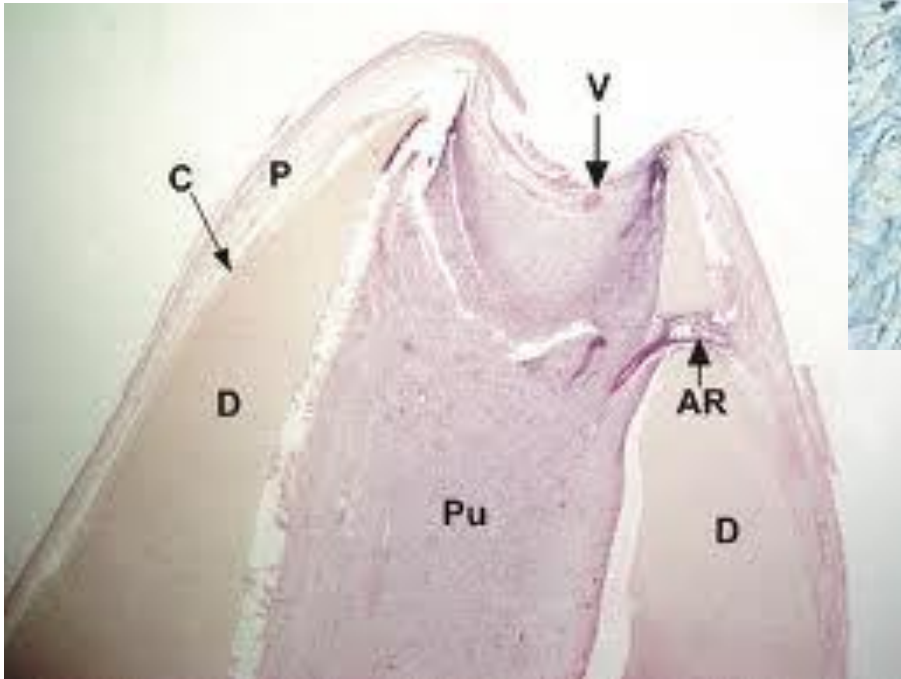
Korekce optických vad - Achro a Achromat (achromatické), **Fl, Fluar, Fluor, Neofluar, Fluotar** (fluoritové čočky, lepší odstranění kulové a barevné vady), **Apo** (apochromatické, nejvyšší stupeň korekce kulové a barevné vady), **Plan-** korekce zklenutí zorného pole (zaostření rovinného objektu v celém zorném poli mikroskopu)



Planární - Apochromatická korekce optické vady- objektiv je určený pro mikroskopy využívající fotoaparát nebo kameru k získání záznamu

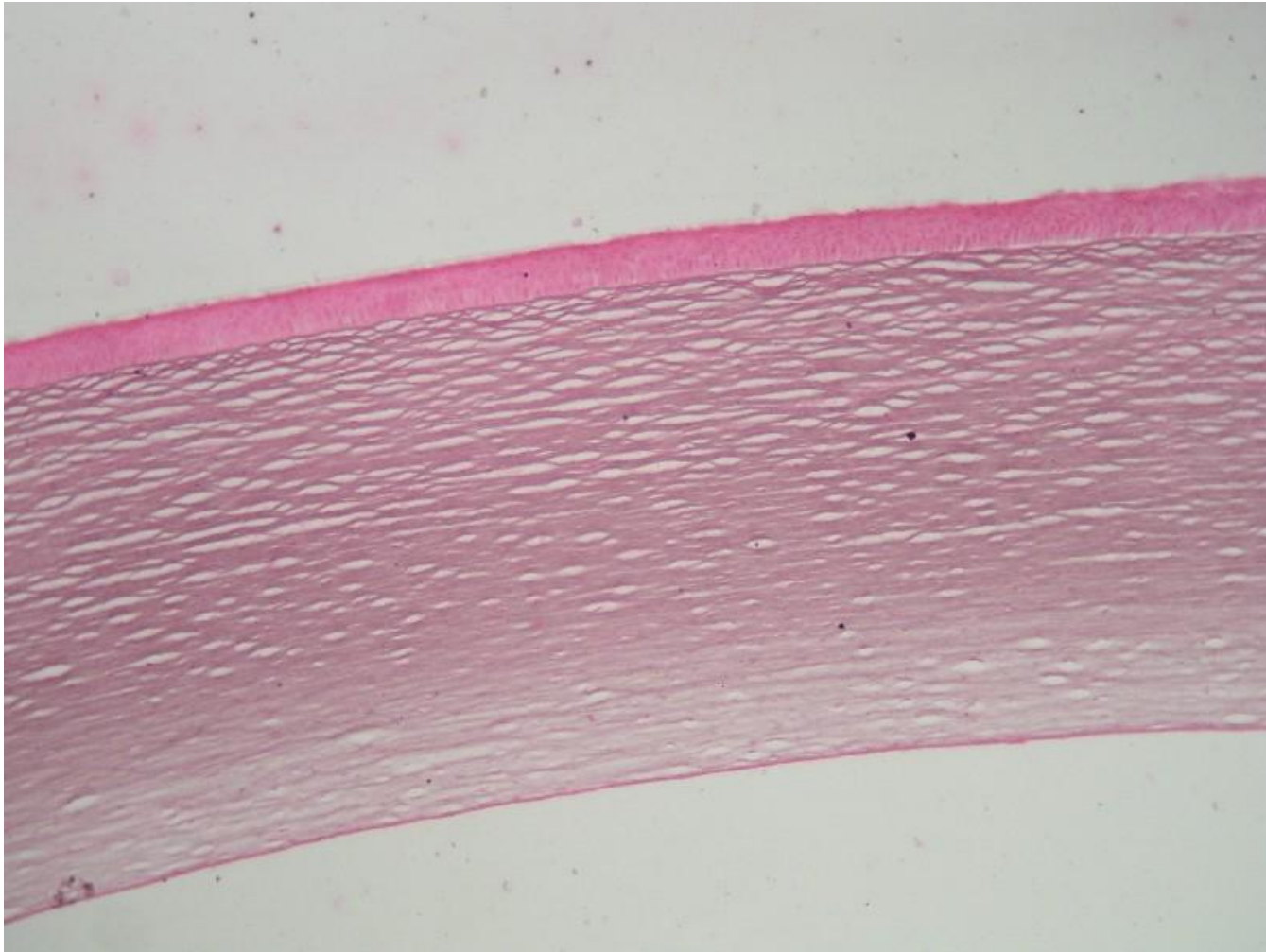
Preparát zubu svět. mikroskop

www.ultrastruktura.upol.cz

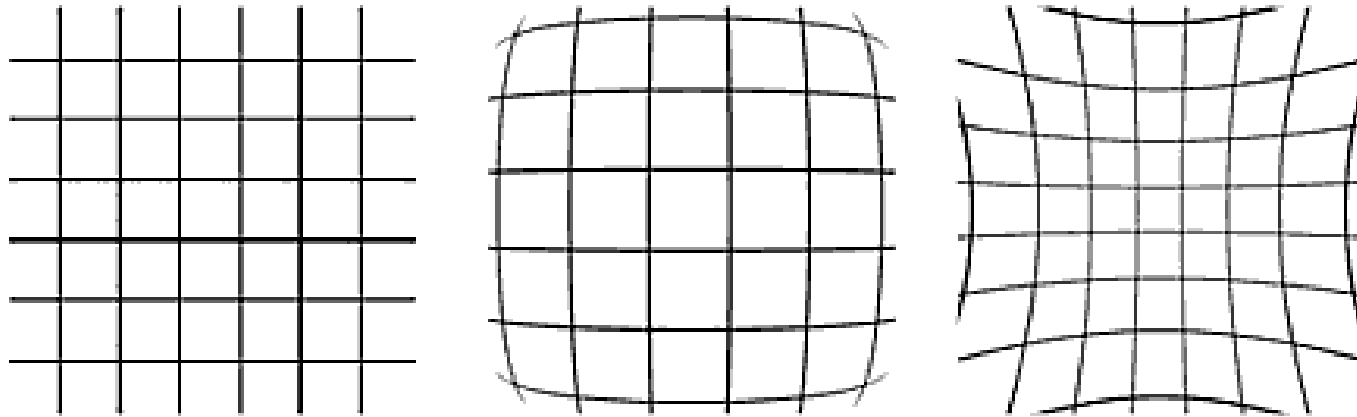


www.lfp.cuni.cz

rohovka

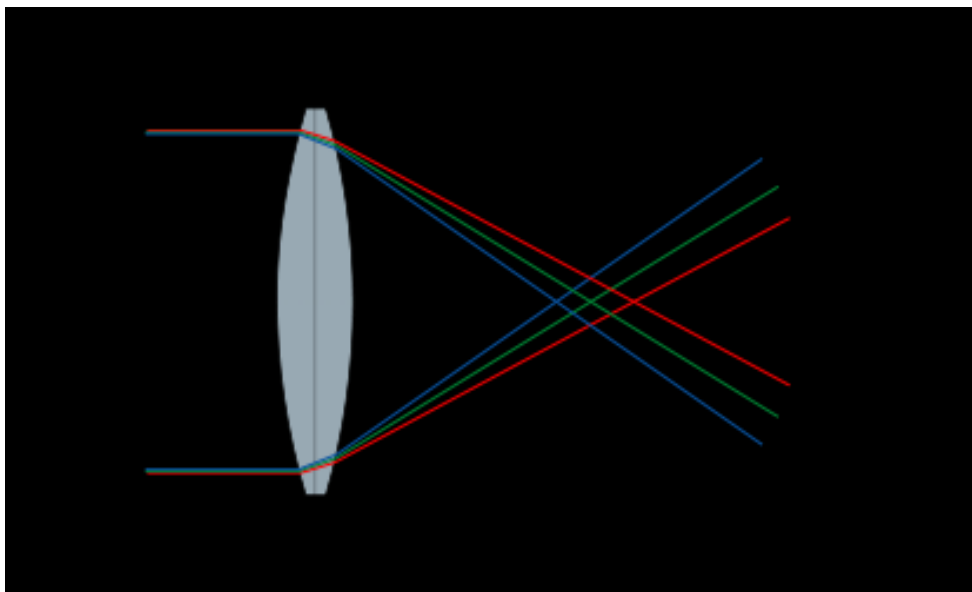


Sférické vady



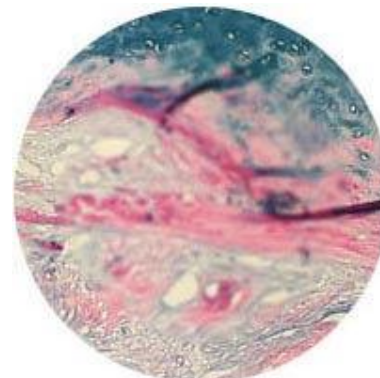
Sférické zkreslení způsobí deformaci přímek buďto na soudek (uprostřed) nebo na polštářek (vpravo)

Barevné vady

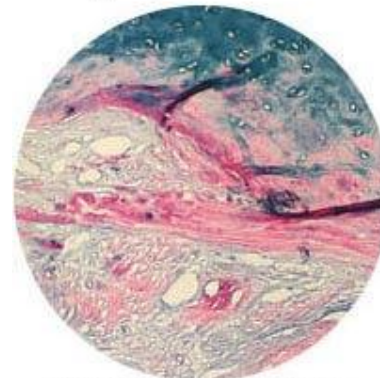


Rozklad bílého světla na barevné spektrum, korekce na 2 až 3 barvy, nejčastěji žlutá, zelená a červená oblast.

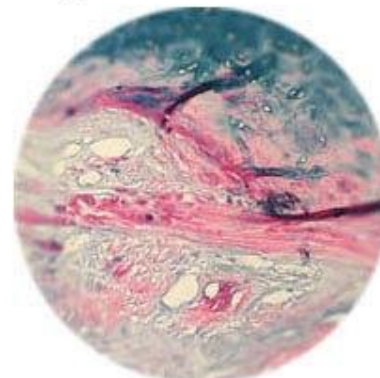
<http://cs.wikiversity.org/wiki/MedFyz>



(a) Edges in focus



(b) Entire viewfield in focus



(c) Center in focus

Figure 2

Planární vada objektivu

Objektivy mikroskopů

60x Plan Apochromat Objective



Specifikace objektivů - numerická apertura (NA)

- **Numerická apertura** –určuje úhel, pod kterým může světlo vstupovat do objektivu (což určuje jas obrazu, čím je NA větší, tím je větší zorný úhel),

$$NA = n \cdot \sin \alpha$$

kde **n** je index lomu prostředí mezi objektivem a krycím sklíčkem a α je zorný úhel.

- Pro zvýšení NA se využívá imersní prostředí s vyšším indexem lomu **n** než má vzduch

$$n_{\text{vzduchu}} = 1,003$$

$$n_{\text{voda}} = 1,333$$

$$n_{\text{glycerol}} = 1,473$$

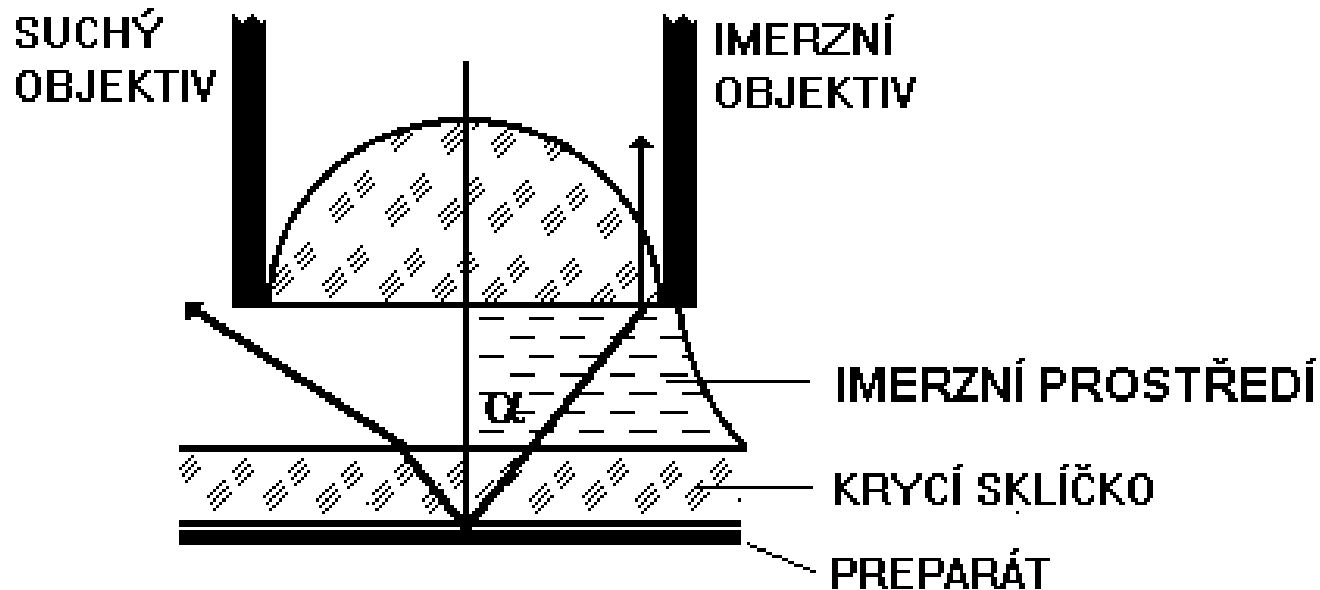
$$n_{\text{cedrový olej}} = 1,515$$

$$n_{\text{bromnaftalen}} = 1,658$$

$$n_{\text{metyleniodid}} = 1,740$$

- NA maximální hodnota je kolem 1,5

Použití imersního prostředí



Levý paprsek opouštějící sklíčko se láme na jeho rozhraní se vzduchem od kolmice a nemůže se podílet na tvorbě obrazu. Pravý paprsek prochází do imersního prostředí (jež má index lomu podobný jako sklo mezi 1,5 -1,9), nemění svůj směr a podílí se na tvorbě obrazu.

Mez prostorové rozlišovací schopnosti mikroskopu

- Mezní rozlišovací schopnost je úměrná **NA** a nepřímo úměrná vlnové délce λ použitého světla (německý fyzik *Abbe*, 1840-1905).
- V některých učebnicích je uváděn výraz pro rozlišovací schopnost:

$$\delta = \lambda/NA$$

kde δ je vzdálenost dvou ještě rozlišitelných bodů ($NA = n \cdot \sin \alpha$, kde n je index lomu prostředí mezi objektivem a krycím sklíčkem a α je dříve zmiňovaný zorný úhel).

- Jestliže se zmenšuje apertura (otvor) kondenzoru, prostorové rozlišení se snižuje, avšak roste kontrast! Proto musíme při volbě apertury kondenzoru dbát o vyváženost prostorového rozlišení a kontrastu. Chceme-li jen snížit jas obrazu, je vhodnější ztlumit lampu než zmenšit aperturu kondenzoru, protože takto nedojde ke zhoršení rozlišovací schopnosti.

Hloubka ostrosti Z

- Jde o tloušťku objektu podél osy z, která se současně nachází v ohnisku. Důležité u silnějších vzorků.

$$Z = \frac{n}{NA^2}$$

n je index lomu vzorku (resp. tekutiny obklopující mikroskopovaný objekt).

Další specifikace objektivů

- **Tloušťka krycího sklíčka** (standardně 0,17 mm). Některé objektivy mají **korekční kroužek** pro kompenzaci odchylek od tohoto standardu.
- **Pracovní vzdálenost** – Vzdálenost mezi čelem čočky objektivu a krycím sklíčkem, je-li pozorovaný předmět v ohnisku. Zmenšuje se při rostoucím zvětšení. Novější objektivy mají na sobě údaj o pracovní vzdálenosti v mm.
- **Barevné kódy** – Výrobci mikroskopů označují svoje objektivy barevnými kódy aby se usnadnila identifikace zvětšení a požadavků na imersní prostředí.

Speciální optické mikroskopy

- Pozorování ve **světlem** nebo **tmavém poli**
- **Stereomikroskop** (dva mikroskopy se samostatnými objektivy a okuláry, jejichž optické osy svírají úhel asi 15°) – stereoskopické vidění. V medicíně: **mikrochirurgie**. Obraz nesmí být převrácený. Operační pole je osvětleno optickými vlákny. Ohnisková délka objektivu se může plynule měnit - zoom – různé prostorové rozlišení.
- Moderní badatelské mikroskopy jsou vybaveny digitálními fotoaparáty pro **mikrofotografii** nebo **mikrokinematografii (video)**.
- Software pro zpracování obrazu: mění kontrast, jas, ostrost atd. Pokročilý software umožňuje kvantitativní analýzu obrazu, hledání typických tvarů atd.
- Většina druhů mikroskopů může být sestavena z různých objektivů, okulárů, kondenzorů a dodatečně vybavena různými speciálními optickými prvky. Je k dispozici různé příslušenství, např. mikromanipulátory pro umísťování elektrod do buněk, separování organel atd.

Stereomikroskop: dentální lékařství

www.dentalcare.cz



www.stomateam.cz

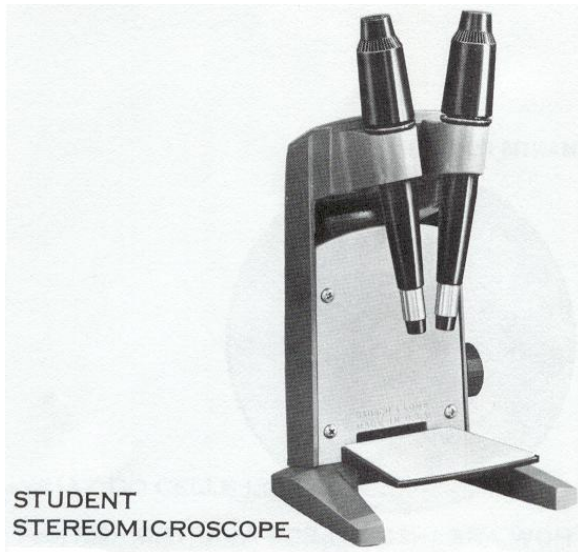
oftalmologie

Laserová operace



www.novinky.cz

Stereomikroskop



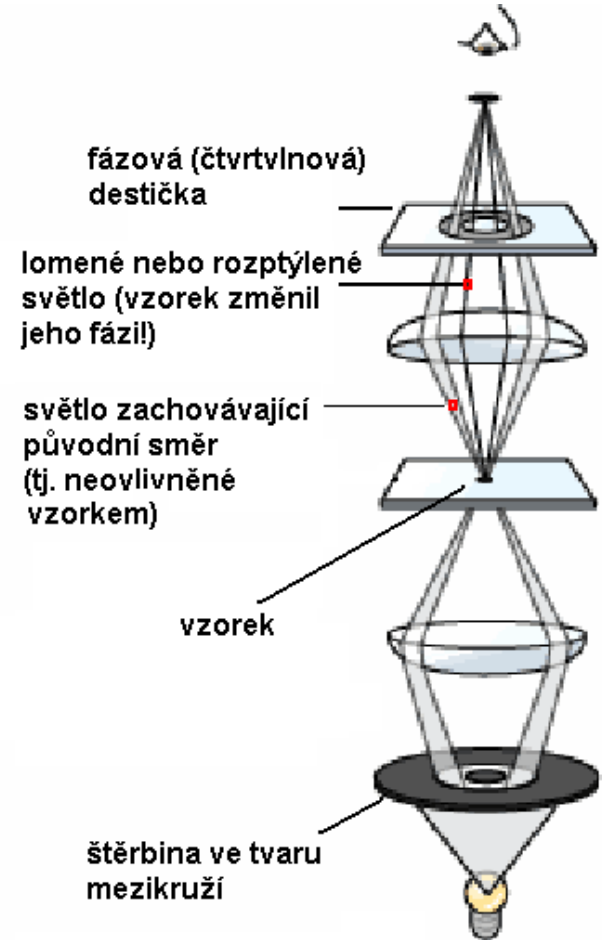
- The **OPMI® Vario/NC 33** surgical microscope

Mikroskop s fázovým kontrastem

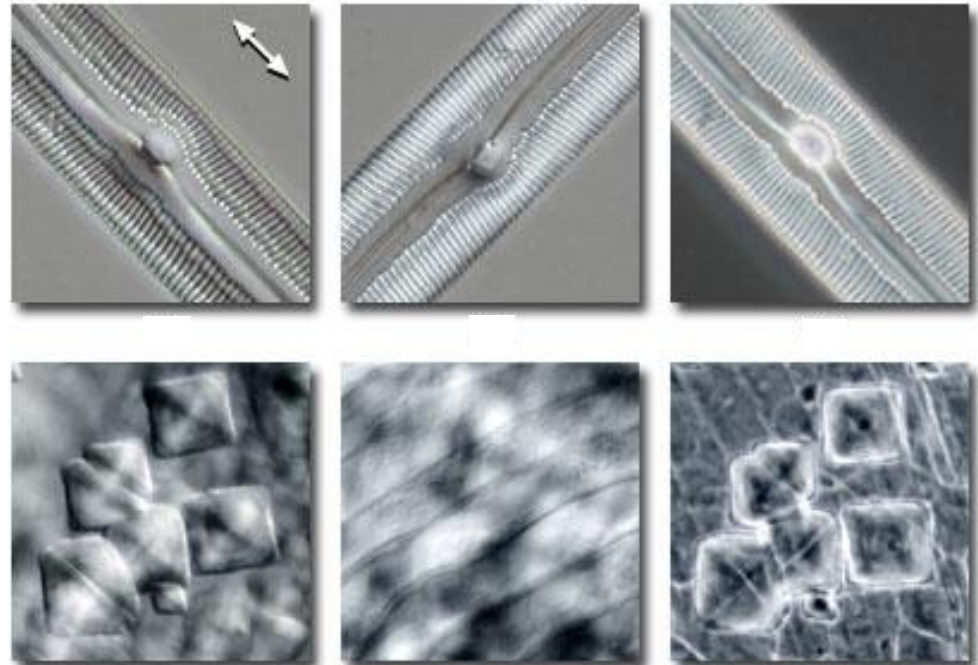
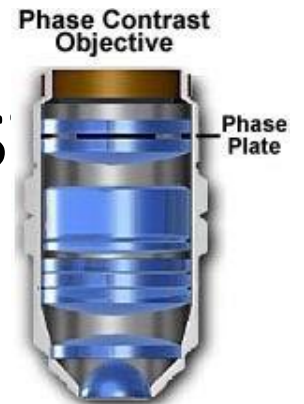
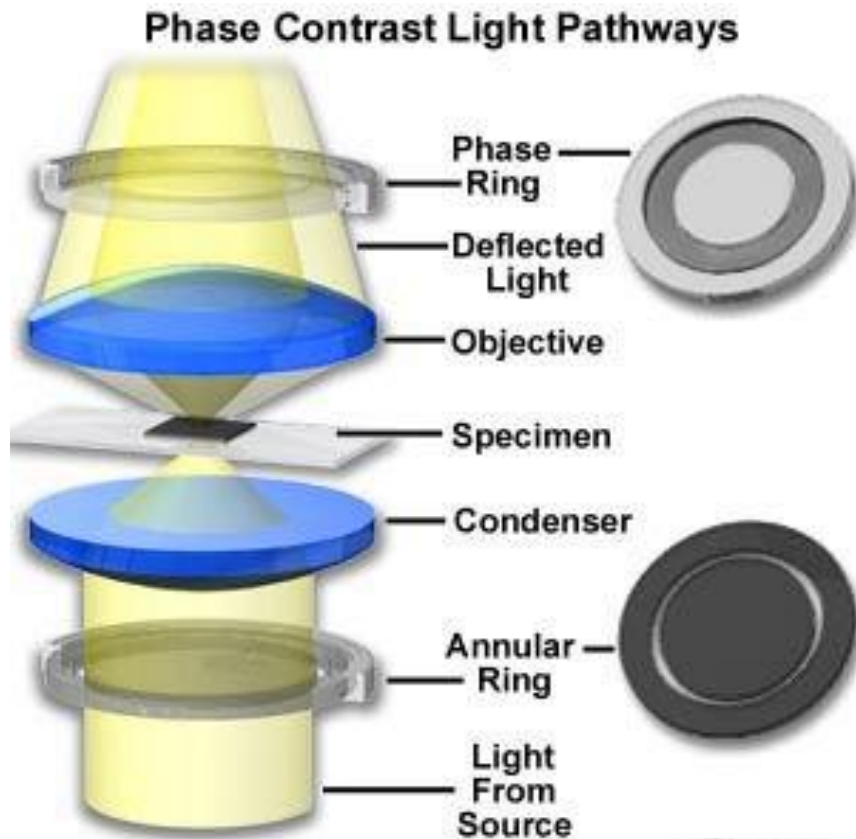
- Tato technika vytváří kontrastní obrazy např. živých buněk, jejichž struktury mají podobný útlum (jsou rovnoměrně průsvitné a proto málo kontrastní v mikroskopu zobrazujícím rozdíly v amplitudě procházejícího světla), avšak lehce se liší svým indexem lomu (v důsledku čehož dochází k fázovým posunům).
- *Fázově kontrastní technika mění rozdíly ve fázi v rozdíly v amplitudě. Živé buňky mohou být zkoumány ve svém přirozeném stavu, tj. bez fixace a barvení.*

Mikroskop s fázovým kontrastem

- Do přední ohniskové roviny kondenzoru je přidána clona se štěrbinou ve tvaru mezikruží, kterou pak prochází světlo. Když světlo prochází vzorkem, paprsky jsou odchylovány z původního směru.
- V obrazové ohniskové rovině objektivu se nachází **fázová destička**, opět ve tvaru mezikruží, jež posunuje fázi o $+\pi/2$ nebo $-\pi/2$, tj. o čtvrtinu vlnové délky. Tato destička propouští paprsky, které nezměnily svůj směr na fázových objektech. Ostatní paprsky destičku minou a jejich fáze se nezmění.
- Obraz se vytváří interferencí fázově posunutých a neposunutých paprsků. Fázové objekty pak vypadají jako tmavé nebo světlé vůči svému okolí (pozitivní nebo negativní kontrast).



Mikroskop s fázovým kontrastem



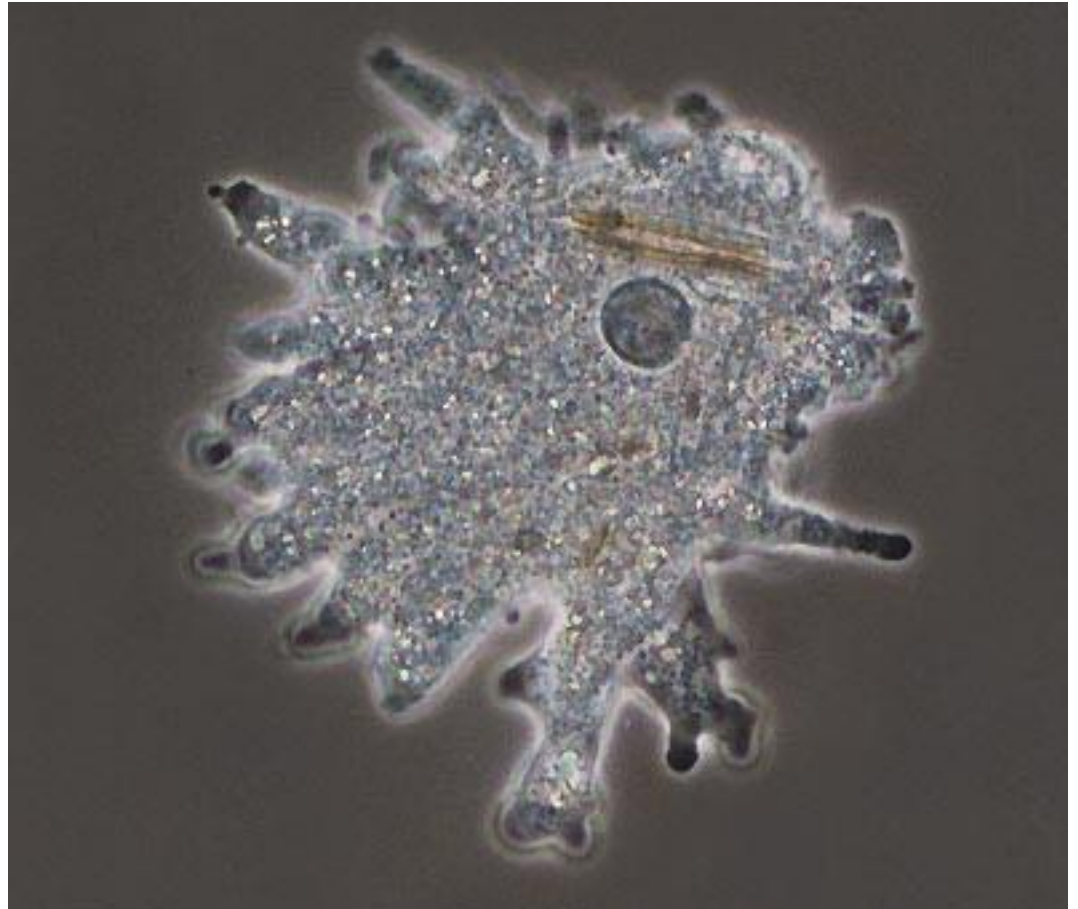
Rozsivky, zvětšení 400x

<http://micro.magnet.fsu.edu/>

<http://micro.magnet.fsu.edu/>

Mikroskop s fázovým kontrastem

Mnohé bezbarvé biologické objekty (obtížně pozorovatelné v běžném mikroskopu) jsou fázovými objekty. Barviva je mohou zviditelnit, jsou však často pro buňky jedovatá. Fázově kontrastní mikroskopy umožňují pozorovat takovéto objekty bez barvení.

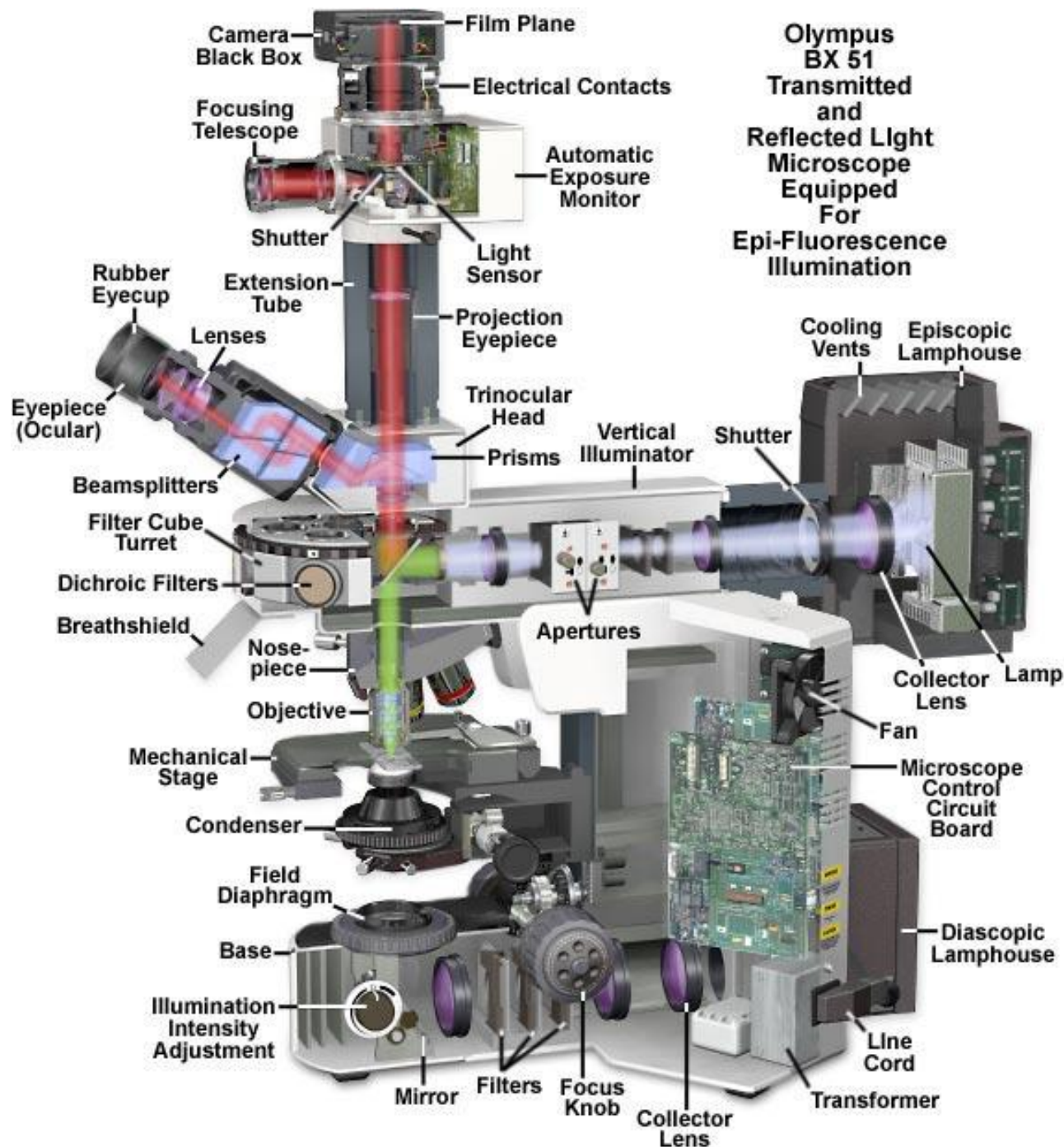


Améba ve fázovém kontrastu, Z = 250x
(www.durr.demon.co.uk/colour.html.)

Fluorescenční mikroskop

- **Fluorescenční mikroskopie** je založena na schopnosti některých látek emitovat viditelné světlo po ozáření světlem o kratší vlnové délce (UV záření nebo fialové světlo).
- Optika kondenzoru musí být přizpůsobena UV záření (křemenné, kazivcové sklo), které však může k preparátu přicházet též objektivem (horní osvětlení). Zbývající části mikroskopu jsou stejné jako u běžných mikroskopů. Nutná je ochrana očí před UV zářením (UV filtry).
- Fluorescenci vykazuje např. tryptofan či jiné sloučeniny s aromatickým kruhem či heterocyklem. Ve většině případů se však ke vzorkům přidávají **fluorescenční barviva** specificky interagující s různými buněčnými strukturami. Často je barvivo (fluorochrom, fluorescenční sonda) vázáno na **protilátku** specifickou pro některou bílkovinu. Tato imunofluorescenční metoda může selektivně zviditelnit např. cytoskelet, chromatin či různé membránové bílkoviny.

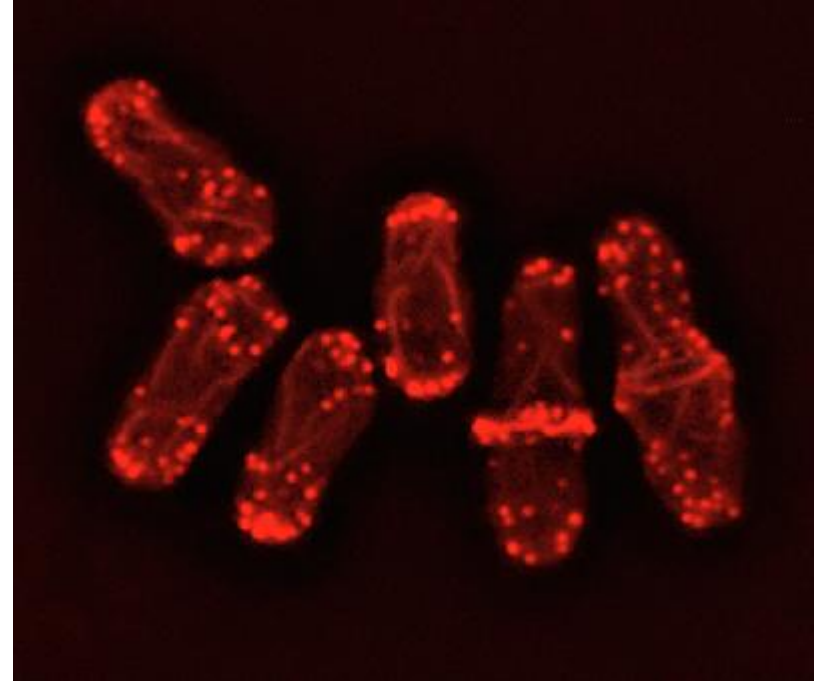
FM



Fluorescenční mikroskop



Viriony v infikované buňce -
<http://usa.hamamatsu.com/sys-biomedical/slcn2400/slcn-smpl.htm>

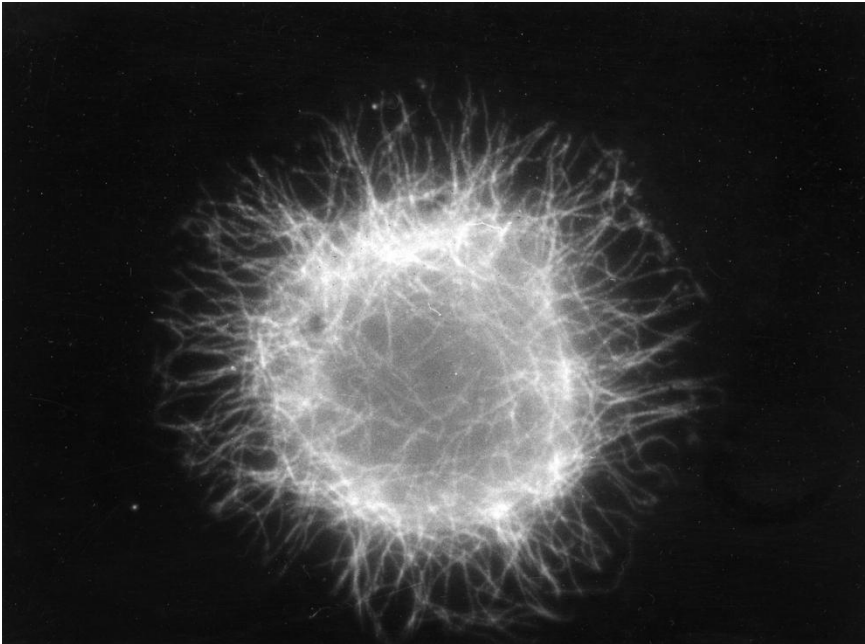


Aktinová vlákna kvasinek zviditelněná
fluorescenční mikroskopií – barveno
rhodaminem-phalloidinem

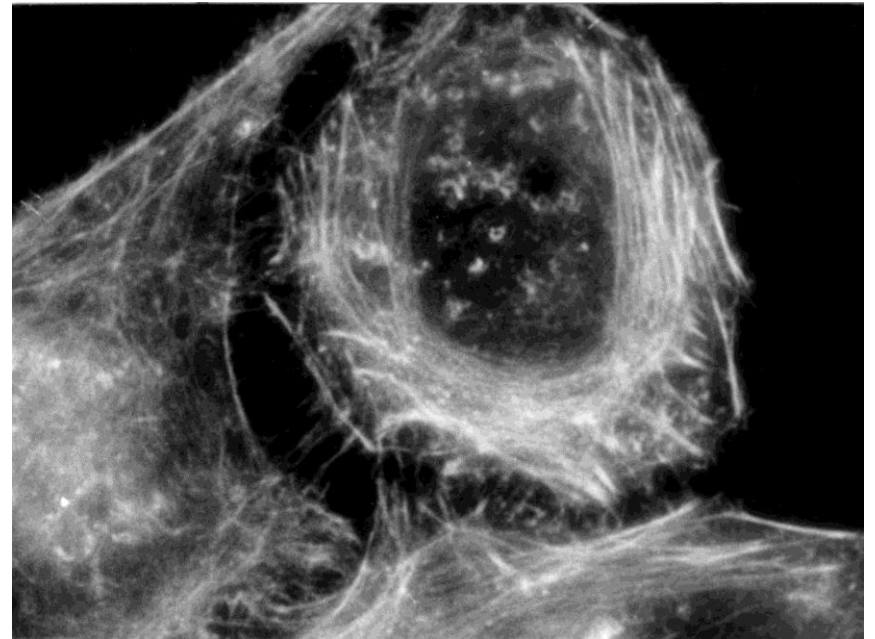
[www.paulgyoung.com/.../
fission_yeast_actin_cytoskeleton.htm](http://www.paulgyoung.com/.../fission_yeast_actin_cytoskeleton.htm)

Fluorescenční mikroskop

Cytoskelet zviditelněný imunofluorescenční metodou



Mikrotubuly HeLa
buněk



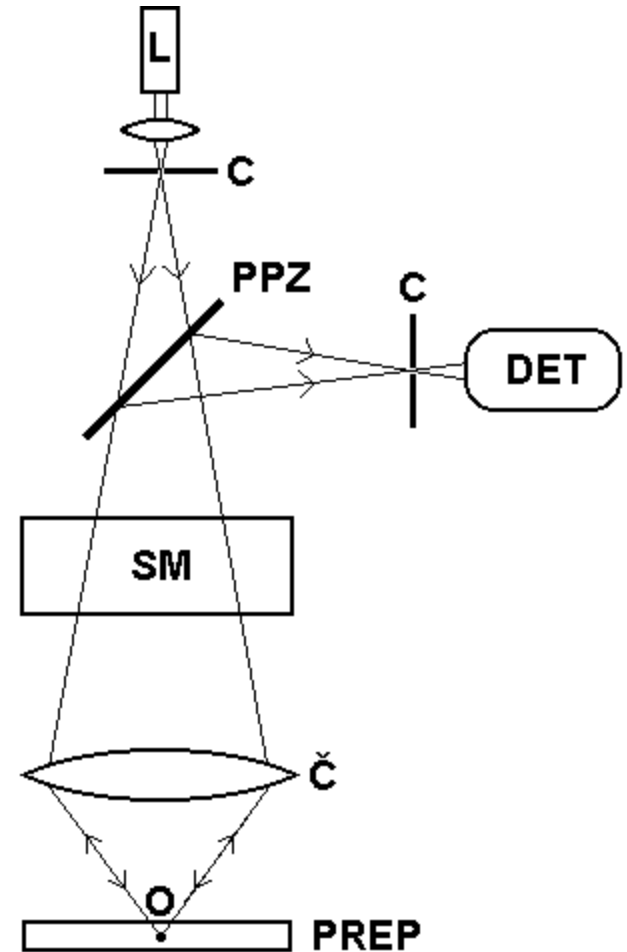
Mikrofilamenta HeLa
buněk

Optické skenovací mikroskopy

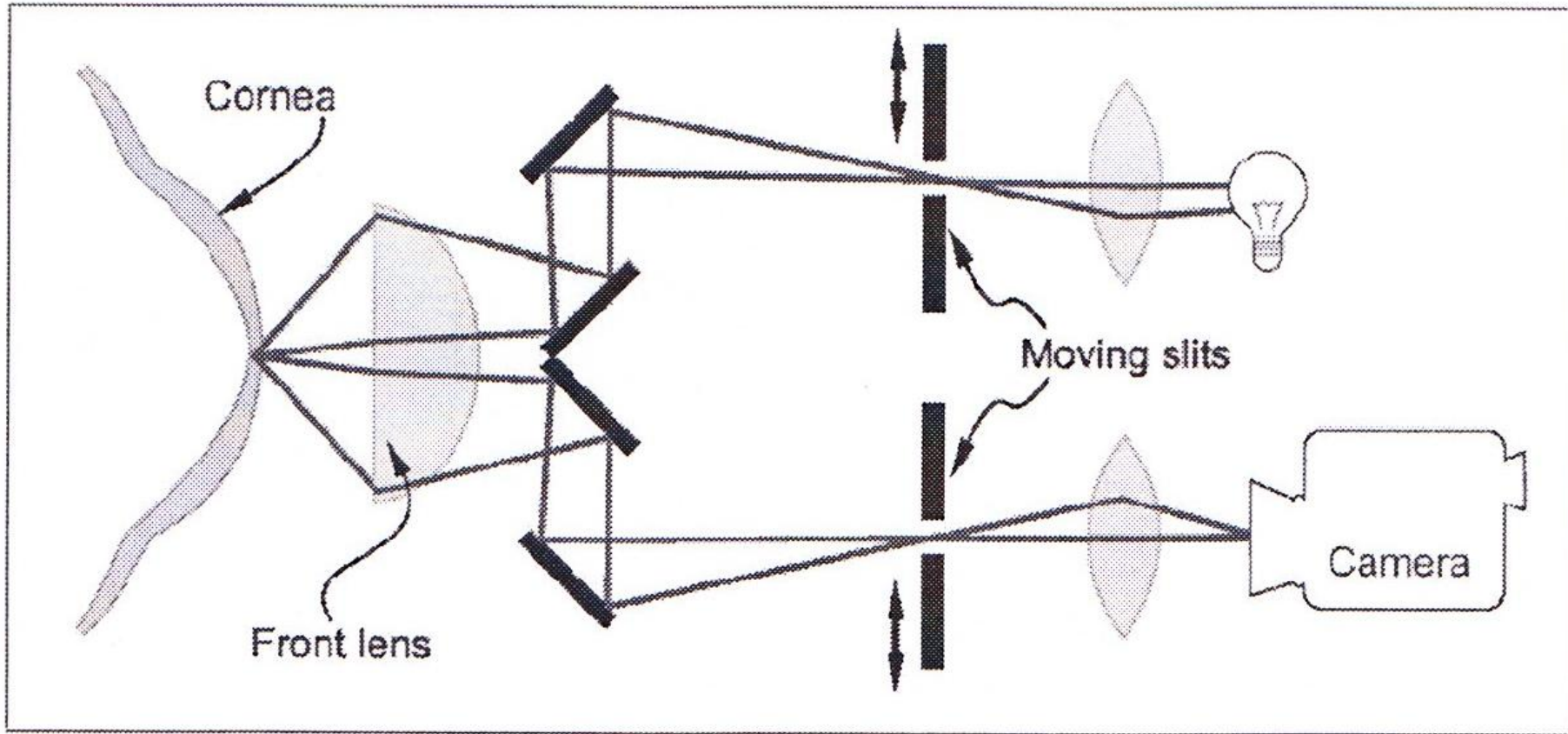
Konfokální laserový skenovací mikroskop

- L - laser, C – clony s malými kruhovými otvory, PPZ – polopropustné zrcadlo, DET – detektor světla (fotonásobič), SM – skenovací mechanismus, Č – čočka objektivu (projektivu), O – bodový předmět, PREP – preparát (řez).

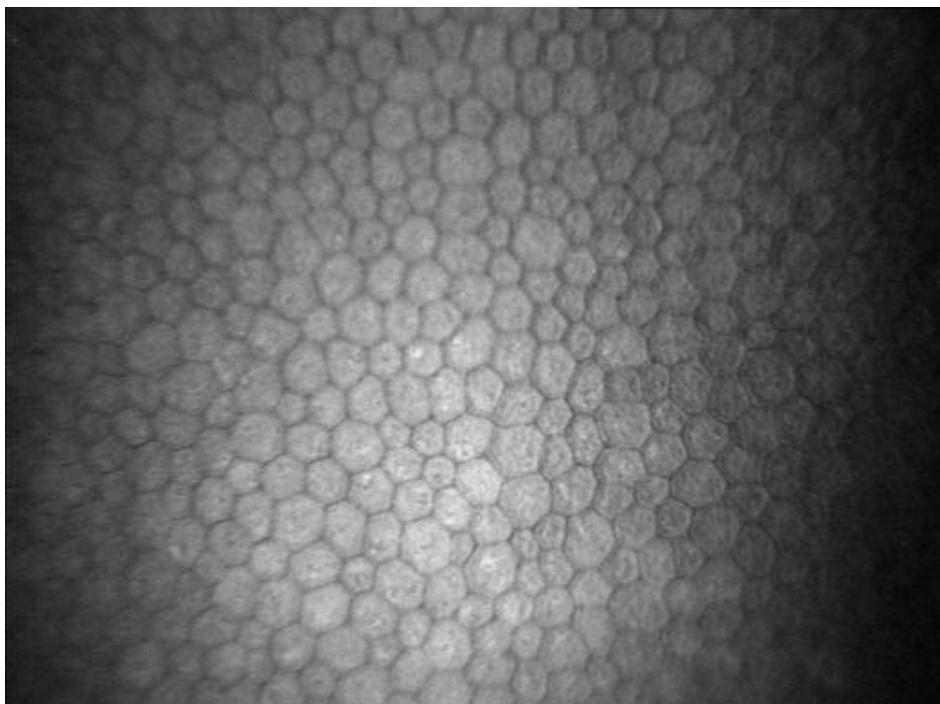
- Pouze paprsky odražené od bodových struktur v ohnisku mohou projít přes clonu C před detektorem. Ostatní paprsky (rozptýlené) jsou zastaveny clonou. Tyto paprsky by u běžného mikroskopu zhoršovaly kvalitu obrazu, protože snižují kontrast. Pomocí tohoto mikroskopu můžeme zkoumat poměrně silné nativní řezy. Skenovací mechanismus je systém rotujících zrcadel, která mohou s ohniskem pohybovat v hustých rovnoběžných liniích.



Princip konfokálního mikroskopu v oftalmologii



Konfokální mikroskopie v oftalmologii, rohovka



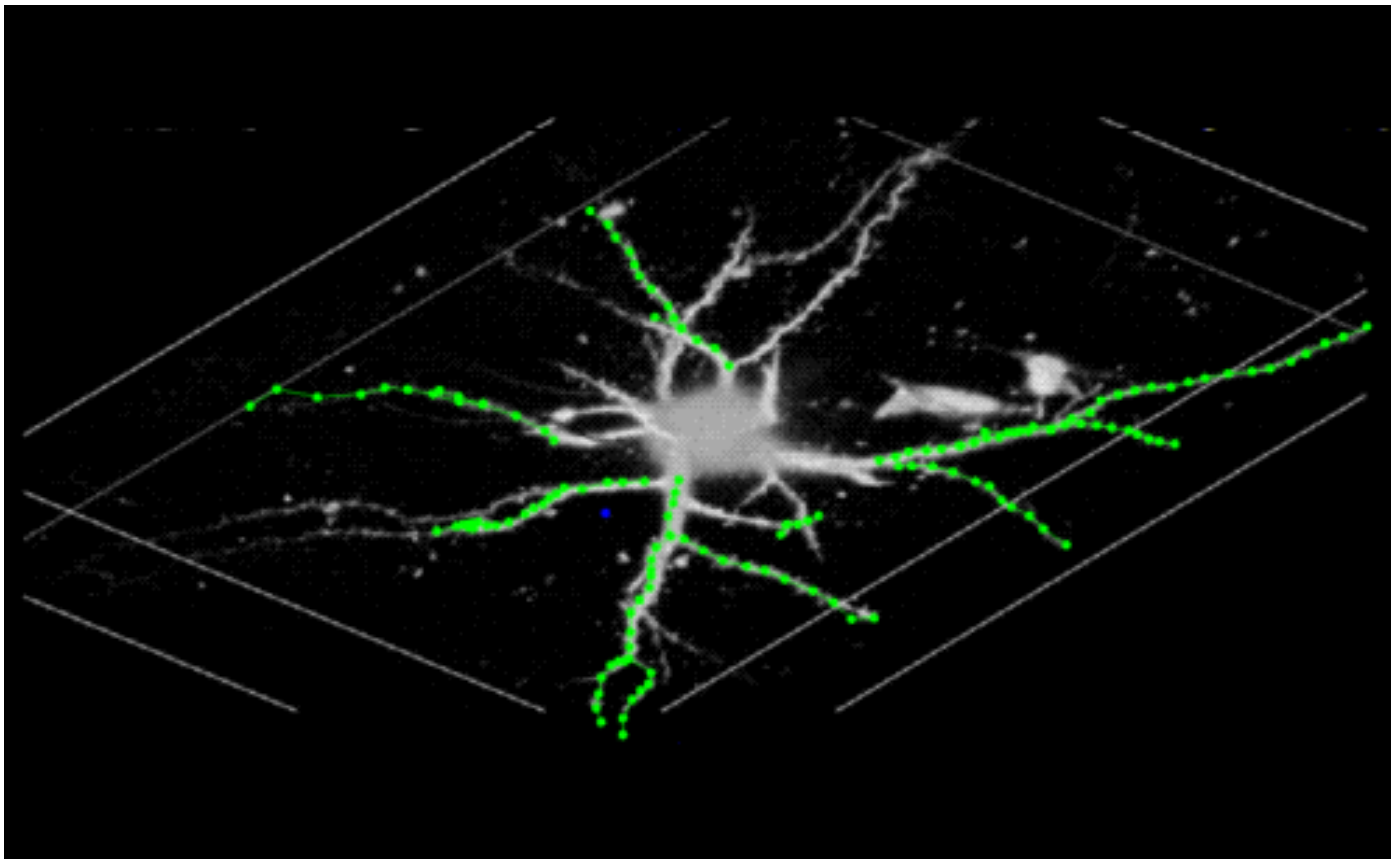
Zdravé stroma rohovky



Poškozené stroma rohovky

Konfokální laserový skenovací mikroskop

V praxi se používá imuno značení pro specifikaci pozorovaných struktur, zvýraznění chromozomů, membránových receptorů.



3D obraz neuronu - <http://www.cs.ubc.ca/nest/magic/neuron.html>

Spektrofotometrie, Refraktometrie, Polarometrie

Absorpční spektrofotometry:

Lambertův-Beerův zákon

Absorpční spektrofotometrie je založena na absorpci světla při průchodu vrstvou roztoku. Jeho koncentrace může být zjištěna pomocí **Lambertova-Beerova zákona**:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon c x}$$

c je koncentrace rozpuštěné látky, x tloušťka vrstvy, I_0 původní intenzita světla, I je intenzita světla po průchodu vrstvou. Konstanta ϵ (epsilon, absorpční nebo extinkční koeficient) **závisí na vlnové délce světla, na rozpuštěné látce a rozpouštědle**. Její hodnoty pro běžné chemické sloučeniny lze nalézt v tabulkách. Tyto hodnoty jsou vždy udávány pro určitou vlnovou délku (obvykle absorpční maximum). Číselné hodnoty tohoto koeficientu závisí na tom, jak je vyjadřována koncentrace rozpuštěné látky. Když použijeme mol.l^{-1} , hovoříme o **molárním absorpčním koeficientu**.

Poměr intenzit světla prošlého a dopadajícího se nazývá **transmittance** (dříve transparence).

Dekadický logaritmus převrácené hodnoty transmittance se nazývá **absorbance A**.

S ohledem na L.-B. zákon je tedy absorbance přímo úměrná koncentraci rozpuštěné látky a tloušťce absorbující vrstvy roztoku.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad A = \log \frac{1}{T} \quad A = \varepsilon \cdot c \cdot x$$

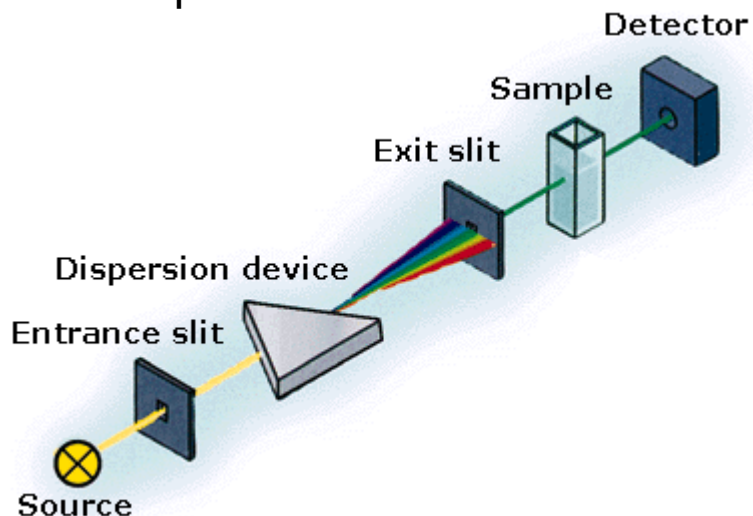
Spektrofotometry

- Podle konstrukce rozdělujeme spektrofotometry na jednopaprskové a dvoupaprskové.
- U **jednopaprskových spektrofotometrů** jeden svazek světla prochází nejdříve srovnávacím a pak měřeným vzorkem (kyvety obsahující roztoky musí být pohyblivé).
- U **dvoupaprskových spektrofotometrů** jeden svazek světla prochází měřeným vzorkem a druhý srovnávacím vzorkem (referenčním). Dvoupaprskové přístroje umožňují podstatně rychlejší měření, avšak jsou dražší.

U jednoduchých přístrojů je nastavování vlnové délky světla ruční. U pokročilejších přístrojů se toto nastavování děje automaticky, což umožňuje přímo získávat **absorpční křivky**, tj. grafy závislosti absorbance na vlnové délce světla.

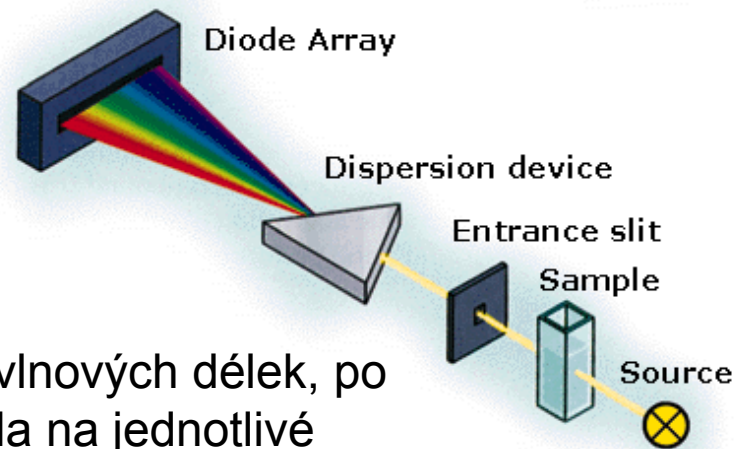
Spektrofotometr

Vzorkem prochází světlo o jedné vlnové délce, měří se intenzita prošlého světla



Vzorkem prochází celé spektrum vlnových délek, po průchodu dochází k rozkladu světla na jednotlivé vlnové délky a zjišťuje se, které λ ve spektru chybí- princip emisního spektrofotometru

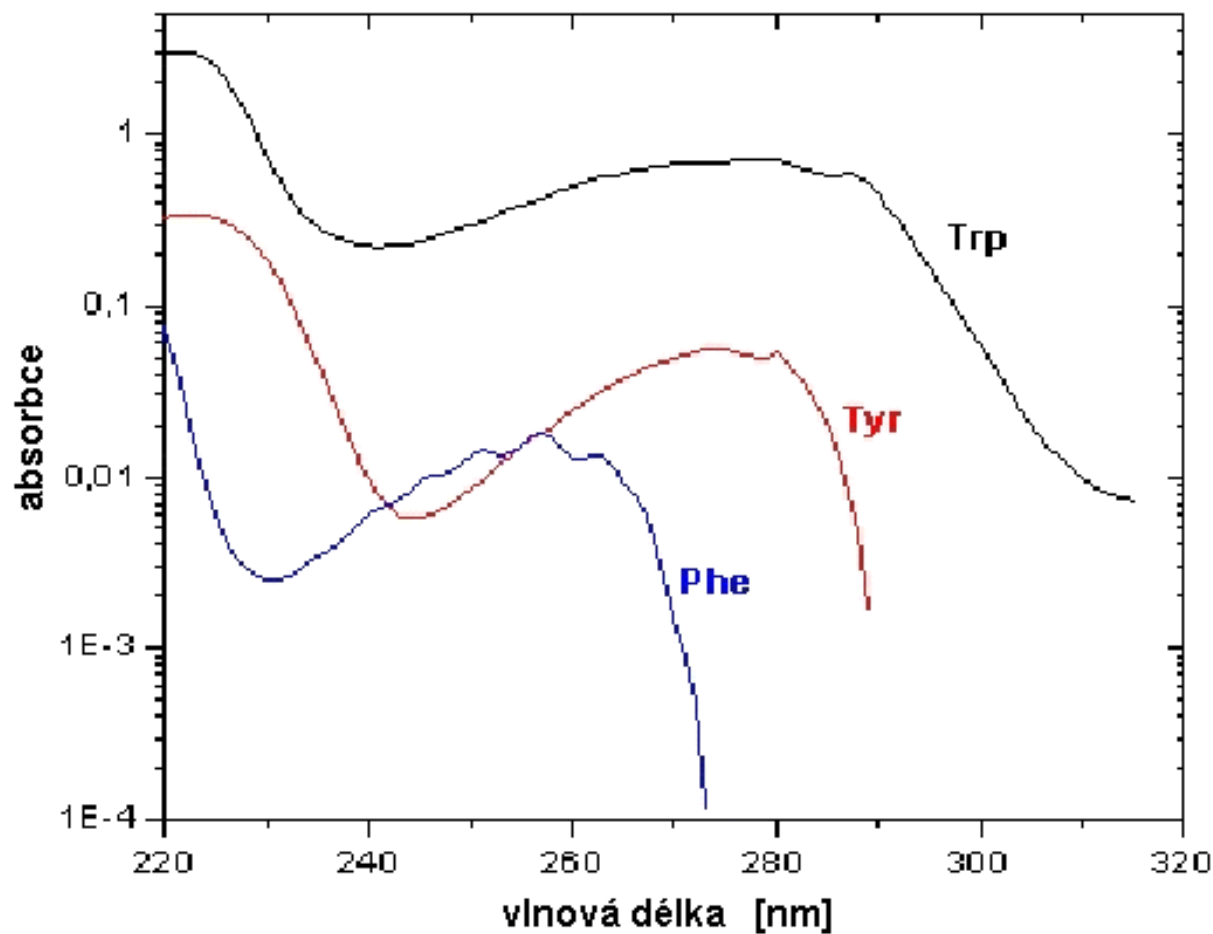
www.ezu.cz



Absorpční spektrofotometrie

- Ultrafialové (UV) světlo je absorbováno různými sloučeninami, zejména těmi, které mají konjugované dvojné vazby. Jak bílkoviny, tak nukleové kyseliny silně absorbují UV světlo, což lze využít pro jejich zkoumání.
 - Aminokyseliny tryptofan a tyrosin mají absorpční maxima při přibližně 280 nm. Fenylalanin při 255 nm.
 - Nukleotidy (dusíkaté báze) mají absorpční maxima v oblasti 260 - 270 nm.
 - **Chromofory** – jejich absorpční vlastnosti se mění podle chemického složení prostředí.

Absorpční spektra aminokyselin

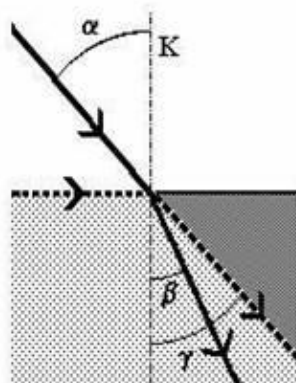



Abbého refraktometer

- $n_1 \cdot \sin \alpha = n_2 \sin \beta$

$$\sin \beta = 1$$

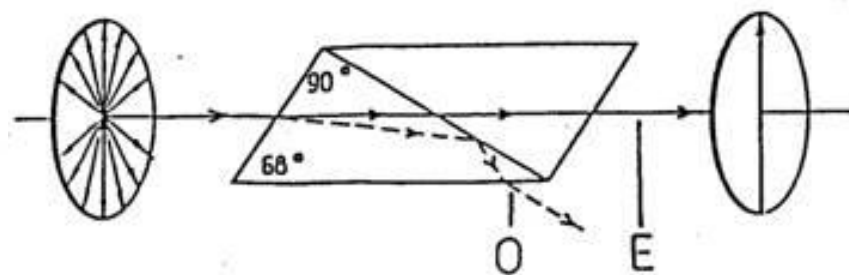
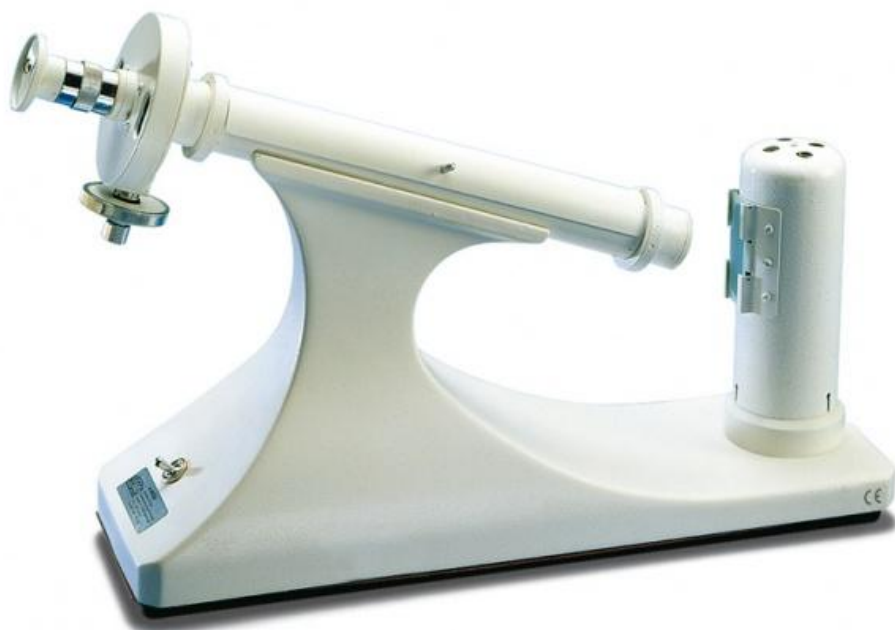
$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{n_2}{n_1}$$



K ... kolmice dopadu
 ... opticky řidší prostředí - vzduch
 ... opticky hustší prostředí - vzorek
(osvětlená část zorného pole)
 ... opticky hustší prostředí - vzorek
(temná část zorného pole)
 γ ... mezní úhel
 α ... úhel dopadu
 β ... úhel lomu



Polarimetr



Polarimetrické stanovení koncentrace látky je možné:

- a) výpočtem ze vzorce (pokud známe specifickou otáčivost)
- b) graficky (z experimentálně stanovené závislosti úhlu stočení polarizační roviny na koncentraci opticky aktivní látky.

Polarimetr

Pochází-li lineárně polarizované světlo roztokem opticky aktivní látky, dochází ke stočení polarizační roviny o určitý úhel α . Velikost tohoto úhlu je přímo měrná délce d [m] dráhy světelných paprsků v opticky aktivním prostředí a koncentraci c [g/l] opticky aktivní látky. Platí:

$$\alpha = [\alpha]_{\alpha}^T \cdot d \cdot c \cdot 10^{-2}$$

kde $[\alpha]_{\alpha}^T$ je specifická otáčivost, je dána úhlem α , o který se stočí polarizační rovina monochromatického světla o vlnové délce λ průchodem vrstvou opticky aktivní látky o tloušťce $d = 0,1\text{m}$ a o koncentraci $c = 10\text{g/l}$ při teplotě T .

Endoskopie

Endoskopie

- **Endoskopy** jsou přístroje pro vizuální vyšetřování tělesných dutin. Jsou založeny na odrazu a lomu světla.
- Do vyšetřovaných tělesných dutin jsou zaváděny buď přirozenými tělesnými otvory (dutinou nosní, hrtanem, hltanem, dýchacími cestami, močovou trubicí, pochvou, konečníkem) nebo chirurgickým řezem (do břišní dutiny, hrudníku, kloubů).
- Endoskopy můžeme rozdělovat podle tří hledisek: složitosti, způsobu osvětlení a způsobu pozorování.
- Podle složitosti rozlišuje tři skupiny endoskopů:
 - Endoskopická zrcadla
 - Endoskopy s pevnými tubusy
 - Fibroskopy a videoendoskopy
- Endoskopy se také používají pro drobné chirurgické výkony, protože mohou být také vybaveny malými chirurgickými nástroji.

Způsob osvětlení a pozorování

- Osvětlení může být:
 - **Vnitřní:** zdroj světla je součástí zařízení
 - **Vnější:** vyšetřovaná dutina je osvětlena vnějším zdrojem (typickými představiteli této skupiny jsou endoskopická zrcadla).
- U endoskopů s vnitřním osvětlením může být zdroj světla přímo v tělesné dutině (*distální osvětlení*) nebo mimo tuto dutinu (světlo je zaváděno do dutiny optickým systémem, *proximální osvětlení*).
- Pozorování tělesné dutiny může být:
 - **Přímé,** jestliže lékař používá své vlastní oči za pomoci nějakého optického systému.
 - **Nepřímé,** jestliže je obraz snímán digitální videokamerou a pozorován na monitoru.

Endoskopická zrcadla

- **Laryngoskop.** Zrcadlo připomínající lžíci používané pro pozorování nosohltanu a zadní části dutiny nosní.
- **Otoskop.** Nálevkovitý endoskop vkládaný do vnějšího zvukovodu pro vyšetření jeho distální části a ušního bubínku.
- **Rinoskop.** Nástroj ve tvaru kleští s vnitřními konkávními odrážejícími plochami – pro vyšetřování přední části nosní dutiny.
- **Oční zrcátko.** Ploché nebo konkávní zrcadlo s otvorem uprostřed. Slouží pro vybavení tzv. červeného reflexu – odrazu světla od sítnice.
- Sítnice je vyšetřována přímou oftalmoskopií – **oftalmoskop** je malý průhledový endoskop se zdrojem světla a korekcí refrakční vady lékaře.
- **Vaginální zrcadla** (kolposkop, speculum). Nástroj ve tvaru kleští s vnitřními konkávními odrážejícími plochami – pro vyšetřování pochvy a děložního čípku.

Endoskopická zrcadla



rinoskop



laryngoskop



Endoskopická zrcadla



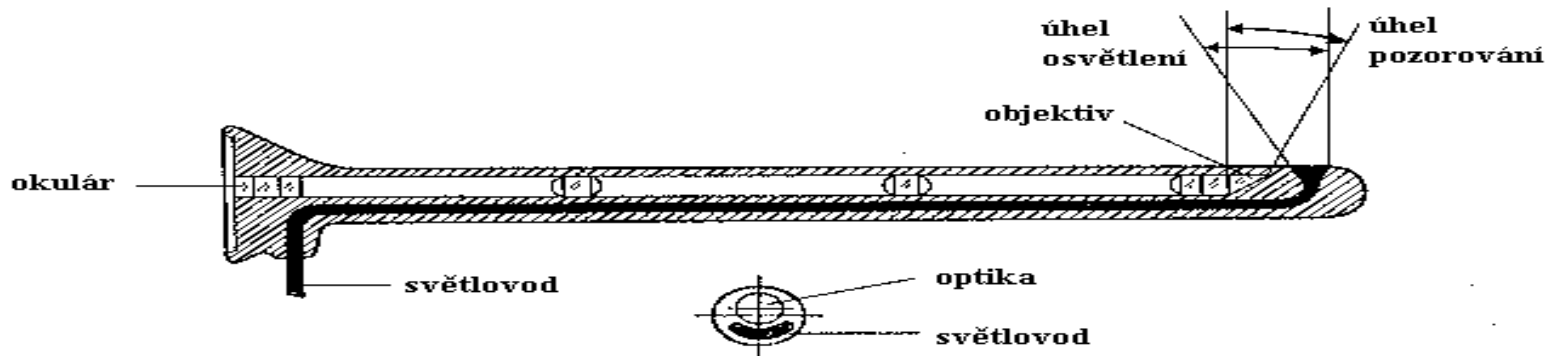
Vaginální zrcadla



oftalmoskop

Endoskopy s pevným tubusem

- Pevné kovové trubice s optickým systémem a zabudovaným světelným zdrojem (proximálním nebo distálním). Nevýhody: poměrně velké ztráty světla a tuhost trubice.
 - **Cystoskop** – močový měchýř
 - **Rektoskop** – rektum a sigmoideum
- Endoskopy zaváděné chirurgicky:
 - **Laparoskop** – dutina břišní.
 - **Artroskop** – klouby (zejména kolenní).



Endoskopy s pevným tubusem



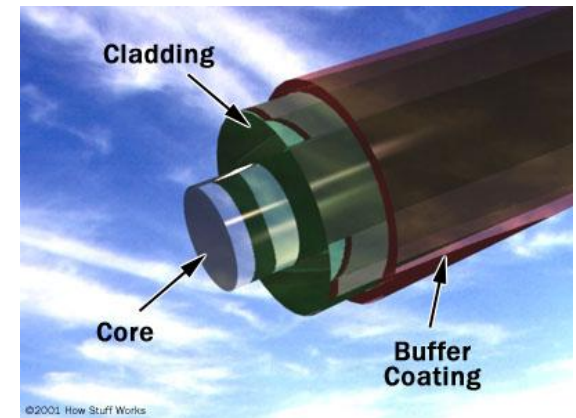
rektoskop



cystoskop

Fibroskopy

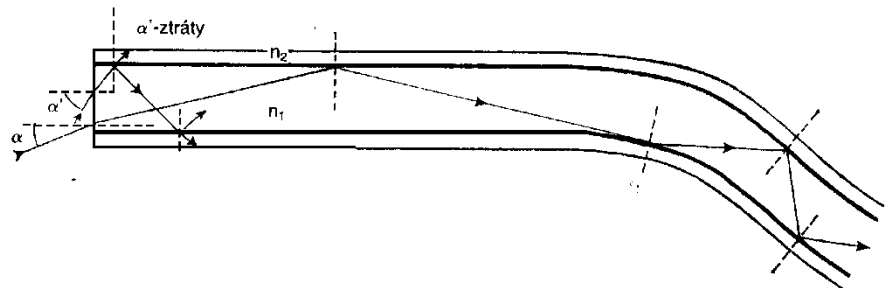
- průdušnice a průdušky (bronchoskopie)
- sliznice jícnu (ezofagoskopie)
- sliznice žaludku a dvanáctníku (gastroduodenoskopie)
- tlusté střevo (kolonoskopie)



Vláknová optika, úplný odraz, mezní úhel.

Nejmenší světelné ztráty jsou typické pro dvouvrstevná optická vlákna vyrobená ze skla nebo plastu. Jádru má vyšší index lomu (n_1) než obal (n_2). Úplný odraz nastává, když $\sin \alpha < (n_1^2 - n_2^2)^{1/2}$. Vlákna tvoří svazky sloužící pro osvětlení a přenos obrazu.

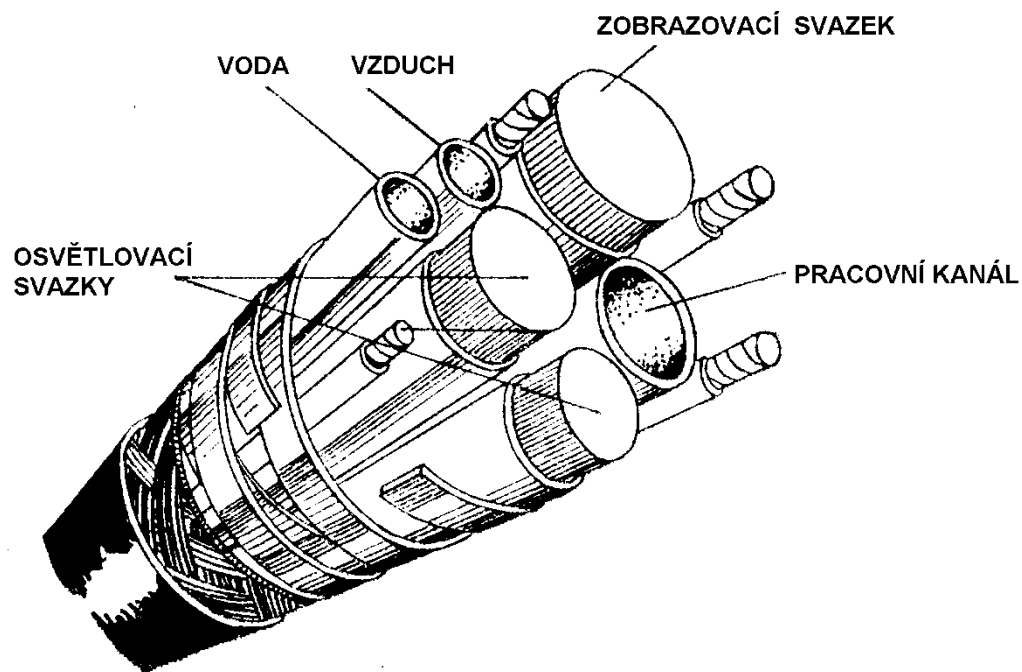
Ve svazku přenášejícím obraz jsou vlákna uspořádána stejně na vstupu i výstupu svazku. Ztráty světelného signálu: 0,001 - 0,005 dB na 1 m délky.



Fibroskopy

- Fibroskopy umožňují odebírat vzorky tkání a provádět drobné chirurgické výkony. Jsou ohebné, takže s nimi lze vyšetřovat i části těla nepřístupné pro endoskopy s pevnými tubusy. Délka 130 - 140 cm.
- V ohebném kabelu endoskopu se nacházejí:
 - 3 svazky optických vláken (2 pro osvětlení, 1 pro přenos obrazu),
 - trubice pro vodu a/nebo vzduch,
 - kanál pro zavádění chirurgických nástrojů a
 - ovládací táhla umožňující pohyb distálního konce endoskopu s **objektivem**, jenž poskytuje ostrý obraz ze vzdálenosti 3 - 100 mm.
- Proximální konec endoskopu je vybaven **okulárem** zabudovaným do tuhé části endoskopu. Zde se nachází ovládací zařízení pro manipulaci s distálním koncem endoskopu.
- Součástí zařízení je též výkonný zdroj světla, vzduchový kompresor, vodní čerpadlo a vývěva.

Fibroskopy



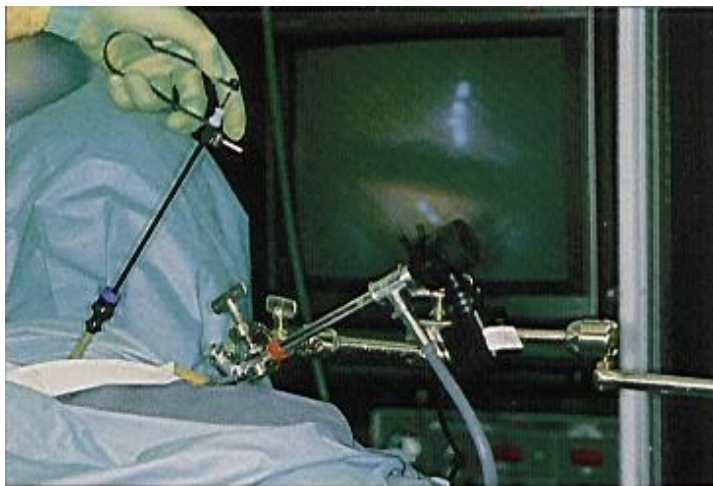
Čelo kolonoskopu

Fibroskopy



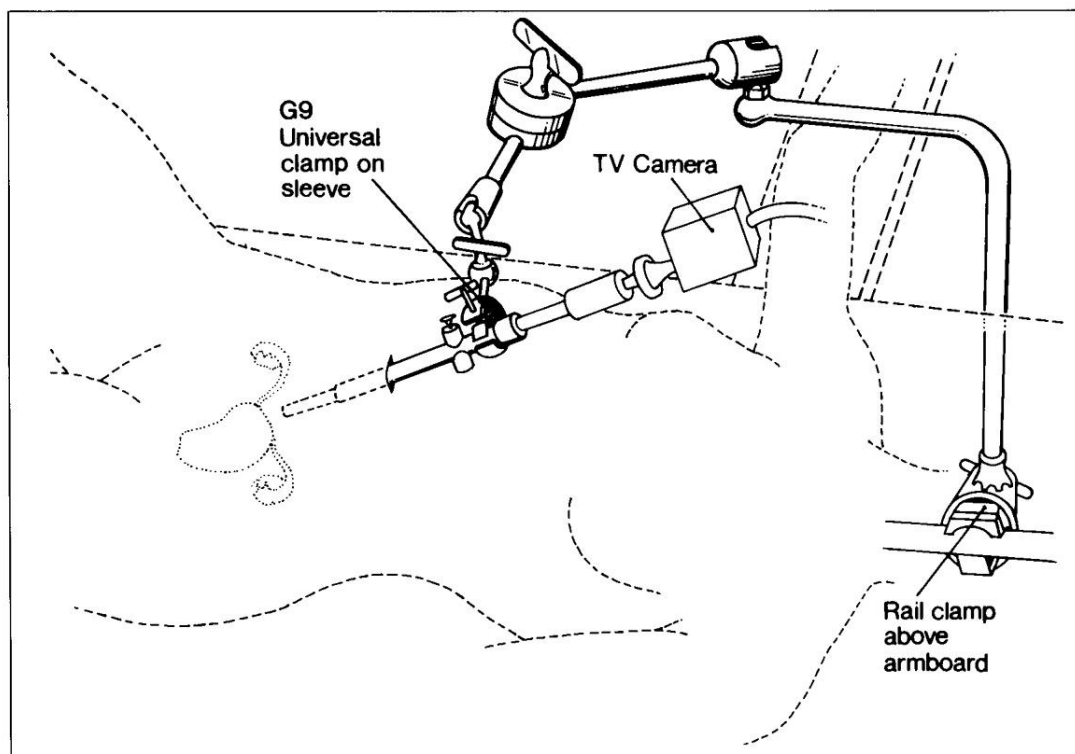
www.cust.sweb.cz

Videoendoskop



"Iron Intern"® with laparoscopic/camera assembly showing relationship of surgeons to second puncture instrument and TV monitor in the background.

Videoendoskopie –
moderní endoskopy s
videokamerami. Obraz je
pozorován na monitoru
nebo obrazovce PC.



LASER

- *Light **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation – zesílení světla stimulovanou emisí záření.*
- První rubínový laser byl zkonstruován T.H. Maimannem v r. 1960.

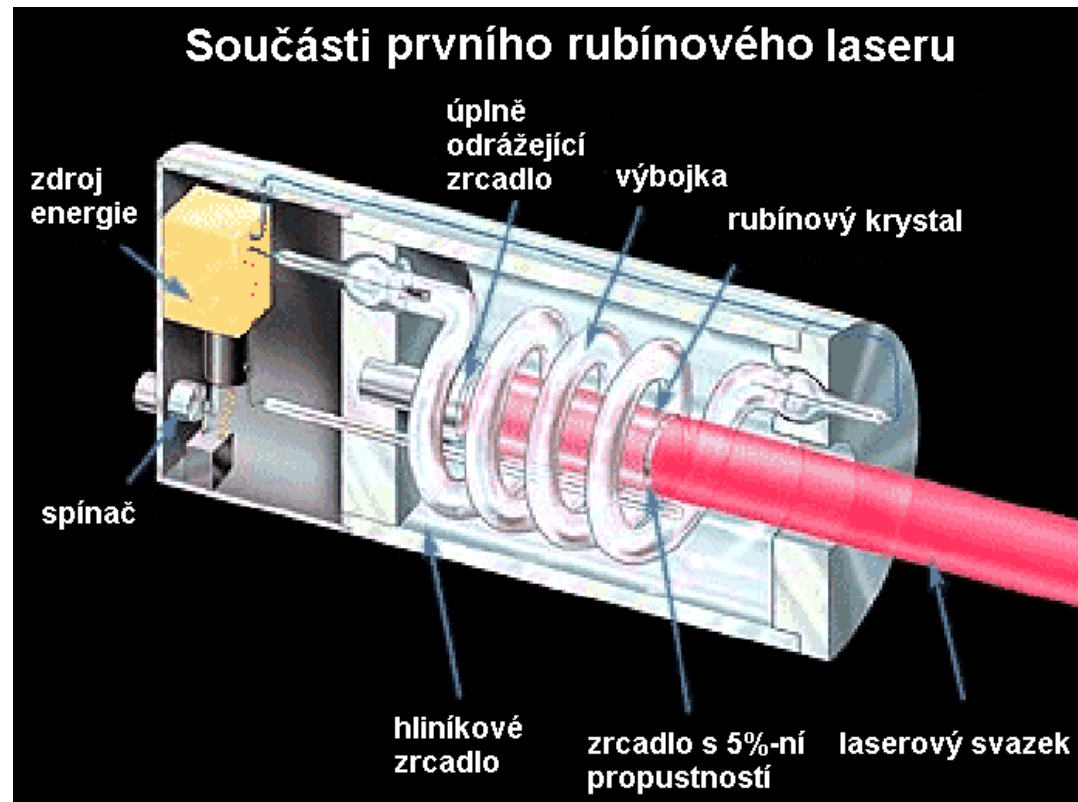
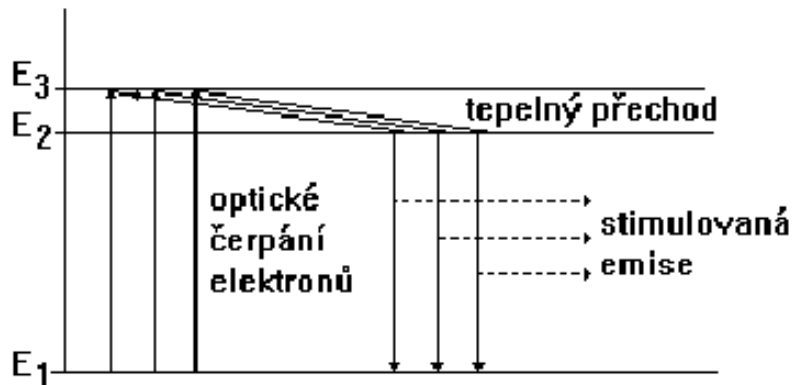
Laser

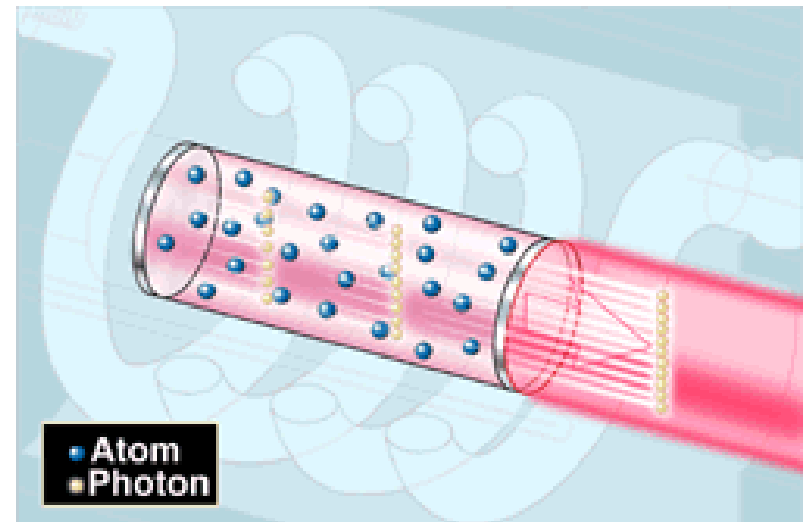
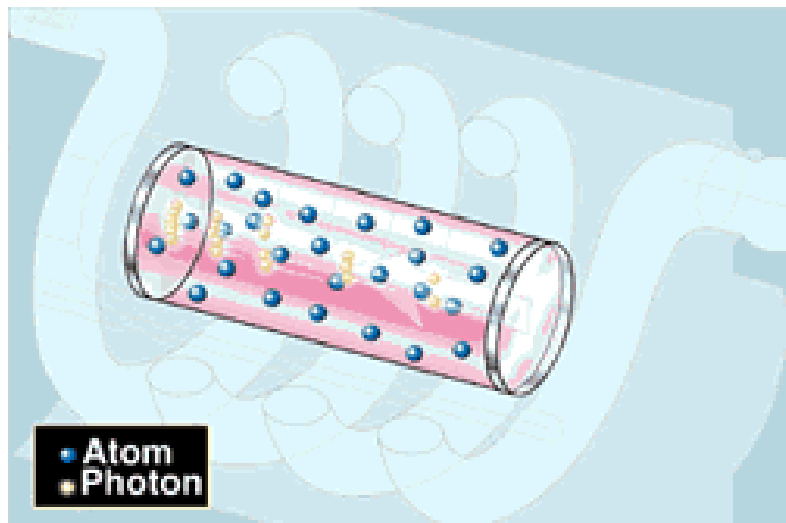
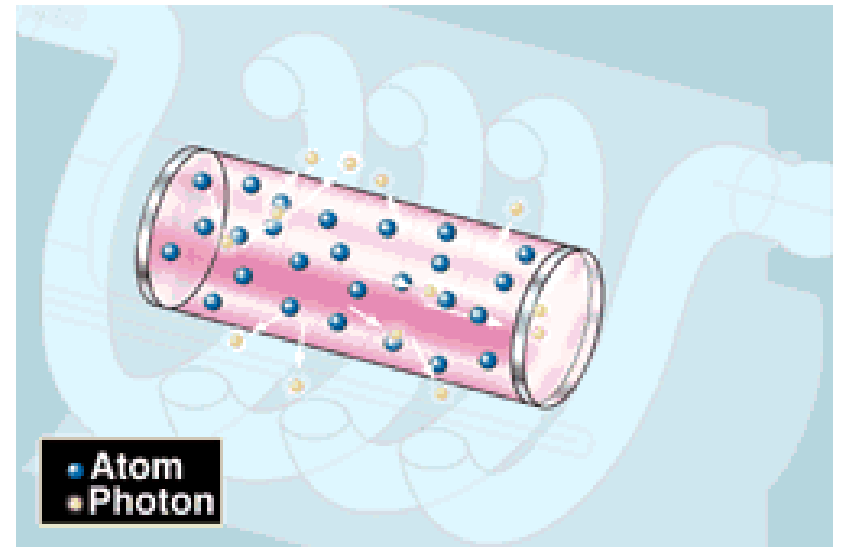
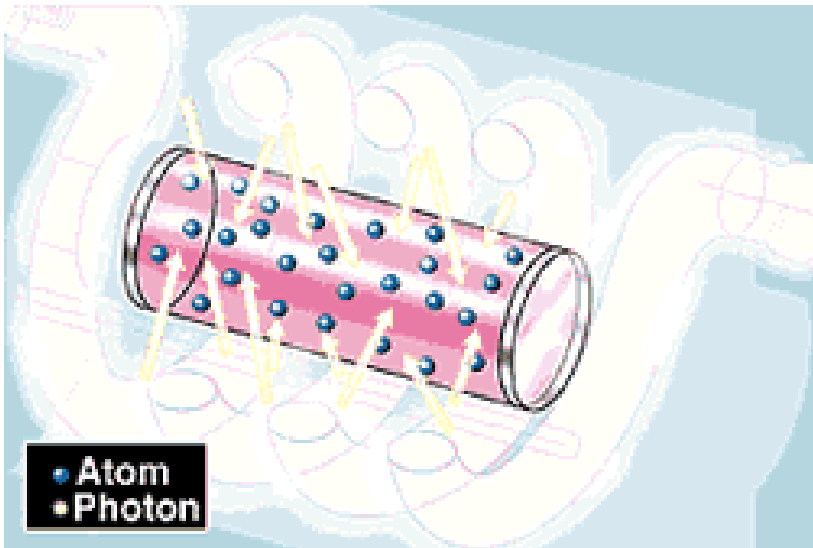
- Hlavní části laseru:
 - **Aktivní prostředí**
 - **Optický rezonátor**
 - **Zdroj excitační energie**
- Princip laseru: střídající se excitace a deexcitace.
 - Elektrony v atomech aktivního prostředí jsou **excitovány** (přivedeny do vyššího energetického stavu) zdrojem excitační energie („optické čerpání“).
 - Po **deexcitaci** budícím fotonem vznikají nové fotony o téže energii a proces se opakuje – nastává zesílení.
 - U takzvaných tříhladinových laserů je třetí energetická hladina široká, takže pro optické čerpání není nutno používat monochromatické (tj. monoenergetické) světlo. Protože rozdíl mezi druhou a třetí energetickou hladinou je malý, přeskok elektronů na druhou energetickou hladinu je spontánní („tepelný“) – elektrony čekají na této hladině na budící foton.

Oftalmologie- zarovnání rohovky pomocí laseru



Tříhladinový laser





Lasery

- **Pevné I.** (kompaktní, polovodičové): rubínový laser (694,3 nm), neodymový (1,06 μm).
- **Polovodičové I.** založeny na principu elektroluminiscence.
- **Kapalinové I.** Jako aktivní prostředí se používá roztok organického barviva. Výhoda: lze je naladit na různé vlnové délky (od blízké oblasti IR přes VIS po UV).
- **Plynové I..** Důležité pro lékařství. Helium-neonový laser (1,06 μm) a iontové lasery (argonový a kryptonový). CO_2 - N_2 -He-laser atd.
- **Plazmové I.** Aktivním prostředím je plazma, např. plně ionizovaný uhlík – vyzařují měkké rentgenové záření.
- Lasery mohou pracovat ve dvou režimech: **spojitě** a **pulzně**.
- Výkony laserů sahají od 10^{-3} po 10^4 W. Nízkovýkonové lasery (soft-lasery) se používají hlavně ve fyzikální terapii. Lasery s vysokým výkonem se používají jako chirurgické nástroje (laserový skalpel).

Účinky laserového záření

- Laserové světlo je **monochromatické** a **koherentní**. To umožňuje soustředit laserový paprsek na malou plochu a dosáhnout výkonové hustoty, která umožňuje použít tento chirurgický nástroj i v **mikrochirurgii**. Laserový paprsek může být zaměřován pomocí zrcadel, čoček nebo optických vláken. Fotony se absorbují v povrchové vrstvě tkání.
- **Tepelné účinky** závisejí na výkonové hustotě světla a jeho vlnové délce. Využívají se hlavně v chirurgii a mikrochirurgii. **Netepelné účinky** jsou typické pro soft-lasery, málo závisejí na vlnové délce – jsou založené na molekulárních účincích (působení na enzymy dýchacího řetězce, zvyšování replikace mitochondriální DNA, zvyšování enzymové aktivity). Dochází též k ovlivňování membránových potenciálů, patrně prostřednictvím změn propustnosti membrán pro ionty Na^+ , K^+ a Ca^{++} .
- Laserové světlo má též **fotodynamické účinky** – chemické změny neaktivních látek ozářených laserovým světlem určité vlnové délky mohou vést k tvorbě biologicky aktivních (cytotoxických) sloučenin.

Laserová terapie – bezpečnost



- V **neinvazivní fototerapii** se používají výkony pod 500 mW. Lasery se dělí do tříd:
 - II (výkon do 1 mW),
 - IIIa (výkon do 5 mW)
 - IIIb (výkon do 500 mW).
- Chirurgie: Výkonové lasery třídy IV
- **Bezpečnost:**
 - Nálepky na laserech musí označovat třídu,
 - Od třídy IIIb též varování před poškozením očí fokusovaným paprskem
 - Zdravotnický personál stejně jako pacienti musí mít brýle, které absorbují laserové světlo dané vlnové délky.

Terapie pomocí soft-laserů

- Povrchové aplikace – krátké vlnové délky, hlubší aplikace – dlouhé vlnové délky (blízká IR oblast).
- *laserová pera* jsou jednoduchá zařízení založená na laserových diodách, napájená bateriemi, s konstantním nastavením výkonu.
- **Malé lasery** (kapesní) s výměnnými hlavicemi, mohou pracovat s různými frekvencemi impulsů.
- **Stolní lasery** – uživatelský komfort, četné funkce a aplikace.



Laserové pero



Stolní soft-laser

Terapie pomocí soft-laserů

- **Analgetický účinek:** zvyšování parciálního tlaku O_2 , zvýšení klidového potenciálu → snížení excitability.
- **Protizánětlivý účinek** by měl být způsoben aktivací monocytů a makrofágů, zvýšenou fagocytózou, zvýšenou proliferací lymfocytů.
- **Biostimulační účinek:** uvádí se zvýšená syntéza kolagenu, lepší krevní zásobení, rychlejší regenerace některých tkání.
- Oblasti použití: laryngologie, zubní lékařství, ortopedie a gynekologie. *Jen zřídka se laser užívá pro monoterapii.*
- Názor: většinou jde o **placebový** účinek, specifické působení soft-laserů je z vědeckého hlediska málo průkazné.



?

Chirurgická laserová jednotka

Aplikace laserů s vysokým výkonem

Všeobecná chirurgie:

Laser může být použit jako optický skalpel s bezkontaktním řezem. Krevní cévy jsou koagulovány, takže řez prakticky nekrvácí. Rychlost řezání závisí na intenzitě (výkonové hustotě) a na vlastnostech tkáně. Nejčastěji používané lasery jsou infračervené, zejména CO₂ laser (10,6 μm) nebo Nd:YAG laser (1,064 μm).

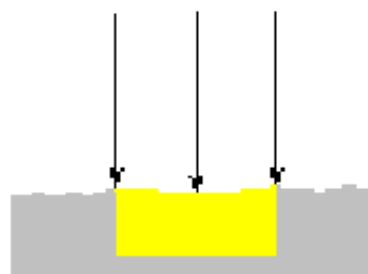
Oftalmologie:

Vedle svého využití v mnoha optických vyšetřovacích přístrojích, jsou lasery používány zejména pro fotokoagulaci sítnice a tzv. fotoablaci rohovky za účelem odstranění refrakčních vad.

Lasery používané pro **fotokoagulaci** jsou především Nd:YAG se zeleným světlem 532 nm a nastavitelným výkonem do 1,5 W.

Pro odstraňování refrakčních vad rohovky – **fotoablaci** – se používají excimerové (*excited dimers*) ArF nebo KrF lasery. Emitují UV záření o vlnové délce 193 nm. Způsobují fotochemickou ablací makromolekul kolagenu v rohovce (každý impuls odstraňuje vrstvu tkáně o tloušťce 0,1 – 0,5 μm). Cílem je změnit zakřivení rohovky a tím i její lámavost, což vede ke zlepšení vidění pacienta.

laserový svazek



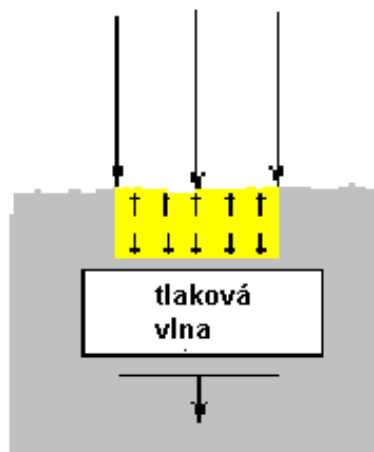
absorpce

$E \ll E_v$

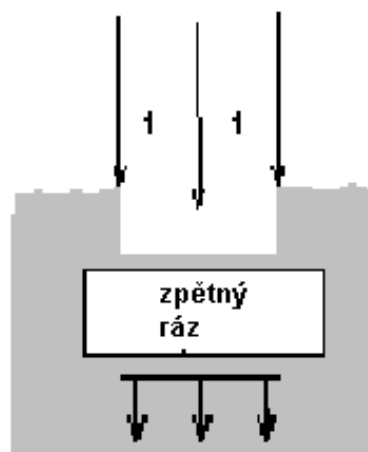
$E > E_v$

$E \gg E_v$

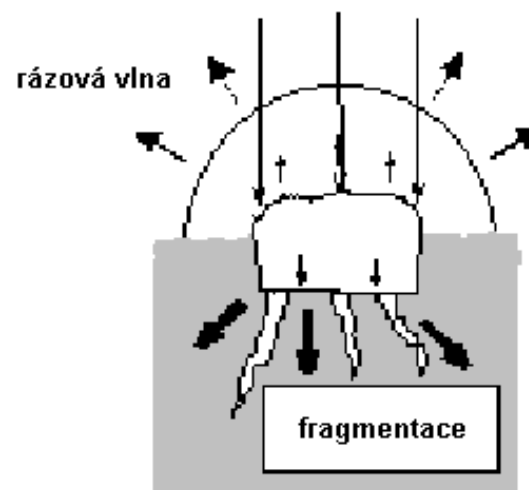
thermoelastické působení



rychlé odpaření



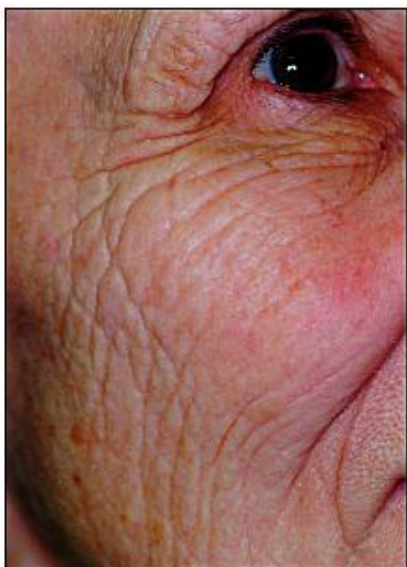
vytvoření plazmy



Aplikace laserů s vysokým výkonem

- V **zubním lékařství** se používají neodymové a erbiové YAG lasery. Nd:YAG laser (1,064 μm) se používá v ústní chirurgii a endodoncii. Er:YAG laser (2,940 μm) je využíván pro přesnou preparaci zubní skloviny a dentinu.
- V **dermatologii** se používá rubínový laser (690 nm) nebo jiné typy laserů včetně Nd:YAG a alexandritového (nastavitelný od 720 do 830 nm, světlo je dobře pohlcováno melaninem v kůži). Hlavní aplikaci představuje fotokoagulace varikózních žil, odstraňování bradavic, tetování a vrásek i depilace.

Aplikace laseru



BEFORE



AFTER

Odstraňování vrásek



Odstraňování zubního kazu



Odstraňování bradavic

Diagnostické přístroje využívané v optometrii

Autokeratorefraktotonometr– objektivní vyšetření zraku

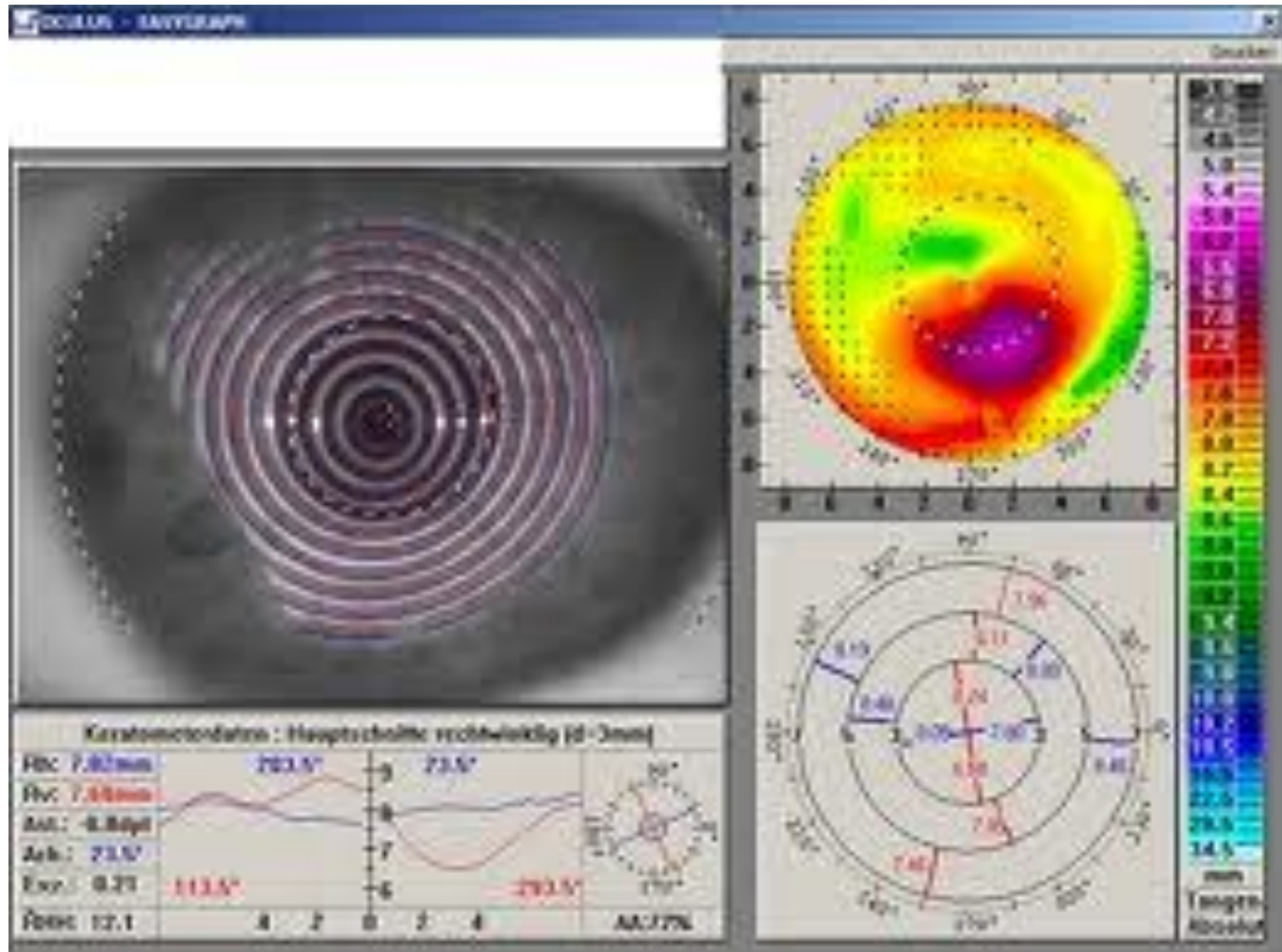


Rohovkový topograf

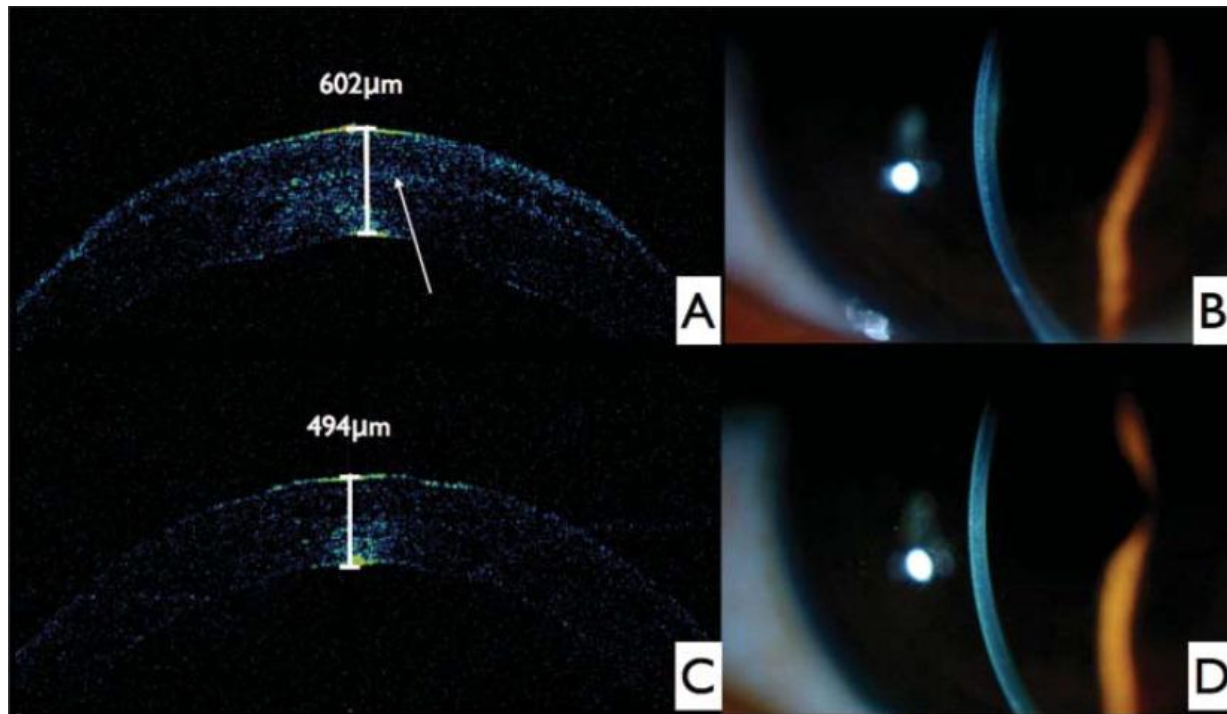
www.cmi.sk



Rohovkový topograf



Pachymetrie



Měření tloušťky rohovky

Pachymetr



www.litnem.cz

Autoři:

Mgr. Naděžda Vašková

Prof. Vojtěch Mornstein