

УДК 535.015 + 57.087.1 + 004.418

Кравчук Д.А., Старченко И.Б.

Модель формирования оптоакустического сигнала от эритроцитов для лазерного цитомера

Kravchuk D.A., Starchenko I.B.

The model of the formation of an optoacoustic signal from erythrocytes for a laser cytometer

ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», ИНЭП, г. Таганрог

Цель: разработать двумерную модель распределения эритроцитов в плазме для 200 разновидностей расположения неагрегированных эритроцитов (моделей ткани) в зависимости от гематокрита. Провести моделирование воздействия лазерного излучения на исследуемый модельный слой крови для получения опто-акустического отклика от одиночных эритроцитов и группы эритроцитов. Считалось, что клетки подвергались воздействию лазера с постоянной интенсивностью независимо от их ориентации. Параметры лазера были выбраны для имеющейся установки LIMO 100-532/1064-U, лазер Nd:YAG, с целью дальнейшей проверки результатов моделирования с помощью эксперимента. Результат моделирования доказывает возможность подсчета количества эритроцитов и измерение гематокрита неагрегированных эритроцитов путем регистрации амплитуды сигнала и измерения спектральной мощности. Регистрируемые параметры растут с ростом количества эритроцитов, а также изменяется частота спектра сигнала, который также информирует о количественном составе эритроцитов. Работа выполнена в Южном федеральном университете и является продолжением исследования по созданию проточного оптического цитомера. *Ключевые слова:* оптоакустика, лазер, спектральная плотность мощности, оптоакустические сигналы, эритроциты, гематокрит, спектр сигнала.

Objective: to develop a two-dimensional model of red blood cell distribution in plasma for 200 species of location of non-aggregated red blood cells (tissue models) depending on the hematocrit. To simulate the effect of laser learning on the model blood layer under study to obtain an opto-acoustic response from single red blood cells and a group of erythrocytes. It was believed that the cells were exposed to a laser with a constant intensity, regardless of their orientation. The laser parameters were chosen for the existing LIMO 100-532/1064-U installation, the Nd: YAG laser, in order to further verify the simulation results by experiment. The result of the simulation proves the possibility of counting the number of red blood cells and measuring the hematocrit of an aggregated erythrocytes, by recording the signal amplitude and measuring the spectral power. The registered parameters grow with the increase in the number of erythrocytes, and the frequency of the signal spectrum also changes, which also informs about the quantitative composition of red blood cells. The work was carried out at the Southern Federal University and is a continuation of the study on the development of a flow optical cytometer. *Keywords:* optoacoustics, laser, power spectral density, optoacoustic signals, erythrocytes, hematocrit, signal spectrum.

Введение

Задачей моделирования является необходимость рассмотрения вопроса практического использования оптико-акустических (ОА) методов для диагностики тканей организма с помощью оптического проточного цитомера, который может измерять гематокрит и количество эритроцитов *in vivo* на основе анализа оптоакустического сигнала.

В биомедицинских ОА-методах используют параметры, участвующие в преобразовании оптической энергии в акустическую энергию, такие как коэффициент теплового расширения, удельная теплоемкость при постоянном давлении, скорости звука и особенно коэффициент поглощения. Поскольку акустические волны генерируются при поглощении оптической энергии, обнаружение таких сигналов менее восприимчиво к оптическому рассеянию, т. к. акустическое рассеяние в биологических тканях намного слабее, чем оптическое рассеяние. Кроме того, ОА-изображение не содержит шума, который в корне ограничивает контрастное разрешение ультразвукового изображения [1, 6–8, 10, 11].

Термическое расширение доминирует в генерации ОА-сигналов в приложениях биомедицинской визуализации. В процессе термического расширения изменения температуры происходят из-за местного нагрева, управляемого поглощением и осаждением энергии в среде. Поле напряжения, которое впоследствии распространя-

ется через образец, является результатом неоднородного распределения температуры. Интенсивность и форма волны создаваемого давления зависят от временного профиля лазерного облучения и распределения энергии в среде. В жидкостях эффективность преобразования оптической в акустическую энергии обычно ниже 0,01%. Механизм абляции или испарения также приводит к появлению ОА-волны.

Эффективность преобразования может достигать 1% для жидкостей. Наиболее эффективное преобразование энергии ОА-волны происходит через диэлектрический пробой, достигающий 30% в жидкостях [1, 2, 10–12]. При интенсивности лазера выше 10^{10} Вт/см² возбужденные сигналы ПА состоят из фронта ударной волны и плазмы.

Для неинвазивности в биомедицине используют ОА-волны, генерируемые процессом термического расширения. Для биологических тканей, состоящих до 70% из воды, характеристики ОА-волны считаются аналогичными характеристикам в водной среде.

Теории распространения ОА-волн были изучены ранее в работах [1, 2, 10–15], где рассмотрены несколько случаев оптического возбуждения в однородной среде, характеризующейся разным временным и пространственным распределением энергии в образцах. Описано три типа геометрий, а именно плоских, сферических и цилиндрических, первоначально генерируемое акустическое поле классифицируется в соответствии с коэффи-

циентом оптического поглощения и радиусом облучения лазера.

Если коэффициент поглощения образца достаточно велик, так что оптическая глубина проникновения значительно меньше диаметра импульсного светового пучка, форма ОА-источника напоминает плоскость [6, 10, 12]. Когда оптическая глубина проникновения в поглощающей жидкости близка к радиусу пучка лазерного импульса, источник ОА-сигнала напоминает полусферу и испускает сферическую звуковую волну. При низком оптическом поглощении в жидкости оптический источник проникает глубоко в среду и порождает цилиндрическую звуковую волну, которая распространяется радиально [9].

Цель: разработать двумерную модель распределения эритроцитов в плазме для 200 разновидностей расположения неагрегированных эритроцитов (моделей ткани) в зависимости от гематокрита. Провести моделирование воздействия лазерного излучения на исследуемый модельный слой крови для получения оптико-акустического отклика от одиночных эритроцитов и группы эритроцитов.

Материалы и методы моделирования

Провели двумерное моделирование образца крови и смоделировали оптико-акустические сигналы, сформированные лазерным излучением, от эритроцитов. Использовали образец крови, состоящий на 98% из эритроцитов, вклад в поглощение оптического излучения лейкоцитами и тромбоцитами не учитывали. Средний радиус эритроцитов приняли равным 2,7 мкм, плотность в эритроцитах – $\rho_s = 1090 \text{ кг/м}^3$, скорость звука – 1090 м/с. Плотность среды, в которой находились эритроциты, $\rho_f = 1005 \text{ кг/м}^3$ и скорость звука $v_f = 1498 \text{ м/с}$ [10]. Мы предполагали, что клетки подвергались воздействию лазера с постоянной интенсивностью независимо от их ориентации. Параметры лазера были выбраны для имеющейся установки LIMO 100-532/1064-U, лазер Nd:YAG (см. табл.). Установка использовалась для регистрации и обработки акустического сигнала, сформированного в результате генерации звука с помощью оптоакустического эффекта в жидкости [3, 5, 6–8].

Таблица
Параметры установки LIMO 100-532/1064-U

Длина волны лазерного излучения, λ	1064 нм
Частота следования импульсов, f_{rep}	10 кГц
Энергия в импульсе, E	11 мДж
Длительность импульса, τ	84 нс
Диаметр луча, d	3,5 мм

Внешний вид установки LIMO 100-532/1064-U и кюветы с биожидкостью в НОЦ «Лазерные технологии» показан на рис. 1.

Волновое уравнение распространяющейся волны давления, создаваемого при поглощении оптического излучения (теплопроводность остается равной нулю до того, как импульс давления запущен), имеет вид:

$$\nabla^2 p - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = -\frac{\beta}{C_p} \frac{\partial H}{\partial t}, \quad (1)$$

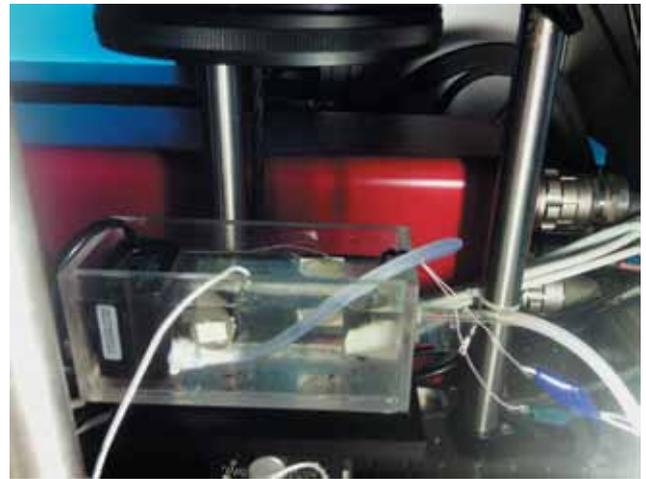


Рис. 1. Лазерная установка LIMO 100-532/1064-U

где β – коэффициент изобарного теплового расширения, C_p – теплоемкость на единицу массы, v_s – скорость звука в освещенной области, H – плотность поглощаемой электромагнитной энергии и превращаемой в тепло в единицу времени в единице объема [7].

Нашли аналитическое решение уравнения (1) с использованием соответствующих граничных условий, а именно непрерывности давления и нормальной составляющей скорости частиц. Давление ОАС для равномерного освещения сферического поглотителя на расстоянии r в окружающей среде находили как [10]:

$$p_f^{single}(\hat{q}) = \frac{i\omega\mu\beta I_0 v_s \alpha}{C_p (r/a)} \frac{[\sin \hat{q} - \hat{q} \cos \hat{q}] e^{ik_f(r-\alpha)}}{\hat{q}^2 \left[(1-\hat{\rho}) \left(\frac{\sin \hat{q}}{\hat{q}} \right) - \cos \hat{q} + i\hat{\rho} v \sin \hat{q} \right]}, \quad (2)$$

где безразмерная частота определяется как $\hat{q} = \omega a/v_s$, α – радиус поглощающей сферы. Аналогично безразмерные величины $\hat{\rho} = \rho_s/\rho_f$ и $\hat{v} = v_s/v_f$ представляли собой отношения плотности и скорости звука соответственно. Нижние индексы s и f используются для обозначения свойств поглотителя и окружающей текучей среды соответственно. Здесь k_f – волновое число в жидкой среде для волны давления с частотой ω и дается выражением $k_f = \omega/v_f$. Выражение зависящего от времени давления ОАС было получено путем преобразования Фурье уравнения (2) и для дельта-функции импульс нагрева имеет вид [10]:

$$p_f^{one}(\hat{\tau}) = \frac{i\mu\beta F v_s^2}{2\pi C_p (r/a)} \times \int_{-\infty}^{\infty} d\hat{q} \frac{[\sin \hat{q} - \hat{q} \cos \hat{q}]}{\hat{q}^2 \left[(1-\hat{\rho}) \left(\frac{\sin \hat{q}}{\hat{q}} \right) - \cos \hat{q} + i\hat{\rho} \hat{v} \sin \hat{q} \right]} e^{-i\hat{q}\hat{\tau}}, \quad (3)$$

где поле давления представлено как функция безразмерного запаздывающего времени $\hat{\tau}$ от края сферы и определяется как $\hat{\tau} = (v_s/\alpha)[t - (r - a)/v_f]$. Здесь F – интеграл по времени от плотности потока частиц или энергии оптического излучения.

Используя принцип суперпозиции сферических волн при рассеянии света на случайных неоднородностях, считая, что поглотители (эритроциты) освещались светом с постоянной интенсивностью независимо от их пространственного положения, поле давления ОАС, создаваемое совокупностью поглощающих сфер, можно записать в виде линейной суперпозиции сферических волн, испускаемых отдельными источниками [10]:

$$p_f^{several}(\hat{\tau}) \approx \frac{i\mu\beta F v_s^2}{2\pi C_p (r/a)} \times \int_{-\infty}^{\infty} d\hat{q} \frac{[\sin \hat{q} - \hat{q} \cos \hat{q}]}{\hat{q} \left[(1-\hat{\rho}) \left(\frac{\sin \hat{q}}{\hat{q}} \right) - \cos \hat{q} + i\hat{\rho}v \sin \hat{q} \right]} \times e^{-i\hat{q}\hat{\tau}} \sum_{n=1}^N e^{-ik_f r_n} \quad (4)$$

Здесь r_n представляет вектор положения n -й частицы, а N содержит общее количество источников ОАС; k_f определяет направление наблюдения [10].

Результаты исследования

На рис. 2 представлена расчетная модель ОА-сигнала от одного сферического источника (эритроцита), облучаемого лазером Nd:YAG, который использовался в работах [3, 7].

На рис. 3 показаны отдельные сигналы в зависимости от времени прихода от точки наблюдения. Приведены ОА-сигналы от 189 моделируемых эритроцитов.

Разработана двумерная модель распределения эритроцитов в плазме, рассчитаны 200 разновидностей расположения эритроцитов (моделей ткани) в зависимости от гематокрита, для которых возможен расчет звукового давления в результате воздействия лазерного излучения на ткань. Ниже на рис. 4 представлен срез моделируемой плазмы крови размером 100 мкм на 100 мкм. Каждый круг представляет собой эритроцит.

Оптико-акустический сигнал на рис. 5 представляет собой суперпозицию сигналов от эритроцитов в результате воздействия лазера. Суммирование сигналов от источников (эритроцитов) происходит в зависимости от расстояния и направления вектора r_n , который обуславливает вклад в общий сигнал каждого источника.

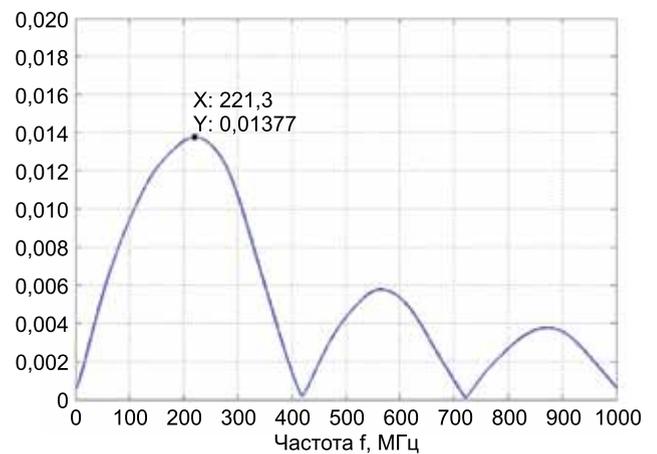
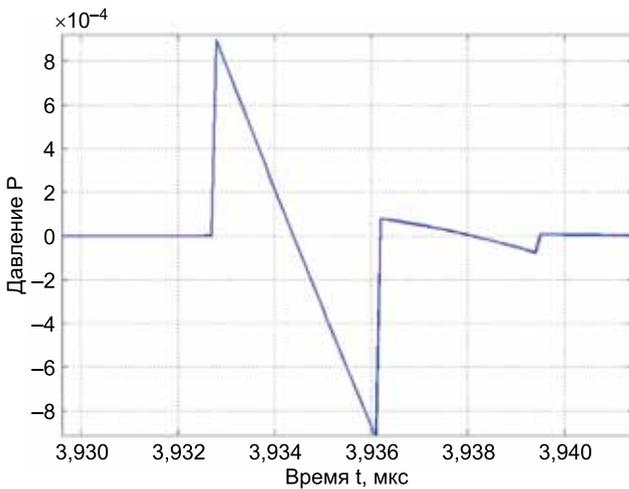


Рис. 2. ОА-сигнал от одного эритроцита (слева). Спектр ОА-сигнала от одного эритроцита (справа)

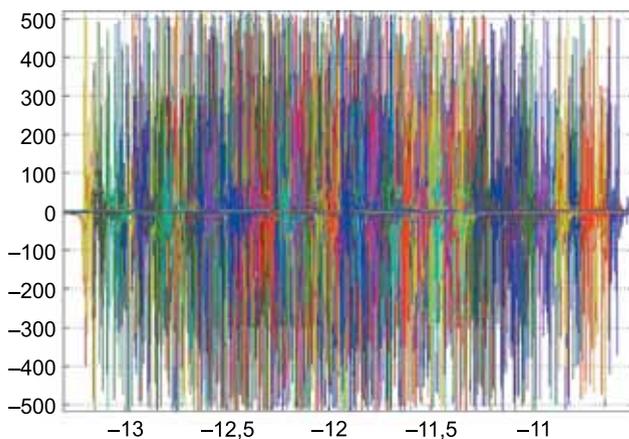


Рис. 3. ОА-сигналы от 189 неагрегированных эритроцитов. Разными цветами показаны отклики от одиночных эритроцитов, расположенных в моделируемом объеме

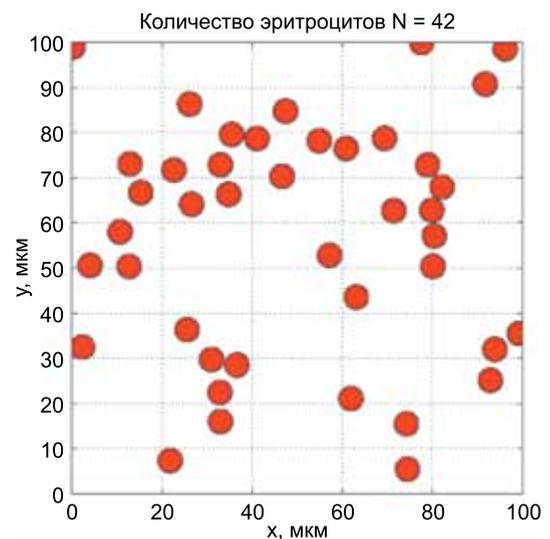


Рис. 4. Распределение неагрегированных эритроцитов на плоскости 100×100 мкм в зависимости от гематокрита 10%

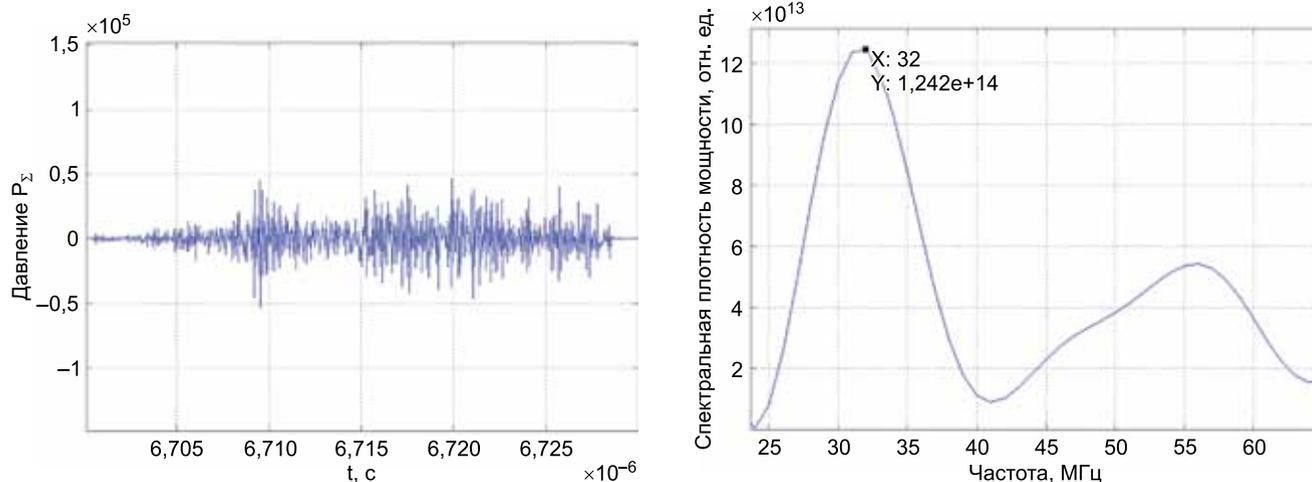


Рис. 5. ОА-сигнал, смоделированный для образца крови с 10% гематокрита (слева). Спектральная плотность мощности ОА-сигнала при гематокрите 10% (справа)

Спектральная мощность плотности при этом показывает частоту, на которую приходится максимальная мощность. В данном случае частота составила 32 МГц, при этом наблюдается изменение частоты в зависимости от количества эритроцитов и их размеров.

Заключение

Получен оптоакустический сигнал (рис. 2) от одного моделируемого эритроцита, рассчитана спектральная плотность мощности, установлена частота 221 МГц, на которой происходит максимальная концентрация изучаемой мощности эритроцитом.

Разработана двумерная модель плазмы крови с распределением эритроцитов в зависимости от гематокрита без учета эффектов двойного и многократного рассеяния световых волн.

Установлено, что спектральная плотность мощности растет с увеличением гематокрита, т. е. с увеличением количества эритроцитов на исследуемой площади. Таким образом, возможен подсчет количества эритроцитов и измерение уровня гематокрита неагрегированных эритроцитов, полученный результат позволяет продолжить исследования для изучения процесса регистрации агрегированных эритроцитов ОА-методами [4].

Поскольку в разработанной модели не учитывался процесс агрегации эритроцитов и кислородонасыщение, то необходимо проведение дополнительного моделирования агрегированных эритроцитов, а также проведение экспериментальных исследований на установке ЛМО 100-532/1064-U для разработки оптического цитомера *in vivo, in vitro*.

Литература

1. Гусев В.Э., Карабутов А.А. Лазерная оптоакустика. – М.: Наука. 1991. – 304 с.
2. Грашин П.С., Карабутов А.А., Пеливанов И.М., Подымова Н.Б. Измерение оптических характеристик рассеивающих сред по временному профилю опико-акустического сигнала // Вестник Московского университета. С. 3. Физика. Астрономия. – 2001. – № 2. – С. 39–42.
3. Кравчук Д.А., Старченко И.Б., Кириченко И.А. Прототип оптоакустического лазерного цитомера // Медицинская техника. – 2017. – № 5 (305). – С. 4–7.

4. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Математическое моделирование опико-акустического сигнала от сферических поглотителей на примере эритроцитов // «Известия Юго-Западного государственного университета». Серия «Управление, вычислительная техника, информатика. Медицинское приборостроение». – 2017. – Т. 7. – № 3 (24). – С. 101–107.
5. Кравчук Д.А. Экспериментальные исследования и моделирование процесса генерации оптоакустических волн // Электронный научный журнал «Инженерный вестник Дона». – № 2 (2017). URL: ivdon.ru/ru/magazine/archive/n2y2017/4234.
6. Кравчук Д.А. Теоретические исследования генерации оптоакустических волн в жидкости цилиндрическими поглотителями // Электронный научный журнал «Инженерный вестник Дона». – № 3 (2017). URL: ivdon.ru/ru/magazine/archive/N3y2017/4350 ISSN 2073-8633.
7. Кравчук Д.А., Орда-Жигулина Д.В., Слива Г.Ю. Экспериментальные исследования оптоакустического эффекта в движущейся жидкости // Известия ЮФУ. Технические науки. – 2017. – № 4 (189). – С. 246–254.
8. Кравчук Д.А. Аналитический результат генерации оптоакустических волн для сферических поглотителей в дальнем поле // Электронный научный журнал «Инженерный вестник Дона». – № 4 (2017). URL: <http://www.ivdon.ru/ru/magazine/archive/n4y2017/4436>.
9. Тучин В.В. Оптическая биомедицинская диагностика. – М.: Физматлит, 2007. – 511 с.
10. Diebold G.J. Photoacoustic monopole radiation: Waves from objects with symmetry in one, two and three dimensions // Photoacoustic Imaging and Spectroscopy / Edited by L.V. Wong (Taylor & Francis Group, LLC, London, 2009), Chap. 1. – P. 3–17.
11. Gournay L. Conversion of electromagnetic to acoustic energy by surface heating // J. Acoust. Soc. Am. – 1966. – 40. – P. 1322–1330.
12. Karpouk A.B., Aglyamov S.R., Mallidi S., Shah J., Scott W.G., Rubin J.M., Emelianov S.Y. Combined ultrasound and photoacoustic imaging to detect and stage deep vein thrombosis: Phantom and *ex vivo* studies // J. Biomed. Opt. – 2008. – 13 (5). – P. 1–8.
13. Lai H., Young K. Theory of the pulsed optoacoustic technique // J. Acoust. Soc. Am. – 1982. – 72. – P. 2000–2007.
14. Seiyama A., Hazeki O., Tamura M. Noninvasive quantitative analysis of blood oxygenation in rat skeletal muscle // J. Biochem. (Tokyo). – 1988. – 103. – P. 419–424.
15. Zhang H.F., Maslov K., Sivaramakrishnan M., Stoica G., Wang L.V. Imaging of hemoglobin oxygen saturation variations in single vessels *in vivo* using photoacoustic microscopy // Appl. Phys. Lett. – 2007. – 90. – 053901.

Поступила в редакцию 01.12.17 г.

Для контактов: Кравчук Денис Андреевич
E-mail: kravchukda@stedu.ru