

Моделирование акустических сигналов при оптоакустическом эффекте для обнаружения эритроцитов различной формы лазерным цитометром*Д. А. Кравчук*

Целью исследования являлось разработать трехмерную модель формы здоровых эритроцитов и патологических стоматоцитов в плазме в интересах моделирования воздействия лазерного излучения на эритроцит и получения оптоакустического отклика от одиночных эритроцитов. Используя сферические гармоники для параметризации морфологии клеток для симметричных и несимметричных объектов в работе проведено моделирование форм здоровых эритроцитов – дискоцитов и патологических форм стоматоцитов. С помощью параметрической модели на примере трехмерных фигур эритроцитов проведено моделирование формируемых акустических сигналов от эритроцитов при оптоакустическом эффекте. Рассчитан акустический сигнал от моделей двояковогнутого эритроцита и стоматоцита для определения формы эритроцитов с помощью оптоакустического метода для лазера ND:YAG с длиной волны 1064 нм. Полученные сигналы имеют различные формы и длительности, что позволяет характеризовать формы источников акустических сигналов, формируемых в результате оптоакустического преобразования. Анализ теоретически полученных акустических сигналов позволяет сделать вывод о применимости регистрации форм эритроцитов с помощью оптоакустического метода.

Ключевые слова: оптоакустический эффект, акустический сигнал, эритроцит, стоматоцит, лазер.

Ссылка: Кравчук Д. А. // Прикладная физика. 2019. № 5. С. 93.

Reference: D. A. Kravchuk, Prikl. Fiz., No. 5, 93 (2019).

Введение

Изучение возможности оптоакустического обнаружения больных тканей началось ещё в 1980-х годах [1]. В течение последнего десятилетия этот процесс значительно ускорился, когда появилась оптоакустическая томография, которая начала находить важные применения в биомедицинской визуализации [2]. В настоящее время применения методов оптоакустики включают визуализацию функций сосудов [3], исследование ангиогенеза

опухоли [4], визуализацию рака [5], внутрисудистую визуализацию атеросклероза и эндоскопическую визуализацию внутренних органов.

Лазерная оптоакустика основана на импульсном облучении жидкой среды с последующим детектированием акустического сигнала, при этом информативными параметрами является амплитуда, длительность и форма сигнала. Вопросами распространения, оптического поглощения и рассеяния в биологических средах занимались авторы работ [6, 7], в которых использовалась возможность исследования распределения интенсивности света в жидкости по профилю формируемого акустического импульса. Авторы работы [8] разработали оптико-акустическую систему томография биологических объектов для ранней диагностики новообразований размером

Кравчук Денис Александрович, к.т.н., доцент.
Южный федеральный университет.
Россия, 347922, г. Таганрог, ул. Шевченко, 2, корп. Е.
E-mail: kravchukda@sfnu.ru

Статья поступила в редакцию 18 июня 2019 г.

© Кравчук Д. А., 2019

0,1×0,5 мм на глубине до 4 см. Но все эти исследования не учитывают морфологию клеток крови. Исследования морфологии клеток проводили авторы работ [9, 10], в которых использовали сферическую модель формы эритроцита, для которой проводились расчеты сформированного акустического сигнала в результате оптоакустического преобразования для математических моделей неагрегированных, агрегированных эритроцитов, в том числе с учетом кислородонасыщения. Известно, что при воздействии короткого лазерного импульса на тканевую жидкую среду происходит поглощение света, и в результате термоупругого расширения жидкой среды излучается импульс акустического давления, который можно зарегистрировать ультразвуковым преобразователем. Форма и длительность акустического сигнала может говорить о морфологии и количестве объектов в жидкости, участвующих в поглощении лазерного импульса в биожидкости.

Здоровые эритроциты имеют форму диска (дискоцита). Двоояковогнутая дискоцитная эритроцитарная оболочка имеет гибкую мембрану с высоким отношением поверхности к объему, которая способствует большой обратимой упругой деформации эритроцитов, поскольку она многократно проходит через маленькие капилляры во время микроциркуляции. Деформируемость эритроцитов является основой для циркуляции, которая необходима для транспортировки кислорода и углекислого газа. Патологические состояния, влияющие на эритроциты, могут привести к значительным изменениям в форме дискоцитов. Изменения площади поверхности эритроцитов или свойств мембраны могут нарушить деформируемость клеток, а в некоторых случаях даже затруднить их циркуляцию.

Кровоток в артериях, венах и мелких капиллярах является важным аспектом в диагностике широкого спектра патологий и заболеваний. В целом оптоакустические методы получения изображения показывают значительные перспективы в способности помочь в диагностике, планировании терапии и мониторинге лечения рака, сердечнососудистых заболеваний и других патологии.

Последствия изменения кровообращения часто наблюдаются как клинические

симптомы, которые могут привести к закупорке капилляров и ограничению кровотока в тканях, что может привести к некрозу и повреждению органов. Например, наследственный сфероцитоз – это врожденное нарушение мембраны эритроцитов, характеризующееся сферическими эритроцитами, которые имеют уменьшенный диаметр (микросфероцитоз).

Экспериментальные исследования по созданию оптоакустического цитометра проводились авторами работы [12], где показаны возможности использования оптоакустического метода для оценки уровня агрегации эритроцитов и поиска внутриэритроцитарных инфекций [10]. В этих исследованиях эритроциты рассматриваются как сферические частицы в плазме крови, т. е. не учитывается возможность патологического изменения формы эритроцитов.

Исследования в области взаимодействия лазерного излучения с биотканями предоставляет широкие возможности применения оптических методов для диагностики *in-vivo* в медицине. Рассмотренные методы имеют свою узкую область применения, при этом взаимно дополняя друг друга. Оптоакустические методы исследования могут быть использованы для обнаружения патологических процессов в клетках.

Целью данного исследования являлась разработка трехмерной модели формы здоровых эритроцитов и патологических стоматоцитов в плазме в интересах моделирования воздействия лазерного излучения на эритроцит и получения оптоакустического отклика от одиночных эритроцитов, причём с последующей экспериментальной проверкой полученных результатов на лазерной установке с использованием полистирольных микросфер в качестве эритроцитов различной формы.

Материал и методы

В нашем исследовании с помощью сферических гармоник для моделирования параметрической поверхности и теории, описывающей формирование акустического сигнала в результате оптоакустического преобразования, рассмотрена возможность определения формы эритроцитов с помощью оптоакустического метода.

Для определения формы эритроцитов на основе оптоакустического эффекта были разработаны 3D-модели формы эритроцитов с помощью параметрической модели. Построенные формы эритроцитов использовались для моделирования акустического сигнала, формируемого в плазме в результате воздействия лазерного излучения, создаваемого установкой LIMO 100-532/1064U с длиной волны 1064 нм и длительностью импульса 84 нс.

Рассмотрим геометрию нерегулярного поглотителя лазерного излучения в жидкости с азимутальной симметрией (рис. 1). Используем сферические полярные координаты (r', θ', ϕ') с последующей заменой $r' = F(\theta')$; где $F(\theta')$ – функция, связывающая r' и θ' .

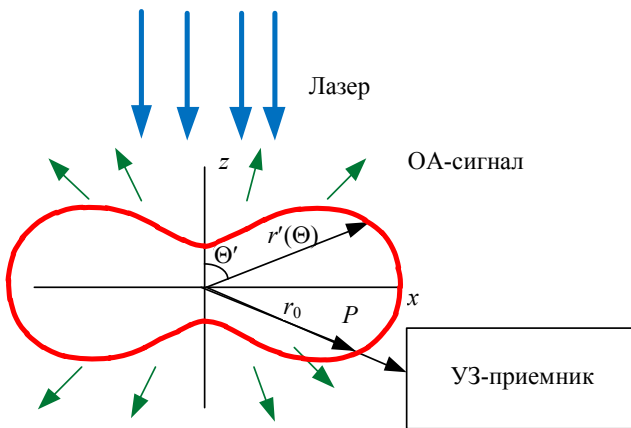


Рис. 1. Геометрия формирования акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании для двояковогнутого эритроцита.

Оптоакустический эффект описывается уравнением из работ [13, 14], которое можно записать через потенциал скорости ϕ в следующем виде:

$$\left(\nabla^2 - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \right) \phi = \frac{\beta}{\rho C_p} H_t, \quad (1)$$

где $p = -\rho_f \partial \phi / \partial t$; c – скорость звука; ρ – плотность жидкости; β – коэффициент расширения изобарического объема; C_p – удельная теплоемкость; t – время и H_t – функция нагрева, определяемая как тепловая энергия, внесенная оптическим лучом.

Оптическое излучение с интенсивностью I_0 распространяется вдоль оси z , функция

нагрева может быть выражена как $H_t(z, t) = \mu I_0 e^{-\omega t}$. Здесь μ – коэффициент оптического поглощения освещенной среды. Таким образом, поле звукового давления можно записать, согласно [13], в следующем виде:

$$\left(\nabla^2 - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \right) \phi = \begin{cases} \frac{i\omega\mu\beta I_0}{C_p} & \text{– внутри поглотителя,} \\ 0 & \text{– снаружи поглотителя.} \end{cases} \quad (2)$$

Давление акустического сигнала при равномерном освещении сферического поглотителя лазерным излучением на расстоянии r в среде можно найти с помощью выражения из работы [14]:

$$p_f^1(q) = \frac{i\omega\mu\beta I_0 v_s \alpha}{C_p (r/a)} \times \frac{[\sin q - q \cos q] e^{ik_f(r-a)}}{q^2 \left[(1-\rho) \left(\frac{\sin q}{q} \right) - \cos q + i\rho v \sin q \right]}, \quad (3)$$

где $q = \omega\alpha/v_s$ – безразмерная частота; α – радиус поглощающей сферы $k_f = \omega/v_f$ – волновое число в жидкости.

Используем сферические гармоники для параметризации морфологии клеток. Эти функции соответствуют как симметричным, так и несимметричным объектам [15, 16]. Моделирование параметрической поверхности является активной областью исследований в анализе медицинских изображений [15]. Разложим контур ячейки по полиномам Лежандра:

$$r'(\theta') = R_e \left[1 + \sum_n \alpha_n P_n(\cos \theta') \right], \quad (4)$$

где R_e – радиус сферической оболочки, охватывающей эритроцит; α_n – параметр, описывающий форму; P_n – многочлен Лежандра степени n . Через базисные векторы можно выразить любую произвольную функцию, в пределах $0 \leq \theta' \leq \pi$. С учетом этого условия получим нормальную форму дискоцита и стоматоцита (соответствующие 3D-фигуры приведены на рис. 2 и 3).

Для сферoidalной частицы расстояние $r'(\theta')$ до точки на поверхности запишем в следующем виде:

$$r'(\theta) = \frac{ab}{\sqrt{[b^2 \sin^2 \theta + a^2 \cos^2 \theta]}} \quad (5)$$

где a и b – полуоси.

Для стоматоцита верхняя полусфера была сформирована с использованием уравнения (6), а нижняя часть была полусферой вида

$$z(\xi) = R_e \sqrt{1 - \left(\frac{\xi}{R_e}\right)^2} \times \left[c_0 + c_1 \left(\frac{\xi}{R_e}\right)^2 + c_2 \left(\frac{\xi}{R_e}\right)^4 \right] \quad (6)$$

где ξ – горизонтальное расстояние; коэффициенты c_0 , c_1 и c_2 определяют форму эритроцитов.

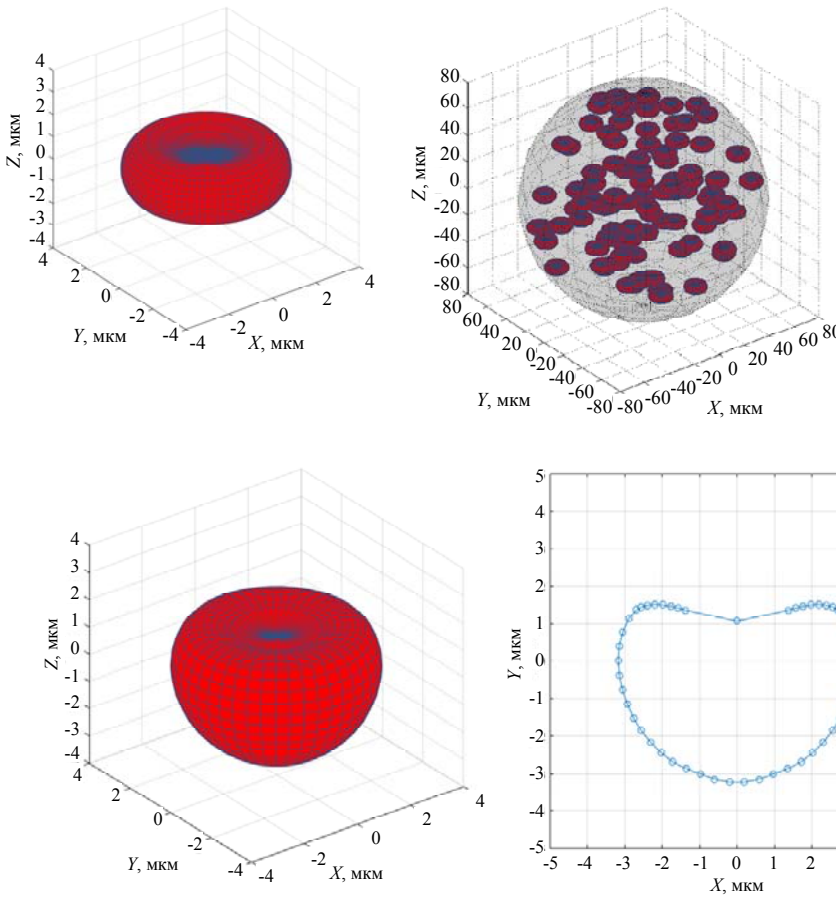


Рис. 2. Модель формы здорового эритроцита.

Рис. 3. Модель формы стоматоцита.

Двухмерные и трехмерные клетки приведены на рис. 2 и 3. Затем построенные фигуры снабжались расширением, приведенным в уравнении (4), для оценки α_n . Вначале генерировалось число s радиальных выборок (т. е. r_1, r_2, \dots, r_s) при разных значениях угла ($\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_s$), используя уравнение (6). Затем построена система уравнений с точностью до L -го полинома Лежандра (уравнение (4)),

$$\begin{pmatrix} P_0(\cos \theta_1) & P_1(\cos \theta_1) & P_L(\cos \theta_1) \\ P_0(\cos \theta_2) & P_1(\cos \theta_2) & P_L(\cos \theta_2) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ P_0(\cos \theta_s) & P_1(\cos \theta_s) & P_L(\cos \theta_s) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \alpha_0 \\ \alpha_1 \\ \vdots \\ \alpha_L \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} r_1 / R_e - 1 \\ r_2 / R_e - 1 \\ \vdots \\ r_s / R_e - 1 \end{pmatrix} \quad (7)$$

Уравнения были решены с использованием метода наименьших квадратов. Уравнения для несферического объекта имеют вид:

$$p(r, k) = -\frac{e^{ikr}}{4\pi r} \frac{i\omega\mu\beta I_0}{C_p} \times \int_0^\pi \sin\theta_0 d\theta_0 \int_0^{F(\theta_0)} r_0^2 dr_0 \int_0^{2\pi} e^{-ikr_0} d\phi_0. \quad (8)$$

Плотность плазмы и скорость звука в плазме определялись как $\rho_0 = 1005 \text{ кг/м}^3$ и $v_0 = 1500 \text{ м/с}$ соответственно. Нижний индекс 0 соответствует начальному положению координаты r, θ, ϕ . Плотность в эритроцитах $\rho_s = 1090 \text{ кг/м}^3$, скорость звука $v_s = 1090 \text{ м/с}$. Оптические и термомеханические параметры для поглощающего объекта принимались как константы (I_0, μ, β, C_p). Чтобы решить уравнение (8), моделируемый объем источника был разбит на участки по 200 нм. Интеграл решался численным методом с использованием полинома Чебышева для различных сфериче-

ских и осесимметричных несферических частиц, участвующих в поглощении лазерного излучения.

Результаты

С помощью расширения сферических гармоник для параметризации поверхности клеток были смоделированы формы дискоцитов и стоматоцитов. Для этих поверхностей были рассчитаны модели оптоакустического сигнала (рис. 4). Различие в рассчитанных сигналах для дискоцита и стоматоцита позволяет реконструировать формы клеток, в которых происходит формирование акустического сигнала в результате оптоакустического преобразования.

На рис. 4 приведен рассчитанный акустический сигнал, формируемый в результате оптоакустического преобразования в жидкости от двояковогнутого эритроцита и дискоцита, с одинаковым объемом.

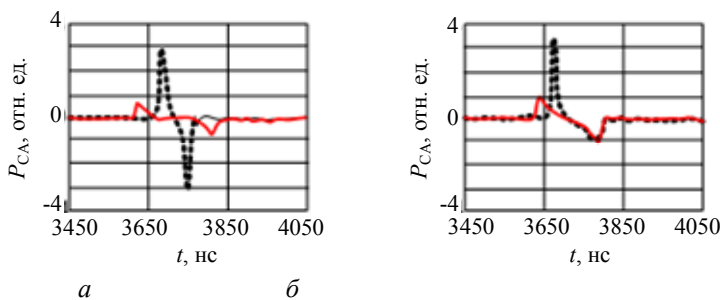


Рис. 4. Моделируемый акустический сигнал, формируемый дискоцитом и патологически измененным эритроцитом при оптоакустическом преобразовании. Приведены сигналы в направлениях $\theta = 0$ (пунктир) и $\theta = \pi/2$ (сплошная линия) на ось симметрии: (а) дискоцит; (б) стоматоцит.

Рассчитанные акустические сигналы отличаются для разных частиц в зависимости от их ориентации. Акустические импульсы рассчитывались, при разных положениях приемника акустических колебаний $\theta = 0, \theta = \pi/2$ (рис. 4, а). При зондировании в направлении $\theta = \pi/2$ амплитуда сигнала уменьшается в четыре раза, а длительность акустического сигнала в три раза увеличивается.

На рис. 4, б (пунктирная линия) приведены расчетные акустические сигналы от стоматоцита, при этом в направлении зондирования $\theta = 0$ заметен уменьшенный по амплитуде процесс релаксации сигнала, но с увеличенным временем релаксации. При зондировании в направлении $\theta = \pi/2$ отмечаются различия сигнала по амплитуде по сравнению с двояковогнутым эритроцитом (рис. 4, б – сплошная линия).

Таким образом, можно сделать выводы о возможности применения оптоакустического лазерного цитометра для регистрации патологических форм эритроцитов. Было обнаружено, что используемое нами расширение сферических гармоник является удобным инструментом параметризации морфологии клеток. Этот набор функций может соответствовать как симметричным, так и несимметричным моделям эритроцитов.

В настоящее время проводятся эксперименты НОЦ «Лазерные технологии» на установке [17] LIMO 100-532/1064U по регистрации акустического сигнала, сформированного в жидкости в результате поглощения лазерного излучения. При этом в качестве моделей эритроцитов используются полистирольные микросферы различных диаметров. Результаты экспериментов должны дополнить матема-

тические модели рассчитанных акустических сигналов для модельных эритроцитов приведенных в данной работе.

Оптоакустическая визуализация в настоящее время является уникальной возможностью для фундаментальных исследований в доклинических условиях. Возможности оптоакустического метода по определению патологических форм эритроцитов могут помочь исследователям изучить начало заболевания и эффективность новых терапевтических методов и лекарств путем количественного и качественного определения изменения формы эритроцитов неинвазивным методом.

Заключение

В ходе проведённой работы создана трехмерная модель формы здоровых эритроцитов и патологических стоматоцитов в плазме в интересах моделирования воздействия лазерного изучения на эритроцит и получения оптоакустического отклика от одиночных эритроцитов.

Примененное расширение сферических гармоник при параметрическом моделировании с поверхностями эритроцитов различной формы с использованием оптоакустического эффекта для расчета акустического сигнала в жидкости от эритроцитов различной формы показывает различие в структуре акустического сигнала для дискоцита и стоматоцита. По структуре полученного акустического сигнала можно реконструировать поверхности, формирующие этот сигнал, который содержит информацию о параметрической поверхности клетки, форму которой можно получить с помощью метода деконволюции.

Поскольку в основе оптоакустических методов лежит рассеяние и поглощение биологическими тканями лазерного излучения, для изучения структуры биотканей необходимо иметь точную модель распространения света в биологической среде. Частичное ре-

шение этой задачи представлено в этом исследовании.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Baldassarre L., Cingolani A., de Tommasi A., Vailati G.* // Applied Physics Communications. 1982. Vol. 2. P. 183.
2. *Hoelen C. G. A., de Mul F. F. M., Pongers R., Dekker A.* // Optics Letters. 1998. Vol. 23. P. 648.
3. *Yao J. J., Maslov K. I., Zhang Y., Xia Y. N., Wang L. V.* // Journal of Biomedical Optics. 2011. Vol. 6. P. 076003.
4. *Oladipupo S., Hu S., Kovalski J., Yao J. J., Santeford A., Sohn R.E. et al.* // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2011. Vol. 108. P. 13264.
5. *Kircher M. F., de la Zerda A., Jokerst J. V., Zavaleta C. L., Kempen P. J., Mittra E. et al.* // Nature Medicine. 2012. Vol. 18. P. 829.
6. *Грашин П. С., Карабутов А. А., Ораевский А. А. соавт.* // Квантовая Электроника. 2002. Т. 32 (10). С. 868.
7. *Жаров В. П., Летохов В. С.* Лазерная оптико-акустическая спектроскопия. – М.: Наука, 1984. С. 320.
8. *Симонова В. А., Саватеева Е. В., Карабутов А. А., Карабутов А. А. (мл.) и др.* // Вестник РФФИ. 2014. № 3 (83). С. 10.
9. *Кравчук Д. А., Старченко И. Б.* // Прикладная физика. 2018. № 4. С. 89.
10. *Кравчук Д. А.* // Biomedical Photonics. 2018. Т. 7. Вып. 3. С. 36.
11. *Fang H., Wang L. H. V.* // Opt. Lett. 2009. Vol. 34 (5). P. 671.
12. *Starchenko I. B., Kravchuk D. A., Kirichenko I. A.* // Biomedical Engineering. 2018. Vol. 51. No. 5, January. P. 308.
13. *Гусев В. Э., Карабутов А. А.* Лазерная оптоакустика. – М.: Наука, 1991.
14. *Diebold G. J.* Photoacoustic Imaging and Spectroscopy / Edited by L. V. Wong – Taylor & Francis Group, LLC, London, 2009.
15. *Kand K., Howard J.* // Med. Image Anal. 2008. Vol. 12. P. 217.
16. *Mugnai A., Wiscombe W. J.* // Appl. Opt. 1986. Vol. 25. P. 1235.
17. *Kravchuk D. A.* / Proceedings of the 2019 International Siberian Conference on Control and Communications (SIBCON). – Tomsk: Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics (TUSUR). Russia, Tomsk, April 18–20, 2019 IEEE Catalog Number: CFP19794-CDR.

Simulation of acoustic signals with an optoacoustic effect for the detection of red blood cells of various shapes by a laser cytometer

D. A. Kravchuk

Southern Federal University
Bld. E, 2 Schevchenko st., Taganrog, 347922, Russia
E-mail: Kravchukda@sfnedu.ru

Received June 18, 2019

The aim of the study was to develop a three-dimensional model of the shape of healthy erythrocytes and pathological stomatocytes in plasma, to simulate the effects of laser study on the erythrocyte and to obtain an optoacoustic response from single erythrocytes. Using spherical harmonics to parameterize the morphology of cells for symmetrical and asymmetrical objects, we performed modeling of healthy red blood cell forms – discocytes and pathological forms of stomatocytes. Using the parametric model, using the example of three-dimensional erythrocyte figures, the generated acoustic signals from erythrocytes were simulated with an optoacoustic effect. The acoustic signal from the biconcave erythrocyte and stomatocyte models is calculated to determine the erythrocyte shape using the optoacoustic method for a ND: YAG laser with a wavelength of 1064 nm. The received signals have various forms and durations, which allows us to characterize the forms of sources of acoustic signals formed as a result of optoacoustic conversion. Analysis of theoretically obtained acoustic signals allows us to conclude about the applicability of the registration of erythrocyte forms using the optoacoustic method.

Keywords: optoacoustic effect, acoustic signal, erythrocyte, stomatocyte, laser.

REFERENCES

1. L. Baldassarre, A. Cingolani, A. de Tommasi, and G. Vailati, *Applied Physics Communications* **2**, 183 (1982).
2. C. G. A. Hoelen, F. F. M. de Mul, R. Pongers, and A. Dekker, *Optics Letters* **23**, 648 (1998).
3. J. J. Yao, K. I. Maslov, Y. Zhang, Y. N. Xia, and L. V. Wang, *Journal of Biomedical Optics* **16**, 076003 (2011).
4. S. Oladipupo, S. Hu, J. Kovalski, J. J. Yao, A. Santeford, R. E. Sohn, et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**, 13264 (2011).
5. M. F. Kircher, A. de la Zerda, J. V. Jokerst, C. L. Zavaleta, P. J. Kempen, E. Mittra, et al., *Nature Medicine* **18**, 829 (2012).
6. P. S. Grashin, A. A. Karabutov, A. A. Oraevsky, et al., *Quantum Electronics* **32** (10), 868 (2002).
7. V. P. Zharov and B. C. Letokhov, *Laser Opto-Acoustic Spectroscopy* (Moscow, Nauka, 1984) [in Russian].
8. V. A. Simonov, E. V. Savateeva, A. A. Karabutov, A. A. (Jr.) Karabutov, et al., *Bulletin RFBR*, No. 3 (83), 10 (2014).
9. D. A. Kravchuk and I. B. Starchenko, *Prikl. Fiz.*, No. 4, 89 (2018).
10. D. A. Kravchuk, *Biomedical Photonics* **7** (3), 36 (2018).
11. H. Fang and L. H. V. Wang, *Opt. Lett.* **34** (5), 671 (2009).
12. I. B. Starchenko, D. A. Kravchuk, and I. A. Kirichenko, *Biomedical Engineering* **51** (5, January), 308 (2018).
13. V. E. Gusev and A. A. Karabutov, *Laser Optoacoustics* (Moscow, Nauka, 1991).
14. G. J. Diebold, *Photoacoustic Imaging and Spectroscopy* / Edited by L. V. Wong (Taylor & Francis Group, LLC, London, 2009).
15. K. Kand and J. Howard, *Med. Image Anal.* **12**, 217 (2008).
16. A. Mugnai and W. J. Wiscombe, *Appl. Opt.* **25**, 1235 (1986).
17. D. A. Kravchuk, in *Proc. 2019 International Siberian Conference on Control and Communications (SIBCON)*. (Tomsk: Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics (TUSUR). Russia, Tomsk, April 18–20, 2019 IEEE Catalog Number: CFP19794-CDR).