

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ

ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Кравчук Денис Александрович

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИНЦИПОВ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ
НА ОСНОВЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА И РАЗРАБОТКА
БИОТЕХНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА**

2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Диссертация на соискание ученой степени

доктора технических наук

Научный консультант:

д.т.н., профессор Н.Н. Чернов

Таганрог

2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1. ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФОРМЕННЫХ ЧАСТИЦ КРОВИ С ИЗЛУЧЕНИЕМ ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА.....	17
1.1 Взаимодействие оптического излучения с биологическими тканями	17
1.2 Характеристика объекта исследования – эритроцитов крови человека	19
1.3 Особенности формирования акустических сигналов в биологических тканях при оптоакустическом преобразовании	24
1.4 Применение оптоакустических методов в биомедицинских исследованиях.....	34
1.5 Выводы по главе	43
2. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ПАРАМЕТРОВ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОТ ФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ОБЛУЧАЕМОГО ОБЪЕКТА.....	45
2.1 Оптоакустическое излучение монополей. Постановка задачи.....	45
2.2 Исследование генерации акустических волн при оптоакустическом преобразовании сферическими поглотителями для различных функций нагрева.....	51
2.3 Теоретическое исследование оптоакустического эффекта в дальнем поле для сферических поглотителей	54
2.4 Выводы по главе	60
3. ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ НЕАГРЕГИРОВАННЫХ И АГРЕГИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ.....	62
3.1 Степень агрегации эритроцитов как диагностический параметр. Постановка задачи	62

3.2 МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ФОРМИРОВАНИЯ АКУСТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ОТ НЕАГРЕГИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОПТОАКУСТИЧЕСКОМ ПРЕОБРАЗОВАНИИ	64
3.3 МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АКУСТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ОТ АГРЕГИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОПТОАКУСТИЧЕСКОМ ПРЕОБРАЗОВАНИИ ..	73
3.4 ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕПЕНИ ОКСИГЕНАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ ОПТОАКУСТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ.....	85
3.5 ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ	97
4. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА В СРЕДЕ С НОРМАЛЬНЫМИ И ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫМИ ЭРИТРОЦИТАМИ.....	99
4.1 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАТОЛОГИЙ ЭРИТРОЦИТОВ. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ.....	99
4.2 ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОЙ СТАДИИ ПАРАЗИТА МАЛЯРИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО МЕТОДА.....	101
4.3 МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА В КЛЕТКАХ С ЭНДОЦИТОЗНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ УГЛЕРОДА.....	114
4.4 ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА В СРЕДЕ С НОРМАЛЬНЫМИ И ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫМИ ЭРИТРОЦИТАМИ МЕТОДОМ ФУНКЦИИ ГРИНА .	124
4.5 ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ АКУСТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ПРИ ОПТОАКУСТИЧЕСКОМ ПРЕОБРАЗОВАНИИ ДЛЯ ОСЕСИММЕТРИЧНЫХ НЕСФЕРИЧЕСКИХ ФОРМ ЭРИТРОЦИТОВ.....	130
4.6 ТРЕХМЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕДЕНИЯ АКУСТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ПРИ ОПТОАКУСТИЧЕСКОМ ПРЕОБРАЗОВАНИИ.....	139
4.7 ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ	145
5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ НА ОСНОВЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА	149

5.1	МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИЗМЕРЕНИЙ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА В ЖИДКОСТИ.	149
5.2	ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ В ЗОНЕ ДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И МОЩНОСТИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ	156
5.3	ТИПЫ МОДЕЛЬНЫХ ЖИДКОСТЕЙ	159
5.4	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОА ЭФФЕКТА В ЖИДКОСТИ С ПОЛИСТИРОЛЬНЫМИ СФЕРАМИ КАК ФИЗИЧЕСКИМИ МОДЕЛЯМИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ.....	167
5.5	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОА ЭФФЕКТА В СВИНОЙ КРОВИ.....	176
5.6	РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТОТИПА СИСТЕМЫ ЭКСПРЕСС АНАЛИЗА СОСТОЯНИЯ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ОСНОВЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА. ОЦЕНКА ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ.	182
5.7	ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ	190
6.	РАЗРАБОТКА БИОТЕХНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ.....	195
6.1	ОБОБЩЕННАЯ СТРУКТУРА БИОТЕХНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ ОПТОАКУСТИЧЕСКИХ ДАННЫХ.....	195
6.2	ОПИСАНИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ЦИФРОВЫХ ОПТОАКУСТИЧЕСКИХ ДАННЫХ.....	197
6.3	АЛГОРИТМЫ ОБРАБОТКИ СИНОГРАММ	198
6.4	РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ВОССТАНОВЛЕНИЯ ИЗОБРАЖЕНИЯ ПРИ ОПТОАКУСТИЧЕСКОМ ПРЕОБРАЗОВАНИИ СИГНАЛА НА ОСНОВЕ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ	201
6.5	РАЗРАБОТКА ИНТЕРФЕЙСА ПРОГРАММЫ ОТОБРАЖЕНИЯ АКУСТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ПРИ ОПТОАКУСТИЧЕСКОМ ПРЕОБРАЗОВАНИИ.....	217
6.6	ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ	221
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	222
	ЛИТЕРАТУРА.....	226
	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	243

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность диссертационной работы

Эритроциты обладают уникальными свойствами, влияющими на кровоток, а именно агрегируемостью, деформируемостью и адгезией к эндотелиальным клеткам, которые играют важную роль в кровотоке. При нормальных условиях, эритроциты рассредоточены, они достаточно деформируемы, чтобы обеспечить перфузию тканей, но при патологических состояниях, связанных с состояниями пониженного кровотока, повышенным содержанием компонентов плазмы или измененными свойствами эритроцитов (гемоглобинопатии, окислительный стресс, воспаление, диабет), текучесть эритроцитов ухудшается, эти изменения и представляют опасность для кровообращения. Одно из наиболее распространенных осложнений серповидно-клеточной анемии возникает, когда деформированные эритроциты слипаются вместе, блокируя крошечные кровеносные сосуды и вызывая сильную боль и отек в пораженных частях тела. Выработка чрезмерного количества эритроцитов (полицитемия) приводит к повышению содержания всех кровяных телец, что несёт опасность тромбов. Малярия – поражение красных кровяных телец внутренними паразитами, после чего эритроциты начинают лопаться, и ухудшается общее состояние.

В последние годы использование оптоакустического эффекта в биомедицине вызывает большой интерес. Это связано с требованиями в этой области к диагностическим экспресс анализам в реальном времени, которые обеспечивают эффективные результаты исследований для принятия терапевтических решений.

Использование биомедицинской оптики имеет ряд важных применений в диагностике и терапии, это происходит из-за высокого контраста оптической абсорбции хромофоров ткани. Высокий эндогенный контраст является основным преимуществом методов оптической диагностики по сравнению с другими методами диагностики, такими как ультразвукография. Использование только оптической технологии диагностики имеет

ограничение, связанное с пределом разрешения из-за сильного рассеяния света в тканях на глубинах, превышающих предел оптической диффузии. Оптоакустическая диагностика основана на регистрации сформированных ультразвуковых волн в биологических пробах посредством поглощения коротких оптических импульсов на основе, термоупругого механизма.

Использование нано - и микрочастиц, сильно поглощающих световые волны применяют для оптоакустической диагностики патологий, опухолевых клеток, при этом основой метода является высокая чувствительность оптоакустического метода к изменениям поглощения света.

Исследования в области оптоакустической диагностики биологических тканей проводила группа авторов А.А. Карабутов, Т.Д. Хохлова, И.М. Пеливанов. Саватеева Е.В., Карабутов А.А. с соавторами исследовали возможность создания комбинированной антенны для оптико-акустической и лазерной ультразвуковой томографии биологических сред. Исследования оптоакустического преобразования в суспензиях с расчетом кавитационного вклада проводили С.В. Егеров, О.Б. Овчинников, А.В. Фокин. Возможность определения эндотоксинов с помощью фотоакустической спектрометрии исследовала группа авторов Н.В. Орлова, А.В. Брусничкин, А.В. Фокин, О.Б. Овчинников, М.А. Проскурин, С.В. Егеров. Авторами рассмотренных исследований не проводились клеточные моделирования биологических тканей, с подсчетом клеток и обнаружением внутриклеточных неоднородностей (инфекций) оптоакустическим методом.

Количественный анализ оптических свойств биологических сред дает необходимую физиологическую информацию для эффективной диагностики. В настоящее время наиболее часто используемые методы определения оптических свойств на основе инвазивных процедур и автономного анализа *in vitro*, основанных на затухании с использованием спектрофотометрии, коэффициента отражения, флуоресцентной спектроскопии, рамановской спектроскопии. Потенциальные преимущества оптоакустического метода заключаются в простоте реализации и помогут ускорить время принятия

терапевтического решения. Таким образом, оптоакустические методы являются перспективными в области исследования состава крови, а именно установления уровня гематокрита, определения процента агрегации эритроцитов и др. В работе разработаны численные методы моделирования этих процессов с экспериментальным подтверждением.

Немаловажным достоинством оптоакустических методов является возможность обнаружения внутриэритроцитарных инфекций в пробах крови без использования прибороемких лабораторных исследований. С помощью наноконтрастных агентов, которые имеют большое поглощение оптического излучения, оптоакустическим методом возможно определение наличие опухолевых частиц в составе образца. В результате исследования особенностей оптоакустического эффекта в присутствии поглотителей разной формы в работе продемонстрирована модель определения патологий формы развития эритроцитов до форм стоматоцитов. Таким образом, теоретические и экспериментальные исследования и разработка принципов диагностики эритроцитов с помощью оптоакустических методов является перспективной научно-технической задачей для разработки новых биотехнических систем экспресс-анализа.

Решена научная проблема, имеющая важное социально-экономического значение, посвященная разработке нового вида экспресс-диагностики крови, дающего широкий спектр диагностических показателей при минимальном времени анализа с возможностью интеграции в сегмент электронного здравоохранения в рамках цифровизации экономики страны.

Цель диссертационной работы заключается в развитии принципов методологии аналитической диагностики форменных элементов крови на основе оптоакустического эффекта и построение системы экспресс анализа, позволяющей получить качественно новые результаты для определения уровня гематокрита, агрегации и кислородонасыщения эритроцитов, обнаружения внутриэритроцитарных инфекций и патологий формы эритроцитов.

Объект исследования – форменные частицы крови человека, оптоакустический эффект от их взаимодействия с лазерным излучением.

Предметом исследования являются форменные элементы крови человека, в частности, эритроциты, обнаружение патологий форм эритроцитов и внутриэритроцитарных инфекций, определение уровня их агрегации и кислородонасыщения.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи исследования:**

1. Теоретически исследовать процесс оптоакустического преобразования энергии оптического излучения в присутствии эритроцитов разной степени агрегации. Сформировать модельную картину распределения эритроцитов в жидкости в зависимости от гематокрита.

2. Теоретически исследовать способ определения степени насыщения кислородом биологических тканей с помощью оптоакустического метода. Разработать модели пространственной организации случайно распределенных смесей оксигенированных и дезоксигенированных эритроцитов в двумерном пространстве.

3. Провести теоретические исследования модели обнаружения внутриэритроцитарной инфекции малярийного паразита с использованием оптоакустического метода на различных длинах волн оптического излучения.

4. Разработать математическую модель взаимодействия лазерного излучения с клетками, содержащими наночастицы для увеличения контраста акустического сигнала в крови.

5. Экспериментально исследовать процесс лазерного возбуждения акустических импульсов в пробах крови и модельных биологических средах при измерении гематокрита и кислородонасыщения, для валидации предложенных моделей. Разработать модельные биологические жидкости на основе синтезированных полистирольных микросфер и дисков как моделей эритроцитов с соответствующими размерами и теплофизическими параметрами.

6. Разработать методику и алгоритм диагностики жидких биологических сред оптоакустическим методом.

7. Разработать принципы построения системы экспресс-анализа форменных элементов крови.

8. Разработать алгоритм восстановления изображения форменных частиц крови путем преобразования оптоакустического сигнала на основе нейронных сетей.

Научная новизна работы:

В рамках диссертационной работы были получены следующие основные результаты, обладающие научной новизной.

1. Разработаны математические модели оптоакустического преобразования оптического излучения в присутствии неагрегированных и агрегированных эритроцитов с установлением степени агрегации, а также с учетом кислородонасыщения и дезоксигенации эритроцитов в крови, с использованием метода Монте-Карло, включающие:

- теоретическую модель распределения эритроцитов в зависимости от гематокрита;
- алгоритм построения компактных кластеров для моделирования процесса агрегации эритроцитов, сформированы модельные образцы биологических тканей с различной степенью агрегации и размерами агрегатов;
- алгоритм для моделирования крови, состоящей из оксигенированных эритроцитов и дезоксигенированных эритроцитов;
- исследованы профили акустических сигналов и спектральных плотностей мощности, сформированных в результате оптоакустического эффекта.
- расчет спектральной плотности мощности позволяет установить уровень гематокрита, провести подсчет количества неагрегированных эритроцитов, установить уровень агрегации и кислородонасыщения оптоакустическим методом;

- разработана теоретическая модель оценки здоровых и инфицированных эритроцитов с разными стадиями поражения соответствующими нормальным, кольцевым, трофозоитовым и шизонтным стадиям;
- разработан метод выявления внутриэритроцитарного развития малярийного паразита с использованием оптоакустического эффекта;
- установлено, что наличие эндоцитозных наночастиц в концентрации до $20 \cdot 10^4$ наночастиц/клетка позволяет увеличить глубину обнаружения сформированного оптоакустического сигнала до 12 мм;
- экспериментально установлено высокая корреляция между измеренным фактическим гематокритом крови, полученным в лабораторных условиях и измеренным оптоакустическим методом $R^2 = 0,92$, при этом систематическая ошибка $\langle \Delta \rangle = 4,1\%$ и стандартное отклонение $SD = 2\%$. Корреляция между измерением оптоакустическим методом и фактическим кислородонасыщением составила $R^2 = 0,96$.

2. Теоретически исследован оптоакустический эффект в модельной биологической жидкости с использованием разработанных поглотителей моделей форм эритроцитов, включающий:

- двухмерную модель изменения формы эритроцитов;
- моделирование пространственного распределения двояковогнутых эритроцитов при условии не перекрытия частиц;
- рассчитанные акустические сигналы и спектральные плотности мощности для гематокрита 45% с эритроцитами сферической и двояковогнутой формы позволяют определить изменения формы эритроцитов на ранних стадиях.

3. Разработан метод экспресс-диагностики состояния форменных элементов на основе оптоакустического эффекта, включающий:

- разработку двухлучевой системы экспресс анализа форменных элементов крови, отличающуюся наличием двух источников лазерного излучения на различных длинах волн (532 нм и 1064 нм), позволяющую визуализировать исследуемые образцы ткани по результатам измерения оптоакустических сигналов;

- программы для обработки и отображения информации системы экспресс анализа для персонального компьютера (зарегистрированные в Роспатент, заявка № 2023610836) и отличающаяся наличием приложения для мобильных устройств (ОС Android) для получения услуг мобильной медицины;
- алгоритм восстановления изображения при оптоакустическом преобразовании сигнала на базе нейронных сетей, позволяющий реконструировать оптоакустическое изображение по акустическому сигналу, полученному от агрегированных эритроцитов и от эритроцитов, имеющих зараженные стадии малярии. Проведено ускорение расчетов, с помощью открытого кода, на основе распараллеливания задач графическим ускорителем на плате GPU (графического ускорителя), отличающаяся ускорением расчетов в несколько раз в сравнении с CPU.

Практическая значимость диссертационной работы.

1. Разработана методика установления уровней гематокрита и агрегации форменных частиц на основе исследований оптоакустического эффекта в присутствии неагрегированных и агрегированных моделей эритроцитов, а также методика установления уровня кислородонасыщения и дезоксигенации эритроцитов.
2. Разработан алгоритм моделирования образцов крови с агрегированными и единичными эритроцитами с помощью компактных кластеров.
3. Разработана методика исследования оптоакустического сигнала для обнаружения внутриэритроцитарных инфекций на ранних стадиях на примере моделирования трех фаз заражения малярийным паразитом.
4. Разработана методика увеличения контраста и глубины формирования акустического сигнала при оптоакустическом эффекте в присутствии наночастиц. Установлено, что при использовании наночастиц в концентрации до $20 \cdot 10^4$ наночастиц/клетка позволяет увеличить амплитуду акустического сигнала, глубину прозвучивания исследуемого материала и

соответственно обнаружения сформированного оптоакустического сигнала до 12 мм.

5. Предложен метод трехмерного моделирования изменения формы эритроцитов для регистрации патологических форм оптоакустическим методом.

6. По результатам экспериментальных измерений значений гематокрита в крови человека установлена высокая корреляция между измерением оптоакустическим методом и фактическим гематокритом крови, измеренным в лабораторных условиях, составила $R^2 = 0,92$. Корреляция между измерением оптоакустическим методом и фактическим кислородонасыщением составила $R^2 = 0,96$.

Установлено, что точность измерения оптоакустическим методом гематокрита и кислородонасыщения в крови и на модельных полистирольных дисках приближается к точности измерений инвазивными методами.

7. Разработана структура построения биотехнической системы экспресс-анализа состава крови с помощью оптоакустического метода. Разработан алгоритм восстановления изображения форменных частиц крови на основе оптоакустического сигнала с помощью нейронных сетей. Разработано и зарегистрировано в Роспатент приложение для ПК «Система оптоакустического анализа и диагностики жидкостей (биожидкостей)» № 2023611761 приложения для ПК и мобильных телефонов (ОС Android) для реализации удаленной связи пациент/доктор.

Используемые методики.

Для решения поставленных научно-исследовательских задач в работе использовались методы обработки сигналов, системного анализа, математической статистики. При математическом моделировании в качестве инструментария использовалась среда Matlab R2017a. В ходе проведения экспериментов запись оптоакустического сигнала осуществлялась с помощью модульного измерительного комплекса NI PXI 1042Q, для

которого была разработана структурная схема "виртуального" прибора на базе LabVIEW. Получено свидетельство № 2023610836 о регистрации программы для ЭВМ «Система оптоакустического анализа и диагностики жидкостей (биожидкостей)».

Научные положения, выносимые на защиту:

1. Исследования оптоакустического преобразования энергии оптического диапазона в присутствии сферических источников в биологической среде при различных уровнях оптического воздействия.
2. Математическая модель оптоакустического преобразования в присутствии агрегированных и не агрегированных эритроцитов, позволяющая оценить степень агрегации и уровень гематокрита.
3. Результаты решения задачи математического моделирования оптоакустического эффекта в присутствии эритроцитов с учетом их кислородонасыщения и дезоксигенации, позволяющие определить уровень кислородонасыщения крови и обнаружить внутриэритроцитарные инфекции.
4. Трехмерное моделирование форм эритроцитов, позволившее установить различие оптоакустического отклика от сферических и двояковогнутых поглотителей в модельной биологической жидкости для раннего обнаружения патологий формы эритроцитов.
5. Результаты экспериментальных исследований процесса лазерного возбуждения акустических импульсов в биологических и модельных средах в присутствии полимерных микрообъектов для целей диагностики оптоакустическим методом.
6. Принципы построения системы экспресс-анализа форменных элементов крови.

Достоверность результатов подтверждается соответствием результатов теоретических исследований данным экспериментов, а также теоретическим расчетам и экспериментальным данным, полученным в работах других авторов; обработкой большого массива данных в среде Matlab.

Внедрение и использование результатов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы внедрены на предприятиях, в том числе при разработке опытного образца и проведении клинических исследований:

- "Tiara Medical" (г. Санкт-Петербург);
- НПП "Монитор" (г. Ростов-на-Дону);
- ЗАО ОКБ "РИТМ", (г. Таганрог);
- ООО "МРТ диагностика" (г. Воронеж),
- ООО "Т Сервис" (г. Воронеж);
- ООО "Эксперт плюс" (г. Воронеж);
- ООО "Медицинская диагностика";
- В ФГБОУ ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России.
- Государственная регистрация программы для ЭВМ Кравчук Д.А. Система оптоакустического анализа и диагностики жидкостей (биожидкостей) заявка № 2023610836, свидетельство № 2023611761;
- ООО «Медторг+» (г. Воронеж) - **создание опытного образца** прибора экспресс анализа.
- В ФГБУ «СКК «Северокавказский» Министерства обороны РФ – **испытания опытного образца** экспресс анализа.

Основные научные результаты работы обсуждались на научно-технических конференциях всероссийского и международного уровня, а именно: Научно-практическая конференция «Нелинейная акустика – 50 лет» (Таганрог, 2015); XIV Всероссийская научно-техническая конференция «Медицинские информационные системы», МИС-2016 (Таганрог, 2016); «Экология море и человек» (Таганрог, 2017); «Проблемы автоматизации. Региональное управление. Связь и автоматика» (Геленджик, 2016, 2017, 2018, 2019); 17-ая международная молодежная научно-практическая конференция «Фундаментальные исследования, методы и алгоритмы прикладной математики в технике, медицине и экономике (Новочеркасск, 2018); XXXI Всероссийская научно-техническая конференция студентов, молодых ученых и специалистов «Биомедсистемы – 2018» (Рязань, 2018); V Всероссийской

конференции и школы для молодых ученых (с международным участием «Системы обеспечения техносферной безопасности» (Таганрог, 2018, 2019); XIII Всероссийской конференции молодых ученых "Нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика", Саратов; Международной IEEE-Сибирской конференции по управлению и связи (SIBCON-2019) Новосибирск; XXXII Всероссийской научно-технической конференции студентов, молодых ученых и специалистов «Биомедсистемы – 2019» (Рязань, 2019); Всероссийской научно-технической конференции «Медицинские информационные системы» (Таганрог, 2019), Международная конференция «Современные технологии и инновации в науке и промышленности» (Красноярск, 2019); «Physics and Mechanics of New Materials» PHENMA, 2018, 2019, 2020; Нанотехнологии: образование, наука, инновации (Курск 2019); III Всероссийская акустическая конференция (г. Санкт-Петербург 2020); Биомедсистемы (г. Рязань, 2020г.), XI Всероссийская научная конференция и молодежная школа-семинар «Экология-2021 – море и человек» (г. Таганрог), XXVII Международная научно-техническая конференция «Радиолокация, навигация, связь» 2021, 2022 (г. Воронеж); Биомедсистемы (г. Рязань, 2021г.), XXXV сессия Российского акустического общества (Москва 2023г.).

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 69 печатных работ, из них 33 публикации в журналах из «Перечня ...» ВАК, (в том числе 28 публикаций из перечня рекомендованных диссертационным советом ЮФУ801.02.04), в том числе 18 индексируемых в базах Scopus; свидетельство о регистрации программы для ЭВМ; главы в монографии Nova Publishing, Springer (США) 2019, 2020, 2021; более 26 докладов на Международных и Всероссийских конференциях.

Личный вклад автора. Результаты, изложенные в диссертации, получены автором лично и опубликованы в ряде работ без соавторов и в соавторстве с коллегами, аспирантами, студентами и научным консультантом.

Постановка, планирование, проведение экспериментов, разработка системы отображения и записи экспериментальных данных выполнены автором лично. Разработка математических моделей и компьютерных алгоритмов вычисления, обработки экспериментальных данных проводилась автором лично под руководством научного консультанта.

Структура и объем работы.

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, списка литературы из 255 наименований и приложений. Диссертация содержит 242 страницы основного текста, в том числе 152 рисунка и 15 таблиц.

1. ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФОРМЕННЫХ ЧАСТИЦ КРОВИ С ИЗЛУЧЕНИЕМ ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА

1.1 Взаимодействие оптического излучения с биологическими тканями

При взаимодействии лазерного излучения с биологическими тканями возникают различные эффекты, возникающие при прохождении света через неоднородную среду, часть отражается от него, что обусловлено несоответствием показателей преломления света тканями и окружающей их средой. Результирующие действия зависят главным образом от параметров приложения, которые, в свою очередь, могут характеризоваться длиной волны применяемого лазера, временем воздействия и плотностью мощности. Лазерное излучение, проникающее в ткани, подвергается многократному рассеянию и поглощению различными биологическими структурами. Поглощение световой энергии тканями является ключевым моментом и основано на фотобиологическом эффекте и определяется комплементарностью его длины волны поглощающим веществам в биологических тканях. В ИК-диапазоне лазерное излучение усиливает колебательные процессы в молекулах воды, что приводит к повышению температуры в тканях. Процессы, происходящие в биологических тканях под действием лазерного излучения подразделяются на фотохимические, тепловые и нелинейные процессы. Особенностью воздействия излучения на биоткань является время воздействия, т.е. время нагрева, процессами перераспределения тепла и релаксации после воздействия.

Оптоакустический метод - это новая диагностическая платформа, которая может использоваться для неинвазивных измерений физиологических переменных, функциональной визуализации и мониторинга гемодинамики. Метод основан на генерации и детектировании с временным разрешением оптоакустических (термоупругих) волн, генерируемых в ткани короткими оптическими импульсами. Это обеспечивает зондирование тканей с высоким оптическим контрастом и пространственным разрешением

ультразвука. Поскольку акустические волны несут информацию об оптических и теплофизических свойствах тканей, обнаружение и анализ оптико-акустических волн позволяют измерять физиологические переменные с высокой точностью. Оптоакустический метод можно использовать для мониторинга ряда важных физиологических переменных, включая температуру, термическую коагуляцию, замораживание, концентрацию молекулярных красителей, наночастиц, насыщение кислородом и концентрацию гемоглобина. Амплитуда волны оптико-акустического давления линейно зависит от коэффициента поглощения.

Количественная оценка спектральных характеристик тканевых хромофоров выполняется с использованием диффузной оптической спектроскопии. Этот метод позволяет одновременно измерять как поглощение, так и рассеяние света в жидких средах и биоматериалах [1]. Диффузная оптическая спектроскопия обычно выполняется в видимой и инфракрасной области, где существует диагностическое оптическое окно, которое содержит наиболее важные хромофоры. Этот метод дает информацию относительно концентрации функциональных тканей, гемодинамики, содержания воды и объемных липидов. В клинических испытаниях с использованием этого метода для обнаружения рака молочной железы были зарегистрированы глубины проникновения до 1 см [2]. Такие процедуры, основанные на гомодинных и гетеродинных схемах обнаружения, основаны на регистрации, как амплитуды, так и фазы сильно ослабленного модулированного оптического сигнала с использованием высокочувствительных оптических детекторов. Оптическое затухание при многократном рассеянии в биологических тканях налагает главное препятствие для проникновения в глубину, таким образом, ограничивая область применения этой методики [2].

Одним из основных преимуществ оптоакустики по сравнению с вышеупомянутой методикой является то, что глубина проникновения находится в пределах сантиметрового диапазона [3]. Сообщалось о

неинвазивных исследованиях *in vivo* по визуализации динамических и функциональных свойств нервной системы в [4]. Клинические испытания с использованием оптоакустической томографии позволили визуализировать 18 из 20 злокачественных образований, подозреваемых по данным маммографии и ультразвукового исследования, которые были подтверждены после биопсии [5]. Недостатком методов оптической визуализации является сильное рассеяние в дермальной и подкожной клетчатке.

1.2 Характеристика объекта исследования – эритроцитов крови человека

Эритроциты или красные кровяные тельца заполнены гемоглобином (Hb), который отвечает за транспортировку кислорода по всему организму. Гемоглобин является неотъемлемой частью молекулы Hb. Он состоит из аминокислот, которые складываются, образуя восемь альфа-спиралей. Hb представляет собой циркулирующий глобулярный белок, состоящий из гемового фрагмента с центральным железом и 4 субъединицами глобина. На протяжении всей жизни человека различные типы глобиновых цепей присутствуют в гемоглобине. Нарушения или отклонения часто включают характерные изменения морфологии эритроцитов. Анализ эритроцитов в мазке крови является ценным инструментом для диагностики патологий эритроцитов.

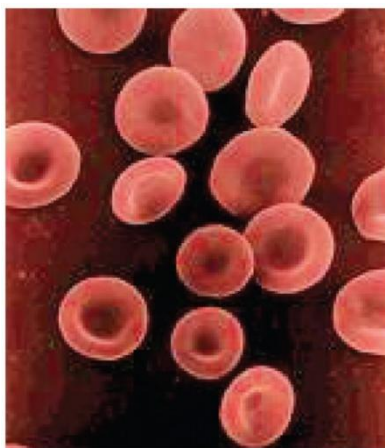


Рисунок 1.1 Эритроциты

Эритроциты являются двояковыпуклыми дисками; то есть они выпуклые на периферии и очень тонкие в центре (рис. 1.1). Двухуровневая форма также обеспечивает большую площадь поверхности, через которую может происходить обмен газа по отношению к его объему; сфера аналогичного диаметра будет иметь более низкое отношение площади поверхности к объему.

Фибриноген и фибрин играют важную, частично совпадающую роль в свертывании крови, фибринолизе, клеточных и матричных взаимодействиях, воспалении, заживлении ран и новообразованиях. Белки, такие как фибриноген, формируют агрегацию красных кровяных телец в монетный столбик. Контроль оседания проводится с помощью клинического анализа скорости оседания эритроцитов (СОЭ). С помощью оптоакустических методов контроль агрегации не проводился.

Эритроциты образуют агрегаты в форме монетных столбиков из-за присутствия белков плазмы. Образование монетных столбиков также можно определять *in vitro* путем добавления макромолекул в состав эритроцитов. Текущие данные о прочности адгезии между эритроцитами в их естественных формах дискоцитов в основном основаны на косвенных измерениях, таких, как эксперименты с проточной камерой, но данные о единичных ячейках отсутствуют. Нативная (цельная) кровь наполовину состоит из форменных элементов, основную часть которых оставляют эритроциты двояковогнутой формы. Помимо оседания эритроцитов при малых скоростях сдвига происходит агрегация эритроцитов, т.е. они собираются в структуры, называемые монетными столбиками. Образование таких конгломератов приводит к увеличению вязкости, при увеличении скорости они начинают разваливаться.

Человеческая кровь представляет собой псевдоньютоновскую жидкость и проявляет сдвиговое разжижение (снижение вязкости с увеличением скорости или напряжения сдвига). Это обусловлено двумя процессами: формированием агрегатов эритроцитов при низкой сдвиговой

скорости, которые полностью распадаются при скоростях сдвига порядка 80–120 с⁻¹ и потоковой деформацией эритроцитов вместе с их ориентацией вдоль линии потока при средних и высоких скоростях сдвига (выше 50 с⁻¹) [6–8].

Эритроциты непрерывно циркулируют в сосудах и должны иметь способность выдерживать интенсивные пассивные деформации и проявлять сопротивление фрагментации. Свойства мембраны позволяют эритроцитам подвергаться большим деформациям без фрагментации мембраны и выполнять при этом транспортную функцию в течение своего периода жизни (4 месяцев) в системе кровообращения. Биологические свойства и поведение эритроцитов, как и клеток других типов, имеют биохимическую и молекулярную основу. Поддержание формы и деформируемость эритроцитов зависят от структурной и функциональной интеграции мембранных белков [9]. Это белки двух типов: интегральные белки мембраны (липидный бислой) и белки формирующие подмембранный цитоскелет. Сеть из филаментов с мультифункциональным белком спектрином образует трехмерную структуру и определяет механические свойства эритроцитов (деформируемость в кровеносных сосудах и капиллярах) [10].

Для упрощения эритроциты рассматривают как биологические «контейнеры» гемоглобина для транспортировки и обмена кислорода и двуокси углерода в тканях тела. Эритроциты со средним диаметром 6-8 мкм при каждом прохождении через микрососуды, диаметры которых на четверть меньше размеров самой клетки, подвергаются большим внешним сдвиговым напряжениям. Деформируемость эритроцитов является важным фактором, определяющим продолжительность их жизни, она зависит от трех ключевых параметров: формы клетки, внутренней вязкости и механических свойств мембраны [11]. Первичным внешним фактором, определяющим деформацию эритроцитов, считается отношение площади поверхности к объему клетки

(S/V). Это соотношение описывает минимальный диаметр трубки (сосуда), в который входит без разрыва эритроцит.

Гемоглобин – это большая молекула, состоящая из белков и молекул железа. Он состоит из четырех сложенных цепей белка, называемых глобином, обозначенных альфа-1 и 2, и бета-1 и 2 (рис. 1.2). Каждая из этих молекул глобина связана с красной молекулой пигмента, называемой гемом, которая содержит ион железа (Fe^{2+}).

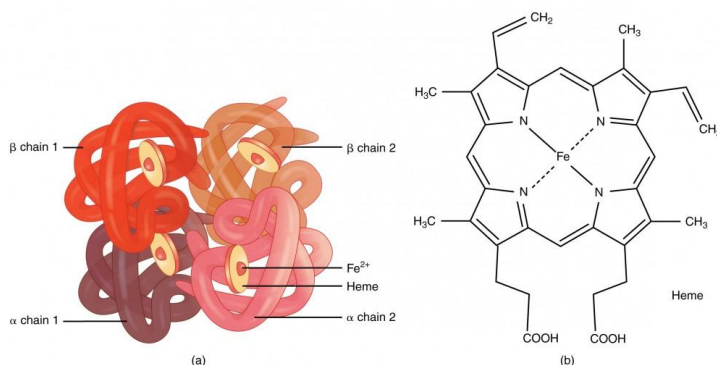


Рисунок 1.2 Гемоглобин

В легких гемоглобин поглощает кислород, который связывается с ионами железа, образуя оксигемоглобин. Ярко-красный оксигенированный гемоглобин перемещается в ткани тела, где он высвобождает некоторые молекулы кислорода, становясь дезоксигемоглобином. Около 76% растворяется в плазме, другая часть остается в виде растворенного CO_2 , а остаток образует бикарбонатный ион. Около 23-24% из них связывается с аминокислотами в гемоглобине, образуя молекулу, известную как карбаминогемоглобин. Из капилляров гемоглобин переносит углекислый газ обратно в легкие, где он высвобождает его для обмена кислорода.

Процентное насыщение кислородом обычно контролируется с помощью прибора, известного как оксиметр, который подключают, обычно, на кончик пальца пациента. Устройство работает, испуская две разные длины волны света (один красный, другой инфракрасный) через палец и измеряя поглощение света гемоглобином, свет регистрируется фотодетектором. Гемоглобин поглощает свет по-разному в зависимости от его насыщения кислородом. Нормальные показания оксиметра колеблются от 95 до 100

процентов. Более низкие проценты отражают гипоксемию или низкий кислород крови. Термин гипоксия более общий и просто относится к низким уровням кислорода. Уровни кислорода также непосредственно контролируются по содержанию свободного кислорода в плазме. В этом методе количество присутствующего кислорода выражается в виде парциального давления кислорода или просто pO_2 и обычно регистрируется в мм рт. ст.

Одной из основных сложностей в моделировании процессов в эритроците является то, что для всех параметров (концентраций, геометрии, механических свойств и т.д.) известны только средние значения для клеток организма. Наличие вариабельности практически по любому параметру, которое должно облегчать нахождение взаимосвязей при оперировании усредненными значениями, наоборот, затрудняет построение моделей, приводя к не самосогласованным величинам даже для гипотетической «средней» клетки. Детальный анализ популяции эритроцитов показывает, что даже в норме эритроциты одного организма не являются полностью подобными друг другу ни морфологически, ни биохимически. Для эритроцита типичными измеряемыми морфологическими параметрами («индексами») являются показатель преломления, который практически полностью определяется концентрацией гемоглобина и объемом. С возрастом клетки возрастает степень ее сферичности. Площадь клетки уменьшается посредством везикуляции.

При изменении формы эритроцита от двояковогнутого до сферического, количество гемоглобина сохраняется, а значение осмотически неактивного объема не меняется [12].

Популярным методом измерения уровня агрегации эритроцитов является оптическая микроскопия совместно с проточной цитометрией. В этом лабораторном методе каплю суспензии помещают на покровное стекло. После этого процесс взаимодействия эритроцитов регистрируют с помощью микроскопа. Традиционная гематологическая гистопатология проводит

анализ крови с использованием световой микроскопии и окрашивание гематоксилином и эозином, окрашивание может влиять на молекулярные процессы. Оптоакустическая диагностика использует альтернативные методы наблюдения за клеточными компонентами крови.

1.3 Особенности формирования акустических сигналов в биологических тканях при оптоакустическом преобразовании

В начале 1990-х годов в работе [13] оптоакустический эффект использовали для изучения импульсной лазерной абляции тканей и тканеподобных сред. Короткие лазерные импульсы использовались при стресс-ограниченном облучении для обеспечения высокого разрешения и контраста в оптоакустических изображениях и создания достаточной амплитуды акустического давления для получения оптоакустического эффекта. Группа исследователей [13] продемонстрировала обнаружение акустического сигнала в тканях на глубинах, значительно превышающих предел оптической диффузии. Количественно изучена максимальная глубина обнаружения акустического сигнала, затухание акустических волн и предел разрешения. Акустические сигналы, индуцированные импульсами Nd: YAG-лазера на длине волны 1064 нм, были обнаружены в миллиметровых образцах печени (имитирующих небольшие опухоли с более высоким коэффициентом поглощения), окруженные тканями с низким коэффициентом поглощения. Акустические сигналы из тканей с более высоким коэффициентом поглощения измерялись на глубинах до пяти раз больше, чем глубина проникновения света, определяемая как $1/\mu_{eff}$, где μ_{eff} – эффективный коэффициент затухания. Показана возможность обнаружения с помощью оптоакустического эффекта 3-мм³ образцов печени, помещенных в 80-миллиметровую мышечную ткань [13].

Рассмотрим сферу радиуса r , где коэффициент поглощения $\mu_{погл} \gg \mu_{рассеян}$ и выполняются следующие условия (τ_p длительность лазерного импульса):

1. Равномерное поглощение оптической энергии, то есть $\mu_{погл} \ll 1/r$,

2. $\tau_p < \tau_{th}$, где τ_{th} – время тепловой релаксации,
3. Время стресса, $\tau_p < \tau_{стр}$
4. Если акустические свойства сферического поглотителя идентичны окружающей среде, то акустический импульс, создаваемый из-за термоупругого расширения поглотителя, будет распространяться во всех направлениях, где генерируемое давление может быть выражено как [14]:

$$p\left(\tau = t - \frac{r}{v_{cp}}\right) = \frac{1}{2r} \Gamma \frac{\mu_{полл} F}{V_{сферы}} \begin{cases} -v_{cp} \tau, |v_{cp} \tau| \leq r \\ 0, v_{cp} \tau \geq r \end{cases}. \quad (1.1)$$

Здесь объем сферы равен $V_{сферы} = \frac{4}{3} \pi a^3$, r – расстояние от точки наблюдения до центра сферического поглотителя, a – радиус сферы, v_{cp} – скорость звука в среде, а F – флюенс энергии лазерного излучения, падающей на сферу, $\Gamma = \beta v_{cp} / C_p$ параметр Грюнейзена.

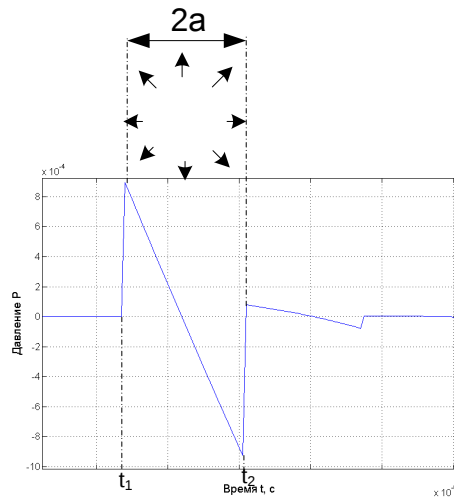


Рисунок 1.3 Форма акустического сигнала, генерируемого сферой радиуса a , при оптоакустическом преобразовании.

Полученная акустическая волна имеет типичный профиль N-формы с фазой разряжения (Рис. 1.3) [14–19].

Длительность акустического сигнала определяется скоростью распространения звука по диаметру сферы, как [14,15,20,21]:

$$2a = \frac{(t_2 - t_1)}{2} v_{cp} \quad (1.2)$$

Информация о переходных процессах акустического сигнала, генерируемых оптическим взаимодействием со сферой, получается из преобразования Фурье временного сигнала, приведенного в [15,22,23]:

$$p(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} p(\tau) e^{(-i\omega\tau)} d\tau. \quad (1.3)$$

Если спектр имеет следующий вид [21]:

$$p(\omega) = \frac{\left(\frac{\omega a}{v_{\text{среды}}}\right) \cos\left(\frac{\omega a}{v_{\text{среды}}}\right) - \sin\left(\frac{\omega a}{v_{\text{среды}}}\right)}{\left(\frac{\omega a}{v_{\text{среды}}}\right)^2}, \quad (1.4)$$

где ω – частота ультразвуковых сигналов.

Математическое моделирование сферических частиц, с разными свойствами и на разных длинах волн проводилось в работах [16–19]. Эксперименты по обнаружению акустического взаимодействия в движущихся жидкостях проведены в работе [24].

Акустические переходные процессы, возникающие в результате оптического поглощения и термоупругого расширения, содержат информацию об оптических свойствах облучаемой среды. Профиль акустического сигнала, генерируемого поглотителем оптического излучения, например от раковых клеток, имеет сложную форму и может быть представлен с помощью операции свертки функций описывающих акустические сигналы, излучаемые рядом мелких сферических источников. В работах [16,19,24] рассчитан профиль акустического сигнала полученный в результате воздействия лазерного излучения с длиной волны 1064 нм на модельную жидкость, содержащую сферические поглотители.

Пробы крови часто имеют высокие концентрации клеток и сложные структуры [25,26]. Некоторые частицы в опухоли имеют плотно упакованные структуры в виде агрегированных клеток, например [27]. В крови содержатся эритроциты, которые образуют агрегаты, имеющие линейные структуры

(называемые монетными столбиками), проявляющиеся в здоровой крови или сгустках при некоторых патологиях, например, при сахарном диабете [28,29]. Разработанные в [29] теоретические модели рассеяния были предложены для исследования высоких клеточных концентраций тромбоцитов вместе с агрегационными ячейками и для оценки структур рассеивателя. Этими же авторами была предложена модель рассеяния [29]. В этой модели агрегаты ячеек рассматриваются как отдельные рассеиватели, которые имеют свойства, определяемые компактностью и акустическими характеристиками клеток и окружающей среды. Такая теория позволяет характеризовать радиус и компактность клеточных агрегатов, как показано в исследовании [30].

В работе [31] предыдущая теория была модифицирована для разложения дифференциального сечения обратного рассеяния одноклеточного агрегата на когерентные и некогерентные компоненты, при этом некогерентная составляющая учитывает дисперсию амплитуды рассеяния (т.е. среднеквадратичную норму флуктуации амплитуды рассеяния) в пределах эффективного рассеивателя. Ультразвуковое рассеяние в биологических жидкостях имеет частотную зависимость, которая связана со структурой облучаемой среды. Для определения микроструктуры существует подход, который состоит в измерении частотно-зависимого коэффициента обратного рассеяния по отношению к теоретическому обратному рассеянию, полученному с использованием соответствующей теоретической модели рассеяния. Также существуют модель, называемая сферической гауссовской моделью, она описывает кровь как случайную неоднородную среду с флуктуациями импеданса и модель, называемая моделью жидкостной сферы, рассматривающая кровь как случайно распределенные дискретные рассеиватели с импедансом, отличным от однородной фоновой среды. В этих моделях рассеиватели считаются независимо и равномерно распределенными случайным образом. В результате коэффициент обратного рассеяния пропорционален плотности

числа рассеивателей. Это соотношение использовалось авторами [31] для вычисления оценок размера рассеивателя и концентрации.

С помощью ультразвуковых исследований биотканей невозможно установить уровень насыщения кислородом или концентрацию гемоглобина. Оптоакустические методы неинвазивно, в лабораторных условиях, позволяют исследовать различные свойства тканей.

Рассмотрим генерацию акустического сигнала, обусловленную локальным тепловым расширением в водных средах. Генерация акустического сигнала обычно является результатом фототермического нагрева, а именно участвуют следующие механизмы: электрострикция, абляция, тепловое расширение, кавитация, неабсорбционные процессы, рассеяние Бриллюэна [32–38].

Ультразвуковая волна генерируется вследствие термоупругого расширения, вызванного увеличением температуры из-за поглощения падающей оптической энергии на биологическую ткань. Поглощение и рассеяние – это два физических явления, которые влияют на распространение света в биологических средах. Рассеяние является доминирующим механизмом в здоровых мягких тканях [39]. Оба параметра оптического затухания в биоматериалах зависят от длины волны [40]. Это связано с тем, что спектр поглощения хромофоров в тканях является результатом их молекулярного состава; молекулы поглощают фотоны, когда энергия фотонов совпадает с интервалом между состояниями внутренней энергии. Благодаря этому каждый хромофор имеет уникальную спектральную характеристику, которая обеспечивает спектроскопическую калибровку и позволяет связать изменения в спектре поглощения с изменениями их концентрации [1]. При термическом расширении рост температуры частиц среды приводит к росту давления распространяемого в среде. Формируемый биполярный сигнал генерируют сферические или цилиндрические источники в исследуемой среде. Начальная амплитуда сжатия акустического переходного процесса составляет около половины первоначально

сформированной амплитуды, поскольку половина возмущения распространяется от центра объема источника наружу, а вторая половина распространяется внутрь источника. В большинстве исследований один из этих факторов не принимают в внимание при расчетах. При плотности мощности излучения ниже порога испарения термоупругое расширение является преобладающим процессом. В жидкости [38] эффективность преобразования энергии обычно ниже 10^{-4} . При использовании коротких лазерных импульсов давление пропорционально плотности поглощенной энергии, и биполярный сигнал генерируется сферическими или цилиндрическими источниками.

Если объем источника изменяется пропорционально интенсивности излучения, то это – электрострикция, обусловленная поляризуемостью исследуемого образца. Для цилиндрического источника в таких жидкостях, как вода $|P_{эл}|/|P_{рел}| \approx k(\mu_{\alpha}\tau_0)^{-1}$, где $k = 10^{-9} \text{ с / м}$ μ_{α} – коэффициент поглощения, а τ_0 – ширина акустического импульса ($P_{эл}$ – давление электрострикции, $P_{рел}$ – давление формируемое в результате тепловой релаксации). Если использовать цилиндрическую модель, то для $\tau_0 > 10 \text{ нс}$ и $\mu_{\alpha} > 10 \text{ м}^{-1}$ электрострикционное давление пренебрежимо мало в сравнении с давлением при тепловом расширении.

Механизм теплового расширения интересен при использовании в медицинской диагностике. Биологическая ткань имеет сходные с водой физические параметры, поэтому исследование генерации акустического сигнала в водных растворах имеет большое значение для последующего применения оптоакустического метода. Применение оптоакустических методов, в сравнении с использованием в твердых телах или газах (спектроскопия), в жидкостях исследований проведено сравнительно мало [32–38].

Термоупругий механизм формирования акустического сигнала имеет ряд преимуществ при биомедицинских исследованиях: акустический сигнал

не разрушает и не изменяет свойства исследуемой биоткани, формируется неионизирующее излучение (в отличие позитронно-эмиссионной томографии). Зависимость между акустическими сигналами при оптоакустическом эффекте и физическими параметрами биологических тканей хорошо известны, что позволяет определять различные физиологические параметры [16,24,37]. Время диффузии (рассеивания) тепла зависит от формы нагретого объема $\tau_{th} \sim L_p^2 / 4D_T$, где L_p – характерный линейный размер нагреваемого объема ткани, D_T – кинематическая вязкость (м²/с) [41]. При поглощении импульса с длительностью τ_p можно рассчитать термодиффузию в течение периода импульса, как $\delta_T = 2\sqrt{D_T\tau_p}$ [32,41,42]. Ширина импульса τ_p должна быть меньше, чем τ_{th} , для эффективной генерации акустических волн. Это условие называют термическим ограничением, при этом диффузия тепла пренебрежимо мала в течение действия лазерного импульса.

Стрессовое ограничение наступает, когда длительность импульса τ_p должна быть меньше, чем $\tau_s = L_p / v_f$ (v_f – скорость звука). В условиях ограниченного воздействия термоупругое давление в образце может быстро нарастать [43]. Когда выполняются термические и нагрузочные ограничения, тепловое расширение вызывает повышение давления $p_0 = (\beta c^2 / C_p) \mu_a F = \Gamma A$ (β – коэффициент объемного расширения, C_p – удельная теплоемкость, μ_a – коэффициент поглощения в см⁻¹, F – флюенс энергии Дж/см², $A = \mu_a F$ – локальная плотность осаждения энергии в Дж/см³, коэффициент Грюнайзена $\Gamma = \beta c^2 / C_p$) [14,32]. В видимой области ближнего ИК-диапазона коэффициенты поглощения μ_a довольно сильно изменяются в биологических тканях [39].

Кислородонасыщение крови обычно оценивают в клиниках либо инвазивными электрохимическими методами, например, с помощью анализатора газов крови (BGA), либо неинвазивными оптическими

методами, например, с помощью пульсоксиметра. В отличие от оксигенации артериальной крови, оксигенация тканей представляет собой парциальное давление кислорода в интерстициальном пространстве конкретной ткани. Кислородонасыщение - можно исследовать инвазивно с помощью оптических методов, использующих различные профили поглощения оксигемоглобина и дезоксигемоглобина. Методы, основанные на ближней инфракрасной спектроскопии, были разработаны для определения оксигенации, однако эти методы, по своей природе ограничены тем, что они зависят от обнаружения ближнего ИК-света, который сильно рассеивается и поглощается несколькими хромофорами в тканях, такими как меланин, жир, гемоглобин и т. д. Из-за этих ограничений обнаруженные сигналы по своей природе слабые, что затрудняет количественную оценку местной оксигенации. Указанные проблемы с количественной оценкой ограничили широкое распространение неинвазивных методов в клинической практике. Широко используемый пульсоксиметр преодолевает некоторые из этих ограничений, измеряя только вызванное пульсом изменение поглощения света на кончике пальца, однако пульсоксиметр требует сильного и устойчивого пульса, что ограничивает его использование у пациентов с состояниями, ограничивающими кровоток (например, в холодных условиях), низкое кровяное давление, сердечная аритмия и венозный застой. ОА методы преодолевают основное ограничение, имеющееся в методе ближней инфракрасной спектроскопии, за счет обнаружения акустических волн (а не проходящего света). Нечувствительность к оптическому рассеянию также обеспечивает более точную количественную оценку, чем чисто оптические методы, использующие диффузный свет. Предложенные ОА системы перспективны для применения в местах оказания медицинской помощи вдали от лабораторных условий.

Кислородонасыщенный гемоглобин является сильным поглотителем до длины волны оптического излучения 600 нм, затем его поглощение резко падает почти на два порядка [44]. Кислородонасыщение гемоглобина

является важным диагностическим параметром [45], например для локального определения проб крови в быстро развивающихся раковых клетках, которые нуждаются в дополнительной крови и, соответственно, в оксигенированном гемоглобине [19,41,43,45,46]. Оптоакустический метод может быть использован для установления насыщения кислородом гемоглобина, концентрации гемоглобина, потенциально определить признаки рака (ангиогенез и гиперметаболизм) на ранних стадиях.

Следует отметить отличия в формировании акустического сигнала в жидкостях, твердых телах или газах, которые заключаются в следующем: а) в твердых телах присутствует распространение сдвиговых, поверхностных и плоских волн, б) геометрии источника в большинстве случаев сильно отличаются [47,48]. В биологических тканях импульсные акустические сигналы в результате оптоакустического преобразования можно использовать для отображения пространственного распределения оптических поглотителей. Это становится возможным благодаря большому различию в оптических свойствах частиц крови. Алгоритмы реконструкции, такие как синтетическое формирование фокуса задержек и сумм [49–51], могут быть применены к акустическим сигналам, генерируемым небольшими объемами источников [52–54].

Автор Ни [55] разработал сферическую модель акустических волн генерируемых в жидкостях. Эта теория не учитывает длительность лазерного импульса τ_a и поэтому может применяться только к небольшим источникам. Теория для короткого времени освещения, когда $\tau_a = 1/\nu$ – длительность лазерного импульса мала по сравнению с τ_L – временем прохождения звука по длине L источника с продольной акустической фазовой скоростью ν , была модернизирована Сигристом и Кнеубу [50] для сферических гауссовских источников, и это было экспериментально подтверждено. Для длинных световых импульсов Diebold с соавторами [56,57] показали, что временные профили акустических импульсов в одно-, двух- и трехмерной геометрии пропорциональны, соответственно, нулевым, так называемым однофазным, и

первой производной по времени лазерного импульса $\theta(\tau)$, т.е. акустические сигналы пропорциональны $\theta(\tau)$, $(d/d\tau)^{1/2}(\theta(\tau))$, и $(d/d\tau)(\theta(\tau))$, где τ – запаздывающее время. Для цилиндрической геометрии Лай и Янг [58] показали, что важным параметром для временного профиля акустического импульса (для гауссовского временного и пространственного распределений) является эффективное время τ_e , связанное с τ_l и τ_α в соответствии с соотношением

$$\tau_e = \sqrt{\tau_l^2 + \tau_\alpha^2}, \quad (1.5)$$

где τ_l – половина длительности импульса между $1/e$ – точками временного распределения амплитуды, τ_α – половина времени прохождения звука между $1/e$ – точками распределения радиальной амплитуды.

При расчете формы акустического сигнала кроме длительности лазерного импульса и размеров источника требуется принимать во внимание время релаксации поглощаемой энергии [35].

Расчеты в количественном виде для цилиндрических акустических волн на основе теоретических результатов являются сложными и нецелесообразными. Распределение источников можно разделить на небольшие объемы элементарных источников, которые вносят вклад в формирование акустического сигнала в точке наблюдения методом наложения отдельных сигналов в исследуемом объеме. Таким образом, акустический сигнал, генерируемый небольшим сферическим объемом источника, имеет большее значение для диагностики в оптоакустике.

В невязких жидкостях при формировании акустического сигнала локальное напряжение среды является вращательно-симметричным и может быть выражено (скалярным) избыточным давлением P . Отношение напряжение-деформация характеризуется модулем объемного коэффициента сжатия B , также называемым коэффициентом несжимаемости (при малых значениях деформации): $P = -B\Delta_v$, он является первым членом ряда Тейлора в Δ_v (где Δ_v – это отношение объемов $\Delta V/V$). Модуль объемного

коэффициента сжатия B связан с плотностью ρ и продольной акустической фазовой скоростью v выражением $B = \rho v^2$ [59]. Изменение изобарного дробного объема из-за изменения температуры выражается как $\Delta_v = \beta \Delta T$, где β – коэффициент теплового объемного расширения. При мгновенном нагреве результирующее давление P_0 может быть выражено как [38]:

$$P_0 = \beta \rho v^2 \Delta T_0 . \quad (1.6)$$

В невязких средах сдвиговый модуль упругости равен нулю, при этом модуль объемного коэффициента сжатия B описывается выражением для постоянной упругой жесткости твердых материалов.

В случае нагрева, формируемого коротким лазерным импульсом, и когда диффузия тепла медленна по сравнению с длительностью импульса, повышение температуры ΔT пропорционально поглощенной плотности энергии E'_α .

$$\Delta T = E'_\alpha / (\rho c_p) \quad (1.7)$$

1.4 Применение оптоакустических методов в биомедицинских исследованиях

В оптоакустическом мониторинге амплитудные и временные параметры акустических волн зависят от свойств ткани, в этом случае обнаружение и анализ акустических волн в режиме реального времени можно использовать для мониторинга степени гипертермии, коагуляции или замораживания тканей с высоким разрешением и контрастностью [21,60–64].

В работах [13,21,60–62,65–70] использовали ограниченное напряжением облучение и временное обнаружение акустических волн с помощью специально разработанных широкополосных акустических датчиков. Амплитуда генерируемых акустических волн давления зависит от коэффициента поглощения [71–75]

Импульсный лазерный свет может аблировать ткани с минимальным термическим и механическим повреждением биологических тканей.

Абсолютное термоупругое давление, создаваемое наносекундными импульсами, было измерено в [76,77] ниже и выше порога абляции с использованием специально разработанных широкополосных ультразвуковых преобразователей с высоким временным разрешением. Амплитуды и профили акустических импульсов, генерируемых в крови из атеросклеротической аорты человека и водных растворах поглощающих красителей, измерялись при различных параметрах лазерного излучения (от 0,12 до 7,5 Дж/см² при 308 нм и от 0,75 до 15 Дж/см² при 1064 нм). В этих исследованиях также описаны информационные возможности акустических волн, в частности, для измерения оптических свойств биологических жидкостей путем измерения амплитуды и длительности термоупругого давления, и изучено их влияние на ткани и клетки [76,77].

Оптоакустический мониторинг в реальном времени с высоким разрешением проводился во время кондуктивного нагрева или промежуточного нагрева лазерным излучением с непрерывной волной [21,62]. Измерение и анализ амплитуд акустического сигнала использовались для контроля нагрева исследуемой жидкости и размеров коагуляционных поражений, с помощью оптоакустического метода, поскольку амплитуда и профиль акустических волн меняются с температурой во время охлаждения и замораживания.

Наночастицы, которые сильно поглощают свет, можно использовать для обнаружения конъюгированных клеток и аномальных тканей [78–80]. Поскольку акустический метод чувствителен к изменениям коэффициента поглощения, то его можно использовать для мониторинга как доставки наночастиц в опухоли, так и коагуляции опухолей.

Одним из наиболее важных применений оптоакустики является определение уровня оксигенации и концентрации гемоглобина. Оптоакустический мониторинг этих физиологических переменных может инвазивно в лабораторном анализе использоваться в диагностике больших групп пациентов, с такими диагнозами как черепно-мозговая травма (ЧМТ),

циркуляторный шок, инсульт, а также пациентов, подвергающиеся хирургическому вмешательству, пациентов с анемией, новорожденных. Поскольку гемоглобин является основным хромофором в ИК-диапазоне спектра, и его поглощение зависит от оксигенации, то методы оптоакустики используются для мониторинга этих физиологических переменных.

Существующие методы мониторинга оксигенации венозной крови являются инвазивными и требуют катетеризации внутренней яремной луковичи. Несмотря на сильный оптический контраст между окси- и дезоксигемоглобином в ближнем ИК-диапазоне спектра, чисто оптические методы не могут обеспечить измерения оксигенации церебральной венозной крови из-за сильного рассеяния света в тканях и интерференции оптического сигнала от других тканей. В отличие от чисто оптических технологий, оптоакустические методы позволяют получить лабораторные результаты *in-vitro* с высоким пространственным разрешением. Исследования показали, что оптоакустические методы могут обеспечить точные измерения оксигенации крови и других важных физиологических переменных в крови [76,77,81–86], включая верхний сагиттальный синус (SSS). Новорожденные (в частности, недоношенные) подвергаются повышенному риску серьезных неврологических нарушений (включая церебральный паралич), связанных с церебральной гипоксией. Однако ни одна технология не способна проводить точный мониторинг церебральной венозной оксигенации у новорожденных [30] в режиме работы «на просвет».

Авторы [87,88] теоретически исследовали дальнейшее звуковое поле, генерируемое в жидком полупространстве лазерными источниками, а также проанализировали зависимость формы и длительности звуковых импульсов от длительности лазерного импульса.

Оптоакустическая диагностика является гибридной технологией анализа, которая достигается методами регистрации широкополосных ультразвуковых сигналов, генерируемых в биологических тканях, в результате облучения лазером. В отличие от методов, базирующихся на

ионизирующем излучении, таких как рентгенография, компьютерная томография (КТ) и позитронно-эмиссионная томография, в оптоакустической диагностике задействованы только низкоэнергетические фотонные и ультразвуковые волны. К примеру, энергия фотонов видимого инфракрасного света для оптоакустической визуализации составляет всего около 2 эВ, в то время как энергия типичного рентгеновского излучения для рентгенографии составляет около 10-100 кэВ. Поэтому, оптоакустическая диагностика является безопасным методом инвазивных исследований, особенно перспективным для частого использования. Оптическая когерентная томография, флуоресцентная визуализация и различные виды оптической микроскопии являются чисто оптическими методами исследований и широко используются в биомедицине для изучения клеток и биологических структур. В этих методах используются преимущественно спектроскопические особенности взаимодействия света и ткани, внутренние оптические контрасты (поглощение, рассеяние, поляризация, рефракционный индекс и т.д.). За пределами миллиметровой глубины фотоны в биологических тканях сильно рассеиваются, что ограничивает применение чисто оптических методов исследований. К примеру, диффузная оптическая томография (ДОТ) использовалась для выявления глубоких аномалий тканей, таких как рак молочной железы и кровоизлияние в мозг у новорожденных. [89]. Относительно низкое пространственное разрешение этого метода препятствует дальнейшему клиническому применению и снижает потенциал его применения в диагностической медицине, но на ранних стадиях развития рака наблюдается значительный контраст оптического рассеяния/поглощения наряду с ключевыми физиологическими изменениями (гемоглобин, оксигенация и т.д.).

Ультразвуковое рассеяние в биологических тканях на два-три порядка слабее, в отличие от сильного оптического рассеяния в биологических тканях [35, 36], поэтому ультразвуковая волна позволяет получить более высокое пространственное разрешение по сравнению с диффузной фотонной волной в

биологических жидкостях. В качестве одного из ключевых оптических биомаркеров при обнаружении маркеров опухолей в крови при помощи оптического поглощения, обеспечиваемого оптоакустической диагностикой, используется независимый контраст изображения, отсутствующий в других методах, таких как ультразвукография, рентгенография и магнитно-резонансная томография (МРТ) [4,90–92].

В формировании акустического сигнала при оптоакустическом эффекте участвуют следующие механизмы: процессы поглощения (абляция и диэлектрический пробой), неабсорбционные процессы (электрострикция и оптическое радиационное давление). Изменение температуры происходит из-за локального нагрева, вследствие поглощения энергии в среде. Преимуществом оптоакустического метода является отсутствие спекл-шума, который ограничивает контрастное разрешение ультразвукового изображения [93].

Эффективность преобразования оптической энергии в акустическую энергию в жидкости составляет менее 0,01% [38]. Более эффективное преобразование энергии происходит при диэлектрическом пробое [38]. Для слабопоглощающей среды с коэффициентом поглощения 10^{-5} см^{-1} преобладает эффект электрострикции при генерации акустической волны вследствие появления градиента температур внутри жидкости.

В биологических средах, состоящих до 70% из воды, используют акустические волны, генерируемые вследствие эффекта термического расширения, что обеспечивает неинвазивность исследования и целостность тканей. В работах [38,94,95] было рассмотрено несколько случаев оптического возбуждения сигнала вследствие термического расширения в однородной среде.

Рассмотрены различные типы геометрий – плоские, сферические и цилиндрические – источники формирования акустического сигнала. В случае, если коэффициент поглощения в образце жидкости достаточно велик и глубина оптического проникновения много меньше диаметра светового

пучка, то акустический источник имеет плоскую форму [58,96]. Если глубина оптического проникновения в поглощающей жидкости сравнима с радиусом пучка лазерного импульса, то источник акустического сигнала имеет форму полусферы и излучает сферическую звуковую волну [94,97–99]. В случае малого оптического поглощения в жидкости, источник света проникает глубоко в среду и формирует цилиндрическую звуковую волну [58,96]. Граница раздела считается жесткой, если колебательная скорость частицы среды стремится к нулю на границе раздела.

Пренебрегая затуханием звука, распространяющаяся волна описывается формулой [74]

$$\nabla^2 \phi - \frac{1}{v_f^2} \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} = -\frac{\beta}{C_p} \frac{\partial H_t}{\partial t}, \quad (1.8)$$

где C_p – теплоемкость при постоянном давлении, β – коэффициент теплового расширения, $H_t(x,y,z,t)$ – плотность поглощаемой электромагнитной энергии (описывается законом Бера-Ламберта). В уравнении (1.8) не учитываются нелинейности источников и среды.

В работе [94] авторы рассматривают альтернативный подход к описанию акустического импульса при оптоакустическом эффекте. Импульс формируется сферическим акустическим источником в среде с однородным поглощением энергии. Амплитуда распространяющейся от источника волны обратно пропорциональна расстоянию между центром сферы и точкой наблюдения, а амплитуда волны, распространяющейся к центру источника, увеличивается обратно пропорционально расстоянию. Уравнение для акустической волны, генерируемой плоскими и цилиндрическими фронтами, можно представить в интегральной форме для дельта-функции.

Карабутов А.А. с соавторами [95] предложил эвристический подход к рассмотрению формирования акустической волны в неоднородной среде. Авторы считали, что, если глубина проникновения света больше, чем среднее расстояние между светопоглощающими частицами, то образец считается микрооднородным. Размер поглощающих свет частиц должен быть малым,

чтобы обеспечивался равномерный нагрев лазерным импульсом. Это значит, что размер частицы r_p должен быть меньше, чем длина диффузии в ней $r_p \ll \sqrt{\chi_p \tau_L}$, где χ_p – коэффициент температуропроводности частицы, τ_L – длительность лазерного импульса.

Вышеупомянутые теории генерации и распространения акустической волны основаны на интуитивных представлениях о процессах, связанных с оптоакустическим эффектом. Проблема описания явления термоупругости была выполнена Гусевым В.Э. и Карабутовым А.А. [37]. Вывод решения уравнений для общего случая является сложным, особенно для сложной геометрии распределения энергии. Метод прямого решения уравнений для акустической волны, при оптоакустическом преобразовании, был применен в аналогичной работе Хуанг и др. [100]. Авторы использовали граничное условие Мура первого порядка, причем численные результаты сравнивались только с сигналом обратной волны.

Авторы [68,101] показали, что оптоакустические методы позволяют проводить точное картирование температуры и это может обеспечить точную термотерапию. Амплитуда волн акустического давления во многих тканях, возрастает с температурой, главным образом, из-за температурной зависимости коэффициента теплового расширения (Esenaliev et al [68,101].

Экспериментальные работы продемонстрировали линейное увеличение температуры в образцах печени [68]. В другом ряде экспериментов с использованием быстрого нагрева авторы получали температурные градиенты в тканевом и тканеподобном образце [101]. Во время нагрева контролировалось распределение температуры, а датчик температуры с несколькими чувствительными элементами, вставленный в образцы, измерял фактическое распределение температуры. Эти исследования показали, что точность измеренной оптоакустическим методом температуры была менее 1 °C при пространственном разрешении менее 1 мм.

Применение оптоакустических методов может обеспечить быструю и точную обратную связь, поскольку амплитуда и временные параметры

акустической волны зависят от свойств исследуемой среды, обнаружение и анализ акустических волн может использоваться для мониторинга в реальном масштабе времени степени свертывания с высоким разрешением и контрастом [65].

Авторы [21] проводили оптоакустический мониторинг тканевой коагуляции в режиме реального времени с высоким разрешением, осуществляя нагрев лазерным лучом. Анализ акустических сигналов использовался для мониторинга нагрева жидких сред и размеров коагуляционных повреждений. Коагуляция определялась в образцах печени, миокарда и предстательной железы путем интерстициального облучения образцов Nd: YAG лазером. До температуры коагуляции (около 53 °C) оптические свойства не изменялись, но резко возрастали при нагревании до 70 °C. Интерстициальный фронт коагуляции контролировался в свежесрезанных тканях животных в реальном времени с пространственным разрешением около 0,6 мм. Результаты исследований авторов показали, что этот метод может быть использован для точной термотерапии злокачественных и доброкачественных поражений в режиме реального времени на глубинах порядка сантиметра [21].

Контраст оптического поглощения можно использовать для мониторинга экзогенных красителей и наночастиц с высоким временным и пространственным разрешением. Одобренный FDA краситель для индоцианиновый зеленый (ICG) имеет высокое поглощение в ближнем ИК спектральном диапазоне с максимумом в диапазоне 800-805 нм.. В работе [102] измеряли пиковую амплитуду акустических сигналов, индуцированных в пробах в общей артериальной крови *in vitro* при клинически значимых концентрациях ICG. Амплитуда сигналов линейно увеличивались с концентрацией ICG с высокими коэффициентами корреляции ($R^2=0,990$ и $0,991$, соответственно). Эффективный коэффициент затухания звука в крови, полученный из анализа акустического сигнала, также линейно увеличивался с концентрацией ICG с высоким коэффициентом корреляции $R^2 = 0,986$.

Нано- и микрочастицы, имеют большой коэффициент поглощения света, при этом занимают незначительную часть объема и могут быть использованы для фототермической терапии аномальных тканей, включая опухоли [78–80]. Оптоакустический метод использовался для мониторинга в реальном времени накопления наночастиц в тканях на примере мышей и индуцированной наночастицами лазерной термотерапии этих опухолей [83].

В работах [24,103–105] был проведен эксперимент по возможности создания оптоакустического лазерного цитометра в движущейся жидкости. Использовался лазер ND: YAG с длиной волны 1064 нм и кювета с прокачиваемой жидкостью, проведенные эксперименты показали возможность регистрации акустического сигнала в жидкости с разной плотностью и позволили по итогам экспериментов разработать математическую модель формирования акустического сигнала в биологических жидкостях при оптоакустическом преобразовании [24,105].

Устойчивый быстрый рост вычислительной мощности компьютерных технологий означает, что численные методы теперь могут применяться к расчетам энергии и условий источника любой геометрии, например, для построения временного профиля лазерного излучения, линейного сканирования лазерного источника.

Результаты исследований применения оптоакустических методов продемонстрировали высокую контрастность и высокое разрешение для мониторинга, визуализации и определения физиологических переменных в пробах крови. Высокий контраст обеспечивается теплофизическими (параметр Грюнайзена) или оптическими свойствами (поглощение и эффективный коэффициент затухания) ткани. Сочетание высокой контрастности с высоким разрешением (от микрон) дает многообещающий диагностический метод, который можно использовать в клинических исследованиях. Хотя ослабление света снижает точность исследования, высокое отношение сигнал-шум акустических сигналов, при

оптоакустическом эффекте, допускает точные измерения физиологических переменных на глубине, превышающей предел оптической диффузии.

1.5 Выводы по главе

Поскольку анализ крови является краеугольным камнем современной медицины, оптоакустическая технология диагностики может оказать существенное влияние на методы исследования крови в доклинических и в клинических исследованиях. Благодаря сочетанию оптического контраста и акустического обнаружения оптоакустический метод диагностики имеет большие перспективы развития применительно к анализу крови.

Известно, что инфекции, генетические нарушения и изменения в химическом составе крови могут изменить форму эритроцитов, приводя к их деформации. Аномальная морфология эритроцитов может препятствовать кровообращению, вызывая в тяжелых случаях некроз тканей. Современные автоматизированные методы диагностики используют методы электрического импеданса или светорассеяния для определения концентрации эритроцитов и среднего корпускулярного объема. В здоровых эритроцитах диаметр можно определить по объему, так как эти параметры напрямую связаны, но эта зависимость может нарушаться для эритроцитов неправильной формы. Указанные выше методы не могут определять размеры или форму напрямую, указывая только на то, выходит ли образец за рамки принятых рекомендаций. Из-за их ограниченной способности диагностировать патологию требуется дополнительное тестирование для выявления аномальной морфологии эритроцитов, такой как сфероциты или эхиноциты. Методы определения индивидуальной формы эритроцитов по мазкам крови или оптической интерференции методы трудоемки и требуют много времени, что не позволяет проводить анализ больших объемов выборки.

Акустические сигналы, формируемые небольшим сферическим объемом источника, при оптоакустическом преобразовании имеют большее

прикладное значение для исследований в области гемодинамики, при этом сравнение экспериментальных сигналов с теоретическими результатами для медицинской диагностики еще не проводилось.

Необходимо разработать модели акустических сигналов, генерируемых различными геометрическими формами источника и временными профилями при оптоакустическом преобразовании, изучить характерные профили акустического сигнала для некоторых основных геометрий источников.

Необходимо исследовать влияние затухания акустического сигнала, при оптоакустическом эффекте, на изменение акустического сигнала из-за вязких и термоупругих потерь.

Необходимо провести моделирование тканей организма, содержащих форменные элементы крови, с целью анализа оптоакустическим методом на предмет установления уровня гематокрита, кислородонасыщения, обнаружения внутриэритроцитарных инфекций, в том числе с использованием наночастиц, обнаружение патологий формы эритроцитов.

Необходимо разработать экспериментальную установку и для проведения натурных измерений состава форменных элементов крови. Провести сравнение полученных результатов измерений с лабораторными анализами, полученными в диагностических лабораториях, оценить погрешность измерения оптоакустическим методом.

2. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ПАРАМЕТРОВ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ВЗАМОДЕЙСТВИЯ ОТ ФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ОБЛУЧАЕМОГО ОБЪЕКТА

2.1 Оптоакустическое излучение монополей. Постановка задачи.

Исследование оптоакустического эффекта [34,106,107] в жидкостях в значительной степени определялось его многочисленными применениями в спектроскопии, химической кинетике и анализе, обнаружении следов веществ, где знание амплитудной зависимости эффекта существенно для интерпретации экспериментальных данных. В последнее время эксперименты с жидкостями [106] показали, что информацию о размерах, геометрии, скорости звука и плотности облученного лазером тела можно найти по форме акустического сигнала. Такие эксперименты указывают на то, какие параметры ультразвуковых волн определяются физическими характеристиками облученного тела.

Оптоакустический эффект описывается уравнением [108,109], которое можно записать через потенциал скорости ϕ как:

$$\nabla^2 \phi - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} = \frac{\beta}{\rho_f C_p} H_t \quad (2.1)$$

где $p = -\rho_f \partial \phi / \partial t$, c – скорость звука, ρ_f – плотность жидкости, C_p – удельная теплоемкость, β – коэффициент расширения изобарического объема, t – время и H_t – функция нагрева, определяемая как тепловая энергия, внесенная оптическим лучом. Используем функцию Грина [110] для решения волнового уравнения для потенциала скорости в виде

$$\phi(x, t) = -\frac{\beta}{4\pi\rho_f C_p} \int_0^t \int (g(x, t|x', t') H_t(x', t') dx' dt') \quad (2.2)$$

где $g(x, t|x', t') = 2\pi c u\left[(t-t') - \frac{(z-z')}{c}\right]$ – функция Грина для бесконечной среды ($z > z'$), $u(\xi)$ – функция Хевисайда.

Замена одномерной функции Грина в уравнении (2.2) с последующим дифференцированием результирующего потенциала скорости дает выражение для акустического давления в виде пространственного интеграла

$$p(z,t) = \frac{\beta c}{2C_p} \int H_t \left(z', t - \frac{(z-z')}{c} \right) dz' \quad (2.3)$$

Рассмотрим функцию нагрева вида $H_t(\xi, t) = \alpha E_0 h(\xi) \delta(t)$, где α – коэффициент оптического поглощения, знак $\hat{}$ над переменными означает безразмерность, E_0 – плотность энергии в световом пучке, $h(\xi)$ – функция пространственного нагрева, записанная как функция обобщенной безразмерной пространственной координаты $\xi = \xi / \xi_0$, ξ_0 – длина поглощения. Заменяя указанную выше функцию нагрева в (2.3), находим акустический сигнал в точке поля, расположенной вдоль положительной оси z при $t > 0$, как отображение

$$p(\hat{\tau}_0) = \frac{1}{2} k h(\hat{\tau}_0), \quad (2.4)$$

где $\hat{\tau}_0 = \frac{c}{\xi_0} \left(t - \frac{\xi}{c} \right)$ – безразмерное запаздывающее время от начала координат и значение давления (в [Па]); $k = \alpha \beta E_0 c^2 / C_p$.

Рассмотрим аналогичную задачу для сферически-симметричного источника. Волновое уравнение для потенциала скорости (2.13), которое содержит только одну радиальную производную пространства, сводится к одномерному волновому уравнению (с заменой H_t на rH_t , $\phi^t = r\phi$). Одномерная функция Грина из (2.2), приведенная выше, может быть использована для решения, но ее необходимо модифицировать, чтобы включить эффект распространяющейся внутрь сферической волны, которая запускается одновременно с волной, выходящей извне, и которая отражается в начале координат, достигая точки с инвертированной амплитудой. Функция Грина для уравнения (2.2) должна быть выражена суммой двух одномерных функций Грина $g(r, t | r', t') - g(r, t | -r', t')$, что дает акустическое давление как

$$p(r,t) = \frac{\beta c}{2C_p r} \int r' \left[H_t \left(r', t - \frac{(r-r')}{c} \right) - H_t \left(r', t - \frac{(r+r')}{c} \right) \right] dr' \quad (2.5)$$

При импульсе нагрева в виде δ -функции во времени акустическое давление при $t > 0$ задается выражением

$$p(\hat{\tau}_0) = \frac{k}{2\hat{r}} \hat{\tau}_0 \left(h(-\hat{\tau}_0) + h(\hat{\tau}_0) \right) \quad (2.6)$$

Для цилиндрически симметричного источника находим акустическую волну, генерируемую импульсом нагрева в виде δ -функции, записывая уравнение в цилиндрических координатах z и ρ (т.е. $r = (\rho^2 + z^2)^{1/2}$ и интегрирования результата по z . Эта процедура дает выражение для давления:

$$p(\rho, \hat{t}) = k \int_{-\infty}^{\hat{t}-\rho} \frac{f'(\xi) + f'(-\xi)}{\sqrt{(\hat{t}-\xi)^2 - \rho^2}} d\xi \quad (2.7)$$

где $f'(\xi)$ – производная от функции источника, форма которого еще не определена, и $\hat{t} = ct / \rho_0$. После поглощения излучения от оптического импульса в виде δ -функции во времени пространственный профиль акустического давления в жидкости определится как $kh(\rho)$. Поскольку цилиндрически симметричные волны одновременно распространяются внутрь и наружу от оси z , то давление ограничено при $t = 0$ начальным условием

$$\int_{\rho}^{\infty} f'(\pm\xi) \sqrt{\xi^2 - \rho^2} d\xi = \frac{1}{2} h(\rho).$$

Это справедливо как для положительных, так и для отрицательных направлений. Чтобы найти функцию источника, преобразуем это выражение, используя вариацию инверсии Фирсова [57,111,112], которая дает

$$f(\eta) = -\frac{1}{\pi} \int_{\eta}^{\infty} \frac{\rho h(\rho)}{\sqrt{\rho^2 - \eta^2}} d\rho \quad (2.8)$$

В качестве примера для коротких оптических импульсов рассмотрим оптически тонкий, бесконечный слой жидкости, жидкостный цилиндр и сферу. Функция пространственного нагрева для этих тел задается формулой $h(\xi) = \tilde{\Theta}_{0,1}(1-\xi)$, где $\tilde{\Theta}_{i,j}(\xi)$ – квадрат плотности вероятности волновой функции, определенная как единица между i и j , и в противном случае равная нулю. Выражения (2.4), (2.6) и (2.7) дают акустическое давление для $\hat{\tau} > 0$ в одном, двух ($\rho \gg 1$) и трех измерениях как

$$p(\hat{\tau}) = 1/2k\Theta_{0,1}(\hat{\tau}); \quad (2.9)$$

$$p(\hat{\tau}) = \frac{k}{\pi\sqrt{2\rho}} \int_{-\delta}^0 \frac{\eta+1}{\sqrt{\eta+\hat{\tau}}\sqrt{1-(\eta+1)^2}} d\eta; \quad (2.10)$$

$$p(\hat{\tau}) = \frac{k}{2r} (1-\hat{\tau}) (\tilde{\Theta}_{0,1}(\hat{\tau}) + \tilde{\Theta}_{1,2}(\hat{\tau})), \quad (2.11)$$

соответственно, где $\hat{\tau}$ – безразмерное запаздывающее время, определяемое как $\hat{\tau} = \frac{c}{\xi_0} (t - \frac{(\xi - \xi_0)}{c})$.

Рассмотрим случай, когда возбуждающий оптический импульс имеет длительность, намного превышающую время прохождения звука по длине поглощения в облученном теле. Сначала рассмотрим задачу в частотной области, используя функцию нагрева вида $H_t(\xi, t) = \alpha I_0 h(\xi) e^{-i\omega t}$, которая в одном измерении, согласно уравнению (2.3), дает акустическое давление как интеграл по пространству пространственной функции нагрева с множителем $e^{-i\omega z'/c}$. Поскольку интегрирование распространяется только по источнику, аппроксимируем функцию нагрева единицей, что дает константу для пространственного интегрирования. Таким образом, низкочастотный акустический сигнал и соответствующее ему преобразование Фурье определяются как

$$p = \frac{\alpha \beta I_0 \xi_l c}{2C_p} e^{-iq'_l \tau_l}, p(\hat{\tau}_l) = \frac{1}{2} k \delta(\hat{\tau}_l), \quad (2.12)$$

соответственно, где $q_l = \omega \xi_l / c$, $\hat{\tau}_l = \frac{c}{\xi_l} \left(t - \frac{\xi}{c} \right)$, и (в n измерениях)

$$\xi_l^n = \int_0^\infty \xi^{n-1} h(\xi) d\xi.$$

В трехмерном случае находим акустическое давление для сферически-симметричного поглощения тепла путем замены функции нагрева в частотной области на уравнение (2.5). Интегрирование проводится по области пространства малой по сравнению с длиной волны звука. Таким образом, разность двух экспоненциальных функций выражаем радиальной производной $\exp(-i\omega r)$. Это дает низкочастотный акустический сигнал со сферическим фронтом и соответствующее ему преобразование Фурье как

$$p = \frac{\alpha \beta I_0 \xi_l c}{C_p \hat{r}_l} \frac{d}{d\hat{\tau}_l} e^{-iq_l \hat{\tau}_l}, \quad p(\hat{\tau}_l) = \frac{k}{\hat{r}_l} \frac{d}{d\hat{\tau}_l} \delta(\hat{\tau}_l), \quad (2.13)$$

соответственно, где $\hat{r} = r / \xi_l$.

Для двумерного случая определяем потенциал колебательной скорости, используя функцию Грина для решения уравнения Гельмгольца [110], соответствующее уравнению (2.23). Функция Грина для бесконечной среды задается в виде $i\pi H_0^{[1]}(k|\rho - \rho'|)$. Для цилиндрически-симметричного источника она сводится к $J_0(k\rho')H_0^{[1]}(k\rho)$, где $H_0^{[1]}$ – функция Ханкеля нулевого порядка первого рода, J_0 – функция Бесселя, k – волновой вектор. В пределе для низких частот $J_0(k\rho') \cong 1$, что дает акустическое давление в НЧ области и его преобразование Фурье как

$$p_l = \frac{\pi \alpha \beta I_0 \xi_l c}{2C_p} q_l H_0^{[1]}(q_l \rho_l) e^{-iq_l \hat{t}_l}, \quad p(\hat{\tau}_l) = k \frac{d}{d\hat{\tau}_l} \frac{u(\hat{t}_l - \rho_l)}{\sqrt{\hat{\tau}_l^2 - \rho_l^2}}, \quad (2.14)$$

соответственно, где $\rho_l = \rho / \xi_l$ и $\hat{t}_l = c t_l / \xi_l$.

Временной профиль акустической волны, генерируемой длинным световым импульсом, находится путем свертки нормированной функции интенсивности света вида $I(t) = E_0 S(t/\theta)/\theta$ с функциями импульсных откликов,

заданными уравнениями (2.12) – (2.14), чтобы получить акустическое давление в одно-, двух- (для $\rho_i \gg 1$) и трехмерном случаях, соответственно, как

$$p(\tilde{\tau}_i) = \frac{k}{2\hat{\Theta}_i} S(\tilde{\tau}_i); \quad (2.15)$$

$$p(\tilde{\tau}_i, x) = \frac{k}{\sqrt[3]{2}\hat{\Theta}_i \sqrt{2\rho}} \int_{-\infty}^{\tilde{\tau}_i} \frac{dS(T)/dT}{\sqrt{\tilde{\tau}_i - T}} dT; \quad (2.16)$$

$$p(\hat{\tau}_i, x, z) = \frac{k}{\hat{\Theta}_i^2 \hat{r}_i} \frac{d}{d\hat{\tau}_i} S(\hat{\tau}_i), \quad (2.17)$$

где $\hat{\Theta}_i = c\Theta / \xi_i$ и $\hat{\tau}_i = \tau_i / \Theta_i$, согласно определению производной [113–115] акустическое давление в одно-, двух- и трехмерном случаях для длинного импульса возбуждения, оцененного в запаздывающее время от начала координат.

Одномерная функция, для δ -функции нагрева световых импульсов, объясняет характер волн, генерируемых оптически тонким слоем, или волн, порожденных поглощением излучения Бира, найденным в [106] и [116–118], соответственно. Двумерное отображение воспроизводит [57] форму акустической волны для распределения в виде Гаусса в пространстве, рассчитанного в работах [57,58,119] и экспериментально исследовано в работе [120], а также для оптически тонкого бесконечного цилиндра, рассмотренного в [106,121]. Трехмерное отображение объясняет происхождение N-образной волны, найденной в работах [97,106,122] для акустических волн, генерируемых сферой, и может быть распространено на проблему «разрывающегося шара» (который также генерирует N-образную волну), описанную в классической акустике [123,124].

Показано, что акустическое давление в одном, двух и трех измерениях можно найти как отображения оптического поглощения тепла в пространстве для коротких импульсов оптического излучения. Кроме того, акустическое давление должно быть пропорционально нулевой производной в одномерном

случае, половинной производной в двумерном случае измерениях и первой производной в трехмерном случае рассмотрения задачи определения интенсивности оптического излучения для длинных импульсов.

2.2 Исследование генерации акустических волн при оптоакустическом преобразовании сферическими поглотителями для различных функций нагрева

Поглотитель, облучаемый снаружи, имеет экспоненциально убывающее с глубиной распределение поглощения. При сильном поглощении это может быть представлено тонкой поглощающей оболочкой.

Толщина оболочки задавалась как $R/10$, где R – радиус сферы. При диффузном облучении однородной поглощающей сферы коэффициент поглощения принимался равным $\mu_a = 3/R$. При облучении образца импульсом света конечной длительности акустический сигнал будет описываться выражением [94] $p(r,t) = \int_0^\infty p_{\delta t}(r,t-\tau)T(\tau)d\tau$, где r – расстояние до точки наблюдения. Численная оценка этого выражения показана на рис. 2.1-2.3 для однородного сферического оптоакустического источника (рис. 2.2) и поглощения в сфере с параметрами $\tau_\sigma = R/10v$, $\tau_\sigma = R/v$ (рис. 2.3).

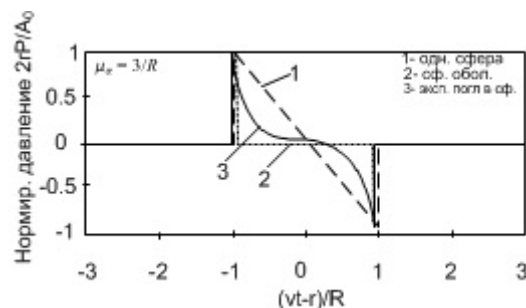


Рисунок 2.1 – Акустические сигналы, генерируемые сферически-симметричными источниками. Для мгновенного разогрева однородной сферы - (1), сферической оболочки (2) и экспоненциально убывающего поглощения в пространстве (3).

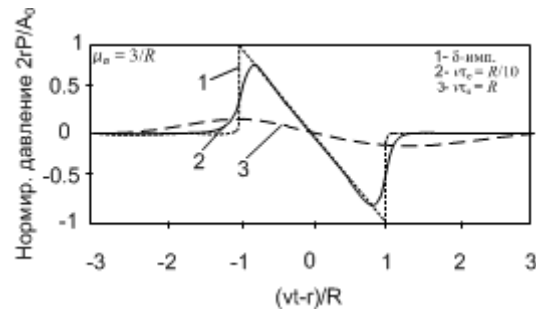


Рисунок 2.2 – Акустические сигналы, генерируемые сферически-симметричными источниками. Акустические сигналы однородной сферы для нескольких гауссовых функций нагрева. (1) - для дельта-импульса, (2) - $\tau_\sigma = R/10v$ и (3) для случая $v\tau_\sigma = R$

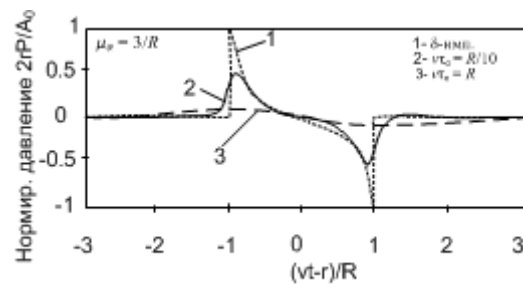


Рисунок 2.3 – Акустические сигналы, генерируемые сферически-симметричными источниками. Акустические сигналы для экспоненциально убывающего распределения поглощения. (1) - для дельта-импульса, (2) - $\tau_\sigma = R/10v$ и (3) для случая $\tau_\sigma = R/v$

Функции нагрева задавались как нормальные распределения с одинаковой суммарной энергией с $\tau_\sigma = R/(10v)$ и $\tau_\sigma = R/v$ - где τ_σ - длительность дельта-импульса, а функция нагрева в виде σ - импульса (при $\tau_\sigma = 0$). Для самого протяженного во времени импульса света амплитуда сигнала значительно уменьшается и форма сигнала не отражает пространственное распределение поглощения. Это справедливо для всех моделируемых распределений поглощения. Из рисунков видно, что амплитуды сигналов сильно уменьшаются с увеличением длительности импульса света. При малом геометрическом диаметре источника по сравнению с акустической волной во время светового импульса амплитуда давления сигнала обратно пропорциональна квадрату длительности импульса света.

В предельном случае, когда радиус сферического источника стремится к нулю, получаем акустический сигнал, генерируемый точечным источником при оптоакустическом эффекте. Интегрирование по объему источника и свертка с функцией временного нагрева позволяет получить сигнал, формируемый любым другим источником акустического сигнала. Для интегрирования выразим давление, как производную потенциальной функции по времени:

$$p_{\sigma}(r, vt) = \lim_{R \rightarrow 0} A_0 \frac{r - vt}{2r} u(R - |r - vt|) = A_0 \frac{d}{d(vt)} \Phi_{\delta}(r, vt), \quad (2.18)$$

где $\Phi_{\delta}(r, vt) = k_0 \delta(r - vt)/r$ – потенциальная функция, $\delta(x)$ дельта-функция Дирака [58]. Поскольку сигнал от однородной сферы известен, интегрирование по сфере дает для константы k_0 значение $1/4\pi$. Начальное распределение давления p_0 может быть выражено как сумма давлений от точечных источников, следовательно, $p(r, t)$ можно выразить как сумму вкладов от акустических точечных источников [94]. Тогда давление можно также выразить как производную по (vt) от суммы потенциальных функций точечного источника:

$$p(r, t) = \frac{d}{d(vt)} \Phi(r, vt); \Phi(r, vt) = \int p_0(\rho) \Phi_{\delta}(|\rho - r|, vt) d\rho, \quad (2.19)$$

где p_0 – давление в начальный момент времени.

Интегрирование Φ_{δ} приводит к простой ступенчатой функции:

$$\Phi_p(x, vt) = k_0 U(ct - |x|) \quad (2.20)$$

где x – расстояние от плоскости. Тогда мы приходим к выражению для акустического переходного процесса, для мгновенно нагретого плоского источника:

$$\begin{aligned} p_p(x, t) &= \frac{d}{d(vt)} \int_{-\infty}^{\infty} p_0(\xi - x) \int_0^{\infty} 2\pi\rho \Phi_{\delta}(\sqrt{(\xi - x)^2 + \rho^2}, t) d\rho d\xi = \\ &= \frac{1}{2} [p_0(x + vt) + p_0(x - vt)] \end{aligned} \quad (2.21)$$

где $p_0(x)$ – давление в начальный момент времени. Это согласно принципу суперпозиции суммирование двух волн, распространяющихся в противоположных направлениях.

2.3 Теоретическое исследование оптоакустического эффекта в дальнем поле для сферических поглотителей

Для сферического источника и гауссовского нагрева начальный рост давления $p_0(r)$ определяется выражением [58,94,104,105,125]

$$p_0(r) = \frac{\beta V^2 E_a}{C_p (2\pi)^{3/2} R_\sigma^3} \exp \left\{ -\frac{1}{2} \left(\frac{r}{R_\sigma} \right)^2 \right\}, \quad (2.22)$$

где E_a – общая энергия поглощения, R_σ – радиус источника.

Гауссова функция нагрева $T(t)$ описывается выражением

$$T(t) = (\sqrt{2\pi} \tau_l)^{-1} \exp \left\{ -\frac{1}{2} (t / \tau_l)^2 \right\}, \quad (2.23)$$

$$P_{\max(r)} = \frac{\beta E_a}{2\sqrt{e} (2\pi)^{3/2} C_p \tau_e^2 r}; \quad \tau = \frac{r}{V}$$

$$\tau_e = \sqrt{\tau_\alpha^2 + \tau_l^2}; \quad \tau_\alpha = \frac{R_\sigma}{V}.$$

В дальнем поле ($r \gg R_\sigma$) акустическое давление $p_\delta(r, t)$ описываемое функцией Гауссова вида:

$$p_\delta(r, t) = -p_{\max}(r) \sqrt{e} \frac{t - \tau}{\tau_e} \exp \left\{ -\frac{1}{2} \left(\frac{t - \tau}{\tau_e} \right)^2 \right\}; \quad (2.24)$$

$$P_{\max(r)} = \frac{\beta E_a}{2\sqrt{e} (2\pi)^{3/2} c_p \tau_e^2 r}; \quad \tau = \frac{r}{V}$$

$$\tau_e = \sqrt{\tau_\alpha^2 + \tau_l^2}; \quad \tau_\alpha = \frac{R_\sigma}{V}.$$

Для $r \gg R_\sigma$ можно пренебречь вкладом в акустический сигнал, исходящий из объема источника вне сферы с радиусом r , и свертку $p(r, t)$ с $T(t)$. При этом t_l – половина длительности импульса между точками

временного распределения амплитуд, а t_a - половина времени прохождения звука между точками радиального распределения амплитуды.

Выражение (2.24) описывает дальнее поле. Для получения выражения, описывающего ближнее поле, необходимо добавить второй член, как в уравнении (2.25) [94]:

$$p_{\delta t}(r, t) = \int_0^{\infty} -\nabla p_0(r') \left[\left\{ U\{r' - vt - r\} + \left(\frac{r - vt}{2r} \right) U\{r - |r' - vt|\} U\{r' + vt - r\} \right\} \right] U(t) dr' =$$

$$= \left[\left(\frac{r - vt}{2r} \right) p_0(|r - vt|) + \left(\frac{r + vt}{2r} \right) p_0(r + vt) \right] U(t)$$
(2.25)

Временной промежуток от пика к пику $\tau_{пик}$ может быть выражен как

$$\tau_{пик} = 2\tau_e = \sqrt{T_f^2 + \left(\frac{D_f}{V} \right)^2},$$
(2.26)

где T_f – интервал между точками изгиба временного профиля функции нагрева, D_f – расстояние между точками изгиба функции пространственного распределения тепла.

В жидкости при распространении продольных акустических волн основными источниками ослабления сигнала являются термоупругие, теплопроводные потери, вязкие потери или релаксационное поглощение [58,125]. Эти механизмы акустического ослабления пропорциональны квадрату частоты (f^2). В веществах с длинными молекулярными цепочками затухание пропорционально частоте и обусловлено гистерезисным поглощением или потерями вследствие изменения состояния вещества. В теории амплитудный спектр акустического импульса с учетом звукопоглощения (пропорционален f^2) определяется формулой [58,94,125,126] [104,125–130]

$$|p_A(r, f)| = \frac{\beta E_\alpha}{2c_p r} \exp \left\{ -(2(\pi\tau_e)^2 + \gamma r) f^2 \right\}$$
(2.27)

Коэффициент поглощения звука в зависимости от частоты равен [58,125] $\alpha = \gamma f^2$, где f – частота акустической волны и $\gamma = 25 \cdot 10^{-15} \text{ с}^2 / \text{м}$. После обратного преобразования Фурье $p_A(r, f)$ затухание акустического импульса $p_A(r, t)$ описывается уравнением (2.11), но необходимо эффективную постоянную времени τ_e заменить на зависимую от расстояния эффективную временную константу $\tau_{эф}(r)$, описываемую выражением

$$\tau_{эф}(r) = \sqrt{\tau_l^2 + \tau_a^2 + \frac{\gamma r}{2\pi^2}}, \quad (2.28)$$

где $\tau_a = \frac{R_\sigma}{v}$ и $\tau_l = 0$, а γ – коэффициент затухания амплитуды спектра.

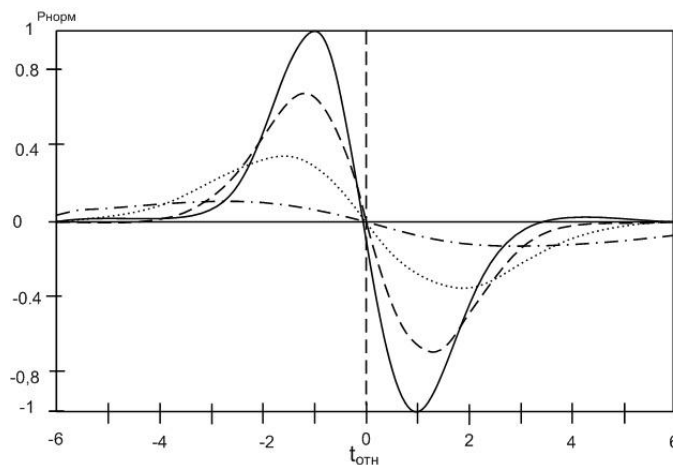


Рисунок 2.4 – Влияние поглощения звука в воде на акустический сигнал, формируемый сферическим распределением нормальных источников на разном расстоянии распространения (кривая 1 при $r = 0$ см, 2 - $r = 1$ см, 3 - $r = 5$ см, 4 - $r = 12$ см). Сигналы нормированы по отношению к сигналу в точке наблюдения $r = 0$ см

На рис. 2.4 приведены временные профили акустического импульса для сферического поглотителя и различных r (расстояний распространения) при отсутствии поглощения звука. В расчете использовалась группа из нескольких красных кровяных клеток (наименьший возможный объем источника $R_\sigma = 6$ мкм), а длительность лазерного импульса составила $2\tau_l = 84$ нс. Для больших радиусов оптоакустического источника или больших

длительностях лазерных импульсов искажение акустического импульса менее заметно из-за более низкой частоты акустического сигнала.

Проведем исследование генерации акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании для случая формирования акустического сигнала источниками в тонком слое жидкости, источниками внутри цилиндра образованного лучем лазера в жидкости (рис.2.5) и в присутствии сферических источников внутри этого цилиндра с помощью выражений 2.15-2.17.

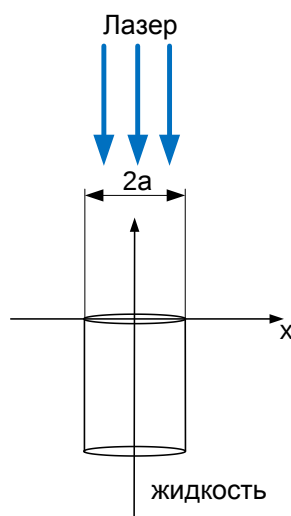
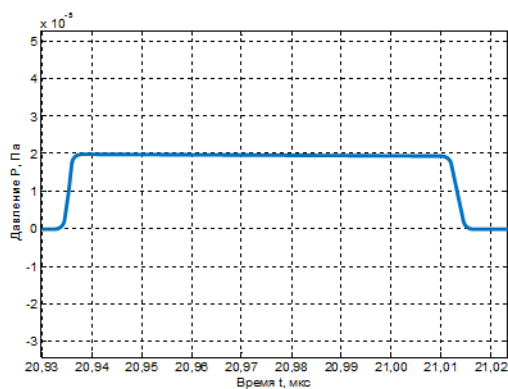


Рисунок 2.5 – Геометрия задачи

Физические величины и параметры, используемые при моделировании, приведены в таблице 2.1

Таблица 2.1 – Физические константы и параметры, используемые в моделировании [131] [206]

Условное обозначение	Вода	Кровь
α , мкм (радиус эритроцита)	2.75	2.75
ρ_s , кг/м ³		1092
v_s , м/с		1639
ρ_f , кг/м ³	1000	1005
v_f , м/с	1500	1498
β , К ⁻¹	$1,5 \cdot 10^{-4}$	$1,48 \cdot 10^{-4}$
C_p , Дж/(кг·К)	4183	3800
μ , м ⁻¹	60,58	38
F , Дж/м ²	1	1



а)



б)

Рисунок 2.6 – а) Акустический сигнал, формируемый источниками в слое жидкости; б) спектр сигнала.

На рис. 2.6 представлен акустический сигнал, полученный в результате воздействия лазерным импульсом на жидкость и сформированный источниками в тонком слое жидкости ($\tau_{\text{и}} \approx 84\text{нс}$).

Смоделируем акустический сигнал, формируемый цилиндрическим источником диаметром 3,5 мм в водном растворе.

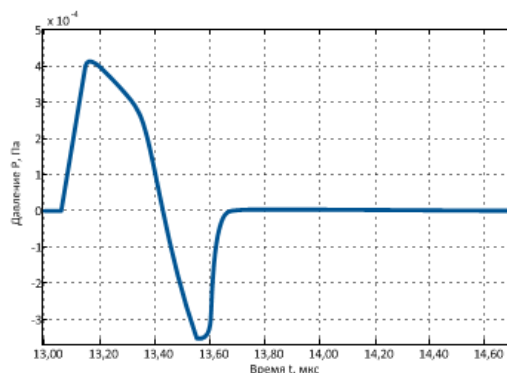


Рисунок 2.7 – Акустический сигнал формируемый источником в виде жидкого цилиндра

На рис. 2.7 представлен акустический сигнал, полученный в результате воздействия лазерным импульсом на жидкость и сформированный источниками, расположенными в цилиндре диаметром 3,5 мм ($\tau_{\text{и}} \approx 580\text{нс}$).

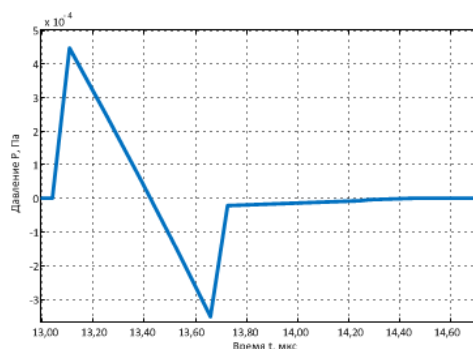


Рисунок 2.8 – Акустический сигнал формируемый источником в виде цилиндра диаметром 3,5 мм, с расположенным внутри эритроцитом сферической формы

На рис. 2.8 приведен акустический сигнал, полученный в результате воздействия лазерным импульсом на жидкость и сформированный источниками расположенными в цилиндре диаметром 3,5 мм и одиночным эритроцитом сферической формы ($\tau_{\text{и}} \approx 660 \text{ нс}$).

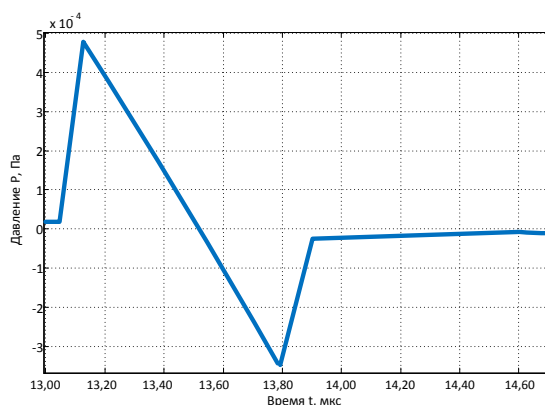


Рисунок 2.9 – Акустический сигнал формируемый источником в виде цилиндра диаметром 3,5 мм, с расположенным внутри полистирольными микросферами диаметром 3мкм

На рис. 2.9 приведен акустический сигнал, полученный в результате воздействия лазерным импульсом на жидкость с источниками расположенными в цилиндре диаметром 3,5 мм и 100 полистирольными сферами ($\tau_{\text{и}} \approx 880 \text{ нс}$).

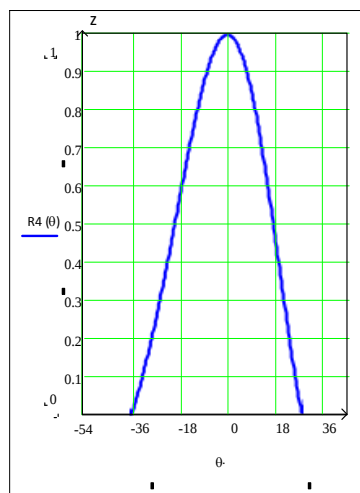


Рисунок 2.10– Характеристика направленности оптоакустического источника

На рисунке 2.10 приведена расчетная угловая зависимость звукового поля при возбуждении акустических колебаний лазером диаметром 3,5 мм в воде с источниками. Совокупность объемных источников формирует вертикальную антенну в направлении лазерного излучения.

2.4 Выводы по главе

1. Рассмотрение акустического процесса, генерируемого мгновенным нагревом сферы показало, что основная форма сформированного генерируемого акустического сигнала является биполярной. С помощью производной дельта-импульсной функции могут быть получены переходные процессы, генерируемые функциями пространственного и временного нагрева. Для сферического источника интервал времени между пиками определяется длительностью лазерного импульса и временем прохождения звука через источник в направлении наблюдения. Получены акустические сигналы, генерируемые поглотителями сферической формы с различными распределениями поглощения и функциями временного нагрева.

Генерируемый при облучении сферического источника сигнал, был рассчитан для нескольких длительностей импульсов оптического излучения. В результате моделирования для источников с различными диаметрами от 10

до 200 мкм, установлено, что для наименьших источников длительность импульса нагрева порядка 10 нс вносит существенный вклад в длительность акустического импульса. Полученные результаты могут быть использованы для случайных распределений источников акустического сигнала, что может позволить разработать эффективный алгоритм реконструкции сигнала для визуализации распределений поглощения в оптически рассеивающих средах. Установлено, что наблюдаемые в жидких средах оптоакустические эффекты выходят за рамки известных моделей для идеальных сред и требуют более подробного рассмотрения.

2. Получены аналитические выражения для формы сигнала звукового давления для сферических поглотителей в результате воздействия лазерного излучения в жидкости в дальнем поле. Рассчитаны формы акустических сигналов, генерируемых при воздействии коротких лазерных импульсов в воде на слой жидкости и сферы внутри жидкостного цилиндра. Проведен расчет угловой зависимости звукового поля при возбуждении акустических колебаний лазером диаметром 3,5 мм в воде с источниками. Установлено, что совокупность объемных источников формирует вертикальную антенну в направлении лазерного излучения.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ НЕАГРЕГИРОВАННЫХ И АГРЕГИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ

3.1 Степень агрегации эритроцитов как диагностический параметр.

Постановка задачи

Возможности оптоакустического метода недостаточно широко используются для изучения агрегации эритроцитов в крови человека. Процесс агрегации эритроцитов (красных кровяных клеток) в крови человека является нормальным явлением, а гиперагрегация является патологическим состоянием. Она связана с широким спектром заболеваний, таких как острый инфаркт миокарда, церебральная ишемия, диабет и серповидно-клеточная анемия. Это происходит из-за присутствия в крови больших белков плазмы или макромолекул (например, фибриногена), что при ненормальных уровнях [132–137] и может приводить к различным сердечно-сосудистым расстройствам.

При болезнях, таких как сахарный диабет [28,138,139], гипертензия, серповидная анемия [140], сепсис [141], ишемия [142], сердечно-сосудистые заболевания [143], различных типов воспалений [144,145], и других наблюдается усиленная агрегация эритроцитов (АЭ). При нарушениях возможно возникновение «гиперагрегационного синдрома», в этом случае эритроциты аномально быстро и прочно агрегируют. Изменение уровня агрегации эритроцитов при заболеваниях происходит в основном из-за изменения концентрации белков плазмы крови и, в меньшей степени, с изменением свойств самих эритроцитов. Степень агрегации эритроцитов может использоваться как диагностический параметр при заболеваниях. Следствием повышенной агрегации являются - закупорка капиллярных участков кровеносных сосудов, после чего возникает местная ишемия, повышенное давления и другие симптомы. Уровень АЭ определяется в основном фактором среды (зависит от концентрации макромолекул) и

фактором клетки (зависит от склонности клетки к образованию агрегата [133].

Агрегация эритроцитов косвенно оценивается, для клинических целей, через скорость оседания эритроцитов (СОЭ), но этот метод плохо коррелирует с агрегацией эритроцитов [146]. Более точная оценка агрегации эритроцитов может быть проведена с использованием методов светорассеяния (например, лазерного анализатора клеточного оптического вращения (LORCA)) [146], эти исследования являются методами *in vitro*. В работе [147] для измерения агрегации эритроцитов использовался метод оптической когерентной томографии в доплеровском спектре. Было показано, что этот метод позволяет дифференцировать неагрегирующие и агрегирующие эритроциты при гематокритах от 30% до 55%, протекающих при скоростях сдвига (градиента скорости) $40\text{--}60\text{ с}^{-1}$. В другом исследовании для оценки влияния агрегации эритроцитов на спеклы использовался рентгенофазовый метод визуализации контраста [148]. Было обнаружено, что размер и контраст пятен изменяется со степенью агрегации эритроцитов. Ранее большое внимание уделялось разработке методов ультразвукового обратного рассеяния как неинвазивного инструмента для контроля уровня агрегации эритроцитов [149,150]. Механизм агрегации существенно изменяет пространственную организацию клеток, что, в свою очередь, приводит к большим изменениям в обратном рассеянии ультразвука. Таким образом, предполагается, что можно оценить уровень агрегации, измеряя уровень звукового давления, генерируемого из-за механизма теплового поглощения света.

3.2 Математическая модель формирования акустического сигнала от неагрегированных эритроцитов при оптоакустическом преобразовании

Оптоакустический эффект описывается уравнением (2.1) [109,151], запишем его через потенциал скорости ϕ . Оптическое излучение с интенсивностью I_0 распространяется вдоль оси x , тогда функция нагрева может быть выражена как $H_t(x,t) = \mu I_0 e^{-i\omega t}$. При этом μ – коэффициент оптического поглощения освещенной среды и ω – частота модуляции оптического луча. Для функции нагрева $H_t(x,t)$ поле звукового давления (3.1), в установившемся режиме сводится к выражению [200]

$$\left(\nabla^2 - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \right) \phi = \begin{cases} \frac{i\omega\mu\beta I_0}{C_p} & \text{- внутри поглотителя,} \\ 0 & \text{- снаружи поглотителя,} \end{cases} \quad (3.1)$$

Это неоднородное уравнение с частными производными. Можно получить аналитические решения уравнения (3.1) для простых геометрий источников (слоя, цилиндра, сферы) с учетом соответствующих граничных условий: непрерывности давления и нормальной составляющей колебательной скорости частиц.

Давление акустического сигнала, равномерно освещенного сферического поглотителя на расстоянии r в среде можно найти с помощью выражения [115,152]:

$$p_f^1(q) = \frac{i\omega\mu\beta I_0 v_s \alpha}{C_p (r/a)} \frac{\left[\sin q - q \cos q \right] e^{ik_f(r-\alpha)}}{q^2 \left[\left(1 - \rho \right) \left(\frac{\sin q}{q} \right) - \cos q + i \rho v \sin q \right]}, \quad (3.2)$$

где $q = \omega\alpha/v_s$ – безразмерная частота, $k_f = \omega/v_f$ – волновое число в жидкой среде, α – радиус поглощающей сферы. Безразмерные величины $\rho = \rho_s/\rho_f$ и $v = v_s/v_f$ представляют собой отношения плотности и скорости звука, соответственно. Нижние индексы s и f обозначают свойства поглотителя и жидкой среды, соответственно. Верхний индекс 1 в уравнении (3.2) обозначает

рассмотрение одного источника формирования акустического сигнала. Выражение для уровня давления акустического сигнала при оптоакустическом эффекте, может быть получено путем использования преобразования Фурье уравнения (3.2) для дельта-функции импульса нагрева. Решение будет иметь вид [200]:

$$p_f^1(\tau) = \frac{i\mu\beta F v_s^2}{2\pi C_p (r/a)} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{[\sin q - q \cos q]}{q^2 \left[\left(1 - \rho\right) \left(\frac{\sin q}{q}\right) - \cos q + i \rho v \sin q \right]} e^{-iq\tau} dq, \quad (3.3)$$

где поле давления представлено как функция безразмерного запаздывающего времени $\tau = (v_s/\alpha)[t - (r - a)/v_f]$, F – флюенс оптического излучения.

Поля рассеяния на случайных неоднородностях можно выразить, как суперпозицию сферических волн, создаваемых рассеивателями. Этот подход широко использовался во многих областях при анализе экспериментальных результатов [115,153].

Во многих случаях, связанных с рассеянием света и ультразвуковым рассеянием на случайных средах, поля рассеяния были выражены как суперпозиция сферических волн, создаваемых рассеивателями. Это, по существу, основано на рассмотрении частиц отдельно и хорошо работает для разреженной среды. Этот подход широко использовался во многих областях для объяснения экспериментальных результатов [131,154,155]. Также предполагалось, что поглотители освещались светом с постоянной интенсивностью независимо от их пространственного положения, т.е. все двойные и множественные рассеяния светового пучка считались незначительными. При таких допущениях, поле давления акустического сигнала, производимое совокупностью поглощающих сфер, можно записать в виде линейной суперпозиции сферических волн, излучаемых отдельными источниками:

$$p_f^{\Sigma}(q) = \frac{i\mu\beta I_0 v_s^2 \alpha}{C_p} \frac{[\sin q - q \cos q]}{q^2 \left[\left(1 - \rho\right) \left(\frac{\sin q}{q}\right) - \cos q + i \rho v \sin q \right]} \sum_{n=1}^N \frac{e^{ik_f(|r-r_n|-\alpha)}}{|r-r_n|}. \quad (3.4)$$

Выражение под знаком суммы в уравнении учитывает интерференцию волн давления, формируемых источниками, распределенными в пространстве. Здесь r_n представляет вектор положения n -й частицы, а область исследования содержит N источников акустического сигнала. Если расстояние наблюдения r велико по сравнению с размером области исследования, значения, $k_f(|r-r_n|)$ в числителе и $|r-r_n|$ в знаменателе уравнения (3.4) можно аппроксимировать как, $k_f(|r-r_n|) \rightarrow k_f r - k_f r_n$ и $|r-r_n| \rightarrow r$, соответственно. Здесь k_f определяет направление наблюдения. Поэтому уравнение (3.4) сводится к

$$p_f^\Sigma(q) \approx \frac{i\mu\beta I_0 v_s \alpha}{C_p(r/a)} \frac{[\sin q - q \cos q] e^{ik_f(r-\alpha)}}{q^2 \left[\left(1-\rho\right) \left(\frac{\sin q}{q}\right) - \cos q + i\rho v \sin q \right]} \sum_{n=1}^N \frac{e^{-ik_f r_n}}{|r-r_n|}. \quad (3.5)$$

Процесс моделирования не учитывал агрегацию эритроцитов. Форма эритроцитов считалась сферической, эффекты многократного рассеяния световых волн считались пренебрежимо малыми. Коэффициенты оптического поглощения для клеток считались одинаковыми. Модельные расчеты выполнялись в среде Matlab. Результаты расчетов представлены на рисунке 3.1

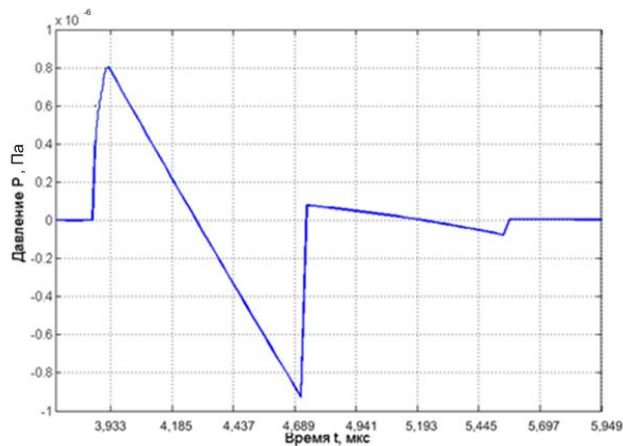


Рисунок 3.1 –Акустический сигнал от сферического источника

На рисунке 3.1 представлена расчетная модель акустического сигнала от сферического источника (эритроцита) облучаемого лазером с длиной волны 1064 нм и длительностью импульса 84 нс. Предполагалось, что поглотители освещались светом с постоянной интенсивностью независимо от их пространственного положения. При этих предположениях поле давления акустического сигнала, создаваемое совокупностью поглощающих сфер, можно записать в виде линейной суперпозиции сферических волн, испускаемых отдельными источниками. Выражение, описывающее зависимость звукового давления от времени принимает вид:

$$p_f^{\Sigma}(\tau) \approx \frac{i\mu\beta F v_s^2}{2\pi C_p (r/a)} \int_{-\infty}^{\infty} dq \frac{[\sin q - q \cos q]}{q \left[(1-\rho) \left(\frac{\sin q}{q} \right) - \cos q + i\rho v \sin q \right]} e^{-iq\tau} \sum_{n=1}^N \frac{e^{-ik_f r_n}}{|r - r_n|}. \quad (3.6)$$

Проведем двумерное моделирование на примере образца крови, состоящей на 98 % из эритроцитов. Вклад в поглощение оптического излучения лейкоцитами и тромбоцитами не будем учитывать вследствие малости их размеров и незначительного количества. Усредненный размер радиуса эритроцитов примем равным 2,7 мкм, плотность в эритроцитах $\rho_s = 1090 \text{ кг/м}^3$, скорость звука $v_s = 1090 \text{ м/с}$. Примем значение плотности окружающей среды, в которой находились эритроциты, $\rho_f = 1005 \text{ кг/м}^3$ и скорости звука $v_f = 1498 \text{ м/с}$ [131]. Проведенные эксперименты в [104,156,157] доказали возможность регистрации акустического сигнала в движущейся жидкости, тем самым позволили продолжить исследование и разработать математическую модель формирования акустического сигнала от неагрегированных эритроцитов. Предполагалось, что клетки подвергались лазерному излучению с постоянной интенсивностью вне зависимости от их ориентации.

В таблице 3.2 приведены параметры для численного моделирования.

Таблица 3.2 – Физические константы и параметры, используемые в моделировании [131]

Условное обозначение	Величина
α	2.75 мкм
ρ_s	1092 кг/м ³
v_s	1639 м/с
ρ_f	1005 кг/м ³
v_f	1498 м/с
β	$1,5 \cdot 10^{-4} \text{ К}^{-1}$
C_p	4183 Дж/(кг·К)
μ	60,58 м ⁻¹
F	1 Дж/м ²
Область исследования 100мкм·100 мкм	

Реализация неагрегированных эритроцитов крови проводилась с использованием метода Монте-Карло. В этом методе координаты эритроцитов выбирались случайным образом с ограничением, что они не будут пересекаться с существующими частицами в периодических граничных условиях, хотя могут соприкасаться. Другими словами, координаты эритроцитов были сформированы случайным образом и приняты, если они удовлетворяли неперекрывающимся условиям (то есть, ячейки должны быть отделены расстоянием, равным или большим, чем их диаметры) с другими ячейками. Если произошло наложение, пробный цикл был отменен, и был инициирован новый цикл. Таким образом, были сгенерированы координаты эритроцитов. Этот этап повторяли до тех пор, пока не были назначены координаты всех эритроцитов при определенном гематокрите. Термин «гематокрит» определяется как дробный объем, занимаемый клетками. Однако в случае двумерного моделирования значение гематокрита было получено из отношения площади, занятой ячейками, к общей площади исследования. После того, как моделирование пространственного расположения эритроцитов было завершено, решалось уравнение (3.6), вычислялся сигнал и его огибающая для полученной пространственной организации ячеек. Средняя амплитуда сигнала

впоследствии оценивалась из набора данных для огибающих сигнала. Для моделирования был взят срез плазмы крови $100 \cdot 100$ мкм. Эритроциты в образце крови считались доминирующими поглотителями падающего оптического излучения, а также источниками излучения акустического сигнала.

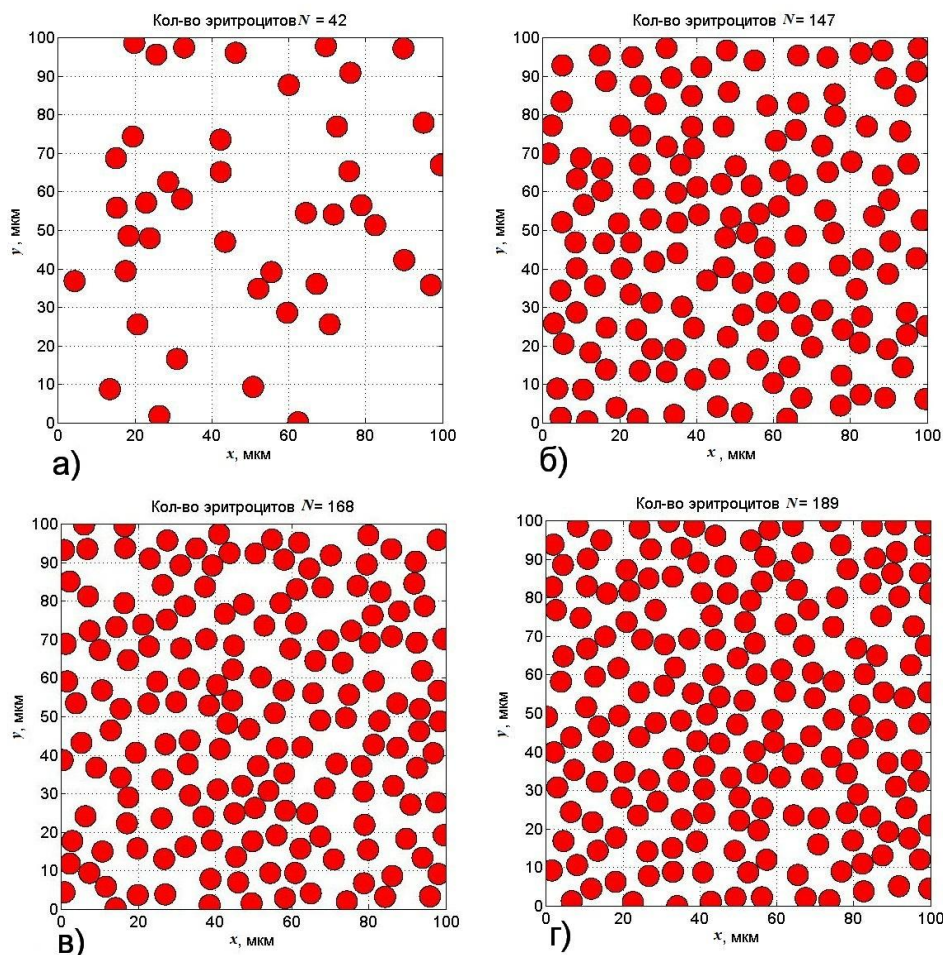


Рисунок – 3.2 Распределение неагрегированных эритроцитов на плоскости $100 \cdot 100$ мкм в зависимости от гематокрита а) 10 %; б) 35 %; в) 40 %; г) 45 %.

Рисунок 3.2 демонстрирует двумерную пространственную организацию эритроцитов, имитирующую реализацию ткани с неагрегированными эритроцитами при гематокрите $H = 10\%$, 35% , 40% и 45% . Каждый круг представляет собой эритроцит, без учета агрегации.

На рисунках 3.3 и 3.4 показаны отдельные сигналы в зависимости времени прихода от точки наблюдения, нормированные на максимальное

значение акустического давления при 45% гематокрите. Акустические сигналы приведены от 189 моделируемых эритроцитов (рис. 3.4) [105,158,159].

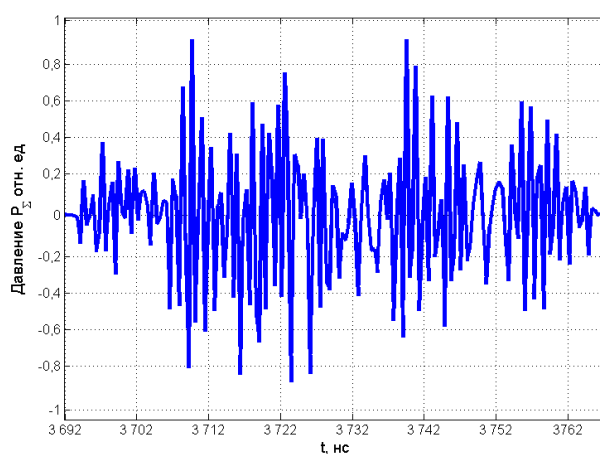


Рисунок – 3.3 Акустические сигналы от 168 неагрегированных эритроцитов (гематокрит 40%)

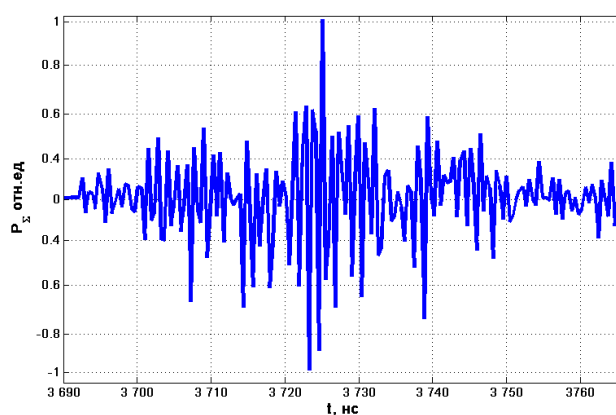


Рисунок – 3.4 Акустический сигнал при гематокрите 45 % от 189 эритроцитов

Сигнал, приведенный на рисунках 3.3 и 3.4 представляет собой суперпозицию акустических сигналов сформированных от эритроцитов в результате воздействия лазера. Суперпозиция сигналов от источников (эритроцитов) происходит в зависимости от расстояния и направления

вектора r_n , который обуславливает вклад в общий сигнал каждого источника [105,158,159].

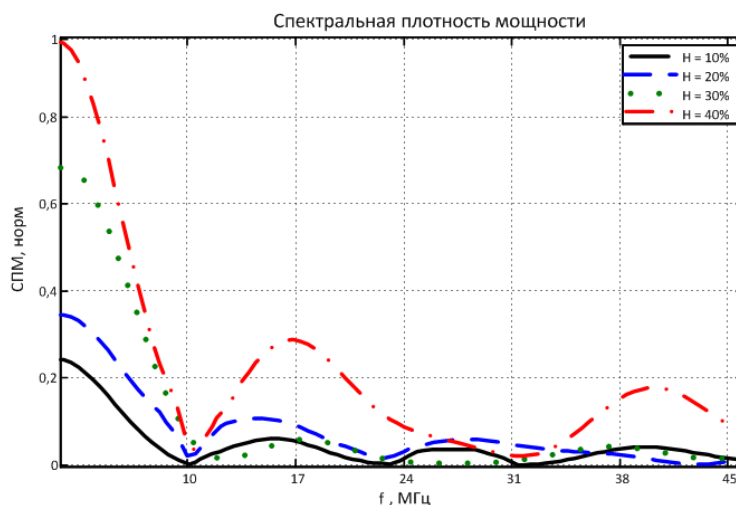


Рисунок – 3.5 Спектральная плотность мощности при различных значениях гематокрита (нормированная при $H = 40\%$)

Представленная модель предполагает наличие следующих ограничений: коэффициенты оптического поглощения для всех клеток считаются одинаковыми; эффекты двойного и многократного рассеяния световых волн считаются пренебрежимо малыми; уровень кислородонасыщения предполагается одинаковым для всех клеток. При этом в исследовании [58] показано, что кислородонасыщенные эритроциты при длинах волн лазерного излучения в диапазоне 800-1064 нм имеют одинаковый коэффициент отражения, следовательно, разработанная модель адекватно описывает формирование акустического сигнала в результате воздействия лазера на поглотители, в качестве которых были заданы параметры неагрегированных эритроцитов [105,158,160].

Спектральная плотность мощности (СПМ), рассчитанная для акустических сигналов при различных значениях гематокрита приведена на рис. 3.5, при этом амплитуда СПМ увеличивалась по мере увеличения числа клеток (гематокрита) в исследуемой области. Монотонное увеличение акустического сигнала наблюдается при повышенной концентрации красных кровяных телец.

Таким образом, можно говорить о возможности определения различных уровней гематокрита с помощью оптоакустического цитометра [24,105,157]. Следовательно, предложенная математическая модель акустических сигналов от эритроцитов требует дальнейшего развития для случаев разной степени агрегации эритроцитов, изменения их формы и дальнейшего подтверждения при проведении экспериментальных исследований.

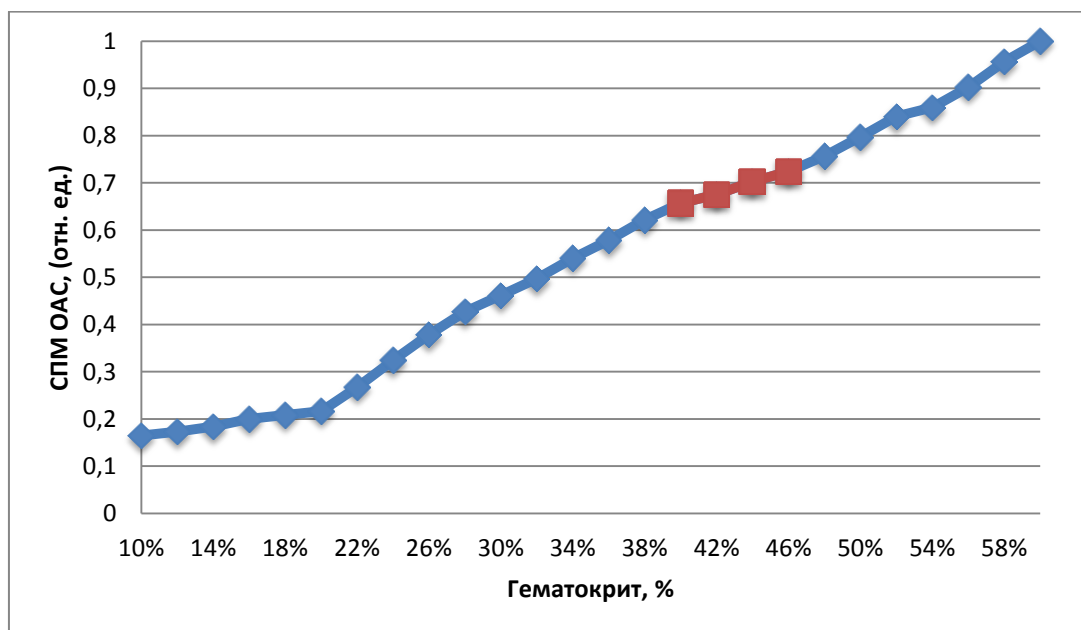


Рисунок 3.6 – Изменение нормированной амплитуды СПМ акустического сигнала от гематокрита (СПМ нормирована при $H=60\%$)

Предложенная теория не учитывает эффекты многократного рассеяния, нерегулярность формы эритроцитов, кислородонасыщенность и уровень агрегации. При помощи разработанной модели, используя закон формирования амплитуды давления от нескольких источников акустического сигнала $p_f^{\Sigma}(q)$, можно получить моделируемый сигнал от сферических источников (эритроцитов). Для этого необходимо сформировать случайное распределение эритроцитов в заданном объеме с учетом гематокрита и уровня агрегации.

При облучении лазерным импульсом акустический сигнал в крови будет иметь уникальный вид, соответствующий определенному количеству красных кровяных телец. Таким образом, можно оценить состав крови и количество кровяных телец. Результаты проведенного моделирования позволяют продолжить работы, проводимые в [104,105,115] по разработке алгоритма диагностики клеток в кровотоке.

3.3 Математическое моделирование акустического сигнала от агрегированных эритроцитов при оптоакустическом преобразовании

Моделируемые ткани с агрегированными эритроцитами могут быть получены различными методами. Автор работы [161] Savery эмпирически моделировал энергию взаимодействия клеточных пар как комбинацию стерического и притягивающего потенциалов, а затем использовал методику Монте-Карло для расширения системы с большим количеством итераций, для получения двумерных распределений агрегированных эритроцитов. Другие исследователи, в работе [162], клетки описывали с помощью потенциала типа Морса для образования трехмерных распределений агрегированных эритроцитов, а затем использовали метод Монте-Карло. Приведенные два метода являются вычислительно сложными и не всегда формируют компактные кластеры эритроцитов. Результаты могут быть получены только для конфигурации случайной свободной упаковки. Для двумерной задачи можно получить плотность упаковки ячеек 54-55%, тогда как в трех измерениях она составляет около 60% [163]. Следовательно, эти методы не способны обеспечить формирование компактных кластеров. Тем не менее, для создания плотно упакованных кластеров эритроцитов можно использовать стандартные схемы упаковки в кластеры. К примеру, в двумерной задаче плотность упаковки эритроцитов $\sim 90\%$ можно достичь с помощью схемы гексагональной упаковки. Эту схему упаковки эритроцитов можно использовать для формирования агрегата. Кластер формируется и

помещается случайным образом в область исследования для создания агрегированного образца крови [164]. Следует отметить, что это довольно быстрый метод, поскольку ячейки размещаются в фиксированных местоположениях в агрегате, формируют компактные кластеры и можно определить координаты местоположений.

Разработанный алгоритм, описывает этапы создания пространственного распределения эритроцитов, показан на рис. 3.7, листинг реализации программы приведен в приложении.

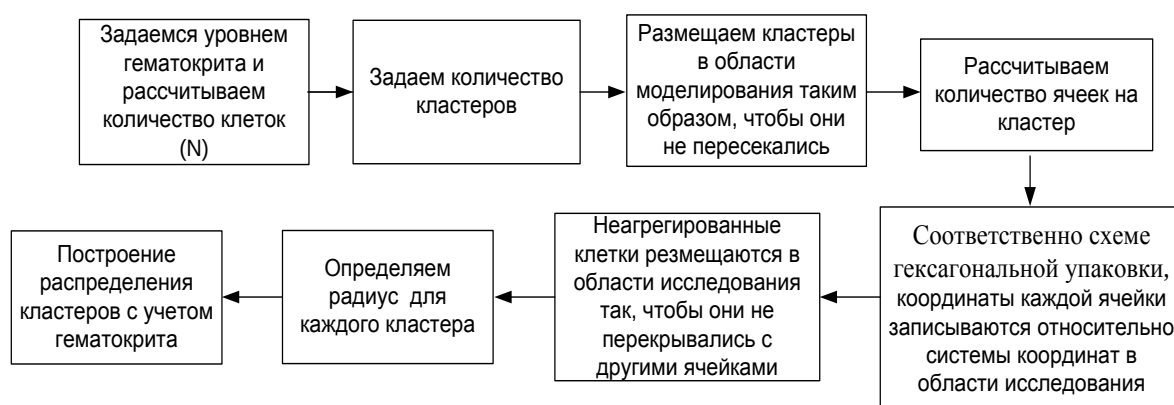


Рисунок 3.7 – Блок-схема, способа формирования пространственного распределения красных кровяных телец в кластерах, которые имитируют образец агрегации крови

Зададимся размерами агрегируемого кластера, размерами области исследования и величиной гематокрита. Нормальный уровень гематокрита составляет 45 % у мужчин и 40 % у женщин [133], для расчетов выберем уровень гематокрита 40 %. Далее находились положения в пространстве случайно распределенных разделенных изотропных кластеров одинакового размера в пределах области исследования в заданных границах с использованием алгоритма (рис. 3.7). Учитывалось количество кластеров и фиксировалось число ячеек, которые могли быть приобщены к одному кластеру. Количество ячеек в кластере определялось рассчитывалось делением общего количества ячеек на количество кластеров и округлением значения до ближайшего меньшего целочисленного значения. Полученное

количество ячеек размещалось с использованием гексагональной упаковки для каждого кластера [162]. Были исследованы свойства акустического сигнала от образцов крови при 40 % гематокрите и при различных условиях кластеризации или агрегации.

Для этого изначально большое количество окружностей (эритроцитов), помещалось в прямоугольную область методом гексагональной упаковки [165]. Затем были выбраны координаты центра эритроцита, расположенного в центральной части этой прямоугольной области (рис. 3.8).

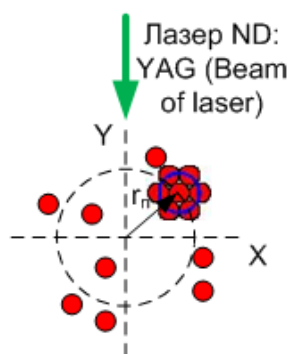


Рисунок 3.8 – Схема возбуждения акустического сигнала

Координаты центров других кругов регистрировались в соответствии с их расстояниями относительно этой контрольной точки для формирования таблицы поиска. Следующим шагом необходимо было взять координаты требуемого количества кругов, прикрепленных к кластеру, из области исследования и поместить их относительно центра кластера. Следует отметить, что координаты окружностей определялись относительно центра кластера. Координаты окружностей относительно начала кластера в области исследования необходимы для расчетов с использованием уравнения (3.6) путем суммирования координат кругов и центра кластера. Координаты окружностей, связанных с другими кластерами, были взяты из рассчитанной таблицы координат. Затем они были преобразованы в систему координат расположения кластеров. Круги, которые не принадлежали какому-либо кластеру, размещались в пределах области исследования при соблюдении условия «неперекрывания» кругов с другими кругами (модельными

эритроцитами). Таким образом, получены пространственные распределения неперекрывающихся кластеров, содержащих неперекрывающиеся ячейки с их координатами размещения. Для каждого агрегата рассчитывался средний радиус вращения кластеров для определения среднего размера кластера. Радиус вращения кластера определялся, используя квадрат расстояний ячеек от центра кластера, с помощью выражения

$$R_g = \left(\frac{3}{5} a^2 + \frac{1}{n_c} \sum_{j=1}^{n_c} r_j^2 \right)^{1/2} \quad (3.7)$$

где n_c – число ячеек, присоединенных к кластеру, а r_j – расстояние центра j -й ячейки от центра кластера. Численные значения R_g были получены для всех кластеров, связанных с реализацией ткани, и затем было вычислено среднее значение. Кроме того, неагрегированные эритроциты не рассматривались для оценки среднего радиуса агрегации кластеров.

На рисунке 3.9 приведена модель одиночного эритроцита в области исследования $100 \cdot 100$ мкм. Рисунки 3.10 (а, б) и 3.11 (а, б) демонстрируют модели агрегированных эритроцитов, упакованных в кластеры гексагональным методом, также на этом рисунке (и последующих) приведены результаты расчета радиусов кластера и количества эритроцитов в нем [16,164–166].

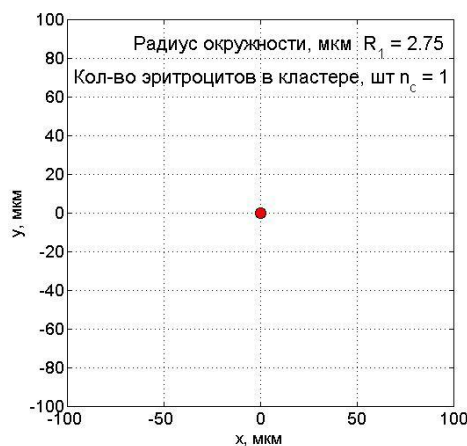
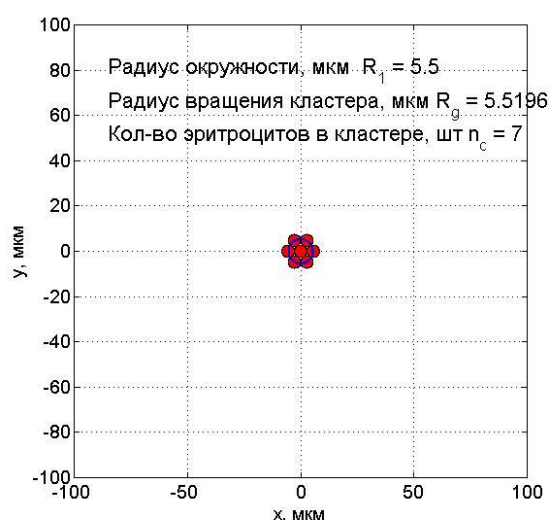
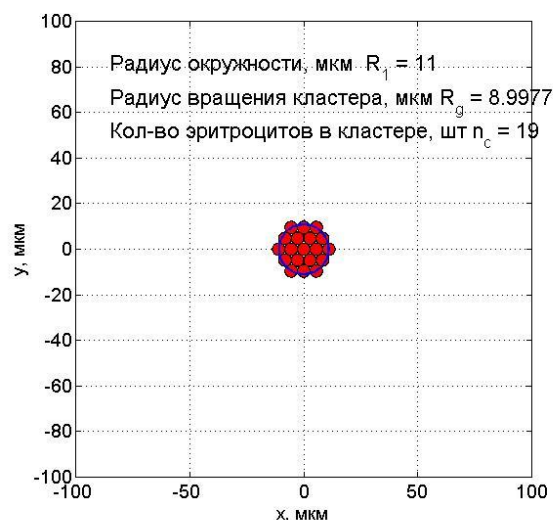


Рисунок 3.9 – Неагрегированный эритроцит. Радиус кластера равен радиусу эритроцита.

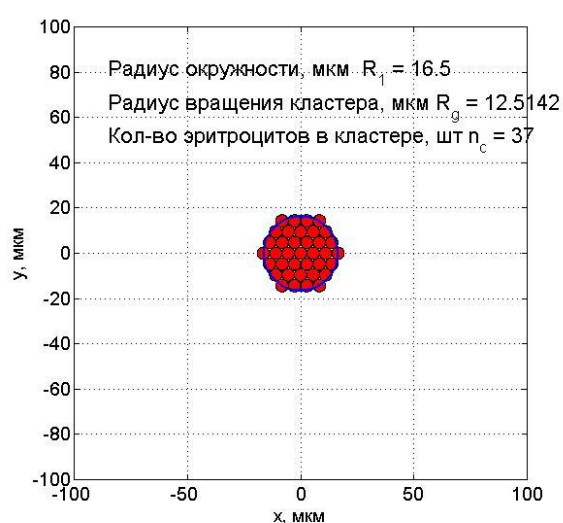


а)

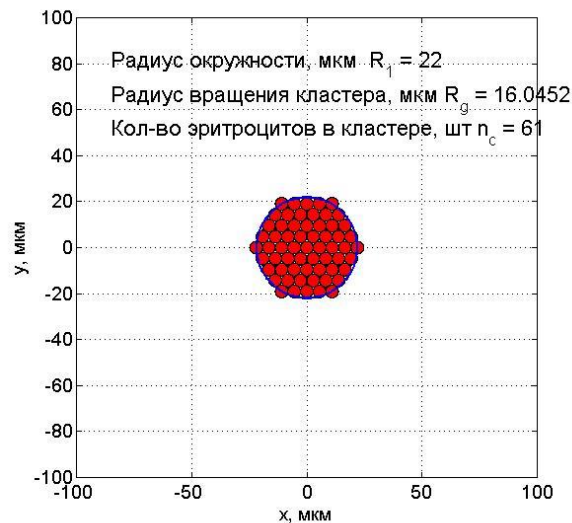


б)

Рисунок 3.10 – Агрегированные эритроциты. а) 7 эритроцитов в кластере; б) 19 эритроцитов в кластере.



а)



б)

Рисунок 3.11 – Агрегированные эритроциты. а) 37 эритроцитов в кластере. б) 61 эритроцит в кластере.

Значения R_g были рассчитаны для всех кластеров, связанных с различными вариациями формирования распределения агрегированных эритроцитов. Затем рассчитывалось среднее значение. Не агрегированные эритроциты не учитывались при оценке среднего значения радиуса агрегации кластеров (Таблица 3.3) [16,164–166].

Таблица 3.3 –Размеры агрегированных ячеек

N- количество агрегированных эритроцитов	a мкм	R_g мкм
1	2,75	-
7	-	5,51
19	-	8,99
37	-	12,51
61	-	16,06

В таблице 3.3 приведены численные значения различных радиусов кластеров, характеризующих агрегированные образцы крови. Например, среднее число эритроцитов в кластере варьировалось от 7 до 61 от самого низкого до самого высокого уровня кластеризации. Среднее число частиц, связанных с кластером, составляло диапазон от 7 до 61, где <4 % ячеек (эритроцитов) не были частью сформированных агрегатов. Минимальное значение среднего радиуса вращения кластеров составляло 5,51 мкм, а крупнейшего агрегата - 16,06 мкм [16,164–166].

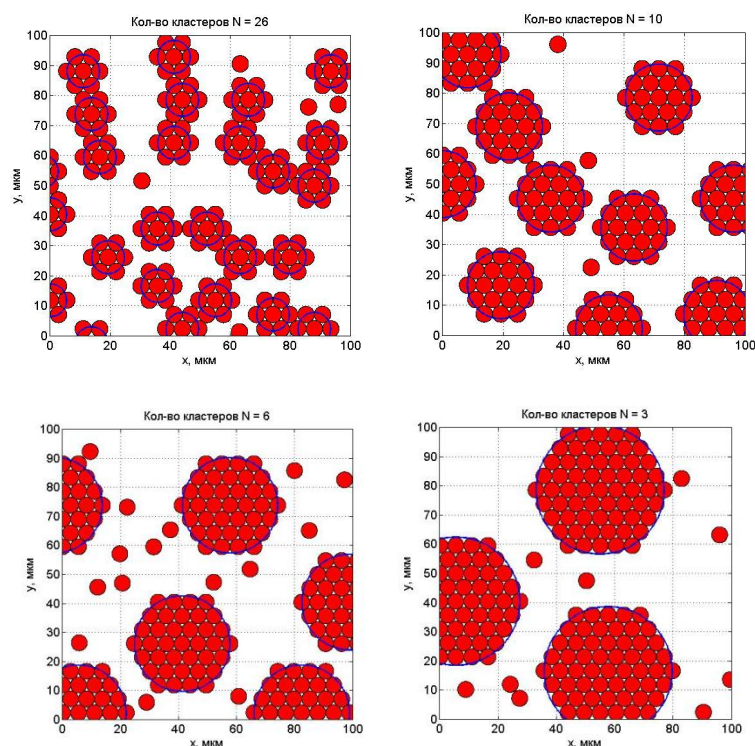


Рисунок 3.12 – Максимальные уровни агрегации: а) 26 агрегатов (5 неагрегированных эритроцитов), б) 10 агрегатов (3 неагрегированных эритроцита), в) 6 агрегатов (15 неагрегированных эритроцитов), г) 3 агрегата (9 неагрегированных эритроцитов)

На рисунке 3.12а приведена модель ткани с максимальной степенью агрегации эритроцитов. Размер кластера, в котором находятся 7 эритроцитов (каждый радиусом 2,7 мкм), т.е. радиус агрегата, $R_g = 5,5$ мкм. При этом количество не агрегированных эритроцитов равно 5 шт., а уровень агрегации составляет 97 %. Приведенная модель позволяет провести моделирование акустического сигнала по формуле (3.2) с учетом (3.8) для последующей оценки спектральной составляющей сигнала в зависимости от уровня агрегации [167].

Предполагалось, что клетки были в сходных биофизических и биохимических условия, которые, в свою очередь, позволили считать числовые значения физических параметров (β , C_p и μ) одинаковыми для всех ячеек. Поскольку мы считали, что клетки освещались лазером с постоянной интенсивностью независимо от их пространственного положения, то значения параметров (β , C_p , μ и F) считались константами. В таблице 3.3 приведены численные значения, которые использовались при численном решении уравнения (3.7). Агрегированные эритроциты формировались при моделировании реализаций двумерной ткани. Для каждого случая было смоделировано 250 вариантов, представляющих возможные конфигурации тканей, и вычислены реализации с помощью уравнения (3.7). Интегрирование уравнения (3.7) в каждой временной точке проводилось численно, с использованием метода трапеций. Форма акустического сигнала была получена из реальных частей данных временного ряда давления, а огибающая сигнала была определена из соответствующих величин [16,164–166].

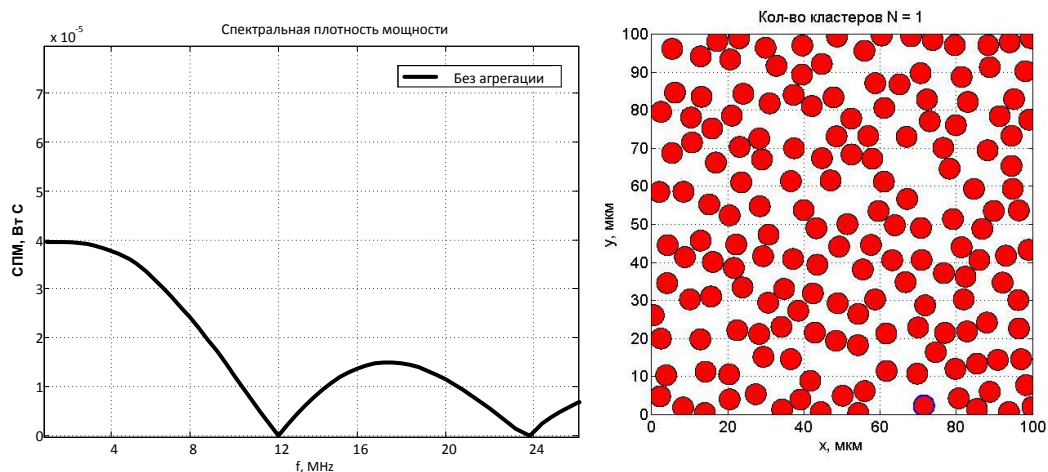


Рисунок 3.13 – Спектральная плотность мощности (СПМ) акустического сигнала не агрегированных эритроцитов. Количество не агрегированных эритроцитов – 168.

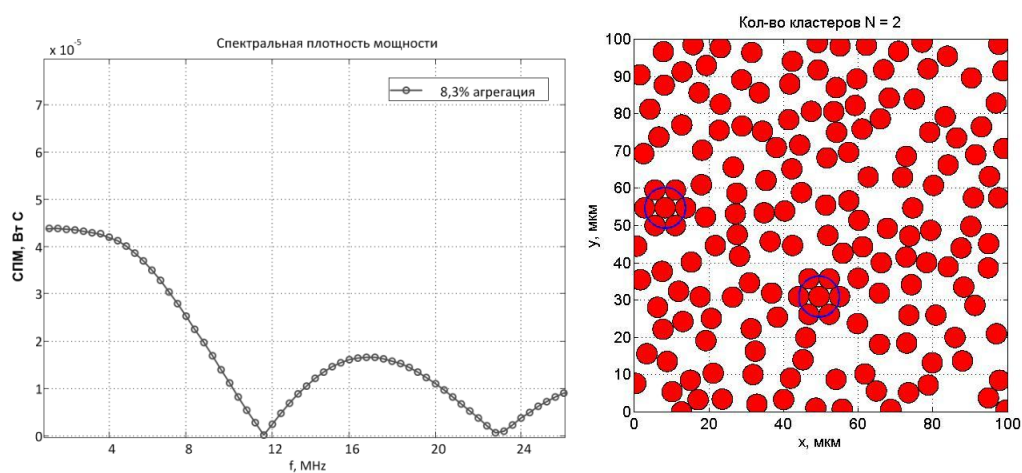


Рисунок 3.14 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании агрегированных эритроцитов. Количество эритроцитов в кластере $N = 7$, радиус агрегата $R_g = 5,51$ мкм. Не агрегированных эритроцитов – 154. Процент агрегации 8,3 %.

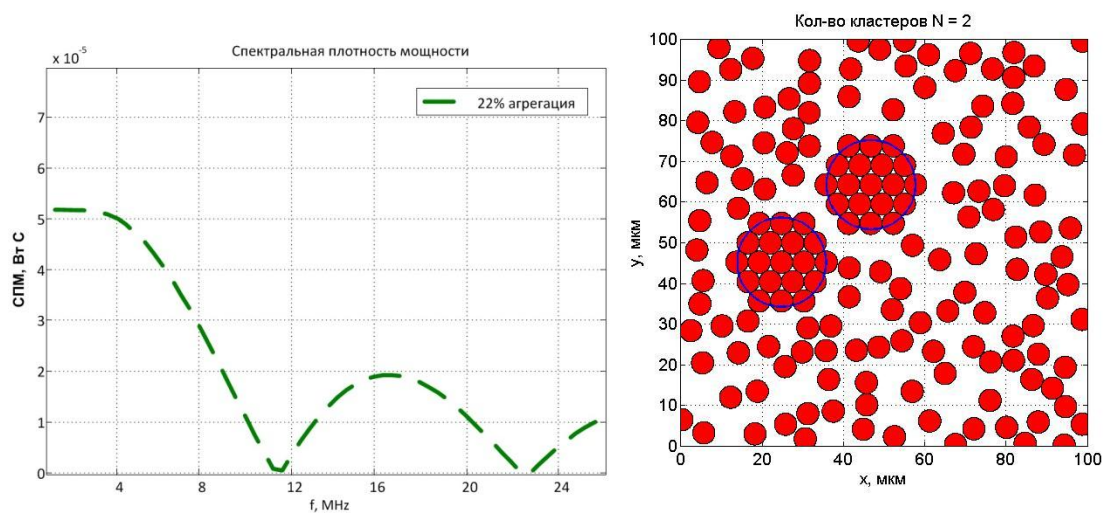


Рисунок 3.15 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании агрегированных эритроцитов. Количество эритроцитов в кластере $N = 19$, радиус агрегата $R_g = 8,99$ мкм. Количество не агрегированных эритроцитов – 130. Процент агрегации 22,6 %.

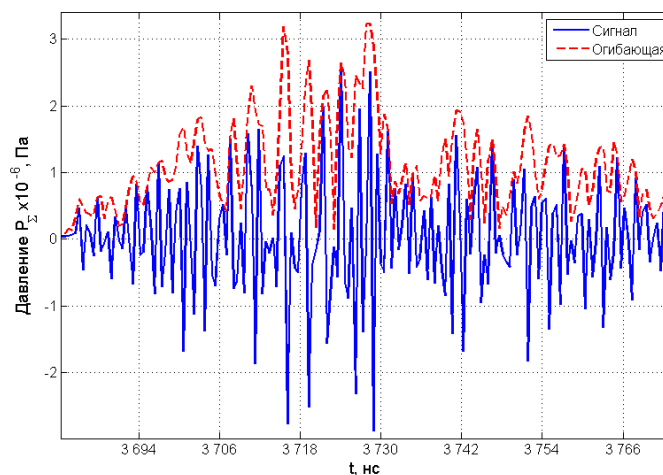


Рисунок 3.16 – Акустический сигнал от агрегированных эритроцитов. Количество эритроцитов в кластере $N = 19$, радиус агрегата $R_g = 8.99$ мкм. Количество не агрегированных эритроцитов – 130. Процент агрегации 22,6 %.

Акустический сигнал на рисунке 3.16 представляет собой решение уравнения (3.1) и является суперпозицией сигналов от эритроцитов,

расположенных в области исследования 100 x 100 мкм в результате воздействия излучения лазера. Суммирование акустических сигналов от источников (эритроцитов) происходит в зависимости от расстояния и направления вектора r_n , который обуславливает вклад в общий сигнал каждого источника [16,164–166].

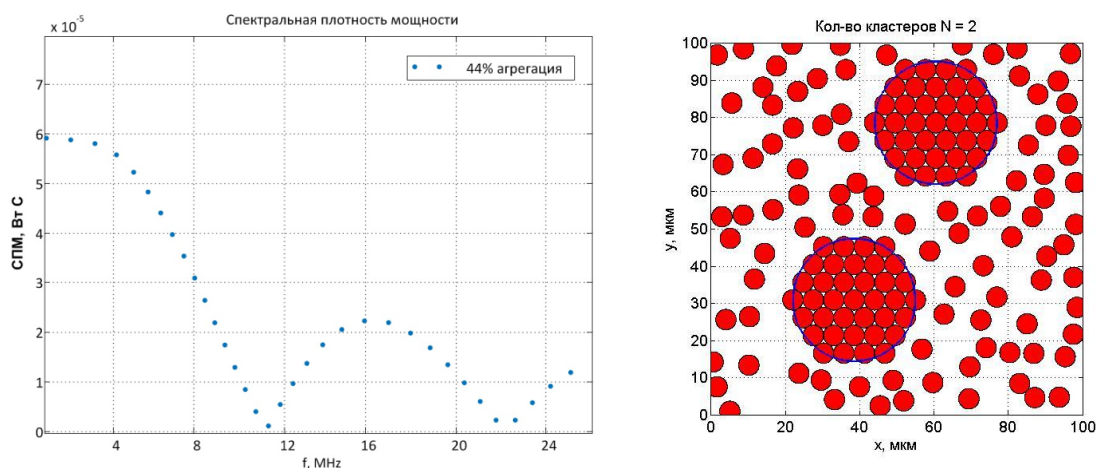


Рисунок 3.17 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании от агрегированных эритроцитов. Количество эритроцитов в кластере $N = 37$, радиус агрегата $R_g = 12,51$ мкм. Количество не агрегированных эритроцитов – 94. Процент агрегации 44 %.

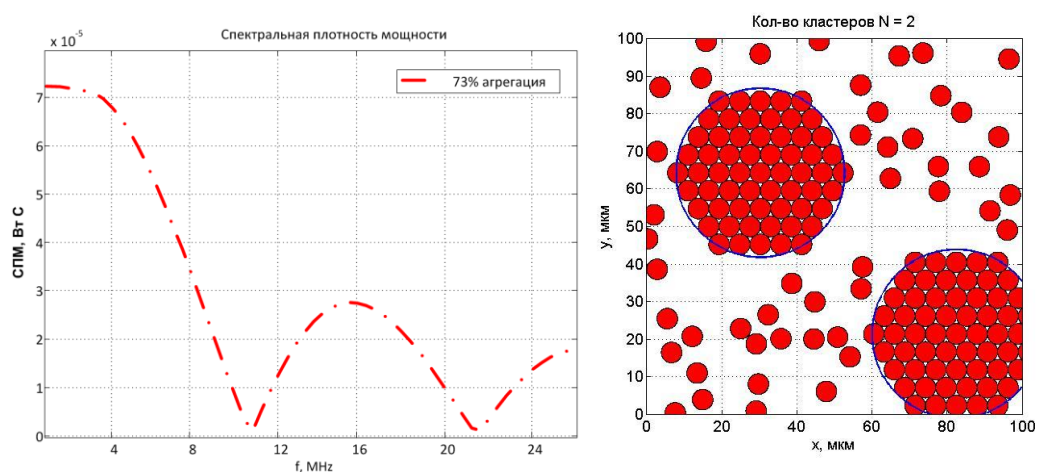


Рисунок 3.18 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании от агрегированных эритроцитов. Количество эритроцитов в кластере $N = 61$, радиус агрегата $R_g = 16,06$ мкм. Количество не агрегированных эритроцитов – 47. Процент агрегации 73 %.

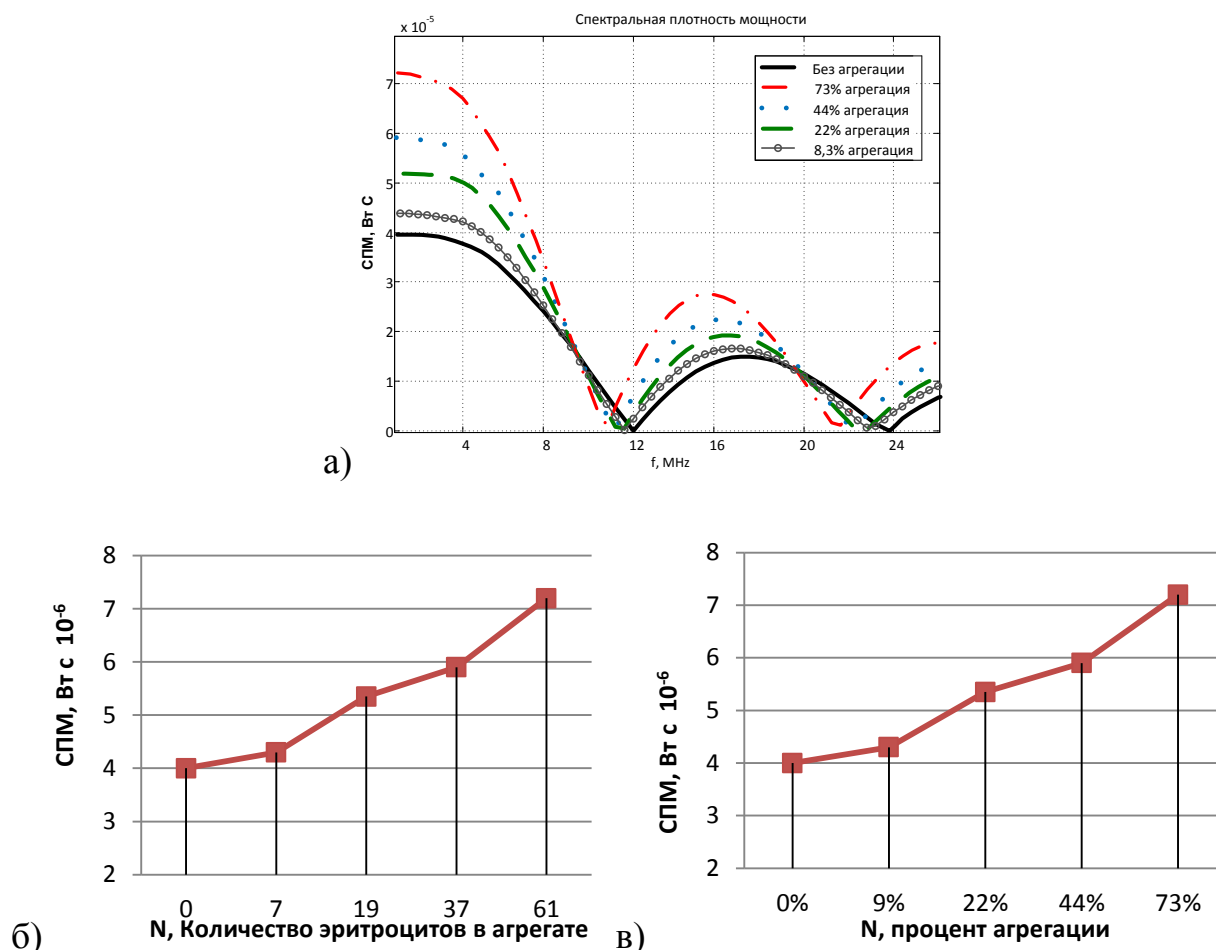


Рисунок 3.19 – а) Спектральная плотность мощности акустического сигнала при различных уровнях агрегации и размерах агрегатов; б) амплитуда СПМ акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании в зависимости от размеров агрегата и количества эритроцитов в нем

Математическое моделирование акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании от не агрегированных эритроцитов для различных значений гематокрита проводилось в разделе 3.2. При этом спектральная плотность мощности акустического сигнала увеличивалась по мере увеличения числа клеток (гематокрита) в области размером $100 \cdot 100$ мкм. Монотонное увеличение акустического сигнала наблюдается при повышенной концентрации красных кровяных телец, также наблюдалось снижение частоты главного максимума энергетического спектра в зависимости от количества эритроцитов и роста размеров агрегатов. Таким

образом, можно установить уровень гематокрита и оценить количество эритроцитов с помощью оптоакустического цитомера. Результаты расчетов, проведенных для математической модели формирования акустического сигнала от сферических поглотителей [16,164–166] в виде агрегированных эритроцитов, позволяют сделать вывод о возможности регистрации уровня агрегации эритроцитов в крови с помощью анализа акустического сигнала, возникающего в результате воздействия импульсного лазерного излучения в жидкой среде.

При низкой концентрации клеток коэффициент рассеяния увеличивается с гематокритом, потому что интенсивность обратного рассеяния отдельных эритроцитов в этом случае складывается. Но при более высокой концентрации эритроцитов, могут появиться некоторые эритроциты, для которых волны обратного рассеяния будут дифрагировать, и поэтому коэффициент обратного рассеяния будет падать с гематокритом [16,164–166].

Представленная здесь модель также использовалась для изучения того, как амплитуда акустического сигнала и спектральная плотность мощности будут изменяться в зависимости от уровня агрегации эритроцитов, при оптоакустическом преобразовании. Было отмечено, что амплитуда акустического сигнала возрастает с увеличением уровня агрегации. Тем не менее, требуется экспериментальное подтверждение этого вывода, так как существует много других факторов (таких как эффекты потока, промежуточные ткани и т.д.), которые могут влиять на чувствительность предлагаемой методики. Таким образом, этот метод можно использовать для измерения уровней агрегации эритроцитов, связанных с широким спектром патологий.

Алгоритм моделирования, реализованный в работе, способен генерировать компактные кластеры. В неагрегированном состоянии осталось лишь несколько клеток в имитируемых тканевых конфигурациях, имитирующих агрегированные образцы крови. Например, для самого высокого состояния кластеризации с $R_g = 16,06$ мкм, 99,74 % сформированных

кластеров и 0,26 % клеток остались в неагрегированном состоянии. В образце ткани с наименьшими кластерами ($R_g=16,06$ мкм), 96,37 % клеток, прикрепленных к кластерам, и 3,63 % клеток оказались неагрегированными клетками. Соответствующая средняя плотность упаковки клеток в кластерах оценивалась равной $0,59\pm 0,02$ из того же количества конфигураций тканей. Кроме того, это очень быстрый метод, потому что ячейки занимают только некоторые фиксированные местоположения внутри кластера. Следует отметить, что образцы освещались лазерным импульсом в виде дельта-функции. Соответственно, генерируемые акустические сигналы содержали широкий диапазон частот (рис. 3.13 - 3.19).

3.4 Исследование степени оксигенации эритроцитов оптоакустическим методом

После зарождения эритробластической формы клетки в костном мозге на стадии нормобласта происходит насыщение клетки гемоглобином. Когда эритроциты погибают, гемоглобин разрушается: атомы железа транспортируются в костный мозг белками, называемыми трансферринами, и снова используются для производства новых эритроцитов. Остальная часть гемоглобина образует основу билирубина, химического вещества, которое выделяется с желчью.

Каждая молекула гемоглобина состоит из четырех гемовых групп, окружающих глобиновую группу, образуя тетраэдрическую структуру. Гем, который составляет всего 4 процента от массы молекулы, состоит из органического соединения в форме кольца, известного как порфирин, к которому присоединен атом железа. Именно атом железа связывает кислород, когда кровь перемещается между легкими и тканями. В каждой молекуле гемоглобина содержится четыре атома железа, которые, соответственно, могут связывать четыре атома кислорода. Глобин состоит из двух связанных пар полипептидных цепей.

Гемоглобин S представляет собой вариант формы гемоглобина, который присутствует у людей с серповидно-клеточной анемией, тяжелой наследственной формой анемии, при которой клетки приобретают форму полумесяца при недостатке кислорода. Аномальные серповидные клетки преждевременно умирают и могут застрять в мелких кровеносных сосудах, что может препятствовать микроциркуляции и привести к повреждению тканей. Признак серповидности встречается в основном у лиц африканского происхождения, хотя заболевание встречается также у лиц ближневосточного, средиземноморского или индийского происхождения.

При воздействии коротким лазерным импульсом на тканевую жидкую среду, свет поглощается благодаря термоупругому расширению, следствием чего является излучение импульса звукового давления, который может быть принят ультразвуковым датчиком. Акустический сигнал используется для описания свойств среды и получения изображения тканевой среды. Изображение при оптоакустическом методе получается лучше, чем изображение, полученное при обратном рассеянии ультразвуковых колебаний, из-за разницы в оптическом поглощении, которое намного сильнее. В оптоакустике информация может быть получена с помощью фокусированного ультразвукового преобразователя.

Известно, что молекулы гемоглобина в эритроцитах проявляют себя, как доминирующие поглощающие свет хромофоры и формируют излучение акустического сигнала от эритроцитов. Существуют пространственные карты оксигенированных эритроцитов и дезоксигенированных эритроцитов для визуализации мозга животных с использованием оптоакустического метода [168]. В этой работе использовали большую разницу коэффициентов поглощения оксигенированных и дезоксигенированных эритроцитов на некоторых длинах волн света. Esenaliev и др. в [169], благодаря экспериментальной работе *in vitro*, показали, что акустический сигнал очень чувствителен к насыщению кислородом эритроцитов (SO_2) для большинства падающих оптических излучений.

В разделе проводится моделирование акустических сигналов от эритроцитов с учетом кислородонасыщения при оптоакустическом преобразовании. Для этого мы использовали теоретическую модель, разработанную в [115,165]. Пространственные организации непересекающихся случайно распределенных смесей оксигенированных и дезоксигенированных эритроцитов в 2D были получены с использованием алгоритма Монте-Карло. Предполагалось, что насыщение кислородом для кислородонасыщенных эритроцитов составляет 100 % и 0 % для дезоксигенированных. Доля кислородонасыщенных и бескислородных в такой смеси определяла уровень SO₂. Акустические сигналы были смоделированы из таких образцов. Временная область и особенности спектральной области акустических сигналов были исследованы как функция кислородонасыщения крови SO₂.

Аналитическое выражение акустического поля, генерируемого жидкой сферой при условии термического ограничения, можно записать в виде [58],

$$p_f^1(q) = \frac{i\mu\beta I_0 v_s \alpha^2}{C_p r} \frac{[\sin q - q \cos q] e^{ik_f(r-\alpha)}}{q^2 \left[(1-q) \left(\frac{\sin q}{q} \right) - \cos q + i\rho v \sin q \right]}, \quad (3.8)$$

где μ – коэффициент поглощения, C_p – изобарическая удельная теплоемкость, β – коэффициент теплового расширения, α – радиус поглощающей сферы, $\rho = \rho_s / \rho_f$ и $v = v_s / v_f$ – безразмерная плотность и скорость звука (v_s – скорость звука в эритроцитах, v_f – скорость звука в плазме крови), соответственно. Решение уравнения (3.8) может быть получено путем решения волнового уравнения для поля давления, возникающего вследствие поглощения света, с учетом граничных условий на сферической границе [115,165]. Значение плотности и скорость звука в эритроцитах составляли $\rho_s = 1092$ кг/м³ и $v_s = 1498$ м/с, соответственно. Значения этих параметров для окружающей среды (плазмы крови) были взяты равными $\rho_f = 1005$ кг/м³ и $v_f = 1498$ м/с. Нижние индексы s и f используются для обозначения сферической поглощающей области (эритроцита) и окружающей жидкой

среды (плазмы крови), соответственно. В верхнем индексе указано, что рассматривается только один источник. Безразмерная частота q определяется как $q = \omega\alpha/v_s = k_s\alpha$, α – радиус поглощающей сферы (эритроцита). При этом k_s и k_f – волновые числа акустической волны в поглощающей области и жидкой среде, соответственно: ω – частота модуляции падающего оптического излучения с интенсивностью I_0 .

Если освещенная область содержит два вида поглощающих сфер с различными коэффициентами оптического поглощения, но в остальном имеет одинаковые физические свойства, то генерируемое поле давления может быть выражено через линейную суперпозицию волн, излучаемых отдельными ячейками как [137]:

$$p_f^{en}(r, k_f) \approx \frac{i\mu\beta I_0 v_s \alpha^2}{C_p r} \frac{[\sin q - q \cos q] e^{ik_f(r-\alpha)}}{q^2 \left[(1-\rho) \left(\frac{\sin q}{q} \right) - \cos q + i\rho v \sin q \right]} \times \left(\mu_0 \sum_{n=1}^{N_0} e^{-ik_f r_n} + \mu_D \sum_{n=N_0+1}^N e^{-ik_f r_n} \right) \quad (3.9)$$

где N_0 – количество эритроцитов с кислородонасыщением с коэффициентом поглощения μ_0 и $N_D = N - N_0$ – число эритроцитов без кислорода с коэффициентом поглощения μ_D . Геометрия возбуждения акустического сигнала показана на рисунке 3.20. Темные (красные) и серые (голубые) заполненные круги представляют собой два вида оптоакустических источников с различными коэффициентами поглощения, занимающими освещенную лазером область.

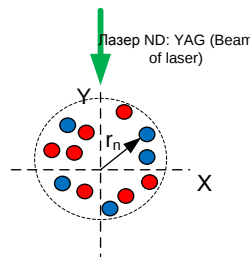


Рисунок 3.20 – Геометрия задачи. Два вида источников акустического сигнала (темные/красные - оксигенированные эритроциты, а серые/голубые круги - дезоксигенированные эритроциты) с различными коэффициентами поглощения, при воздействии лазером.

Поле звукового давления при равномерном освещении импульсом нагрева дельта-функции может быть получено с помощью преобразования Фурье как

$$p_f(r, k_f) \approx \frac{i\beta F I_0 v_s \alpha^2}{2\pi C_p r} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{[q \sin - q \cos q] e^{ik_f(r-\alpha)}}{q^2 \left[(1-\rho) \left(\frac{\sin q}{q} \right) - \cos q + i\rho v \sin q \right]} \times \left(\mu_0 \sum_{n=1}^{N_0} e^{-ik_f r_n} + \mu_D \sum_{n=N_0+1}^N e^{-ik_f r_n} \right) d\omega \quad (3.10)$$

где F – флюенс оптического излучения. Акустический сигнал регистрировался в дальнем поле.

Рассмотрим 2D модель в области 100 x 100 мкм, которая была равномерно облучена оптическим излучением. Размер области исследования состоял из смесей кислородонасыщенных и бескислородных эритроцитов, при условии не перекрытия частиц и гематокрите $H=45\%$ (дробная площадь, занимаемая клетками, определяется как гематокрит). Соотношение, при котором кислородонасыщенные и бескислородные эритроциты были смешаны, т.е. насыщение кислородом образца моделируемой ткани считалось, как $SO_2 = N_O = (N_O + N_D)$. Ячейки размещались в область исследования с использованием алгоритма Монте-Карло [158]. На рис.3.21 показаны моделируемые реализации тканей, соответствующие уровням SO_2 1 %, 25 %, 50, 75 % и 99 %.

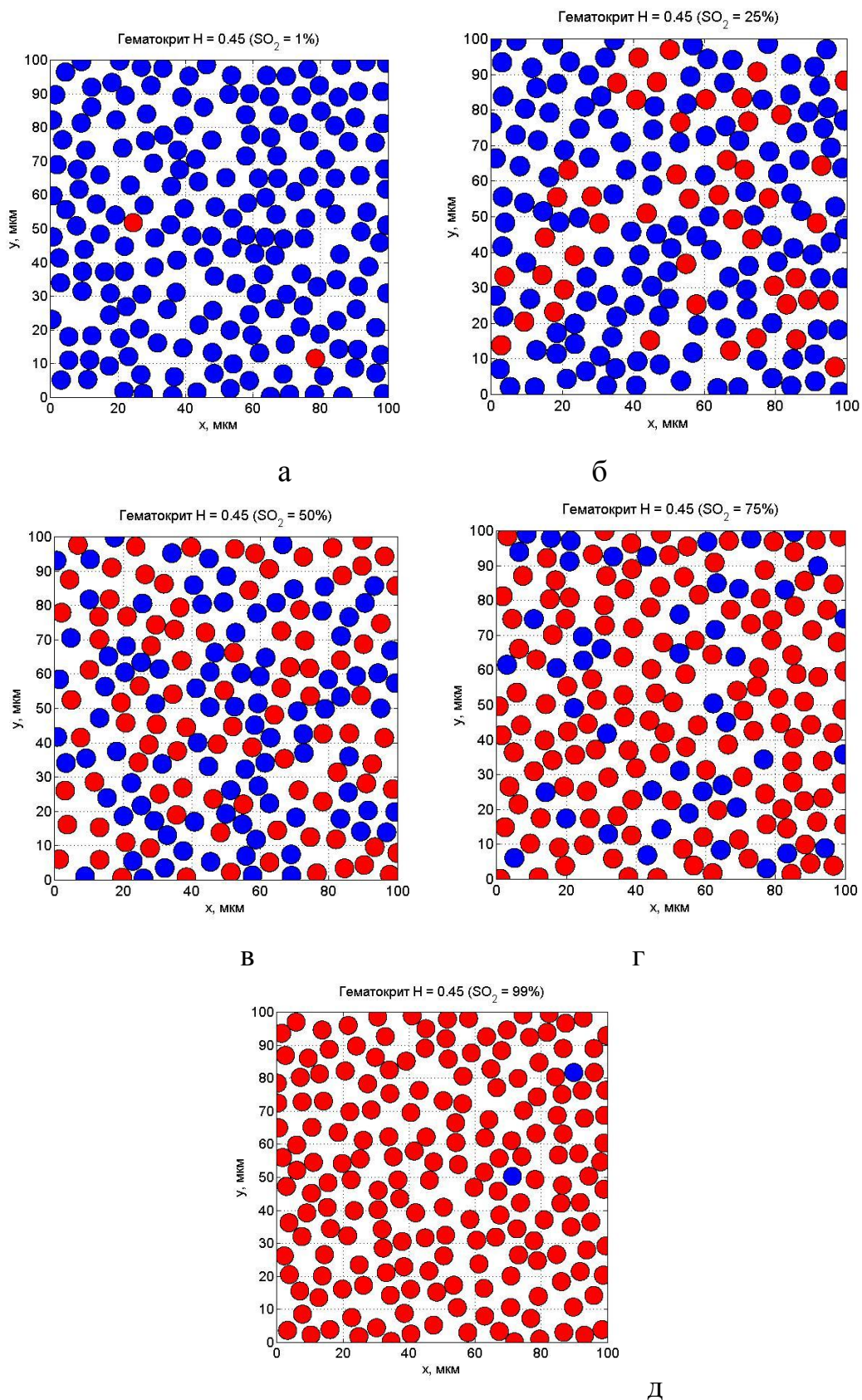
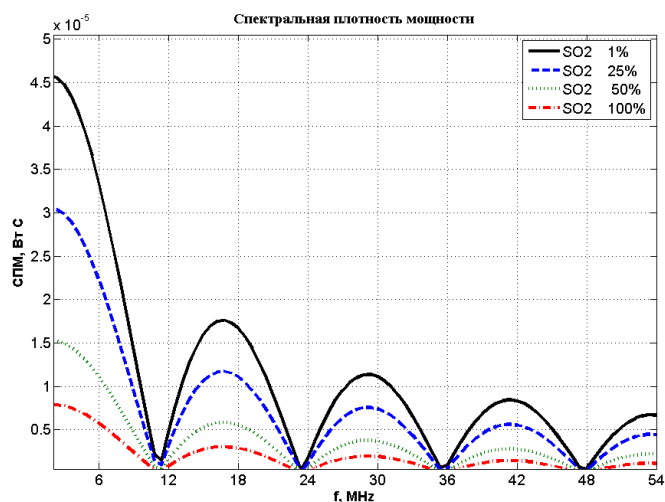
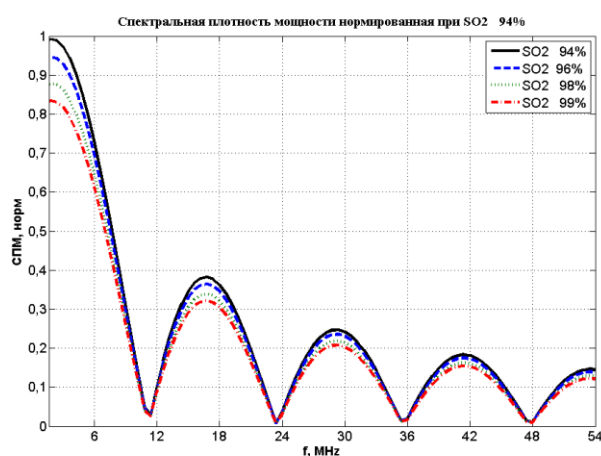


Рисунок 3.21 – Моделируемые реализации тканей, соответствующие уровням SO_2 а) 1%, б) 25 %, в) 50 %, г) 75%, д) 99% при 45% гематокрите (темные/красные круги представляют собой оксигенированные эритроциты, а серые/голубые круги обозначают дезоксигенированные эритроциты).



а)



б)

Рисунок 3.22 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала: а) при 1%, 25%, 50% и 100% SO₂; б) при 94%, 96%, 98%, 99% SO₂ (нормировано на 94% SO₂); для оптического излучения 700 нм.

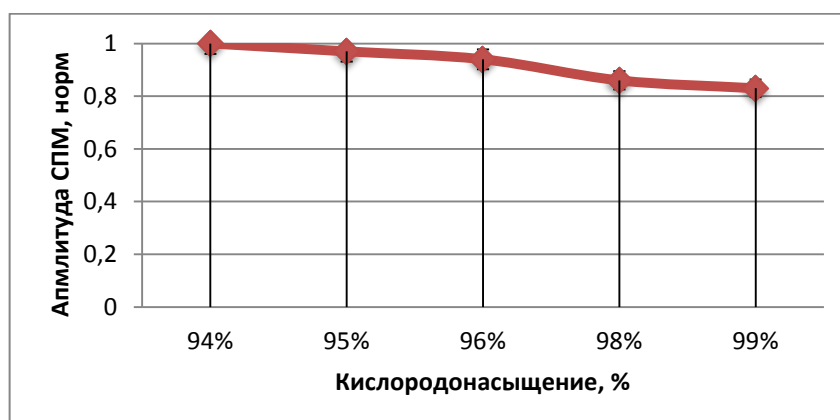


Рисунок 3.23 – Изменение средней амплитуды спектральной плотности мощности акустического сигнала в зависимости от кислородонасыщения SO₂ (нормировано на 94% SO₂) при облучении оптическим излучением с длиной волны 700 нм.

Численные значения физических свойств эритроцита, используемые в моделировании, приведены в таблице 3.2 [160]. Клетки суспензировали в солевом растворе, его физические свойства приведены в таблице 3.4. Коэффициент поглощения среды внутри оксигенированных эритроцитов оценивали путем умножения концентрации молекул гемоглобина внутри клетки с молярным коэффициентом экстинкции для оксигенированных молекул гемоглобина [170]. Для этого случая предполагалось, что все молекулы гемоглобина полностью присоединили кислород. Обратим внимание, что около 280–340 миллионов молекул гемоглобина присутствуют в эритроците, имеющем объем 87 мкм^3 [171], и это обеспечивает концентрацию около $5,34 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Аналогично, коэффициент поглощения для дезоксигенированных эритроцитов оценивался с использованием молярного коэффициента экстинкции для молекул дезоксигенированного гемоглобина [170]. Коэффициенты поглощения были рассчитаны для падающих лазерных излучений с разными длинами волн 700 и 1064 нм и показаны в таблице 3.5 согласно значениям полученным в [170] (рисунок 3.24).

Для каждого уровня насыщения были сформированы 250 конфигураций тканей [17,172].

Таблица 3.4 –Численные значения физических параметров, используемых при моделировании [131]

Область исследования	100 x 100 мкм
H	45%
a	2.75 мкм
ρ_s	1092 кг/м^3
v_s	1639 м/с
ρ_f	1005 кг/м^3
v_f	1498 м/с
β	$1,5 \cdot 10^{-4} \text{ К}^{-1}$
C_p	3230 Дж/(кг К)
F	1 Дж/м ²

Таблица 3.5 – Коэффициенты поглощения оксигенированных и дезоксигенированных эритроцитов при двух длинах волн оптического излучения.

Длина волны, нм	коэффициент оптического поглощения освещенной среды оксигенированных эритроцитов, м^{-1} ,	коэффициент оптического поглощения освещенной среды дезоксигенированных эритроцитов, м^{-1}
700	356,6	2206,6
1064	1259,3	254,3

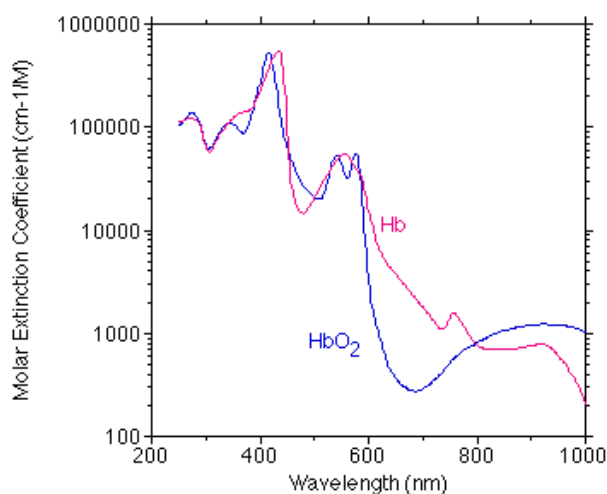


Рисунок 3.24 – Коэффициенты поглощения для падающих лазерных излучений с разными длинами волн 700 и 1064 нм, (кривая HbO_2 – кислородонасыщенные эритроциты, Hb – дезоксигенированные эритроциты) [170]

Спектральная плотность мощности для различных уровней кислородонасыщения SO_2 при длине волны лазера 700 нм приведена на рис. 3.22. При этом спектральная плотность мощности уменьшалась по мере увеличения кислородонасыщения SO_2 . Спектральная плотность мощности при $\text{SO}_2 = 0\%$ на каждой частоте в 6 раз больше, чем у $\text{SO}_2 = 100\%$, так как в этом случае отношение $\mu_{\text{O}} : \mu_{\text{D}} = 1 : 6$ (рис 3.22а). На рисунке 3.23 показано, как амплитуда СПМ акустического сигнала демонстрирует монотонное уменьшение с ростом SO_2 [17,172]. Уровень кислородонасыщения ниже 94% считается опасным и может приводить к анемии и другим патологиям. Таким образом, если принять пороговый уровень кислородонасыщения 94% за

единицу, то можно оповещать пациента при возрастании амплитуды спектральной плотности мощности выше порогового уровня принятого за 1 (см. рис. 3.22б).

Аналогичным способом проведем моделирование акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании при длине волны лазера 1064 нм.

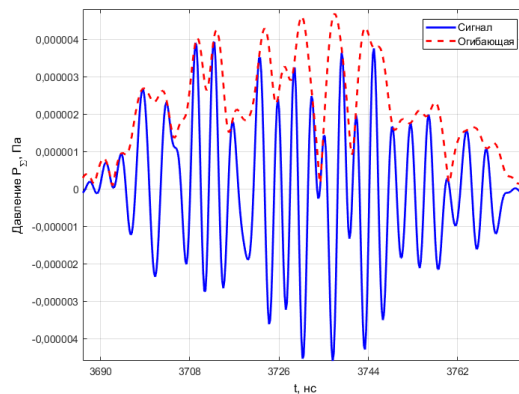


Рисунок 3.25 – Акустический сигнал при кислородонасыщении 1% (с огибающей сигнала)

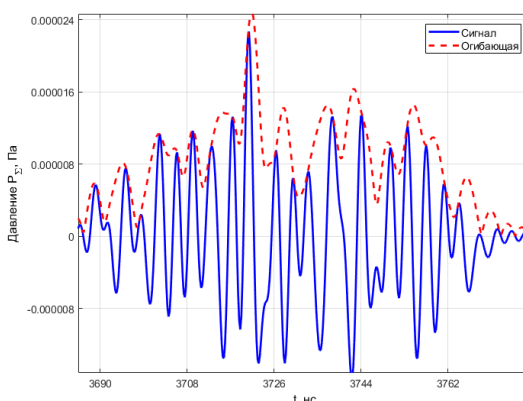


Рисунок 3.26 – Акустический сигнал при кислородонасыщении 99% (с огибающей сигнала)

На рисунках 3.25-3.26 показаны кривые уровня давления акустического сигнала для моделируемых образцов с $SO_2 = 1\%$ и 100% , соответственно, при освещении лазерным источником с длиной волны 1064 нм. Наблюдаются резкие изменения амплитуды акустического сигнала, что связано с наличием высокочастотных компонентов [17,172].

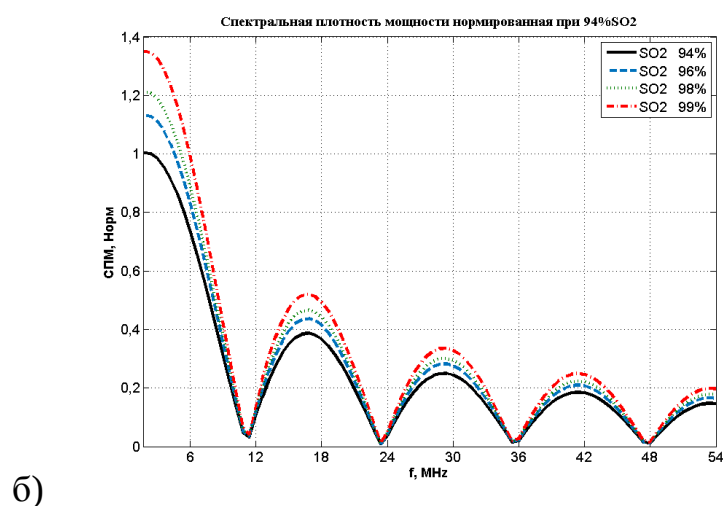
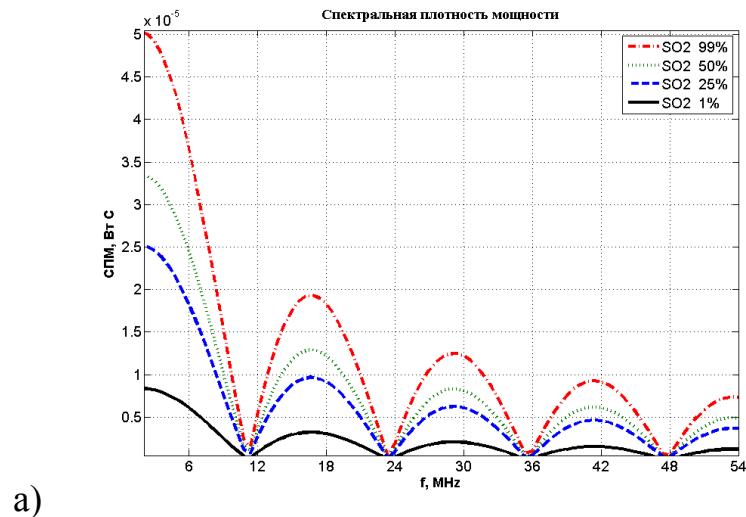


Рисунок 3.27 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала: а) при 1%, 25%, 50% и 100% SO₂; б) при 94%, 96%, 98%, 99% SO₂ (нормировано на 94% SO₂) для оптического излучения 1064 нм

На рис.3.27 показаны спектральные плотности мощности акустического сигнала при 1%, 25%, 50% и 100% для источника света с длиной волны 1064 нм. По мере увеличения кислородонасыщения SO₂ спектральная мощность сигнала также увеличивалась. Амплитуда акустического сигнала увеличилась в 6 раз при SO₂ = 100%, чем в SO₂ = 0%, при $\mu_0 : \mu_D = 1 : 6$ (рис.3.27а). Рисунок 3.27б иллюстрирует диапазон изменения амплитуды СПМ акустического сигнала от 94% до 99% SO₂, нормированной на

критическое значение кислородонасыщения при 94%. На рисунке 3.28 показано изменение средней амплитуды СПМ акустического сигнала в диапазоне от 94% до 99% кислородонасыщения от SO₂.

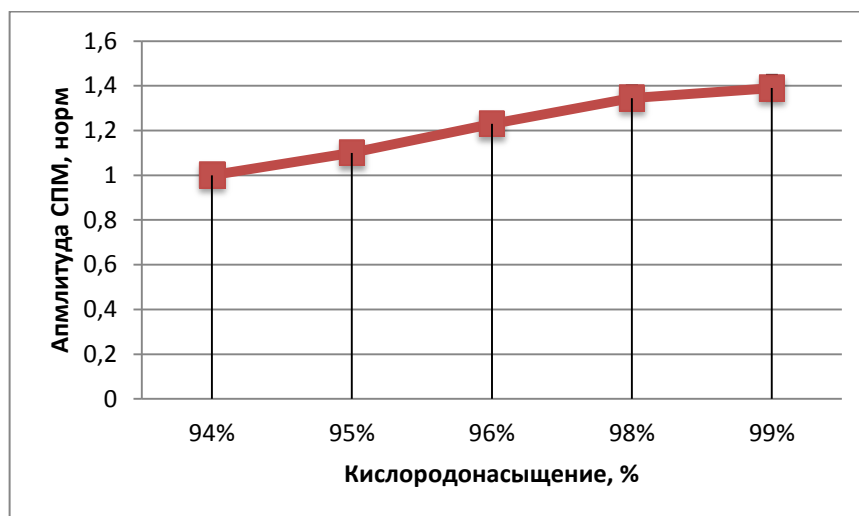


Рисунок 3.28 – Зависимость нормированного значения амплитуды акустического сигнала от кислородонасыщения относительно уровня кислородонасыщения 94% (1064нм)

В разделе представлена теоретическая модель для изучения эффектов оксигенации эритроцитов с использованием оптико-акустического эффекта. Эритроцит рассматривался как жидкая сфера. Принцип суперпозиции использовался для получения результирующего поля акустического сигнала, генерируемого набором эритроцитов. Разработан алгоритм для моделирования реализации 2D тканей, состоящей из оксигенированных эритроцитов и дезоксигенированных эритроцитов. Уровень кислородонасыщения принимался равным 100% для оксигенированных (O) и 0% для дезоксигенированных эритроцитов (D). Доля оксигенированных и дезоксигенированных определяла кислородное насыщение (SO₂) образца крови как $SO_2 = N_O = (N_O + N_D)$, где N_O и N_D представляют собой количество оксигенированных и дезоксигенированных эритроцитов. Результаты моделирования показали, что средняя амплитуда акустического сигнала монотонно уменьшалась в 6 раз при повышении уровня SO₂ для лазерного излучения с длиной волны 700 нм. Так же амплитуда акустического сигнала

увеличилась в 6 раз для длины волны лазерного излучения 1064 нм при изменении уровня SO₂ от 0 до 100 %. Это указывает на адекватность предложенной модели для моделирования поведения акустического сигнала при разных уровнях SO₂ [17,160,172].

3.5 Выводы по главе

1. Разработана математическая модель образца крови и сформировано теоретическое распределение эритроцитов в зависимости от гематокрита. Создана математическая модель для формирования акустического сигнала от эритроцитов и проведен расчет профиля акустического сигнала от одиночного эритроцита и от моделей образцов крови при разных значениях гематокрита. Установлено, что с ростом количества неагрегированных эритроцитов увеличивается амплитуда акустического сигнала, что дает возможность определения различных уровней гематокрита, исследование состава крови и оценки количества неагрегированных эритроцитов.

2. Разработан алгоритм моделирования генерации компактных кластеров. Сформированы модельные образцы биологических тканей с различной степенью агрегации и размерами агрегатов, для них рассчитаны акустические сигналы и их спектральные плотности мощности. Установлено, что амплитуда спектра возросла примерно в 1,45 раза (на 4,4 дБ) для агрегированного образца крови с 45% гематокрита (средний радиус вращения кластеров 12,06 мкм) по сравнению с неагрегатной кровью при том же гематокрите (средний радиус - 2,75 мкм). Аналогично, увеличение амплитуды акустического сигнала в 1,32 раза наблюдалось для радиуса агрегата 8,99 мкм. Полученные численные значения показывают, что оценка уровня агрегации эритроцитов в крови человека возможна методом оптоакустической спектроскопии [16,164–166]. Результаты вычислительных экспериментов позволяют сделать вывод о возможности регистрации степени агрегации эритроцитов с помощью оптоакустического эффекта,

возникающего в результате воздействия лазерного излучения ИК-диапазона на модельные образцы клеток в жидкой среде.

3. Разработана теоретическая модель определения уровня оксигенации эритроцитов с помощью оптоакустического эффекта. Разработан алгоритм для моделирования реализации 2D тканей, состоящей из оксигенированных эритроцитов и дезоксигенированных эритроцитов. Эритроцит рассматривался как жидкая сфера. Получено результирующее поле, для акустического сигнала, генерируемое набором эритроцитов в моделируемой ткани с использованием принципа суперпозиции. Установлено, что усредненная амплитуда огибающей акустического сигнала показала 6-кратное уменьшение при повышении уровня кислородонасыщения SO_2 от 0 до 100% для лазерного излучения с длиной волны $\lambda=700$ нм. Монотонное повышение уровня акустического сигнала (6-кратное увеличение) наблюдалось для длины волны оптического источника $\lambda=1064$ нм при увеличении уровня SO_2 от 0 до 100%.

4. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА В СРЕДЕ С НОРМАЛЬНЫМИ И ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫМИ ЭРИТРОЦИТАМИ

4.1 Использование оптоакустического эффекта для характеристики патологий эритроцитов. Постановка задачи

Малярийный паразит в процессе его внутриэритроцитарного развития перерабатывает большое количество гемоглобина эритроцитов и превращается в форму гема, называемую гемозоином (HZ). Молярный коэффициент экстинкции гемозоина сильно отличается от гемоглобина на некоторых длинах волн оптического излучения (рисунок 4.3). Следовательно, поглощение света и акустический сигнал от зараженной клетки будет отличаться от отклика здоровой клетки. Акустические сигналы рассчитаем на основе смоделированных образцов крови с различными стадиями инфекции (нормальный эритроцит, кольцо, трофозоит и шизонт).

Малярия представляет собой серьезную проблему для здоровья населения в тропических и субтропических регионах земного шара. Во многих случаях последствия этого заболевания являются фатальными. *Plasmodium falciparum* является самым смертоносным паразитом и ответственным за большинство этих смертей [173]. Необходима простая, быстрая, точная и доступная диагностическая система для раннего выявления этого заболевания и своевременного применения противомалярийных препаратов для предотвращения его последствий. К сожалению, лучший диагностический метод, такой как микроскопическое исследование высокой мощности микромассивных мазков, окрашенных Гимзой, используется только в лабораторных условиях [174].

Существует множество методов, которые были предложены и разработаны для решения задач *in situ*. Несмотря на значительные усилия исследователей, существующие методы удовлетворяют требованиям лишь частично. Многие исследования также были направлены на изучение структурных и биохимических свойств гемозоина. Полное знание о HZ

является обязательным для понимания того, как противомалярийные препараты взаимодействуют с ним и препятствуют его образованию. Кроме того, HZ обладает магнитным моментом, поэтому определяется посредством магнито-резонансной томографии и характеризует зараженные малярией клетки [175,176]. Оптическая техника также использовалась для получения количественной оценки распределения показателя преломления у малярийного паразита, который попал в эритроциты [177].

Balasubramanian и др. использовали оптоакустический эффект для характеристики пигмента малярии [178,179]. Выводы их исследования заключаются в следующем. Спектры акустических сигналов для хлороатомных паразитов обнаруживают взаимодействие *in situ* между лекарственным средством и феррипротопорфирином. Более того устойчивые к хлорохину паразиты, легко различимые этим методом, частично ухудшают Hb. Однако, насколько известно, акустические сигналы от образцов, зараженных малярией, полученные с помощью оптоакустического эффекта, до сих пор не изучались ни одной группой [180].

Используем разработанную теоретическую модель в [16,18,152,172] для изучения влияния интраэритроцитарного развития малярийного паразита на формирование акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании. Акустические сигналы генерировались в смоделированных образцах нормальной и инфицированной (например, кольца, трофозонта и шизонта) крови. Конфигурации тканей в 3D были построены путем моделирования методом Монте-Карло. Моделируемые акустические сигналы анализировались во временной и частотной области для получения зависимости от инфекционных признаков. В этом разделе предполагается, провести исследования, как уровни малярийной инфекции в крови могут быть обнаружены с использованием ОА метода.

4.2 Теоретическое исследование внутриэритроцитарной стадии паразита малярии с использованием оптоакустического метода

Теоретическая модель, использованная в этом исследовании, была детально представлена в публикациях [16,18,152,172]. Поле давления акустического сигнала, генерируемое сферическим поглотителем радиуса a , определяется путем решения волнового уравнения, которое получается при условии теплового ограничения в частотной области с соответствующими граничными условиями и задается как в [115]:

$$p_f^1(r, k, f) = \frac{i\mu_s\beta_s I_0 v_s a_s^2}{C_{p_s} r} \times \frac{j_1(q) e^{ik_f(r-a_s)}}{[(1-\rho)(\sin q / q) - \cos q + i\rho v \sin q]} \quad (4.1)$$

где I_0 – интенсивность падающего света, распространяющаяся вдоль оси x и модуляцией оптического излучения ω ; $k_f = \omega/v_f$ и $k_s = \omega/v_s$ – волновые числа акустической волны жидкости и поглощающей среды, соответственно; v_f и v_s – скорость звука жидкости и поглощающей среды, соответственно; ρ_f и ρ_s – плотность жидкости и поглощающей среды, соответственно; $\rho = \rho_s/\rho_f$, $v = v_s/v_f$ и $q = k_s a_s$; β_s , C_{p_s} и μ_s – изобарический коэффициент теплового расширения, изобарическая удельная теплоемкость и коэффициентом поглощения света для среды внутри сферического поглотителя, соответственно; j_1 – сферическая функция Бесселя первого порядка. Геометрия задачи приведена на рис.4.1.

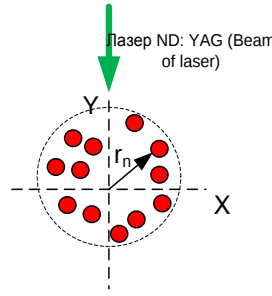


Рисунок 4.1 – Схема геометрии формирования акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании.

Если в области освещения имеется более одного поглотителя (см. рис. 4.1), то результирующая звукового давления акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании может быть получена с использованием принципа линейной суперпозиции волн, излучаемых отдельными источниками [16,18,152,172]:

$$p_f^{\Sigma}(r, k_f) \approx \frac{i\mu_s \beta_s I_0 v_s a_s^2}{C_{P_s} r} \times \frac{j_1(q) e^{ik_f(r-a_s)}}{[(1-\rho)(\sin q / q) - \cos q + i\rho v \sin q]} \times \sum_{n=1}^N e^{-ik_f r_n} \quad (4.2)$$

При выводе выражения (4.2) предполагалось, что поглотители возбуждались одновременно с одинаковой интенсивностью света. Кроме того, многократным рассеянием света и акустических волн пренебрегалось. Звуковое давление в зависимости от времени при равномерном освещении поглотителей импульсом нагрева в виде дельта-функции может быть выражено как

$$p_f^{\Sigma}(r, k_f) \approx \frac{i\mu_s \beta_s F v_s a_s^2}{2\pi C_{P_s} r} \int_{-\infty}^{\infty} d\omega \times \frac{j_1(q) e^{ik_f(r-a_s-v_f t)}}{[(1-\rho)(\sin q / q) - \cos q + i\rho v \sin q]} \times \sum_{n=1}^N e^{-ik_f r_n}, \quad (4.3)$$

где F – флюенс энергии лазерного луча. Выражение (4.3) описывает теоретическую модель акустического сигнала от моделируемых эритроцитов на разных стадиях малярийной инфекции.

Моделирование акустического сигнала начинается с генерации реализаций тканей. Размер объема моделирования - 100 x 100 x 100 мкм.

Этот объем заполнялся эритроцитами, аппроксимированными в виде жидкостных сфер с 40% -ной упаковочной фракцией. Конструкция конфигураций тканей в 3D при такой высокой концентрации клеток является довольно сложной для вычисления. Для эффективного создания реализаций ткани объем моделирования был разделен на несколько подблоков объемом 100 x 10 x 10 мкм для каждого. Каждый подблок заполнялся отдельно сферами, имитирующими эритроциты. Сферы были помещены в подблок путем реализации алгоритма Монте-Карло. Условие «неперекрывания» всегда проверялось при создании случайных положений сфер. Сферы, близкие к границам, также поддерживали условие отсутствия перекрытия с соседними подблоками. Этот подход (например, заполнение подблоков) оказался более быстрым, чем заполнение всего блока за один раз. На рис. 4.2 показаны моделируемые конфигурации тканей, соответствующие нормальным, кольцевым, трофозоитовым и шизонтным стадиям. Здесь сплошные заполненные круги представляют собой эритроциты, а внутренние окружности обозначают вакуоли. Ячейки были случайным образом размещены в круговых конфигурациях. Внутренние круги также были случайным образом размещены внутри ячеек. Для каждой зараженной клетки существуют два ядра. Молекулы Hb и HZ присутствуют во внешнем и внутреннем ядрах, соответственно. Можно отметить, что объемная доля, занятая вакуолью в инфицированной клетке, взята из литературы [177]. Двумерные реализации показаны на рисунках для лучшей визуализации конфигураций тканей, при вычислении (4.3) использовались образцы трехмерной ткани.

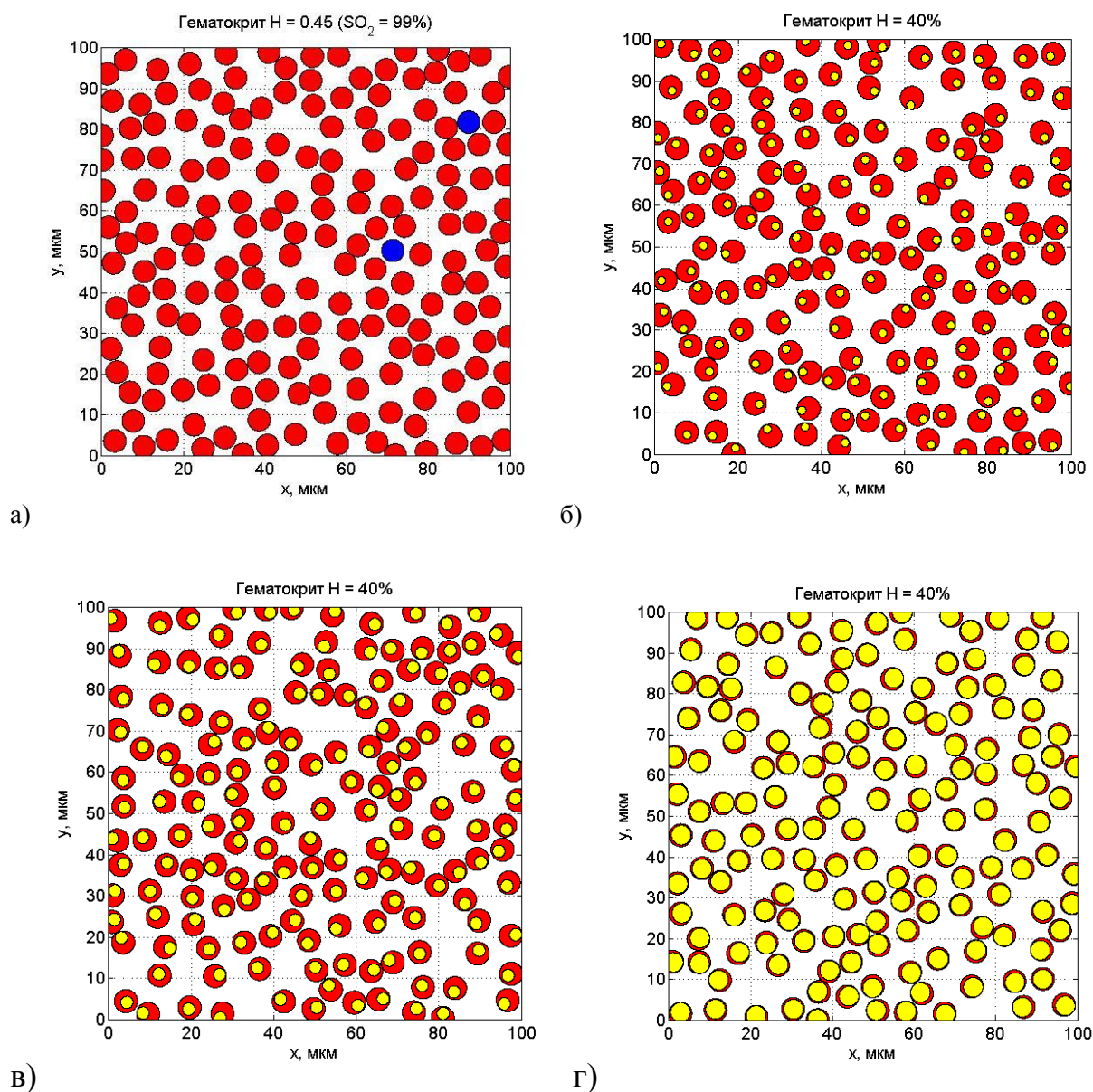


Рисунок 4.2. –Реализация 2D-ткани с внутриэритроцитарными инфекциями: а - здоровый эритроцит, б - кольцо, в - трофозоит, г – шизонт.

На рисунках 4.2 приведены 4 разных этапа заражения. Каждый большой круг на каждой фигуре представляет собой эритроцит, а внутренние круги указывают на паразитические вакуоли на разных стадиях [16,18,133,172].

Для вычисления выражения (4.3) требуются численные значения различных физических параметров для эритроцитов. Значения механических и тепловых параметров были взяты из литературы [160,177] и приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 –Количественные значения для физических параметров эритроцита и окружающей среды (солевой раствор)

Параметр	Обозначение, размерность	Значение
Радиус эритроцита	a_s (мкм)	2.7
Плотность	ρ_s (кг/м ³)	1092
Скорость звука	v_s (м/с)	1639
Коэффициент теплового расширения	β_s (10 ⁻⁴ К ⁻¹)	1.5
Удельная теплоемкость	C_{ps} (10 ³ Дж/кгК)	3.23
Плотность жидкой среды	ρ_f (кг/м ³)	1005
Скорость звука в жидкой среде	v_f (м/с)	1498

Оптическое поглощение здоровых и инфицированных клеток оценивалось, путем расчета взвешенной по объему суммы индивидуальных вкладов в виде $\mu_s = (e_{HbO_2} \cdot n_{HbO_2} + e_{H_2} \cdot n_{H_2}) / N_A V$. Где e и n это молярный коэффициент экстинкции и число молекул хромофора соответственно, присутствующего в клетке, соответственно; N_A - число Авогадро, а V — объем клетки.

Таблица 4.2 – Оптические коэффициенты поглощения для полностью оксигенированного эритроцита на разных стадиях инфекции.

Стадии эритроцита	Цитоплазма	Вакуоль	μ_s (м ⁻¹)	
	(мкм ³)	(мкм ³)	532 нм	700 нм
Здоровый эритроцит	93,1	0,0	536789,42	333,56
Кольцо	88,5	4,6	514369,10	2394,13
Трофозоит	57,5	35,6	365434,11	16082,22
Шизонт	34,2	58,9	253332,51	26385,08

Для расчета по выражению (4.3) требуется дополнительная информация о коэффициенте поглощения оптического сигнала. Как

указывалось ранее, при внутриэритроцитарном развитии малярийный паразит переваривает значительное количество гемоглобина Hb и преобразуется в форму гема H_z, хранящуюся в вакуолях (см. рис. 4.2). Эти два вида будут действовать, как светопоглощающие хромофоры и вносить вклад в часть коэффициента поглощения рис. 4.3-4.5 [181]. Кроме того, вклады от HZ гемозоина увеличивались с ростом паразита.

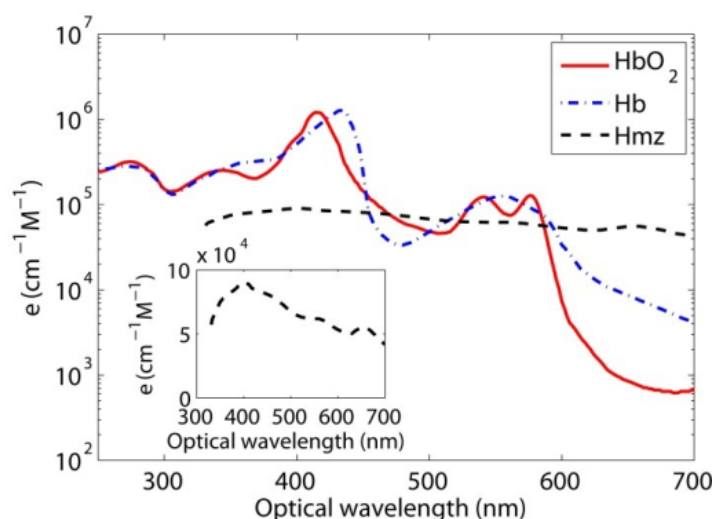


Рисунок 4.3 – Графики молярного коэффициента экстинкции для оксигемоглобина (HbO₂) и гемозойных (ГЗ (HZ)) молекул [181]

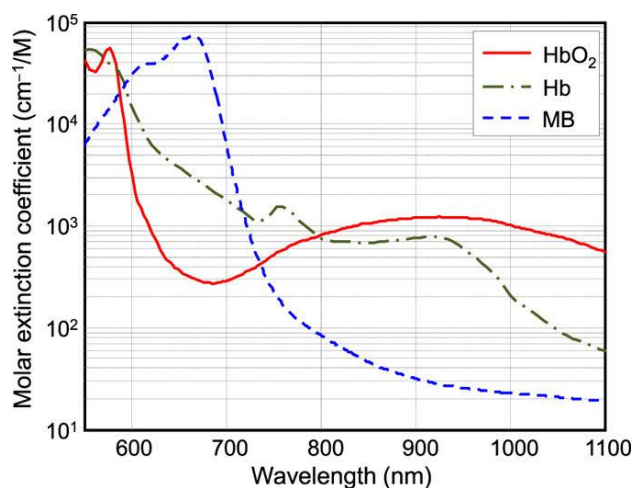


Рисунок 4.4 – Молярный коэффициент экстинкции оксигемоглобина (HbO₂) и дезоксигемоглобина (Hb), а также метиленовый синий (MB) краситель [181]

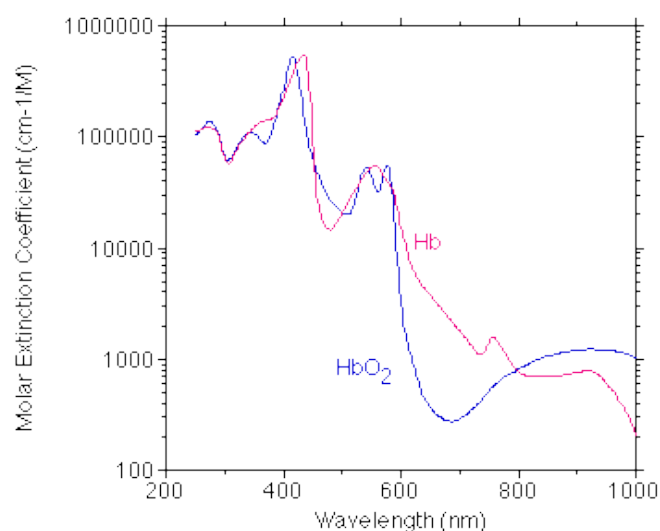


Рисунок 4.5 – Молярный коэффициент экстинкции (спектр Hb и HbO₂) [181]

Выражение (4.3) было численно рассчитано методом трапеций для различных образцов. Амплитуда сигнала в зависимости от времени была получена из абсолютных значений набора комплексных временных рядов. Для каждого этапа были созданы 200 линий из 200 различных конфигураций трехмерной ткани [116].

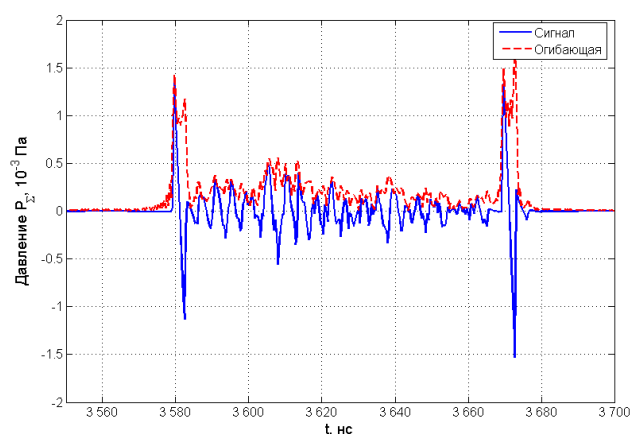


Рисунок 4.6 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 532 нм для образца, состоящего из нормальных клеток.

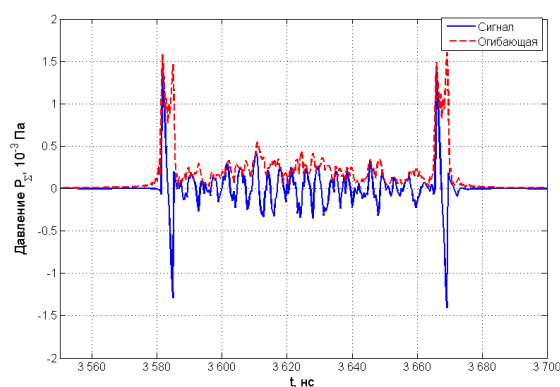


Рисунок 4.7 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 532 нм для образца, для клеток со стадией кольца

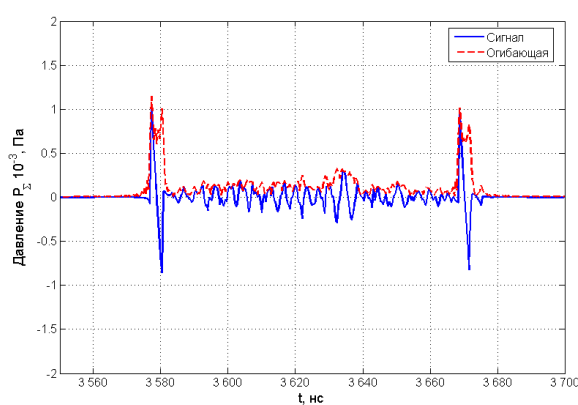


Рисунок 4.8 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 532 нм для образца, для клеток со стадией трофозонта

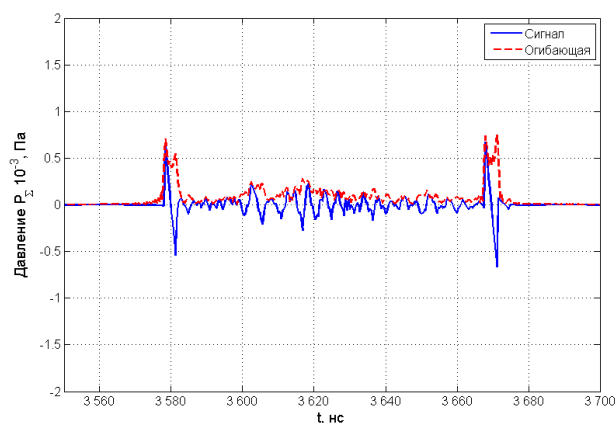


Рисунок 4.9 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 532 нм для образца, для клеток со стадией шизонта.

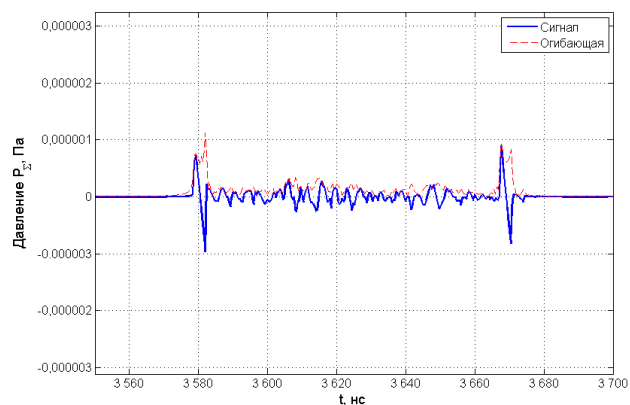


Рисунок 4.10 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 700 нм для образца, состоящего из нормальных клеток.

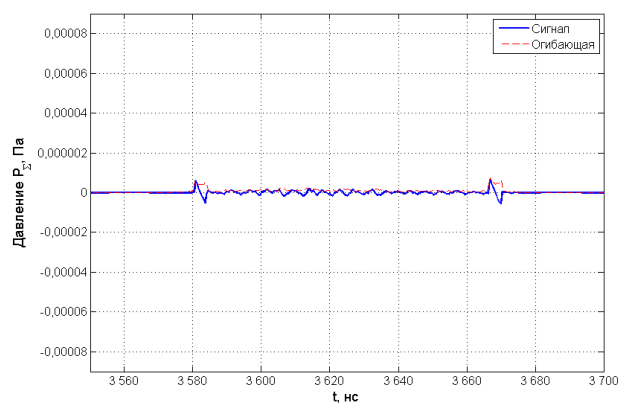


Рисунок 4.11 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 700 нм для образца, для клеток со стадией кольца

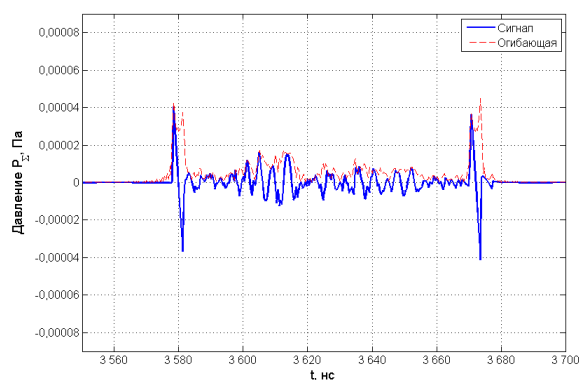


Рисунок 4.12 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 700 нм для образца, для клеток со стадией трофозойта

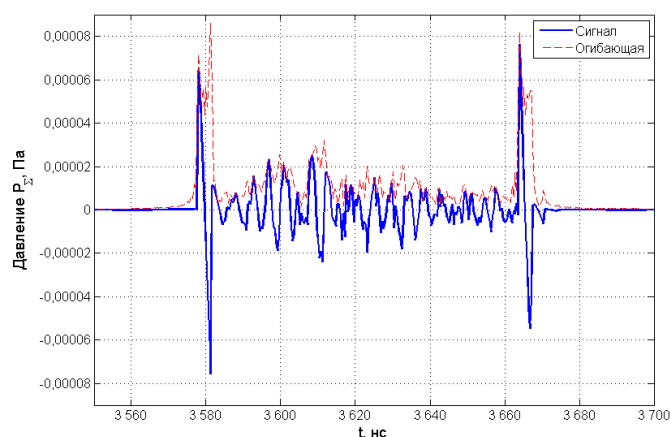


Рисунок 4.13 – Моделируемый акустический сигнал, полученный в результате оптоакустического преобразования, для оптического излучения с длиной волны 700 нм для образца клеток со стадией шизонта.

На рис. 4.6 показан акустический сигнал, полученный при освещении лазерным лучом с длиной волны 532 нм образца со здоровыми клетками. Аналогично, на рис. 4.9 показан акустический сигнал для множества инфицированных клеток (степень шизонта).

Из этих рисунков видно, что уровень сигнала от каждой границы значительно выше, чем у центральной области. Это происходит потому, что акустические сигналы от отдельных источников, близких к каждой границе, встречаются согласованно из-за их близости. Однако для центральной области сигналы из разных источников складываются в противофазе, что приводит к большому подавлению сигнала. Кроме того, уровень сигнала на рис. 4.6 намного больше, чем на рис. 4.9.

Ожидается, что коэффициент клеточного поглощения для здоровых клеток выше, чем у инфицированных клеток для этого оптического излучения (см. Таблицу 4.2) [116].

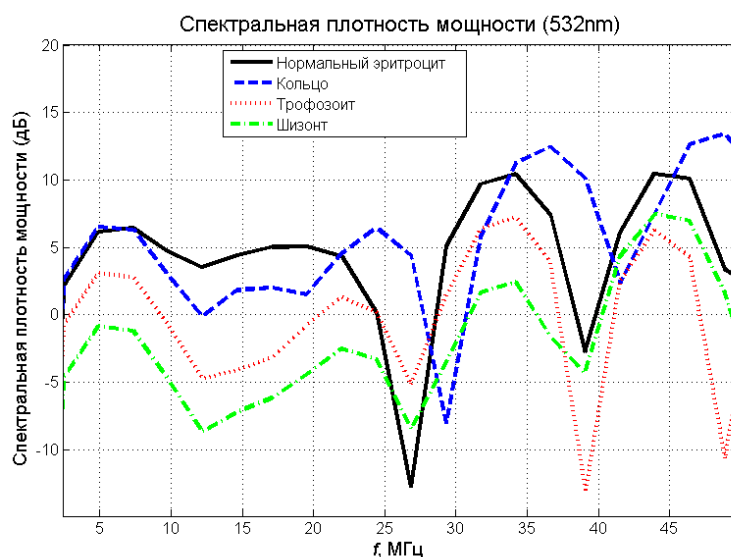


Рисунок 4.14 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала, полученного в результате оптоакустического преобразования, при длине волны оптического излучения 532 нм

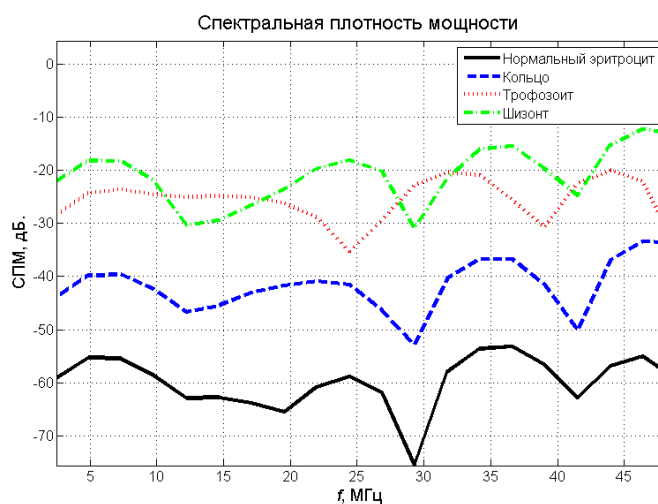


Рисунок 4.15 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала, полученного в результате оптоакустического преобразования, при длине волны оптического излучения 700 нм

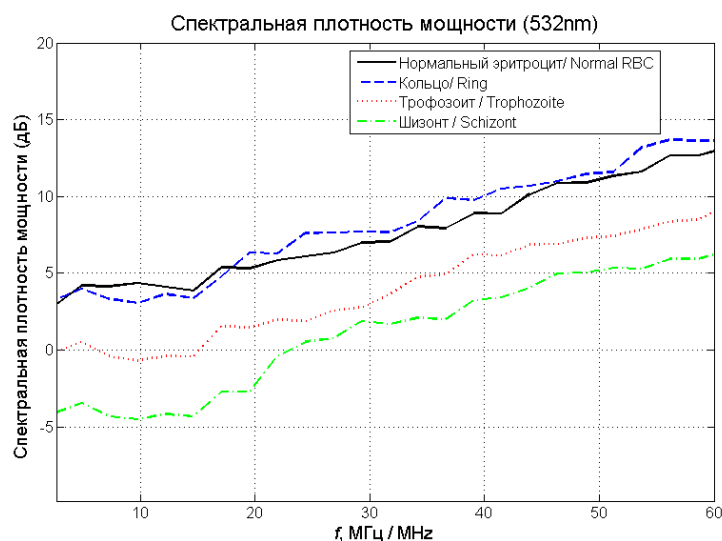


Рисунок 4.16 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала, полученного при оптоакустическом преобразовании (скользящие средние), при облучении оптическим излучением с длиной волны 532 нм

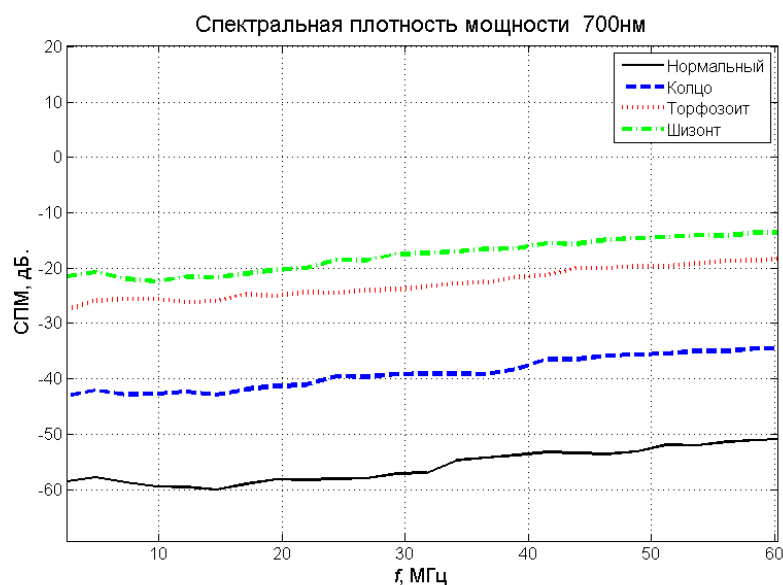


Рисунок 4.17 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала, полученного при оптоакустическом преобразовании (скользящие средние), при облучении оптическим излучением с длиной волны 700 нм

Спектральная плотность мощности сигнала, усредненная по 200 проведенным расчетам, показана на рисунках 4.14 и 4.16 для нормальных и зараженных клеток до частоты 60 МГц (этот диапазон представляет интерес с точки зрения характеристики стадии заболевания и изображения ткани).

Спектральные линии между нормальной и кольцевой степенью поражения плохо различаются при 532 нм. Тем не менее, другие линии (стадии заражения) отчетливо отделимы. Также следует отметить, что интенсивность ультразвукового сигнала уменьшается с развитием малярийной инфекции в следствии уменьшения коэффициента поглощения. На рис. 4.15 и 4.17 показано изменение спектральной плотности мощности для источника облучения на длине волны 700 нм. Спектральные линии полностью разделяются, что указывает на то, что ОА метод может быть полезен для дифференциации различных интраэритроцитарных стадий малярийного паразита на практике. Интенсивность акустического сигнала возрастает по мере развития паразитной стадии. На рис. 4.10-4.12 приведены амплитуды акустического сигнала в зависимости от поражения. Как и ожидалось, амплитуда акустического сигнала уменьшается по мере того, как паразиты растут внутри клеток при длине волны 532 нм (рис. 4.18) и растет при длине волны лазера 700 нм (рис. 4.19) [116].

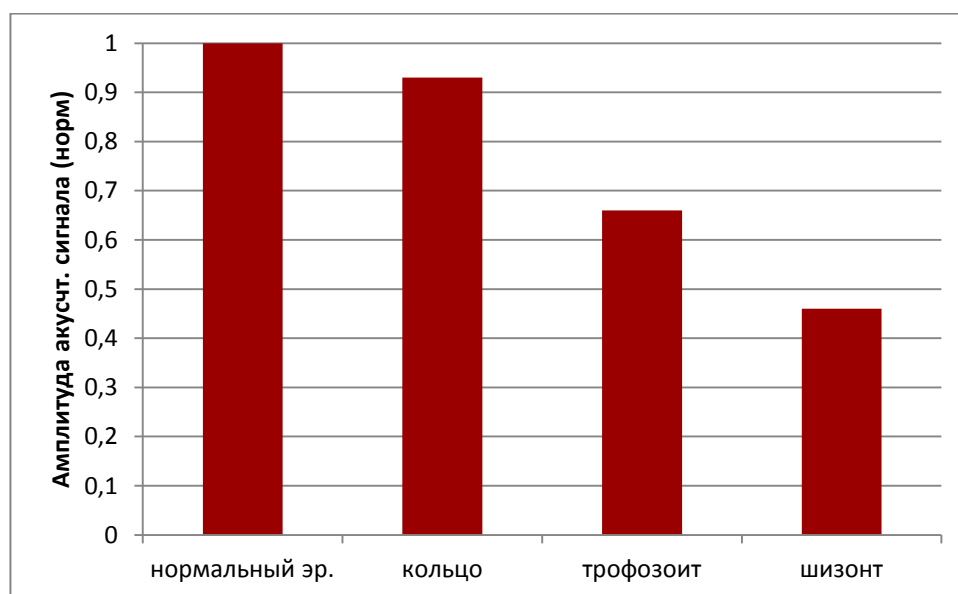


Рисунок 4.18 – Амплитуда акустического сигнала на разных стадиях поражения эритроцитов при $\lambda=532$ нм

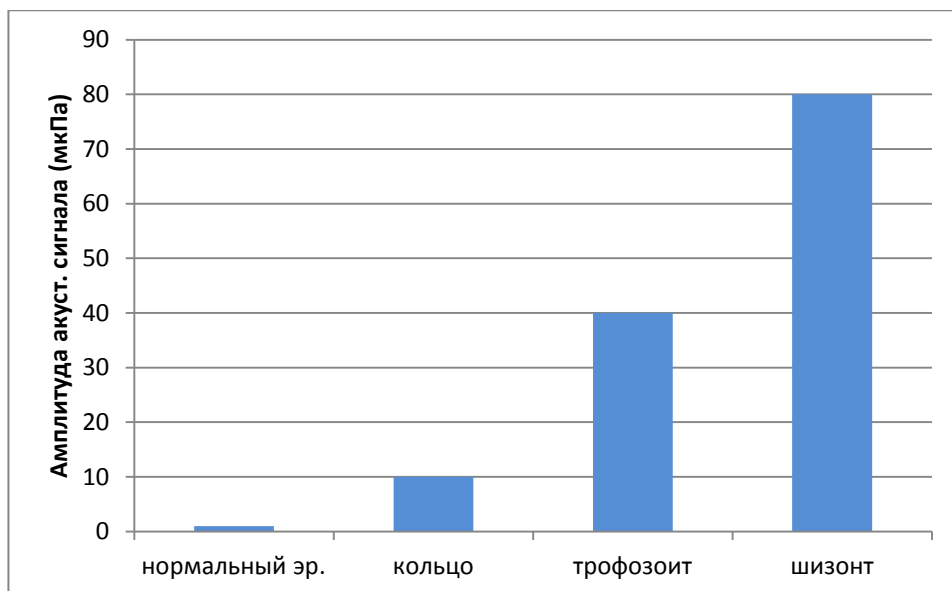


Рисунок 4.19 – Амплитуда акустического сигнала на разных стадиях поражения эритроцитов при $\lambda=700$ нм

Таким образом, можно сделать вывод о возможности экспериментального дифференцирования внутриэритроцитарных стадий паразита малярии оптоакустическим методом [116].

4.3 Математическое моделирование оптоакустического эффекта в клетках с эндоцитозными наночастицами углерода

Наночастицы (НТ) представляют большой интерес для различных биологических и биомедицинских исследований. В биомедицине используют различные наноразмерные структуры, такие как нанотрубки, наностержни, наносистемы серебра и углеродные (С) нанотрубки в качестве усилителей контрастности [182,183]. Углеродные наночастицы являются наиболее подходящими из-за их простой и быстрой подготовки, перестраиваемых свойств рассеяния света и поглощения, способности связываться с целевыми клетками и отсутствие токсичности [182].

В биомедицине широко используются различные металлические и неметаллические наночастицы в качестве контрастных веществ [4,184,185]. Применение наночастиц позволяет с помощью оптоакустического метода

регистрировать акустические сигналы в пробах. Применимость оптоакустического метода может быть расширена до конкретных клеток или молекул с помощью соответствующей поверхностной функционализации наночастиц, чтобы они связывались с этими клетками или молекулами и вызывали усиление оптоакустического эффекта. Исследования также показали, что углеродные нанотрубки, конъюгированные с циклическими пептидами Arg-Gly-Asp (RGD), могут служить в качестве контрастных агентов для обнаружения опухолей с помощью оптоакустического эффекта [186,187].

Попытки теоретически вычислить акустическое давление, излучаемое наночастицами, окруженными жидкой средой, предпринимались в работе [188]. В [115] вычисленное и измеренное акустическое давление в растворе чистых и покрытых диоксидом кремния наночастиц, погруженных в различные растворители, показало, что окружающая среда сильно влияет на амплитуду давления акустического сигнала. Теоретические подходы к вычислению уровня давления акустического сигнала для различных биомедицинских систем также можно найти в литературе. Например, Есаналиев и др. в [169] вычисляли давление формируемого акустического сигнала из крови, применяя раствор молекул гемоглобина, используя метод функции Грина, и сравнивали теоретические и экспериментальные результаты, исследующие влияние насыщения кислородом крови на давление акустического сигнала. Аналогично, Гуо в [189] эмпирически смоделировал давление акустического сигнала, создаваемое тканевой средой, содержащей большое количество случайно расположенных точечных источников.

Разработаем теоретическую модель для изучения акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании для набора клеток, аппроксимированных жидкими сферами [17,165,166], т.е. поглощение света происходит на уровне хромофоров, но акустическая эмиссия происходит на клеточном уровне. Давление акустического сигнала, генерируемое

равномерно освещенной клеткой, суспендированной в непоглощающей жидкой среде, рассчитывали в частотной области с использованием подхода [115]. Уровень звукового давления акустического сигнала от клеток был получен путем регистрации акустической волны, излучаемой отдельными клетками [17,165,166]. Этот метод игнорирует многократное рассеяние световых и акустических волн. Величина акустического сигнала будет увеличиваться с увеличением уровня агрегации эритроцитов [17,165,166].

В работах [103,130,190,191] проводились экспериментальные исследования по регистрации оптоакустического эффекта в жидкости в присутствии углеродных нанотрубок и наночастиц. Основная гипотеза заключается в том, что эндоцитозные наночастицы из-за их свойства сильно поглощать свет существенно влияют на коэффициент клеточного оптического поглощения. Поскольку наночастицы занимают незначительный внутриклеточный объем, в сравнении с объемом ячейки, то теплофизические параметры, а именно, коэффициент теплового расширения, сжимаемость и изобарическая удельная теплоемкость клеток будут неизменными.

Давление акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании, создаваемое поглотителями с радиусом a , может быть выражено суммированием интерферирующих волн как [16,165,166,188],

$$p(r, \omega) = \frac{i\mu\beta v_s a^2 I_0}{C_p r} \cdot \phi e^{ik_f r} \cdot \sum_{n=1}^N e^{-ik_f r_n} \quad (4.4)$$

где $\phi = j_1(q) e^{-ik_f a} / [(1 - \rho) \frac{\sin(q)}{q} - \cos(q) + i\hat{\rho}\hat{v}\sin(q)]$; $q = k_s a$; $A = i\mu\beta v_s a^2 / C_p$; μ ,

β и C_p – коэффициент оптического поглощения, коэффициент теплового расширения и изобарическая удельная теплоемкость для каждого поглотителя, соответственно; j_1 – сферическая функция Бесселя первого порядка, I_0 – интенсивность падающего пучка с частотой модуляции ω ; $\rho = p_s / p_f$, $\hat{v} = v_s / v_f$ – относительная плотность и скорость акустической волны в поглотителе по сравнению со значениями в окружающей среде, соответственно; $k_s = \omega / v_s$ и $k_f = \omega / v_f$ – волновые числа акустической волны

внутри и вне источника формирования сигнала, соответственно; r_n , k_f и N - вектор положения n -го источника, направление акустического приемника и общее количество облученных поглотителей, соответственно. Геометрия задачи показана на рисунке 4.20. Окружность указывает на облученную область, содержащую набор ячеек. Каждый маленький круг представляет собой пакетную упаковку углеродных нанотрубок (заполненные круги).

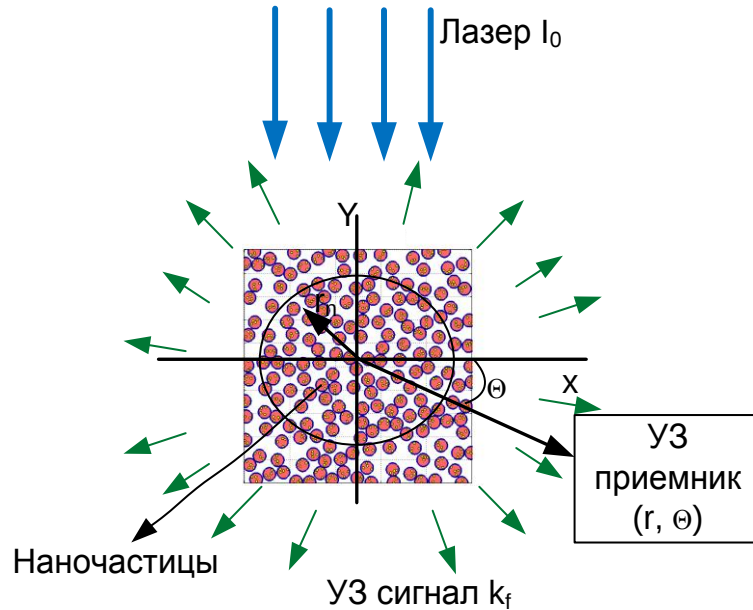


Рисунок 4.20 – Схема формирования акустического сигнала при оптоакустическом эффекте для клеток с эндоцитозными нанотрубками углерода

Зависимость давления акустического сигнала от времени для импульса нагрева в виде дельта-функции может быть записана как [115,158]

$$p(r,t) \approx \frac{i\mu\beta v_s a^2}{C_p r} \frac{F}{2\pi r} \int_{-\infty}^{\infty} \varphi e^{i(k_f r - \omega t)} d\omega \sum_{n=1}^N e^{-ik_f r_n}, \quad (4.5)$$

где F – флюенс энергии оптического пучка. Уравнение (4.5) представляет собой аналитический сигнал, действительная часть которого описывает акустический сигнал, а мнимая часть представляет собой преобразование Гильберта действительной части. Вклад всех возможных частиц суммируется в уравнении (4.5), и, следовательно, получается результирующий акустический сигнал [192]

$$p(r, t) = \text{Re}(p_N(r, t)) \times h(t), \quad (4.6)$$

где $h(t) = (\xi / \sqrt{2\pi}) \times \exp(-\xi^2 t^2 / 2) \times \cos(\omega_0 t)$ – импульсная характеристика приемника.

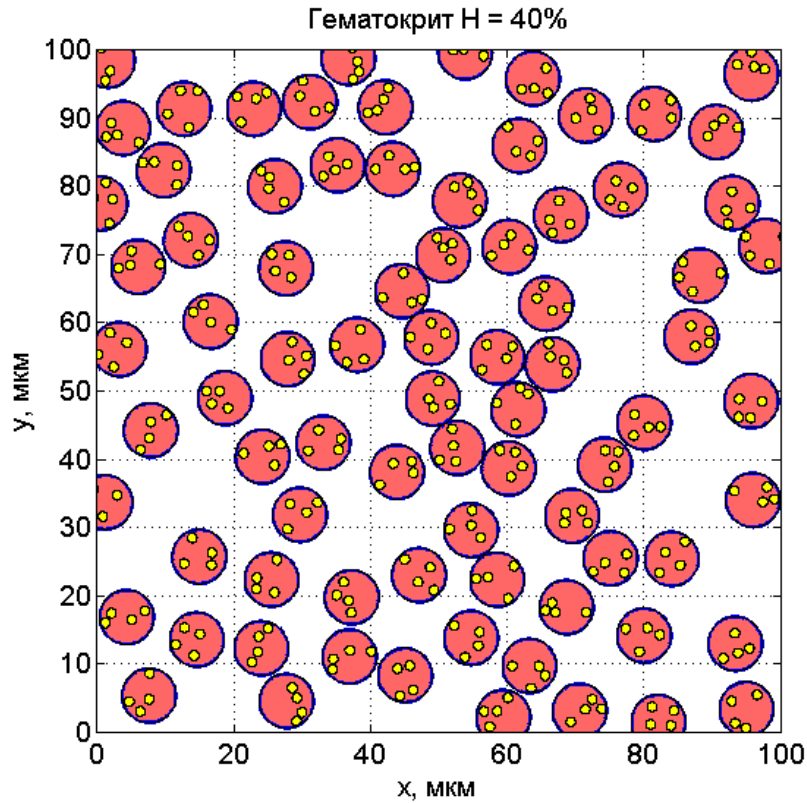


Рис. 4.21 Моделируемая ткань с углеродными нанотрубками

Для получения сигналов при фиксированной концентрации клеток, но с изменяемым коэффициентом μ , оценивалось уравнение (4.5).

Коэффициент поглощения клеток рассчитывался как $\mu = C_{NP} \sigma_{nc}$, где C_{NP} – концентрация углеродных нанотрубок, распределенных однородно внутри клетки, а σ_{nc} – поперечное сечение поглощения для наночастиц. Концентрация нанотрубок определяется, как $C_{NP} = \text{количество НТ} / \text{деленное на объем клетки}$. Поперечное сечение поглощения является произведением эффективности поглощения и геометрического сечения наночастиц. Численные значения действительной и мнимой частей показателя преломления взяты из [193] на разных длинах волн.

Размер ячейки составил $a=5$ мкм, и в клетки доставлялись нанотрубки с радиусом 25 нм [186]. В таблице 4.3 представлены различные параметры, рассмотренные в этом исследовании.

Таблица 4.3 –Параметры и концентрация наночастиц

Концентрация клеток (10^4 клеток / мл)	20	20	20	20	20
NPs (10^4 NPs/клеток)	1	5	10	15	20
μ (10^2 см $^{-1}$)	12,36	61,81	123,63	309,07	560,04

Плотность и скорость звука для внеклеточной матрицы $\rho_f = 1005$ кг/м 3 и $v_f = 1540$ м/с, соответственно. Для клеточной области $\rho_s = 1090$ кг/м 3 и $v_s = 1535$ м/с [193]. Случайные положения неперекрывающихся ячеек внутри образца генерировались с использованием метода Монте-Карло. Лазерный луч с длиной волны 1064 нм распространялся вдоль оси x . Для каждого образца вычислялись по 100 акустических сигналов из 100 независимых реализаций ткани. Акустическое давление нормировано на максимальное значение давления, полученного при концентрации наночастиц $2 \cdot 10^5$.

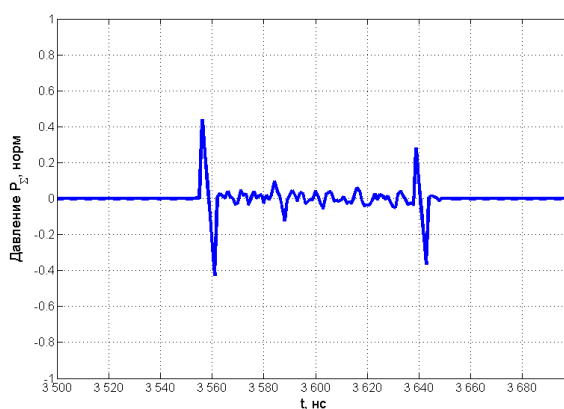


Рисунок 4.22 – Акустический сигнал, формируемый в результате ОА взаимодействия с наночастицами золота в моделируемой ткани. Длина волны 1064 нм. Концентрация наночастиц $5 \cdot 10^4$.

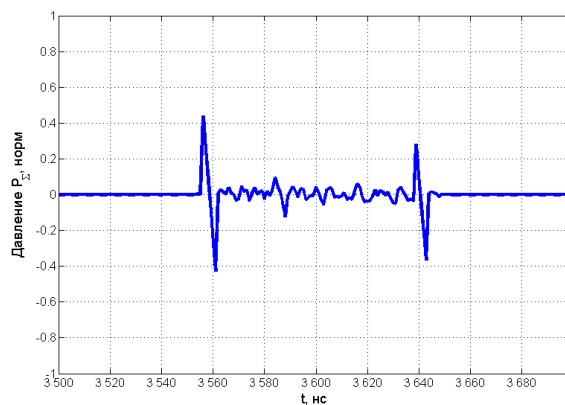


Рисунок 4.23 – Акустический сигнал, формируемый в результате ОА взаимодействия с наночастицами золота в моделируемой ткани. Длина волны 1064 нм. Концентрация наночастиц 10^5

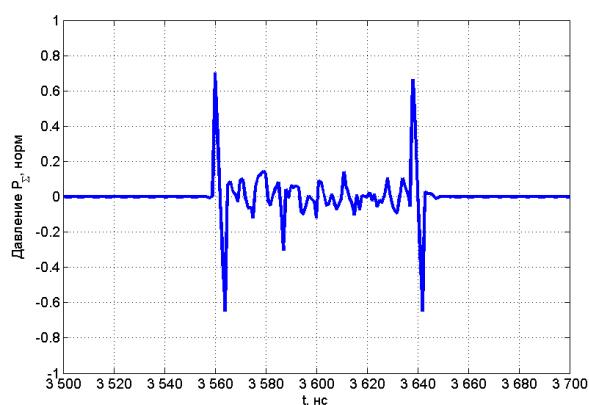


Рисунок 4.24 – Акустический сигнал, формируемый в результате ОА взаимодействия с наночастицами золота в моделируемой ткани. Длина волны 1064 нм. Концентрация наночастиц $1,5 \cdot 10^5$

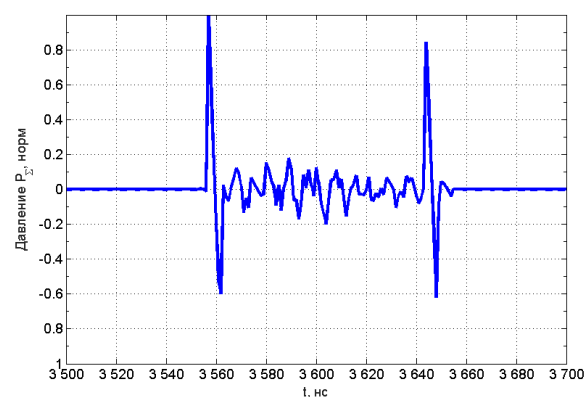


Рисунок 4.25 – Акустический сигнал, формируемый в результате ОА взаимодействия с углеродными нанотрубками в моделируемой ткани. Длина волны 1064 нм. Концентрация наночастиц $2 \cdot 10^5$

На рис. 4.22–4.25 показаны смоделированные сигналы. Следует обратить внимание, что сигналы от клетки, близкие к каждой поверхности образца, коррелированы, и поэтому слабые сигналы складываются когерентно, что приводит к наращиванию уровня сигнала у границы. В центральной области не наблюдается нарастания уровня давления из-за некогерентного добавления сигналов из некоррелированных ячеек, расположенных случайным образом в пространстве. Происхождение нарастания уровня сигнала у границы и подавление амплитуды сигнала в центральной области также обсуждалось в [103,130,189,191]. Установлено, что акустический сигнал увеличивается с увеличением концентрации углеродных нанотрубок, как дополнительных источников поглощения лазерного излучения (рис.4.22-4.25).

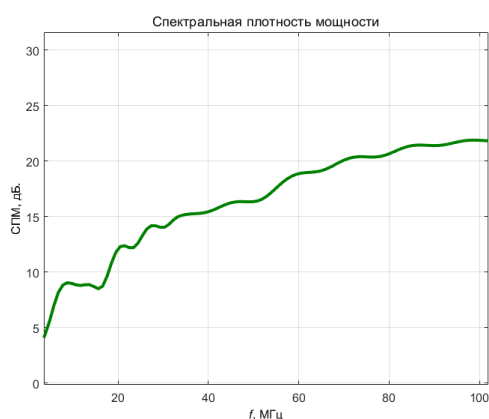


Рисунок 4.26 – Спектральная плотность мощности акустического сигнала (скользящая средняя) при наличии углеродных нанотрубок в моделируемой ткани. Длина волны 1064 нм. Концентрация клеток $5 \cdot 10^4 \div 3 \cdot 10^5$.

На рисунке 4.26 приведена спектральная плотность мощности акустического сигнала, демонстрирующая рост амплитуды при увеличении концентрации наночастиц с $5 \cdot 10^4$ до $2 \cdot 10^5$ частиц на клетку. Эндоцитозные наночастицы ограничены небольшими вакуолями размером до 1 мкм, где они могут иметь плазмонные взаимодействия, приводящие к значительному повышению температуры из-за воздействия на теплофизические параметры лазерного облучения, особенно при большой интенсивности лазерного

излучения. Проведенное моделирование можно использовать для разработки инструмента для формирования изображения путем вычисления акустических сигналов из ячеек с эндоцитозованными углеродными нанотрубками для фокусированного преобразователя.



Рисунок 4.27 – Зависимость амплитуды акустического сигнала от концентрации наночастиц в клетках

Эффект эндоцитоза наночастиц при формировании акустического сигнала исследовали с использованием математического моделирования в среде Matlab. Установлено, что эндоцитозированные углеродные нанотрубки значительно улучшают клеточное оптическое поглощение, но не изменяют теплофизические параметры. Акустические сигналы были рассчитаны с использованием теоретической модели при различных концентрациях клеток и внутриклеточных нанотрубок для оптического излучения с $\lambda = 1064$ нм. Было обнаружено, что амплитуда акустического сигнала монотонно возрастала (рис. 4.27).

Обнаружение биомаркеров ОА методом, представляет собой многоспектральную способность, разделять и отображать фотопоглощающие молекулы и экзогенные агенты с высоким разрешением. В отличие от других радиологических методов, визуализирующих контрастные агенты, в ОА измерениях, как разность сигналов по сравнению с базовыми измерениями, ОА метод может обнаруживать внутренние поглотители, такие как гемоглобин или меланин, или введенные агенты на основе их спектрального профиля без необходимости проведения базовых измерений.

Для оптического затухания применяется решение плоской волны в приближении диффузии $I = I_0 \exp(-\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')}z)$, где I и I_0 — локальная и

падающая плотность энергии соответственно, z — глубина, при условии, что коэффициент поглощения $\mu_a = 0,2 \text{ см}^{-1}$ и приведенный коэффициент рассеяния $\mu_s = 20 \text{ см}^{-1}$. По мере увеличения глубины просвета затухание света и ультразвука вместе снижает оптоакустический сигнал и, следовательно, общую чувствительность обнаружения.

Затухание ультразвуковых волн зависит от частоты — более высокие частоты затухают быстрее с глубиной. Таким образом, выбор ультразвуковых детекторов, наиболее чувствительных на соответствующей частоте, может способствовать повышению чувствительности метода. В конечном итоге пределы клинической чувствительности обнаружения будут зависеть от комбинации оптимального метода обнаружения и используемого источника контраста/метки.

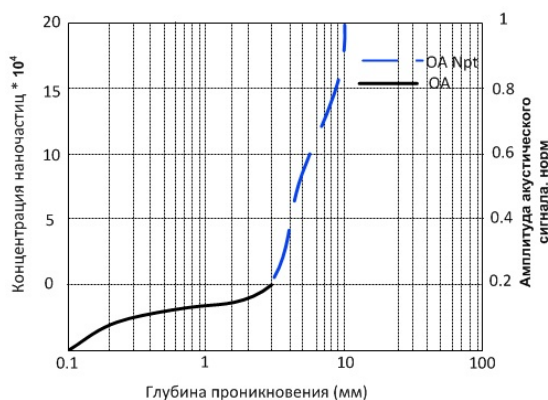


Рисунок 4.28 – Глубина проникновения оптоакустического сигнала при наличии концентрации наночастиц (пунктирная кривая), без наночастиц (сплошная).

Из рисунка 4.28 видно, что глубина проникновения оптоакустического сигнала, с учетом коэффициентов поглощения в пробе крови, при использовании наночастиц возрастает дальность прозвучивания сформированного оптоакустического сигнала при максимальной концентрации наночастиц до 12 мм, а при отсутствии контрастных наноагентов дальность формирования ОА сигнала не превышает 4 мм, что не противоречит результатам полученным в [194].

4.4 Исследование оптоакустического эффекта в среде с нормальными и патологически измененными эритроцитами методом функции Грина

4.4.1. Математическая модель формы здоровых и патологически измененных эритроцитов с использованием метода функции Грина.

Контурные здоровых и патологически измененных эритроцитов были созданы с использованием параметрической модели с использованием полиномиальных разложений Лежандра для поверхностной параметризации. Используя метод функции Грина, была исследована клеточная морфология из одночастичных спектров акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании.

Здоровый эритроцит в физиологических условиях выглядит двоякообразным дискоидом (дискоцитом). Однако существует много агентов, которые могут модифицировать морфологию эритроцита, приводящую к осесимметричным и неосисимметричным формам [195,196]. Например, некоторые агенты могут индуцировать серию острых форм эритроцитов, известных как эхиноциты. Наблюдаются много одинаково расположенных одинаковых маленьких выступов, выступающих наружу. С другой стороны, существует несколько агентов, которые могут способствовать вогнутым формам, называемым стоматоцитами. Это патологические формы, которые могут вызывать нарушения кровообращения. Большинство существующих методов, определяющих формы отдельных эритроцитов, являются трудоемкими [197]. Поэтому необходимо разработать простой и быстрый метод определения *in vitro* морфологии эритроцитов [198].

Спектральные характеристики акустического сигнала для несферической ячейки оказываются различными при зондировании с разных направлений. Кроме того, измеренные спектры проявляют вариацию при исследовании клеток различной формы. Размерные и зависящие от формы

спектральные сигнатуры могут помочь количественно определить клеточную морфологию с помощью ОА метода.

В этом разделе теоретически рассчитаны спектры акустических сигналов для нормальных и патологических (стоматоцитов) эритроцитов. Поля давления для таких ячеек были вычислены путем решения волнового уравнения с использованием функции Грина. Этот метод может быть использован для расчета акустических полей из нерегулярных объектов микронного размера (например, эритроцит). Полиномиальные разложения Лежандра использовались для соответствия границам нормальных и патологических эритроцитов для параметризации поверхности.

Процесс ОА возбуждения акустического сигнала описывается выражением (3.1) [58,80,115]. Акустические характеристики внутри источника акустического сигнала и его окружения считаются идентичными. Решение уравнения (3.1) можно записать в виде:

$$p(r, k) = - \int \frac{i\omega\mu\beta I_0}{C_p} G(r/r_0) d^3 r_0, \quad (4.7)$$

где $G(r/r_0)$ - функция Грина для свободного пространства; r и r_0 – радиус-вектор точки наблюдения и источника, соответственно. Поле давления определяется вне поглощающей области (т.е. $r > r_0$). Геометрия возбуждения акустического сигнала показана на рисунке 4.29. Функция Грина может быть выражена как

$$G(r/r_0) = \frac{e^{ik|r-r_0|}}{4\pi|r-r_0|} \quad (4.8)$$

При условии, что $r \gg r_0$, уравнение (4.7) можно упростить,

$$p(r, k) = - \frac{e^{ikr}}{4\pi r} \int \frac{i\omega\mu\beta I_0}{C_p} e^{-ikr_0} d^3 r_0 = \frac{e^{ikr}}{r} M(k), \quad (4.9)$$

где $M(k)$ задается как

$$M(k) = \frac{1}{4\pi} \int \frac{i\omega\mu\beta I_0}{C_p} e^{-ikr_0} d^3 r_0. \quad (4.10)$$

Уравнение (4.10) для однородного осесимметричного ОА источника приобретает вид:

$$M(k) = -\frac{i\omega\mu\beta I_0}{4\pi C_p} \int_0^\pi \sin\theta_0 d\theta_0 \int_0^{F(\theta_0)} r_0^2 dr_0 \int_0^{2\pi} e^{-ikr_0} d\phi_0 \quad (4.11)$$

По аналогии с поперечным сечением дифференциального рассеяния, поперечное сечение рассеяния (определяется как акустическая мощность на единицу телесного угла в дальней зоне от ОА источника, деленная на интенсивность светового луча) может быть выражено как

$$\sigma(k) = \frac{|M(k)|^2}{2\rho v I_0},$$

где ρ , v – плотность и скорость звука окружающей среды. Поперечное сечение рассеяния было рассчитано и измерено в различных случаях для изучения рассеивающих свойств неоднородностей. Полное сечение вычисляется путем интегрирования дифференциального сечения $\sigma(k)$ по телесному углу. Полное сечение указывает на гипотетическую область, световая энергия которой преобразуется в акустическую энергию из-за ОА эффекта. Для исследования объекта интеграл в уравнении (4.10) может быть вычислен аналитически в замкнутой форме по выражению для $\sigma(k)$. Например, для однородного сферического поглотителя уравнение (4.11) сводится к виду:

$$\sigma(k) = \frac{\mu^2 \beta^2 I_0 v}{2\rho C_p^2} a^4 [j_1(ka)]^2, \quad (4.12)$$

где j_1 – сферическая функция Бесселя первого порядка, a – радиус сферического поглотителя. Для нерегулярного источника акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании невозможно получить аналитическое решение, однако можно получить численное решение.

$$p(r, k) \approx \frac{i\mu\beta F}{2\pi C_p} \int_{-\infty}^{\infty} \omega e^{-i\omega t} d\omega \times \left[-\frac{e^{ikr}}{4\pi r} \int e^{-ikr_0} d^3r_0 \right] = \frac{e^{ikr}}{r} M(k). \quad (4.13)$$

Форма временной области для звукового давления акустического источника для импульса нагрева в виде дельта-функции может быть записана как [199], где F – флюенс энергии. Здесь можно подчеркнуть, что уравнение (4.13) представляет собой запись аналитического сигнала. Таким образом, действительная и мнимая части образуют пару преобразований Гильберта. Реальная часть рассматривалась, как акустический сигнал. Уравнение (4.13) было численно оценено для моделирования акустических сигналов для некоторых форм, рассмотренных в этом разделе.

Геометрия нерегулярного поглотителя описывается в сферических полярных координатах (r', θ', ϕ') , полагая $r' = F(\theta')$, где $F(\theta')$ – функция, связывающая r' и θ' (см. рис. 4.29). Поле звукового давления от эритроцитов, имеющих азимутальную симметрию, было вычислено путем решения уравнения 4.13.

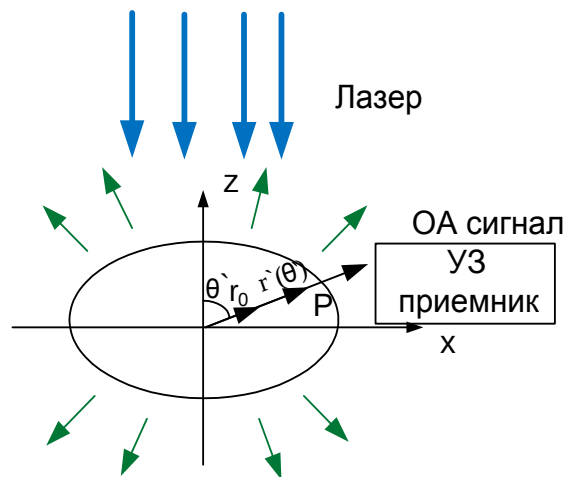


Рисунок 4.29 – Геометрия задачи

4.4.2. Определение контуров эритроцитов. Для математического описания контура эритроцита разработаны математические модели. Наиболее широко используемая модель Эванса и Фунга описывается уравнением [199]

$$z(u) = \sqrt{1 - \left(\frac{u}{R}\right)^2} \left(c_0 + c_1 + c_2 \left(\frac{u}{R}\right)^2 \right), \quad (4.14)$$

где u – горизонтальное расстояние, c_0 , c_1 и c_2 – эмпирические константы, определяющие форму эритроцита. Другая популярная модель для

конструирования контура эритроцита была предложена Кучелем и Факереллом (Kuchel & Fackereel) [200]. Она имеет три параметра: ξ_1 , ξ_2 и ξ_3 , определяющие форму эритроцита, и представлена следующим уравнением:

$$\left(u^2 + z^2\right)^2 + \xi_1 u^2 + \xi_2 u^2 + \xi_3 = 0. \quad (4.15)$$

Коэффициенты (c_0 , c_1 , c_2 или ξ_1 , ξ_2 и ξ_3) могут быть определены по четырем морфологическим параметрам [201]. Этими параметрами являются диаметр ($D = 2R$), толщина ямочки (t), максимальная толщина (h) и диаметр, нарисованный на месте максимальной высоты (d). Коэффициенты в уравнениях (4.14) и (4.15) можно получить, решив три уравнения с использованием граничных условий. Для модели Kuchel & Fackereel они могут иметь следующий вид.

Случай 1: при $u=0$ и $z=t / 2$ получаем

$$\left(\frac{t}{2}\right)^4 + \xi_2 \left(\frac{t}{2}\right)^2 + \xi_3 = 0. \quad (4.16)$$

Случай 2: при $u = d/2$ и $z = h/2$ получаем

$$\left(\left(\frac{d}{2}\right)^2 + \left(\frac{h}{2}\right)^2\right)^2 + \xi_1 \left(\frac{d}{2}\right)^2 + \xi_2 \left(\frac{h}{2}\right)^2 = 0. \quad (4.17)$$

Случай 3: при $u = R$ и $z = 0$ уравнение становится

$$R^4 + \xi_1 R^2 + \xi_3 = 0. \quad (4.18)$$

Уравнения (4.16), (4.17) и (4.18) использовались для определения коэффициентов. Контур, сгенерированный для нормального эритроцита, а для патологических эритроцитов (далее в тексте стоматоцит1 и стоматоцит2), были получены с использованием параметрического уравнения Kuchel & Fackereel и показаны на рисунке 4.30. Для стоматоцитов верхняя полусфера была построена с использованием уравнения (4.15), тогда как нижняя половина рассматривалась как полусфера. Морфологические параметры, определяющие форму нормального и патологического эритроцитов, приведены в таблице 4.4.

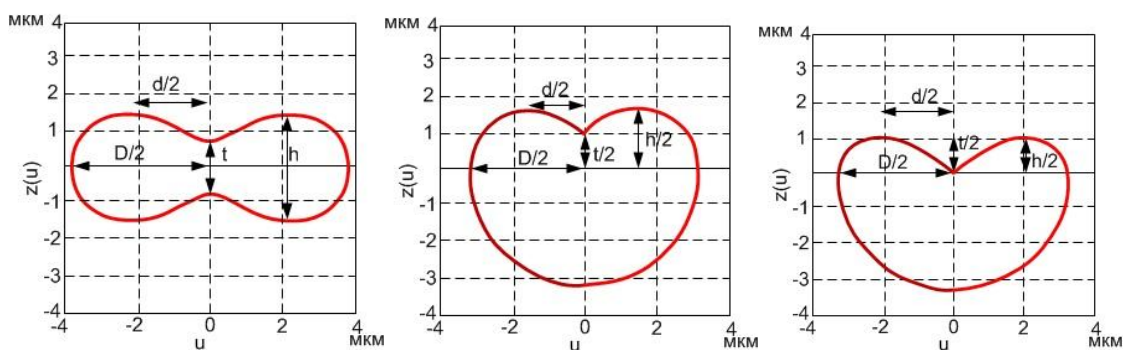


Рисунок 4.30 – Двумерные поперечные сечения нормальных и патологических эритроцитов. (а) дискоцит, (b) стоматоцит1, (с) стоматоцит2.

Таблица 4.4 – Численные значения различных параметров, используемых для моделирования форм нормальных и патологически измененных эритроцитов

Тип клетки	Объем мкм ³	D мкм	$t/2$ мкм	$h/2$ мкм	R мкм	D мкм	L
Дискоцит	108	7,6	0,72	1,42	$D/2$	$0,7D$	19
Стоматоцит1	105	6,3	1,1	1,5	$D/2$	$0,7D$	19
Стоматоцит2	105	6,6	0,25	1,1	$D/2$	$0,7D$	19

В разделе рассмотрены различные параметрические модели (модели Эванса и Фунга и модели Kuchel & Fackere) для создания контура эритроцита. Эти модели обеспечивают осесимметричные формы, которые могут быть снабжены полиномиальными разложениями Лежандра. Рассмотрена возможность использования ОА методов для оценки количества и формы эритроцитов. С этой целью была разработана двухмерная модель изменения формы эритроцитов для последующего моделирования акустического сигнала. Проводимое моделирование акустического сигнала от сферических эритроцитов позволяет дополнить разработанную модель в [16,158,165,166] для определения уровня гематокрита и процента агрегации эритроцитов с учетом их формы. Результаты моделирования показывают целесообразность продолжения экспериментальных исследований формирования акустического сигнала в биологических средах при оптоакустическом преобразовании [103,104,127].

4.5 Исследование трансформации акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании для осесимметричных несферических форм эритроцитов

4.5.1. Сфероидальные формы. Геометрия нерегулярного поглотителя, имеющего азимутальную симметрию, может быть описана в сферических полярных координатах (r', θ', ϕ') путем замены $r' = F(\theta')$; $F(\theta')$ – функция, связывающая r' и θ' (см. Рис. 4.31). Например, для сфероидальной частицы можно записать расстояние $r'(\theta')$ точки на поверхности,

$$r'(\theta') = \frac{ab}{\sqrt{[b^2 \sin^2 \theta' + a^2 \cos^2 \theta']}}, \quad (4.19)$$

где a и b – полуоси (для сплюсненной сферы $b < a$ и для вытянутой сферы $b > a$). Сфероиды, полученные данным методом, с различными пропорциями показаны на рисунке 4.34. Для всех частиц объем остается неизменным. Уравнения (4.7) и (4.10) для несферического объекта могут быть упрощены, соответственно

$$p(r, k) = -\frac{e^{ikr}}{4\pi r} \frac{i\omega\mu\beta I_0}{C_p} \int_0^\pi \sin \theta_0 d\theta_0 \int_0^{F(\theta_0)} r_0^2 dr_0 \int_0^{2\pi} e^{-ikr_0} d\phi_0; \quad (4.20)$$

$$M(k) = -\frac{A}{4\pi} \int_0^\pi \sin \theta_0 d\theta_0 \int_0^{F(\theta_0)} r_0^2 dr_0 \int_0^{2\pi} e^{-ikr_0} d\phi_0. \quad (4.21)$$

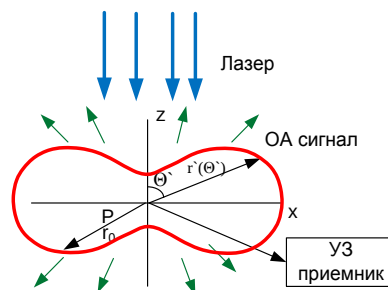


Рисунок 4.31 – Геометрия формирования акустического сигнала при
оптоакустическом преобразовании

Интеграл рассчитывался численно для акустического поля для различных сферических и осесимметричных несферических поглощающих свет частиц.

Решение для поля акустического сигнала можно вычислить, используя уравнение (4.20) с использованием полинома Чебышева.

Для построения фигуры с помощью многочлена Чебышева расстояние от точки на поверхности можно записать в виде [202]:

$$r'(\theta') = R_c [1 + \varepsilon T_n(\cos \theta')], \quad (4.22)$$

где $T_n(\cos \theta') = \cos n\theta'$ – многочлен Чебышева степени n , где n определяет параметр волнистости, R_c – радиус невозмущенной сферы, а ε – параметр деформации. Форма частицы получается непрерывным деформированием сферы с использованием многочлена Чебышева степени n . Рассеивающие свойства этого семейства частиц были широко изучены в области рассеяния света [202]. Некоторые из чебышевских частиц в фиксированном объеме показаны на рисунке 4.32 для $\varepsilon = 0,25$ и рисунок 4.33 для $\varepsilon = -0,25$. Частицы симметричны относительно оси Z (см. рис. 4.32 (а)). Частицы с четным n также симметричны относительно плоскости, перпендикулярной оси симметрии. Частицы с нечетным n не симметричны относительно одной и той же плоскости. Высоты пиков прогибов провалов (кривизны поверхности) возрастают по мере увеличения величины ε .

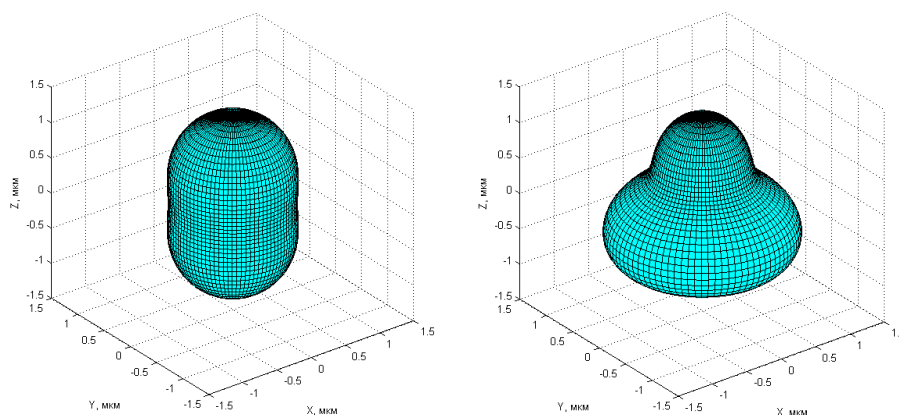


Рисунок 4.32 – Частицы, построенные с помощью многочлена Чебышева с $\varepsilon = 0,25$; $n=2$ (слева), $n=3$ (справа)

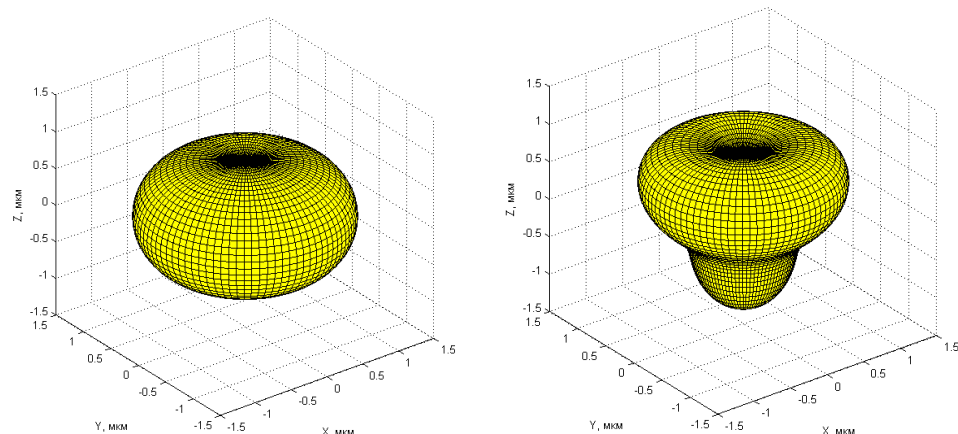


Рисунок 4.33 – Частицы, построенные с помощью многочлена Чебышева с $\varepsilon = -0,25$; $n = 2$ (слева), $n = 3$ (справа).

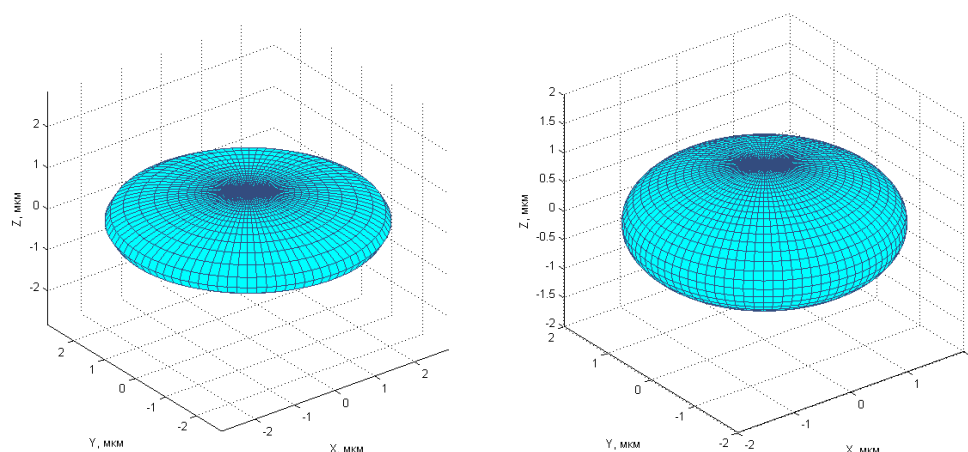


Рисунок 4.34 – Типичные формы сфероидальных частиц с постоянным объемом; $b:a = 1:4$ (левая), $b:a = 1:2$ (правая),

Эритроциты в нормальных физиологических условиях проявляются как двояковыпуклые дискоциты. Уже более 50 лет известно, что существует много биохимических агентов, которые могут модифицировать морфологию красных кровяных телец [195,196]. Некоторые агенты могут индуцировать серию кристаллизованных форм, известных как эхиноциты. Для таких ячеек много маленьких равноотстоящих выступов проецируются наружу. Существует несколько веществ, которые могут вызывать вогнутые формы,

называемые стоматоцитами. Как нормальные, так и патологические формы могут быть хорошо установлены с расширением сферических гармоник [203,204]. Установлено, что расширение сферических гармоник является удобным инструментом параметризации морфологии клеток. Этот набор функций может соответствовать как симметричным, так и несимметричным объектам. Задача упрощается для азимутально-симметричных частиц. В этом случае контур ячейки можно разложить по полиномам Лежандра,

$$r'(\theta') = R_e \left[1 + \sum_n \alpha_n P_n(\cos \theta') \right], \quad (4.23)$$

где R_e – радиус сферической оболочки, охватывающей эритроцит; α_n – параметр, описывающий форму, P_n – многочлен Лежандра степени n . Можно отметить, что многочлены Лежандра являются ортогональными функциями и образуют полный набор базисных функций. Любая произвольная функция между $0 \leq \theta' \leq \pi$ может быть выражена через базисные векторы. Используем вышеупомянутое решение для получения нормальной формы дискоцита и двух разных форм, имитирующих стоматоциты. Двумерные поперечные сечения фигур и трехмерные фигуры приведены на рисунках 4.35 (а) – (в).

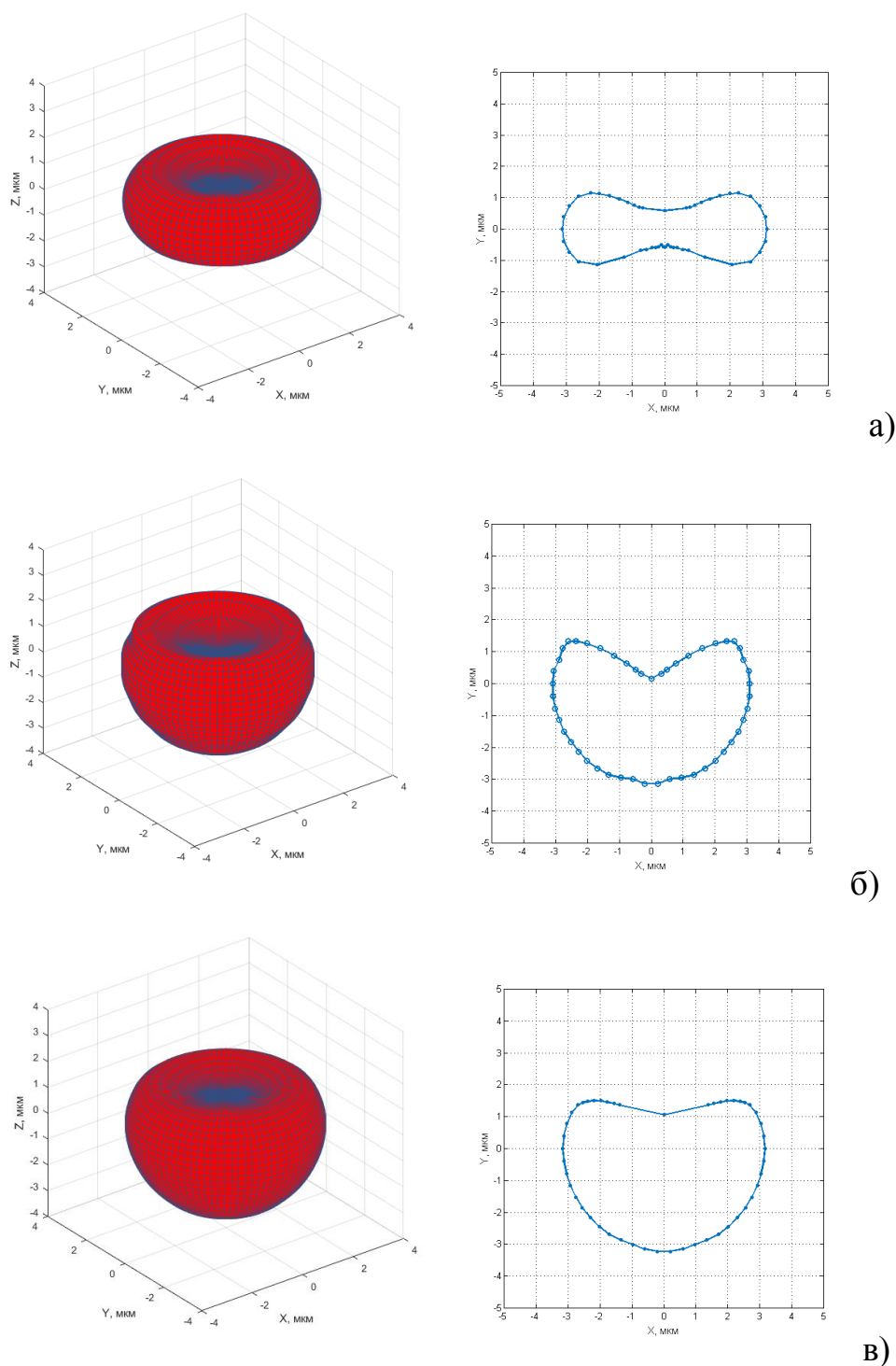


Рисунок 4.35 – Моделируемые формы нормального эритроцита и стоматоцитов. а) эритроцит, б) стоматоцит1, в) стоматоцит2

Плотность и скорость звука окружающей среды определялись как $\rho=1005 \text{ кг/м}^3$ и $v=1500 \text{ м/с}$, соответственно. 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 считались

константами (I_0 , μ , β , C_p). Для интегрирования уравнения (4.21), объем источника был разбит на ряд участков (длина 200 нм как длина каждой стороны). Интеграл решался с помощью метода трапеций.

Дифференциальное сечение было рассчитано для восьми сфероидальных форм с соотношением сторон $b:a = 1:8, 1:4, 1:2, 2:1, 4:1, 8:1$. Параметры формы приведены в таблице 4.5. Во втором случае мы рассмотрели десять различных форм Чебышева (см. таблицу 4.5 для описания параметров). Для каждого случая объем фиксировался при $523,6 \text{ мкм}^3$, который представляет собой объем частицы с радиусом 5 мкм.

Таблица 4.5 –Численные значения параметров для моделирования

Форма объекта	Объем, мкм^3	Параметры формулы
Сфероидальная	523,6	$b:a = 1:1$
	523,6	$b:a = 1:8, 1:4, 1:2, 2:1, 4:1, 8:1$
Чебышева	523,6	$\varepsilon = 0$
	523,6	$\varepsilon = 0,25, n=2, 3, 4, 6, 8$
	523,6	$\varepsilon = -0,25, n=2, 3, 4, 6, 8$
Эритроциты	105,1	$D = 7,65, t/2=0,72, h/2=1,4$ $R_e = 0,5D, d = 0,7D, L = 19$
	104,4	$D = 6,28, t/2=1.1, h/2=1,5$ $R_e = 0,5D, d = 0,7D, L = 19$
	105	$D = 6.45, t/2=0,25, h/2=1.5$ $R_e = 0,5D, d = 0,7D, L = 19$

Параметрическое уравнение модели Эванса-Фуга широко использовалось для формирования контура здорового эритроцита и приведено в [199],

$$z(\xi) = R_e \sqrt{1 - \left(\frac{\xi}{R_e}\right)^2} \left[c_0 + c_1 \left(\frac{\xi}{R_e}\right)^2 + c_2 \left(\frac{\xi}{R_e}\right)^4 \right], \quad (4.24)$$

где ξ – горизонтальное расстояние; коэффициенты c_0 , c_1 и c_2 определяют форму эритроцитов [201] (см. рисунок 4.35 (справа)). Численные значения

этих коэффициентов могут быть получены из четырех морфологических параметров, которые, определяются из измерений. Морфологические параметры, как показано на рисунках 4.36 (а) – (в), представляют собой диаметр (D), толщину ямки (t), максимальную толщину (h), диаметр круга, нарисованного на месте максимальной толщины (d). Численные значения этих четырех морфологических параметров для нормального эритроцита были взяты из литературы [201] и представлены в таблице 4.5.

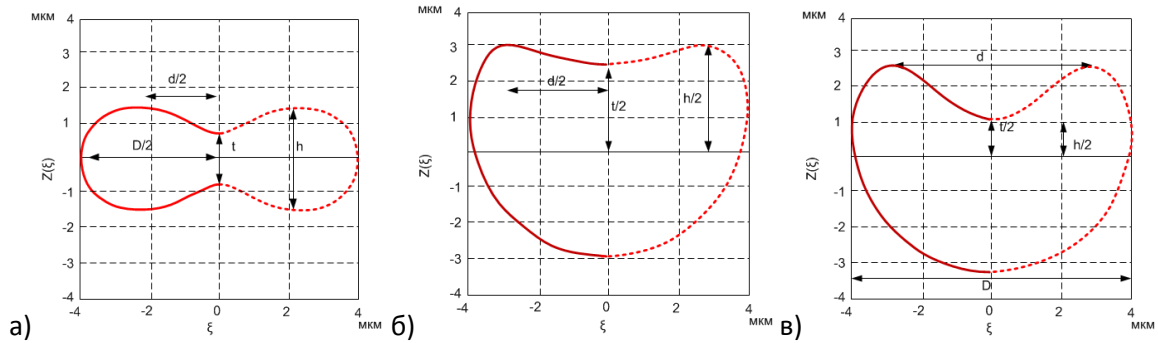


Рисунок 4.36 – Двумерные поперечные сечения нормальных и патологических эритроцитов: (а) нормальный эритроцит; (б) стоматоцит1; (в) стоматоцит2. Линия – Эванс Фуг, пунктир Фит

Для патологических эритроцитов (стоматоцит1 и стоматоцит2) верхняя полусфера была сформирована с использованием уравнения (4.24), а нижняя часть формировалась как полусфера. Двухмерные и 3D-виды этих клеток показаны на рисунках 4.35. Затем теоретически построенные формы были снабжены расширением, приведенным в уравнении (4.23), для оценки α_n . Сначала было сгенерировано 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 (4.24). Затем построена система уравнений с точностью до L -го полинома Лежандра степени (см. уравнение (4.23)),

$$\begin{pmatrix} P_0(\cos \theta_1) & P_1(\cos \theta_1) & P_L(\cos \theta_1) \\ P_0(\cos \theta_2) & P_1(\cos \theta_2) & P_L(\cos \theta_2) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ P_0(\cos \theta_s) & P_1(\cos \theta_s) & P_L(\cos \theta_s) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \alpha_0 \\ \alpha_1 \\ \vdots \\ \alpha_L \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} r_1 / R_e - 1 \\ r_2 / R_e - 1 \\ \vdots \\ r_s / R_e - 1 \end{pmatrix}. \quad (4.25)$$

Вышеприведенные уравнения были решены с использованием метода наименьших квадратов. Сгенерировано более 100 образцов, а сумма в уравнении (4.23) была получена при $L = 19$ [204]. Фактически точность моделирования не улучшилась значительно, если были бы сохранены условия более высокого порядка. Полученные формы приведены на рисунках 4.35 (а–в) из уравнения (4.23). Согласие моделей можно увидеть на рисунках 4.36 (а–в). Реконструированные трехмерные фигуры показаны на рисунке 4.35.

Ожидается, что акустические сигналы должны отличаться для разных частиц в зависимости от их ориентации, для этого сигналы от здоровых и эритроцитов с патологией формы были вычислены путем численного решения уравнения (4.13) и показаны на рисунке 4.37. Острый и узкий N -образный импульс был вычислен, когда приемник расположен при $\theta = 0$, как показано на рисунке 4.37 (а). Длительность импульса увеличивается при зондировании в направлении $\theta = \pi/2$. Амплитуда уменьшается в четыре раза, а длительность акустического сигнала в три раза увеличивается по сравнению с прежним импульсом. Это можно объяснить тем, что эритроцит становится тоньше, если смотреть на ультразвуковой приемник из первого направления по сравнению со вторым направлением. Разница между акустическими сигналами, излучаемыми формами стоматоцит¹ и стоматоцит², является небольшой, поскольку они аналогичны (как показано на рисунках 4.37 (б) и (в)). Как и ожидалось для однородной сферы, сигналы идентичны со всех сторон [205–207], как показано на рисунке 4.37 (г).

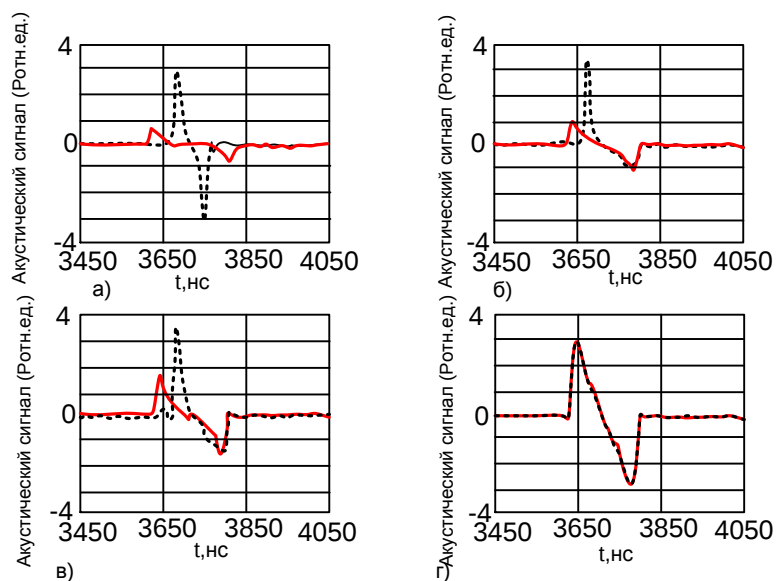


Рисунок 4.37 – Графики акустических сигналов, генерируемых нормальными и патологически измененными эритроцитами при оптоакустическом преобразовании. Показаны сигналы в направлениях $\theta = 0$ (пунктир) и $\theta = \pi/2$ (красная сплошная линия) на ось симметрии: (а) дискоцит; (б) стоматоцит1; (в) стоматоцит2; (г) сфера.

Рассмотренные осесимметричные формы эритроцитов могут быть представлены полиномами Лежандра. Однако формы эритроцитов под влиянием определенных агентов становятся сложными и не осесимметричными. Эти формы могут быть определены с использованием сферических гармонических функций и будет называться параметрическим поверхностным моделированием. Моделирование параметрической поверхности является активной областью исследований при анализе медицинских изображений [203,204]. Поэтому сложные неосисимметричные формы (например, состояния эхиноцитов) могут быть смоделированы с использованием сферических гармонических функций. Можно также предположить, что акустические сигналы от клеток и органелл могут быть получены через сферические гармонические функции для количественной оценки их морфологий. Кроме того, ОА метод – это уникальный способ, который может дать спектральную информацию. Быстрый анализ

спектральных характеристик имеет решающее значение для работы по определению формы и размера ячейки с использованием ОА метода.

4.6 Трехмерное моделирование агрегации эритроцитов для исследования поведения акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании

Известно, что эритроциты образуют квазисферические агрегаты в патологических состояниях, как при сахарном диабете [28,29] и занимают большую объемную долю (от 30 % до 50 %), на это влияет структурный фактор. Более того, редко встречаются эритроциты в виде рассеивателей простой формы (в виде сфер) со слабым относительным контрастом акустических параметров, это позволяет предположить отсутствие множественного рассеяния (эритроциты $\rho_c=1092 \text{ кг/м}^3$, $k_c=3,41 \cdot 10^{-10} \text{ Па}^{-1}$ и плазмой крови $\rho_0=1021 \text{ кг/м}^3$ и $k_0=4,09 \cdot 10^{-10} \text{ Па}^{-1}$) [31,149,208].

Рассмотрим одинаковые ячейки, распределенные случайным образом внутри агрегата. Форму ячейки аппроксимируем сферой радиуса α , имеющей эквивалентный объем $V_c=4/3\pi\alpha^3$. Клетки имеют плотность ρ_c и сжимаемость k_c , а их окружающая среда характеризуется плотностью ρ_0 и сжимаемостью k_0 . Предполагается, что клетки имеют небольшие изменения в акустических параметрах [26,149], так что многократным рассеянием пренебрегают в соответствии с борновским приближением. Совокупность клеток, обозначаемых V_{ag} , считается сферической, как это происходит в некоторых тканях (например, агрегаты эритроцитов в патологических случаях [29,209] или опухоли груди [27]). Положим, что расстояние от V_{ag} до точки наблюдения намного больше, чем размеры V_{ag} (т.е. приближения дальнего поля).

Пусть n_c одинаковых ячеек внутри агрегата с центрами, расположенными в положениях r_j , $j = 1, \dots, n_c$ и учитывая изменение

переменной $r'_0 = r_0 - r_j$, r_0 – положение в трехмерном пространстве, n_0 – направление падающей волны, V_α – сфера радиуса α .

Выбор сферы мотивировался сферическим распределением ячеек в агрегатах. Чтобы соответствовать низкочастотным приближениям амплитуд рассеяния от системы сфер и от эквивалентной полый сферы, их радиусы вращения R_g должны быть равны. Радиус вращения объекта соответствует среднеквадратичному расстоянию точек объекта от его центра масс. В случае системы из n_c сфер радиуса a , радиус вращения равен

$$R_g = \sqrt{\frac{3}{5}a^2 + \frac{1}{n_c} \sum_{j=1}^{n_c} |r_j|^2}, \quad (4.26)$$

где r_j – вектор положения j -й ячейки относительно центра агрегата. Таким образом, радиус r_0 эквивалентной полый сферы должен быть выражен как $r' = \sqrt{5/3}R_g$.

Смоделируем пространственное распределение ячеек в пределах одного агрегата, для этого установим равным радиус ячейки $\alpha = 2,75$ мкм, что соответствует размеру эритроцита, обычно используемому при компьютерном моделировании крови [31]. Мы указали радиус агрегата r_{ag} , определяемый как радиус внешней оболочки (рис.4.38) и агрегат с компактностью ϕ_i , которая фиксирует количество ячеек n_c в агрегате. Клетки n_c были равномерно распределены так, чтобы ячейки в радиусе r_{ag} могли перекрываться, и было подсчитано общее количество перекрывающихся пар. Затем система изменялась путем случайного выбора ячейки и ее случайного перемещения в новое положение внутри сферического агрегата. Если число перекрывающихся пар новой системы было не больше, чем в предыдущей системе, смещение было принято. Эта процедура повторялась до тех пор, пока не было обнаружено перекрытие. Этот процесс позволил достичь агрегационной компактности ϕ_i до 40 % в 3D, тогда как метод с использованием случайного последовательного поглощения [210] дал бы компактность около 30 %. На рисунке 4.38 показаны пространственные

расположения ячеек в пределах одного агрегата для двух агрегатов 10 % и 40 % с одинаковым радиусом агрегации $r_{ar}/\alpha=7$. Радиус вращения был рассчитан с использованием уравнения (4.38). Для агрегата, приведенного на рис.4.38, изменение компактности с 10 % до 40 % вызывает небольшое увеличение радиуса вращения от $R_g = 13,47$ мкм до $R_g = 14,26$ мкм[211].

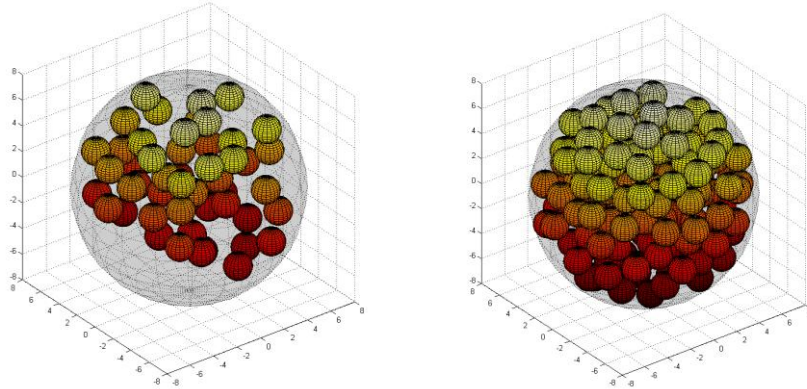


Рисунок 4.38 – Клеточные агрегаты радиуса $r_{ar}/\alpha = 7$, слева с компактностью $\phi_i = 10$ %, а справа с компактностью $\phi_i = 40$ %

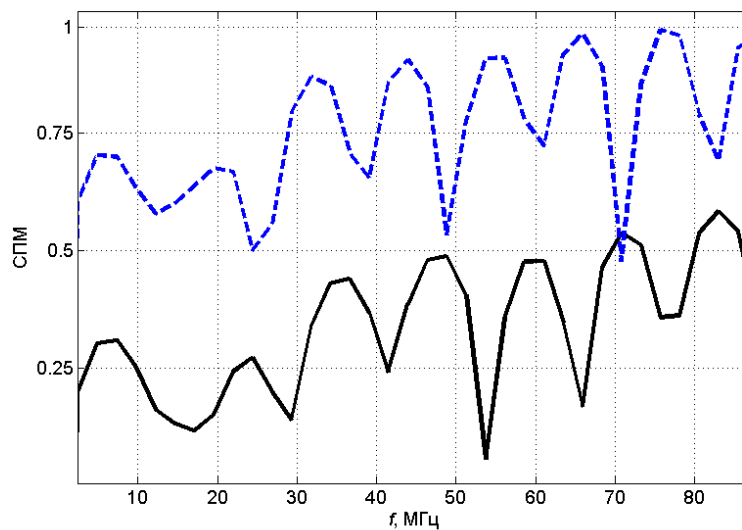


Рисунок 4.39 – Спектральная плотность мощности (скользящая средняя) для агрегатов радиуса $r_{ar}/\alpha = 7$ с компактностью $\phi_i = 10$ % (сплошная линия), а справа с компактностью $\phi_i = 40$ % (пунктир).

На рисунке 4.39 приведены спектральные плотности мощности для агрегатов радиуса $r_{ar}/\alpha = 7$ с компактностью $\phi_i = 10$ % и компактностью $\phi_i = 40$ % (нормированные при 75% МГц).

С помощью математического описания форм двояковогнутых эритроцитов, полученных в разделе 4.4, проведем моделирование пространственного распределения эритроцитов, с условием неперекрывания частиц. На рисунке 4.40 представлены пространственные распределения эритроцитов в объеме диаметром 120 мкм.

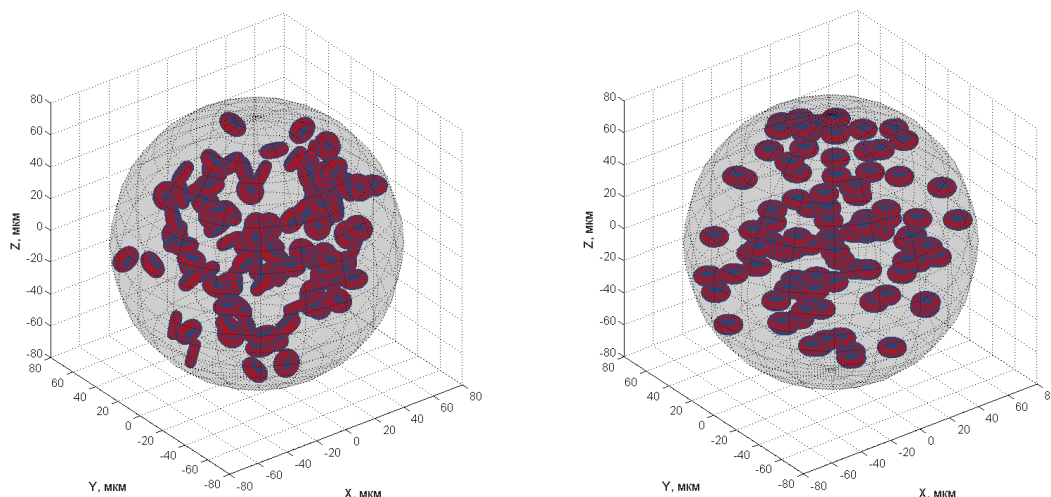


Рисунок 4.40 – Клеточные агрегаты двояковогнутых эритроцитов

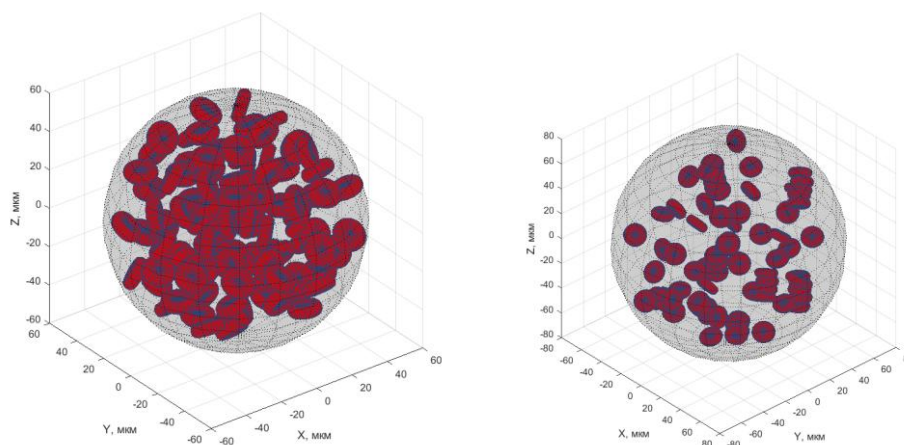


Рисунок 4.41 – Клеточные агрегаты двояковогнутых эритроцитов

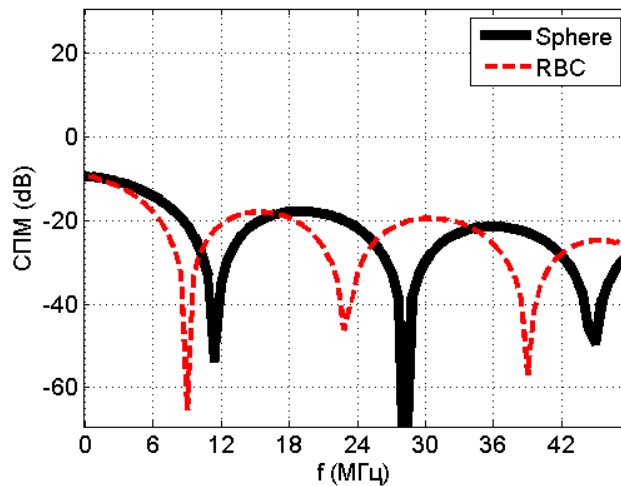


Рисунок 4.42 – Спектральная плотность мощности для сферических и двояковогнутых эритроцитов при гематокрите 45%

Метод, используемый в этом исследовании для получения пространственного распределения клеток, не основывался на общей физической модели взаимодействия между клетками. Использовался простой и быстрый метод для создания сотен имитируемых сред с большим отношением размеров между размером ячейки (2,75 мкм) и размером (480 мкм³). Цель заключалась в создании среды, содержащей неперекрывающиеся сферические и двояковогнутые агрегаты, причем все агрегаты имели одинаковый радиус и компактность с уникальным пространственным распределением ячейки, определяемым структурным фактором. Основным преимуществом этого метода была возможность иметь различные агрегатные компактности с одинаковым размером агрегатов

В трехмерном компьютерном моделировании общая объемная доля клеток составила максимум 16 %. Процедура, выбранная для учета распределения ячеек в агрегатах, позволила достичь максимальной совокупной компактности $\phi_i = 40 \%$. Для сравнения стандартный метод с использованием случайного последовательного поглощения [210] дал бы компактность, близкую к 30 %. Таким образом, максимальная суммарная объемная доля $\phi_{ag,max}$ была также зафиксирована до 40 %. Как следствие, максимальное значение общей объемной доли ϕ_{max} было ограничено $\phi_{max} = \phi_{i,max} \phi_{ag,max} = 16\%$.

Проведено математическое моделирование пространственного распределения двояковогнутых эритроцитов в объеме радиуса 60 мкм при условии не перекрытия частиц. Рассчитаны спектральные плотности мощности для гематокрита 45% для эритроцитов сферической и двояковогнутой формы. Установлено, что у эритроцитов двояковогнутой формы наблюдается снижение частоты (рисунок 4.42), при практически одинаковых значениях амплитуды спектральной плотности мощности.

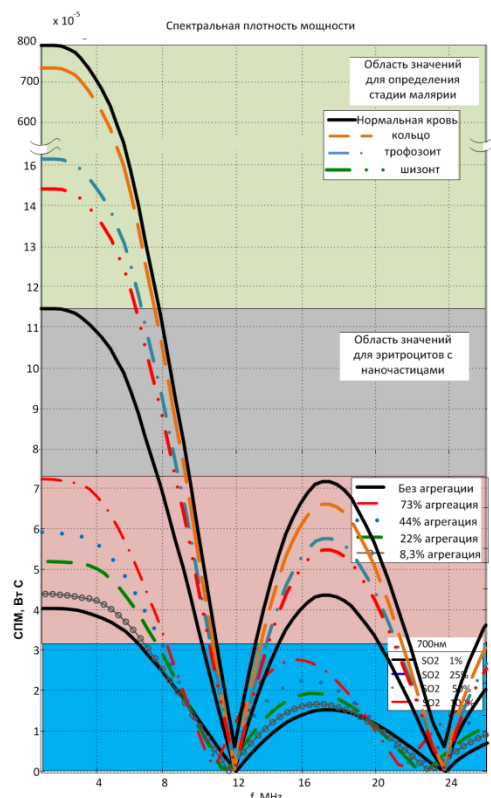


Рисунок 4.43 – Распределение амплитуд спектральной плотности мощности для определения диагностических признаков состава крови

В результате проведенных математических расчетов по моделям эритроцитов, получены значения амплитуды спектральных плотностей акустического сигнала для случаев агрегированных эритроцитов, эритроцитов с различным кислородонасыщением, в присутствии наночастиц и зараженных малярией на различной стадии, что может быть использовано в качестве диагностических признаков при определении состояния крови. Полученные значения были сведены в так называемые «диагностические окна значений» для классификации моделируемых состояний (рис. 4.43).

4.7 Выводы по главе

1. Разработан метод для выявления внутриэритроцитарного развития малярийного паразита с использованием ОА эффекта. Разработана теоретическая модель здоровых и инфицированных эритроцитов с разными стадиями поражения соответствующими нормальным, кольцевым, трофозоитовым и шизонтным стадиям. Рассчитаны акустические сигналы от смоделированных конфигураций тканей, генерируемых с помощью алгоритма Монте-Карло.

Установлено, что амплитуда акустического сигнала монотонно уменьшается для лазерного излучения с длиной волны $\lambda=532$ нм и увеличивается при $\lambda=700$ нм по мере продвижения паразитной стадии. Обнаружено, что амплитуда акустического сигнала для набора клеток на стадии шизонта в 2 раза меньше на длине волны лазерного излучения $\lambda=532$ нм и в 80 раз больше (при $\lambda=700$ нм), чем у здоровых эритроцитов при аналогичных излучениях. Спектральная плотность мощности сигнала, усредненная по 200 проведенным расчетам для нормальных и зараженных клеток, приведена на рисунках 4.13 и 4.16 для частот до 60 МГц. Установлено, что спектральная плотность мощности на частоте 7,5 МГц уменьшается на 6 дБ ($\lambda=532$ нм) и увеличивается на 38 дБ ($\lambda=700$ нм) для сигналов от здоровых эритроцитов и инфицированных, соответственно. Спектральная плотность мощности для здорового эритроцита и с кольцевой степенью поражения мало различимы на длине волны лазера $\lambda=532$ нм, но 2-я и 3-я стадии заражения отчетливо отделимы. При длине волны лазера $\lambda=700$ нм хорошо различается сигнал от нормального эритроцита при первой – кольцевой степени заражения, остальные стадии также хорошо различимы.

Интенсивность ультразвукового сигнала уменьшается с развитием малярийной инфекции для длины волны $\lambda=532$ нм и повышается для $\lambda=700$ нм. На рис. 4.15 и 4.17 показано изменение спектральной плотности мощности для источника облучения на длине волны 700 нм. Проведенное

математическое моделирование указывает на то, что ОА метод может быть полезен для дифференциации различных интраэритроцитарных стадий малярийного паразита при диагностике. Интенсивность акустического сигнала на любой частоте возрастает по мере развития паразитной стадии.

2. Разработана теоретическая модель для изучения акустического сигнала, сформированного в результате оптоакустического преобразования для клеток, аппроксимированных как жидкие сферы с учетом эндоцитозных наночастиц. Установлено, что эндоцитозные наночастицы вследствие сильного поглощения света имеют существенное влияние на коэффициент клеточного оптического поглощения, при этом теплофизические параметры - коэффициент теплового расширения, сжимаемость и изобарическая удельная теплоемкость клеток остаются неизменными, поскольку наночастицы занимают незначительный внутриклеточный объем по сравнению с объемом ячейки. Акустические сигналы были рассчитаны с использованием теоретической модели при различных концентрациях клеток и внутриклеточных наночастиц при воздействии лазером с длиной волны 1064 нм. Установлено, что амплитуда акустического сигнала линейно возрастала с ростом концентрации наночастиц. Установлено, что при использовании наночастиц концентраций до $20 \cdot 10^4$ наночастиц/клетка позволяет увеличить амплитуду сигнала и дальность обнаружения сформированного ОА сигнала до 12 мм, при отсутствии контрастных наноагентов дальность проникновения ОА сигнала в образце крови составляет 4 мм.

3. Для определения влияния формы эритроцитов на оптоакустический сигнал была разработана двухмерная модель изменения формы эритроцитов для последующего моделирования акустического сигнала. Построены параметрические модели (модели Эванса - Фунга и модели Кучеля - Факерелла) для создания контура эритроцита. Установлено, что рассчитанные модели обеспечивают получение осесимметричных форм эритроцитов и могут быть снабжены полиномиальными разложениями Лежандра.

4. Получено аналитическое выражение для акустического сигнала при оптоакустическом эффекте для несферических осесимметричных жидкостных частиц с использованием функции Грина. Проведено моделирование теоретически сконструированных контуров эритроцитов, представляющим дискоциты и стоматоциты с использованием полиномов Лежандра. Острый и узкий N -образный импульс был получен, когда приемник расположен при $\theta = 0$, как показано на рисунке 4.37 (а). Импульс удлиняется при зондировании от $\theta = \pi/2$. Его амплитуда уменьшается в четыре раза, а длительность акустического сигнала в три раза больше, чем у прежнего импульса. Это можно объяснить тем, что эритроцит становится тоньше, если расположить ультразвуковой детектор в первом направления по сравнению со вторым направлением. Разница между акустическими сигналами, излучаемыми формами стоматоцит1 и стоматоцит2, является небольшой, поскольку они аналогичны (как показано на рисунках 4.37 (б) и (в)). Для однородной сферы, сигналы идентичны со всех сторон, как показано на рисунке 4.37 (г). Таким образом, можно оценить морфологию клеток из формы акустического сигнала сформированного в результате оптоакустического преобразования.

5. Смоделированы пространственные распределения ячеек в пределах одного агрегата, радиусом α ячейки равным 2,75 мкм, что соответствует размеру эритроцита, обычно используемому при компьютерном моделировании крови, при условии не перекрытия сфер. Процесс моделирования позволил достичь агрегационной компактности ϕ_i до 40% в 3D. Рассчитаны спектральные плотности мощности для агрегатов радиуса $r_{ag}/\alpha = 7$ с компактностью $\phi_i = 10\%$, с компактностью $\phi_i = 40\%$, позволяющие оценить уровень агрегации модельных сред.

6. Проведено моделирование пространственного распределения двояковогнутых эритроцитов при условии не перекрытия частиц. Рассчитаны спектральные плотности мощности для гематокрита 45% для эритроцитов сферической и двояковогнутой формы, при этом у эритроцитов

двояковогнутой формы наблюдается снижение частоты основного максимума, при одинаковых значениях амплитуды спектральной плотности мощности.

5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ НА ОСНОВЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА

5.1 Методика проведения экспериментальных измерений оптоакустического эффекта в жидкости.

Целью проведения экспериментальных исследований является апробация метода аналитической диагностики форменных элементов крови (эритроцитов) на основе оптоакустического эффекта и построение системы экспресс-анализа. Для выполнения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Экспериментально исследовать процесс лазерного возбуждения акустических импульсов в пробах крови и модельных биологических средах при измерении гематокрита и кислородонасыщения, для валидации предложенных моделей.
2. Измерения провести в живой крови и на основе синтезированных полистирольных микросфер и дисков как моделей эритроцитов с соответствующими размерами, теплофизическими параметрами.
3. Сравнить результаты эксперимента с результатами математического моделирования.

Для решения поставленных задач была разработана экспериментальная установка, структурная схема которой представлена на рисунке 5.1

Сигнал от лазера в результате поглощения оптического излучения в жидкости формировал акустический сигнал, который детектировался ультразвуковым преобразователем, установленным в измерительной кювете (рис. 5.1а).

Кювета заполнялась модельным раствором в различных концентрациях. Расстояние от лазерного пятна до УЗ приемника составляло 0,5–2 см. Электрический сигнал от приемника, после усилителя регистрировался цифровым осциллографом NI PXI с рабочей частотной

полосой до 300МГц. Полученные данные сохранялись в файл на ПК и обрабатывались отдельно. Внутренние размеры камеры измерительного объема составляют 40х40х15мм.

На рисунке 5.1б представлена структурная схема экспериментальной установки.

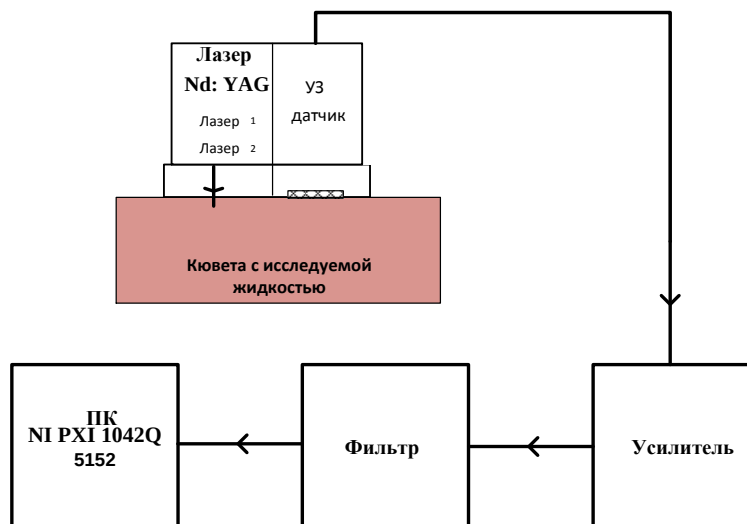


Рисунок 5.1 – Структурная схема экспериментальной установки для исследования формирования акустического сигнала в суспензиях при оптоакустическом преобразовании

Внешний вид установки LIMO 100-532 /1064-U и кюветы с биожидкостью в НОЦ «Лазерные технологии» ЮФУ, показан на рис.5.2.



Рисунок 5.2 – Кювета в лазерной установке LIMO 100-532 /1064-U.

Измерительная установка была построена с использованием Nd:YAG лазера, модель установки LIMO 100-532/1064-U. Длина волны была фиксированной и составляла 1064 нм, при этом длительность импульса – 84 нс, и мощностью в импульсе, которая могла задаваться программно, до

100 Вт (таблица 5.1). Частота следования импульсов лазера составляла 10 кГц [212–215]. Лазерный комплекс LIMO 100-532/1064-4 производителя «LIMO» (Германия, 2008) и «Thales Laser» (2008) состоит из двух твердотельных Nd:YAG лазеров, работающих в инфракрасном (1062 нм) и видимом (532 нм) диапазонах длин волн.

С целью устранения случайной погрешности, связанной с ручным перемещением приемника или с обработкой полученных данных, в экспериментальном исследовании была использована стационарная система установки гидрофона. В измерительной камере был создан внутренний объем, стенки которого были выполнены из пластика толщиной 1 мм.

Рассмотрим методику проведения измерений. На рисунке 5.1 показана геометрия экспериментального исследования. Угол наклона ввода лазерного излучения 90 градусов по отношению к исследуемой жидкости. С помощью приемника регистрировалось давление, создаваемое излучателем во фронтальном срезе акустического поля. Для оценки влияния изменения физических параметров рассеивателя на распределение давления во фронтальном срезе акустического поля, внутренний объем в первой части исследования наполнялся дистиллированной водой, а во второй части исследования – кровью или модельной жидкостью. Результирующая амплитуда акустического давления в каждой точке исследования получена усреднением по пяти измерениям.

При измерении, необходимо использовать пробирки объемом 3 мл, для исследования глюкозы с содержанием антикоагулянта (К3ЭДТА / калия оксалат / лития гепарин) и стабилизатора уровня глюкозы (натрия фторид / монойодацетат — ингибиторы гликолиза); для измерения гематокрита и оксигенации (для гематологических исследований цельной крови) должны содержать К2ЭДТА или К3ЭДТА (1,8 мг/мл крови). ЭДТА связывает ионы кальция и блокирует каскад свёртывания. Эритроциты, лейкоциты и тромбоциты в образце крови с ЭДТА стабильны до 24 часов. Полученная и доставленная кровь для анализа должна быть быстро подвергнута

исследованию. Для определения исследования биологического материала считается возможным хранение его при комнатной температуре не более 6-8 часов.

Таблица 5.1 –Параметры установки LIMO 100-532/1064-4

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

Затем с помощью цифрового осциллографа NI PXI5152 (США, 2012) на базе измерительного прибора системы 1042Q (США, 2012) проводились наблюдения и регистрация сигналов, как во временной, так и в частотной областях, благодаря наличию широкого спектра функций по обработке цифровых отсчетов в среде графической разработки LabVIEW. Основные характеристики NI PXI5152 приведены в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Характеристики осциллографа NI PXI5152

Модель	Интерфейс	Входы	Частота оцифровки	Частота оцифровки в режиме RIS (ГГц)	Полоса (МГц)	Разрядность (бит)	Встроенная память (на канал)
NI 5152	PXI	2	1 ГГц (2 ГГц/канал)	20	300	8	8

С помощью модульного измерительного комплекса NI PXI 1042Q полученный акустический сигнал обрабатывался и записывался на жесткий диск ПК. Полоса пропускания – до 1 ГГц, максимальная частота дискретизации в реальном времени – 2 ГГц [212–215].

Схема разработанного «виртуального» прибора на базе LabVIEW приведена на рисунке 5.3 и включает в себя фильтр верхних частот, полосовой фильтр, а также имеет систему записи данных на выходе каждого из устройств. Полученные экспериментальные данные по команде записываются в документ формата “.txt”.

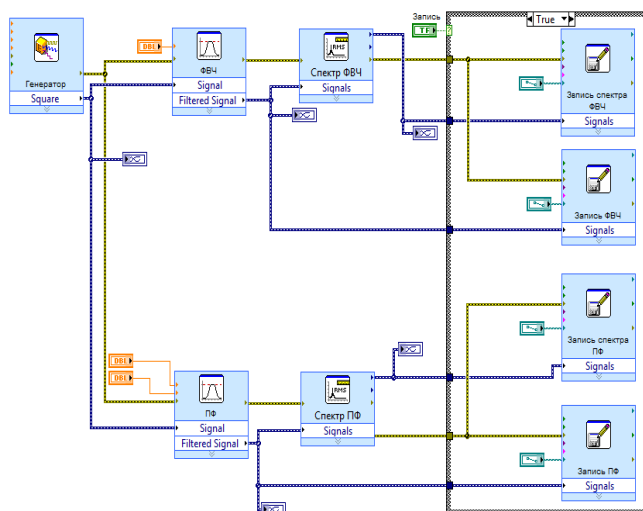


Рисунок 5.3 – Блок-диаграмма в LabView

Интерфейс программы содержит графики данных в реальном времени, окно сигнала фильтра с изменяемой частотой среза, график частотного спектра, в которые записываются данные (рис.5.4) [129,215,216].

Данные, полученные с помощью модульного измерительного комплекса NI PXI 1042Q в виде текстовых файлов в формате «*.txt», обрабатывались в соответствии с решаемыми задачами в среде Matlab. В результате были построены временные реализации профиля акустического сигнала и его спектр.

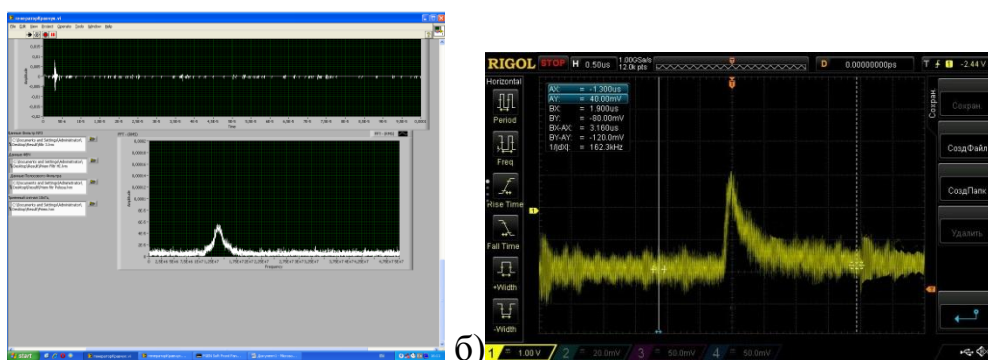


Рисунок 5.4 – а) Рабочее окно программы для записи регистрируемого сигнала б) фотоснимок акустического сигнала с осциллографа Rigol

Анализируя высокочастотный сигнал с помощью функции быстрого преобразования Фурье, был построен амплитудно-частотный спектр регистрируемого сигнала. Далее строились спектры для сигнала после фильтра верхних частот и полосового фильтра.

В работе использовался пьезоэлектрический преобразователь, активным элементом которого был цилиндр из пьезокерамики ЦТС-19 с резонансной частотой 1,4 МГц (таблица 5.3).

Таблица 5.3 –Характеристики пьезокерамического преобразователя

Параметры	Цилиндр
Диаметр, мм	2
Резонансная частота $f_{резонанс}$, МГц	1,4
Масса, г	0,4
Емкость, pF	500
Чувствительность на частоте измрения	2,5мкВ/Па

Измерение чувствительности приемного преобразователя проводилось на основе градуировки методом взаимности. Амплитудно-частотная характеристика измерительного преобразователя приведена на рисунке 5.5 а.

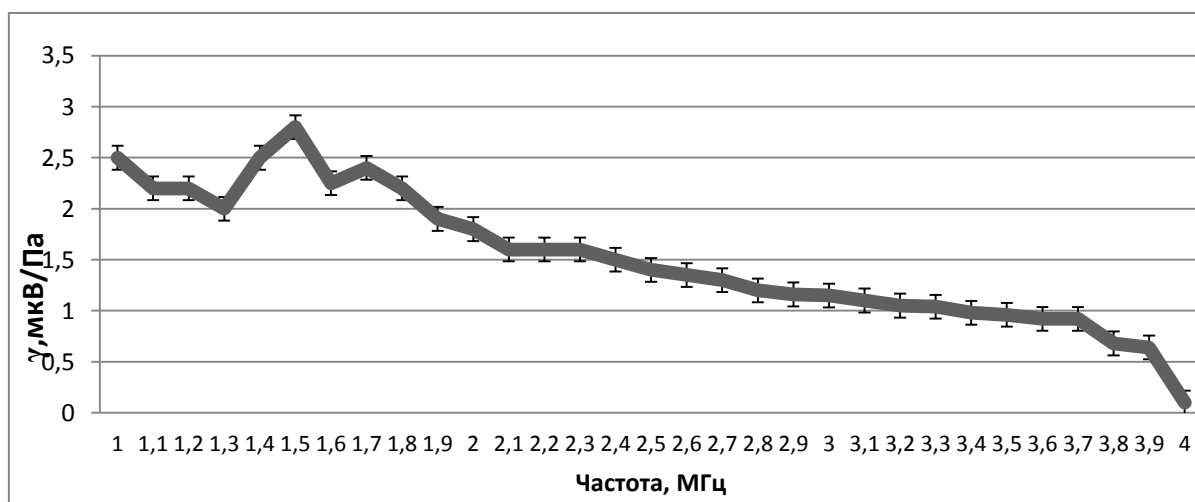


Рис. 5.5 а – Чувствительность цилиндрического приемника

Метод взаимности подразумевает наличие излучателя (Р) предназначен для передачи акустического сигнала, гидрофона (Н), обратимого преобразователя (Т). Параметр взаимности J является постоянным для данной частоты и связывает чувствительность приемника (М) с

чувствительностью передачи (S) пьезоэлектрического элемента, определяемой в виде:

$$J(f) = \frac{M(f)}{S(f)} = \frac{2r}{\rho f},$$

где: r - расстояние от источника, ρ - плотность среды (воды), f - частота. В методе взаимности необходимы три датчика для определения чувствительности гидрофона в свободном поле: гидрофон (H), излучатель (P) и обратимый преобразователь (T).

Для пары преобразователей передаточный акустический импеданс (Z) определяется как отношение напряжения холостого хода (V) на приемнике, индуцированного током возбуждения (I) через передающее устройство:

$$Z_{pH} = \frac{V_{pH}}{I_p} \quad Z_{pt} = \frac{V_{pH}}{I_p} \quad Z_{pt} = \frac{V_{tH}}{I_t}$$

Напряжение, на гидрофоне (H), является произведением его чувствительности в режиме приема (M_H) давлением, полученным от (p). Поскольку давление, создаваемое излучателем (P) на расстоянии (d), произведение чувствительности передачи (S_p) возбуждения (I_p) деленное на (d) в случае, когда акустическое давление сферической волны падает вдвое с удвоенным расстоянием, мы имеем:

$$V_{pH} = pM_H = \frac{S_p I_p M_H}{d}$$

Аналогичным образом получаем V_{PT} и V_{TH} . Таким образом, мы имеем систему с тремя уравнениями и четырьмя неизвестными переменными (M_H , S_p , M_T , S_T). Используя параметр взаимности для обратного преобразователя (T), можно определить все параметры преобразователей, как в этом случае:

$$M_H = \sqrt{Jd \frac{Z_{pH} Z_{tH}}{Z_{PT}}} = \sqrt{\frac{2d^2 V_{pH} V_{TH}}{\rho f V_{PT} I_T}}$$

5.2 Исследование изменения температуры в зоне действия лазерного излучения и мощности лазерного излучения

Проведем оценку изменения температуры в жидкости при воздействии лазерного излучения при условии, что параметры жидкости не меняются во время воздействия лазерного импульса. Изменение коэффициента объемного расширения β от температуры приведено на рис. 5.6 [217]. В работах [71,74,213,218–228] учитывали тепловую нелинейность, связанную с температурной зависимостью β . В [219], [314] рассмотрено влияние нелинейности на форму импульса давления вблизи поверхности жидкости.

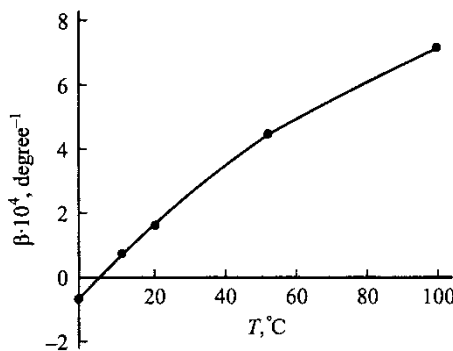


Рисунок 5.6 – Зависимость коэффициента объемного расширения воды β от температуры [217].

Пренебрегая значением теплопроводности (зависимость $\beta(T)$ линейная), получим [316]

$$\beta(T) = \beta(T_0) + \left(\frac{d\beta}{dT} \right)_{T_0} T' \quad (5.1)$$

где исходная температура жидкости T_0 .

Будем считать, что изменение температуры в результате поглощения лазерного излучения T' будет изменяться по глубине слоя z [229] как

$$T'(z) = \frac{\alpha \varepsilon_L}{\rho_0 C_p} e^{-\alpha z} \quad (5.2)$$

Предположим, что плотность энергии в пределах пятна с радиусом a , постоянна и равна $I_0 = E/\pi a^2$ плотность лазерной энергии на поверхности, при этом поверхность волнового фронта равна площади ($S = \pi a^2$) пятна фокуса. Таким образом, можно получить временной профиль импульса давления с

учетом тепловой нелинейности [74,229] при воздействии короткого импульса на жесткую границу

$$P_r(\tau) = \left(\frac{\alpha c_0^2 \beta I_0}{2C_p} \right) \left[e^{(-\alpha c_0 |\tau|)} + N \varepsilon_L e^{(-2\alpha c_0 |\tau|)} \right], \quad (5.3)$$

и свободную границу жидкости:

$$P_f(\tau) = \left(\frac{\alpha c_0^2 \beta I_0}{2C_p} \right) \left[e^{(-\alpha c_0 |\tau|)} + N \varepsilon_L e^{(-2\alpha c_0 |\tau|)} \right] \operatorname{sgn} \tau \quad (5.4)$$

Где sgn – кусочно-постоянная функция действительного аргумента, N – нелинейный параметр [229]:

$$N = \left(\frac{\alpha}{\rho_0 C_p \beta(T_0)} \right) \left(\frac{d\beta}{dT} \right)_{T_0} \quad (5.5.)$$

Считая $T_0=20^\circ \text{C}$ и $I_0=0,1 \text{ Вт/см}^2$ [230–232], форма акустического сигнала для короткого импульса при воздействии лазерного излучения на поверхность жидкости (свободную границу) будет иметь вид (рис.5.6)

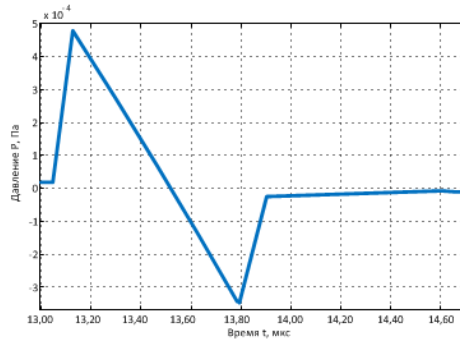


Рисунок 5.6 – Временной профиль импульса давления, генерируемый импульсом лазера, падающего на мягкую границу

Под действием импульса на поверхность жидкости температура ее поверхности растет со временем пропорционально поглощенной к этому моменту энергии [66,229], т. е.

$$T(\tau) = T_0 + \frac{\alpha I_0}{\rho_0 C_p} \int_0^t f(t) d\tau = T_0 + \frac{\alpha I_0}{\rho_0 C_p t_{eff}} \int_0^t f(t) d\tau. \quad (5.6)$$

Изменение температуры поверхности, рассчитанное по формуле (5.6) для импульса ND:YAG лазера с длиной волны 1064 нм, представлено на рис. 5.7 для значения интенсивности ε_L взятой из ГОСТ Р МЭК 60825-1- 2009.

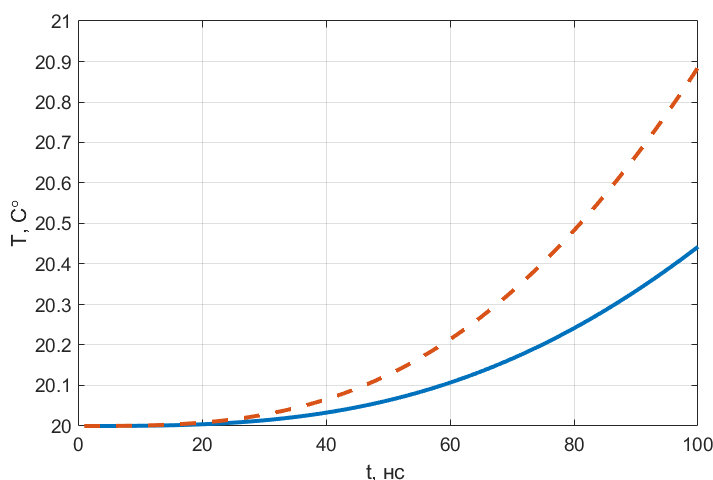


Рисунок 5.7 – Зависимость температуры жидкости от длительности воздействия лазера (сплошная линия для одиночного импульса, пунктир - для серии импульсов с частотой 10 кГц).

Как видно из рисунка 5.7, наблюдается незначительный рост температуры в пределах $0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ при воздействии лазера с длительностью 84 нс и длиной волны 1064 нм, а также рост температуры на $0,56\text{ }^{\circ}\text{C}$ для серии импульсов с частотой повторения 10 кГц в течение 1 мин.

В РФ существует условная классификация медицинских лазеров по направлениям их применения и обозначением диапазона мощности: 1, 1М – диагностика ($0,1\text{--}1\text{ мВт}$); 2, 2М – лазерная терапия, низкоинтенсивное лазерное излучение, НИЛИ ($1\text{--}100\text{ мВт}$); 3R, 3В – фотодинамическая терапия, ФДТ ($10^{-1}\text{--}3\text{ Вт}$); 4 – лазерная хирургия ($1\text{--}100\text{ Вт}$).

Наряду с действующим в настоящее время ГОСТ Р-50723-94 [230], введены новые стандарты, соответствующие международным – ГОСТ Р МЭК 60601-2-22-2008 [231] и ГОСТ Р МЭК 60825-1-2009 [232]. Эти стандарты предусматривают ранжирование лазерной аппаратуры по семи классам (в порядке повышения уровня опасности): 1, 1М, 2, 2М, 3R, 3В и 4. Стандарты определяют параметры (длина волны и мощность) и методы их контроля, позволяющие классифицировать лазеры. Предъявлены соответствующие

требования к их конструкции, маркировке для обеспечения безопасной работы с лазерной аппаратурой.

Плотность потока полезной мощности (ППМ) P лазерного излучения определяется по следующей зависимости:

$$P = \frac{P_u \tau f}{S}$$

где P – облученность или плотность потока мощности (ППМ), Вт/см²; P_u – паспортная мощность импульсного лазерного ИК-излучателя; Вт; τ – длительность одного импульса (с); f – частота импульсов, (Гц); S – площадь облучения (при контактной методике равна площади выходного отверстия излучателя). Величина P определяет за одну секунду воздействие, т.е. отношение мощности излучения к площади поверхности, освещаемой лучом и перпендикулярной к направлению излучения [233]. В нашем случае плотность потока мощности составит 420 мВт/см².

Таким образом, нами используется лазер с классом лазерной опасности (СанПиН 2.1.3.2630) ГОСТ Р МЭК 60825-1- 2009 и обозначается как 2,2М, СанПиН 2.1.3.2630 (Диагностика, лазерная терапия полностью безопасные лазеры), плотность мощности от 0,005 Вт/см² до 5 Вт/см². Это означает, что однократное воздействие коллимированным излучением не представляет опасности при облучении глаз и кожи. Поэтому изменение температуры в жидкости при воздействии на нее лазера рассчитывалось, исходя из ГОСТ Р МЭК 60825-1-2009.

5.3 Типы модельных жидкостей

С помощью лабораторной установки, описанной в разделе 5.1, необходимо провести ряд экспериментов по формированию и рассеянию в модельных жидкостях акустических сигналов для подтверждения ряда теоретических результатов, полученных в главах 2-4.

В эксперименте для моделирования крови использовался ряд модельных жидкостей с наполнителями. Далее рассмотрим типы жидкостей и их характеристики.

В качестве однородной поглощающей среды для проведения эксперимента был изготовлен натрий-фосфатный раствор, представляющий собой изотонический водный раствор хлорида натрия (137 ммоль), гидрофосфата натрия Na_2HPO_4 (10 ммоль), хлорида калия KCl (2,7 ммоль) и дигидрофосфата калия KH_2PO_4 (1,76 ммоль). Осмотическая концентрация и pH раствора идентичны плазме крови.

Результат экспериментальных измерений формирования акустического сигнала в воде (при мощности 0,25 Вт) приведены на фотографии осциллографа рис. 5.8 (слева) и построенный в Matlab (справа), из которого видно, что амплитуда нарастания акустического сигнала составляет 84 нс, это и есть длительность лазерного импульса, который воздействует на жидкость, остальная длительность сигнала это процесс релаксации характеризующий процесс возврата жидкости в равновесное состояние. Максимальное значение амплитуды и время релаксации сигнала увеличивались, при повышении мощности лазерного излучения, результаты таких исследований (рис. 5.9) представлены в виде записи данных сигнала и построены в Matlab.

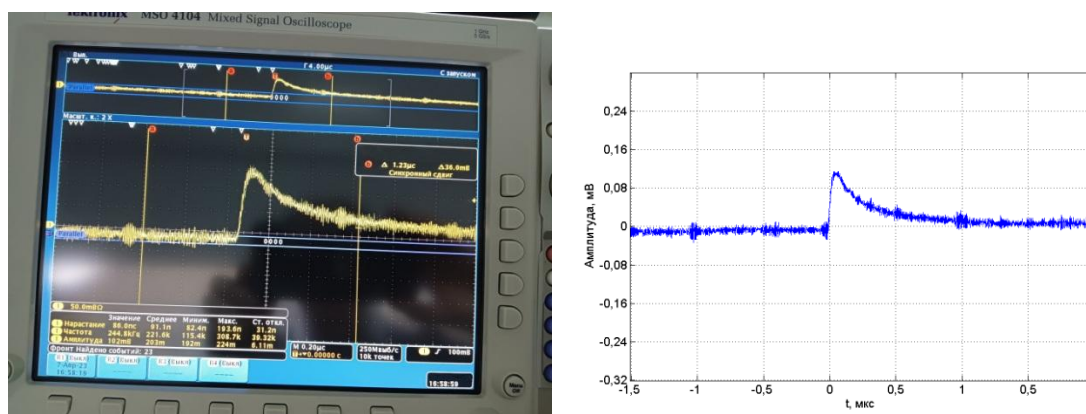


Рисунок 5.8 – Акустический сигнал, зарегистрированный в водном растворе при мощности 0,25 Вт (слева), акустический сигнал, построенный по измеренным данным в MatLab (справа)

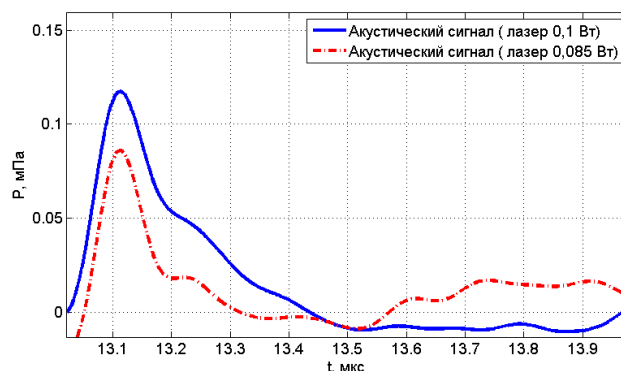


Рисунок 5.9 – Акустический сигнал, зарегистрированный в водном растворе при мощности 0,085 Вт (красный пунктир); Акустический сигнал, зарегистрированный в водном растворе при мощности 0,1 Вт (синяя линия)

Из рисунка 5.9 видно, что время воздействия лазерного излучения составляет порядка 80 нс (время роста пика сигнала). Амплитуда сигнала с ростом мощности лазерного излучения на 15% увеличивалась на 28%. При этом отметим, что изменялось время релаксации после пика разогрева, так при мощности 0,085 Вт время релаксации составило 0,27 мкс, а при 0,1 Вт – 0,56 мкс [215]. Фотография акустического сигнала зарегистрированного цифровым осциллографом Rigol приведена на рисунке 5.46.

Для моделирования эритроцитов крови были выбраны полистирольные микросферы (ПСт) с диаметром 5, 8, 15 и 20 мкм, произведенные в ООО «Диафарм», г. Санкт-Петербург ($\rho_s=1050 \text{ кг/м}^3$, $C_p=3600 \text{ Дж/(кг}\cdot\text{K)}$, $\beta=1,41\cdot 10^{-4} \text{ K}^{-1}$). Размер полистирольных сфер при синтезировании выбирался так, чтобы соответствовать размерам красных кровяных телец (подробно описаны в разделе 1.1), которые в норме представляют собой двояковыпуклые диски диаметром 5-6 мкм и средней толщиной 2,0 мкм. Коэффициент оптического поглощения сфер хорошо согласуется с данными для эритроцитов в эквивалентных концентрациях.

Для моделирования поглощающей среды в натрий-фосфатный раствор, были добавлены полистирольные микросферы различных диаметров и концентраций.

Концентрация функциональных групп находилась в пределах от 0,9 до 5 мкмоль/м². Для обеспечения однородности суспензии микросферы в растворе предварительно размешивались в ультразвуковой ванне. Коэффициенты поглощения полистирола в зависимости от длины волны лазерного излучения можно определить из рис. 5.10, приведенного в Journal of applied polymer science vol. 15 (1971) "Absorption coefficient of unpigmented poly" [234]. Мощность лазерного излучения устанавливалась равной 0,1 Вт.

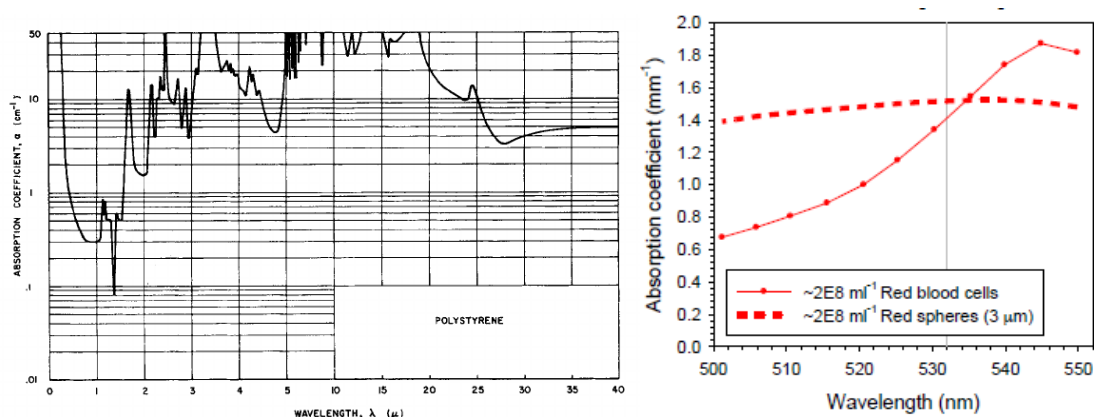


Рисунок 5.10 – Зависимость коэффициента поглощения полистирола и эритроцитов от длины волны (Journal of applied polymer science vol. 15, 1971 note Absorption coefficient of unpigmented poly).

Изготовленные суспензии и отдельно микросферы были изучены с помощью микроскопа Olympus X-71(Япония, 2010) фирмы NTEGRA Vita (Россия, 2010) и растрового электронного микроскопа Nova Nanolab 600 (FEI Company, Нидерланды, 2010), предназначенного для исследования объектов на микро- и наноуровнях. Параметры микроскопов приведены в таблицах 5.4 и 5.5. Изучение суспензий проводилось в центре коллективного пользования «Нанотехнологии» ЮФУ.

Таблица 5.4 –Параметры микроскопа Nova Nanolab 600

Параметр	Микроскоп Nova Nanolab 600
Электронно-лучевая колонна: разрешающая способность при 15 кВ	1,1 нм
Ионная колонна Magnum: разрешающая способность	7 нм
Встроенный детектор Встроенный детектор Прямой ионный детектор	SE (TLD-SE) BSE (TLD-BSE) CDEM

детектор	STEM
Разрешение (пикселей), TIFF (8 или 16 бит), BMP, JPEG.	3584 x 3094

Таблица 5.5 – Параметры микроскопа Olympus X-71

Параметр	Микроскоп Olympus X-71
Револьверная головка	Шестипозиционная, брызгозащищенная.
Фокусировка	Рукоятки грубой и точной фокусировки, полный ход фокусировки: 9 мм, шаг точной фокусировки: 1 мкм.
Освещение	Осветитель проходящего света центрируемый по Келлеру. Галогеновая лампа 12В 100Вт
Визуальная насадка	Широкопольный тринокулярный тубус Видимое поле изображения F.N. - 22 Наклон тубуса - 30° Диапазон регулировки межзрачкового расстояния - 50 – 76мм Широкопольный бинокулярный тубус Видимое поле изображения F.N. - 22 Наклон тубуса - 30° Диапазон регулировки межзрачкового расстояния - 50 – 76мм Широкопольный бинокулярный тубус со встроенным центровочным окуляром Видимое поле изображения F.N. - 22 Наклон тубуса - 30° Диапазон регулировки межзрачкового расстояния - 50 – 76мм Эргономичный Бинокулярный тубус Видимое поле изображения F.N. - 22 Наклон тубуса - 35° - 85° Диапазон регулировки межзрачкового расстояния - 50 – 76мм
Конденсор	Универсальный пятипозиционный конденсор с большим рабочим расстоянием (числовая апертура N.A. 0.55, рабочее расстояние W.D. 23.3 мм) Фазовый четырехпозиционный конденсор со сверхбольшим рабочим расстоянием (числовая апертура N.A. 0.3, рабочее расстояние W.D. 73 мм) Водно - иммерсионный ДИК - конденсор (числовая апертура N.A. 0.9, рабочее расстояние W.D. 3.7 мм)

Внешний вид микроскопа Olympus X-71 представлен на рис 5.11а и включает в себя следующие блоки: 1 - базовый блок; 2 - инвертированный оптический микроскоп Olympus IX-71; 3 - оптическая система просмотра; 4 - измерительная головка; 5 - система виброизоляции. Электронно-лучевая колонна микроскопа Nova Nanolab 600 (рис. 5.11б), оснащена катодом с полевой эмиссией, который создает ускоряющее напряжение от 200 В до 30 кВ и имеет разрешающую способность 1,1 нм при 15 кВ.



Рисунок 5.11 – а) Микроскоп Olympus X-71, б) Растровый микроскоп Nova Nanolab 600

Результаты изучения растворов и суспензий, внешний вид и размеры полистирольных микросфер приведены на рис 5.12.

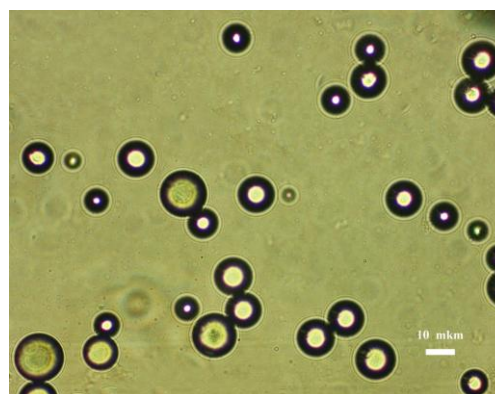
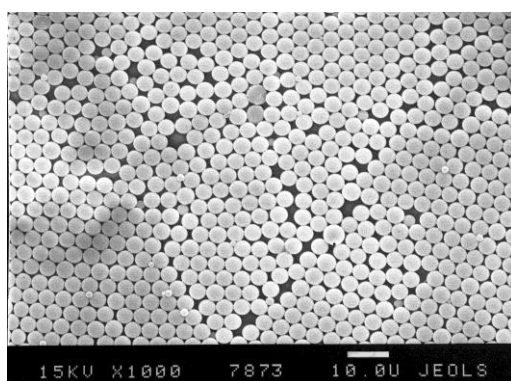
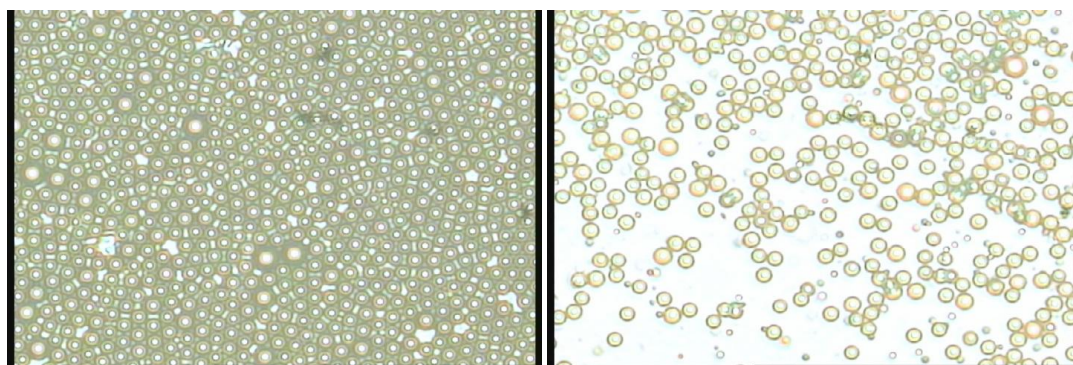


Рисунок 5.12 – ПСт микросферы диаметром 5 мкм (слева) и различных диаметров (справа) (Olympus X-71)

Различные концентрации микросфер в модельном растворе приведены на рис. 5.13



а

б

Рисунок 5.13 – Раствор заполненный ПСт микросферами: а) на 99 % и б) на 52 % (Olympus X-71)

Чтобы подсчитать число микросфер, использовалась методика подсчета эритроцитов в камере Горяева, заключающаяся в подсчете в пяти больших квадратах, расположенных в различных местах пробы раствора, например, по диагонали. Таким образом, зная сумму микросфер в пяти больших квадратах (что составляет 80 маленьких), находят среднее арифметическое число микросфер в одном маленьком квадрате. Умножив найденное число на 4000 (объем пространства камеры над одним маленьким квадратом равен $1/4000$), получим число микросфер в 1 мм^3 разведённой крови. В итоге получим число в пересчёте на 1 л крови, т. е. количество миллионов микросфер.

Суспензию дополнительно разбавляли деионизированной водой для получения более низких концентраций ($100 \% = 5 \cdot 10^6$ частиц/мкл).

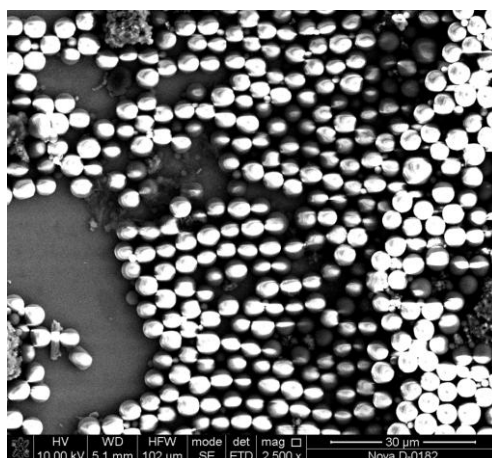


Рисунок 5.14 – ПСт микросферы в модельном растворе (70% микросфер) (Nova Nanolab 600)

После проведения экспериментов по исследованию генерации акустического сигнала в модельных суспензиях, были сделаны снимки используемых растворов (рисунок 5.14) с помощью растрового электронного микроскопа Nova Nanolab 600.

Далее для проведения экспериментов была сформирована модельная суспензия, содержащая ПСт микросферы, имитирующие эритроциты, и углеродные нанотрубки как контрастные поглотители лазерного излучения (рис.5.15).

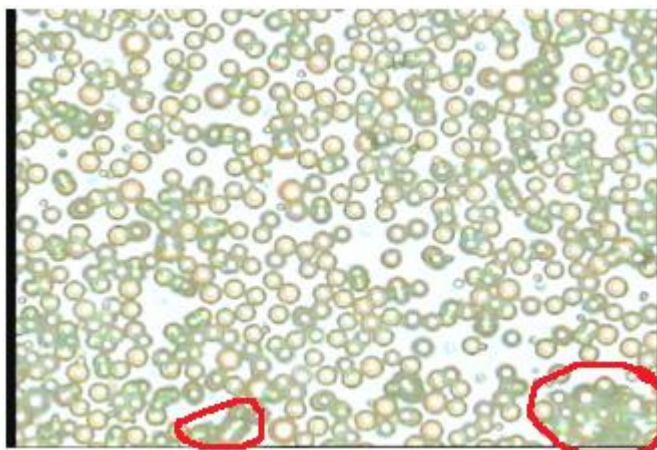


Рисунок 5.15 – ПСт микросферы в модельном растворе с углеродными нанотрубками (Olympus X-71).

Как известно, наночастицы используются в медицине в качестве усилителей контрастности в различных методах оптической визуализации, таких как оптическая когерентная томография, флуоресцентная визуализация и микроскопия оптического отражения. Углеродные нанотрубки (УНТ) представляют собой цилиндрические молекулы, которые состоят из свернутых листов однослойных атомов углерода (графена). Использовались одностенные и многостенные наночастицы, состоящие из нескольких концентрически связанных нанотрубок, с диаметрами, достигающими 100 нм. Известно поглощение лазерного излучения с длиной волны 1064 нм [235].

Как видно из рис. 5.15, углеродные нанотрубки собираются в конгломераты, при этом «захватывая» микросферы. Этот процесс можно

рассмотреть с помощью растрового микроскопа Nova Nanolab 600 на рис 5.16.

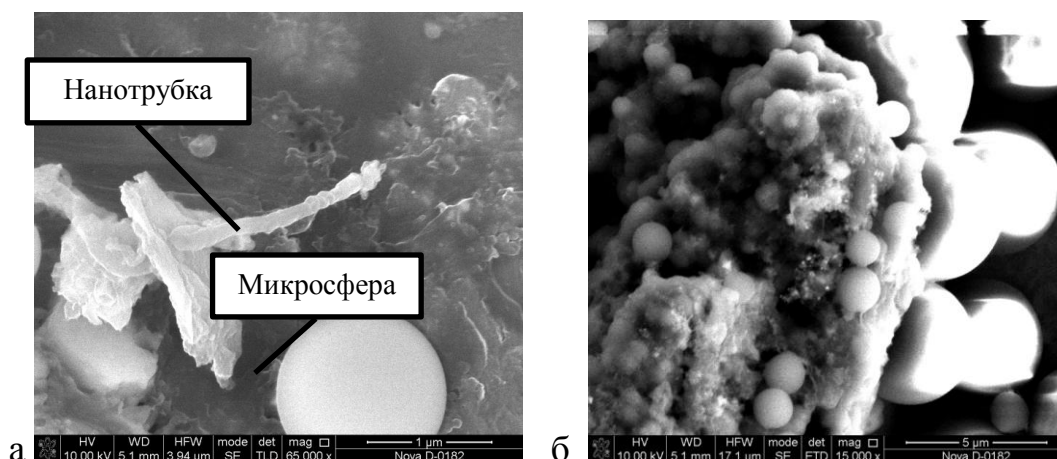


Рисунок 5.16 – а) ПСт микросфера с нанотрубкой; б) конгломерат наночастиц с микросферами в модельном растворе. (Nova Nanolab 600)

На рисунке 5.6 приведены снимки используемых растворов, полученных с помощью растрового микроскопа Nova Nanolab 600. На рисунке а) показана микросфера с нанотрубкой длиной 1 мкм, на рисунке б) демонстрирует присоединение микросфер диаметром от 1 мкм до 4 мкм к конгломерату наночастиц [236].

Концентрация микросфер может составлять $5 \cdot 10^6$ 1/мл. В связи с тем, что среда-рассеиватель образована на основе водного раствора, можно считать, что ее акустический импеданс равен значению этого параметра для воды.

5.4 Экспериментальное исследование ОА эффекта в жидкости с полистирольными сферами как физическими моделями эритроцитов крови

Экспериментальные исследования оптоакустического эффекта проводились в растворах, описанных в предыдущем разделе. Для изучения акустического сигнала в жидкости с большой вязкостью по сравнению с водой был использован 50% раствор глицерина в воде (рис. 5.17).

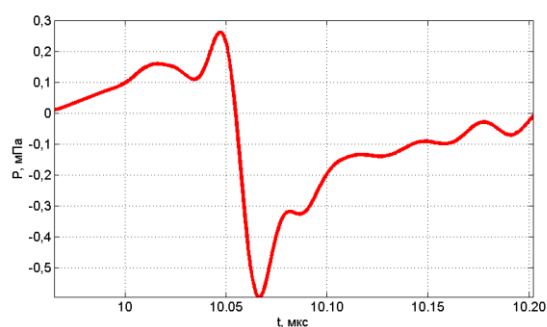


Рисунок 5.17 – Акустический сигнал, формируемый 50% растворе глицерина

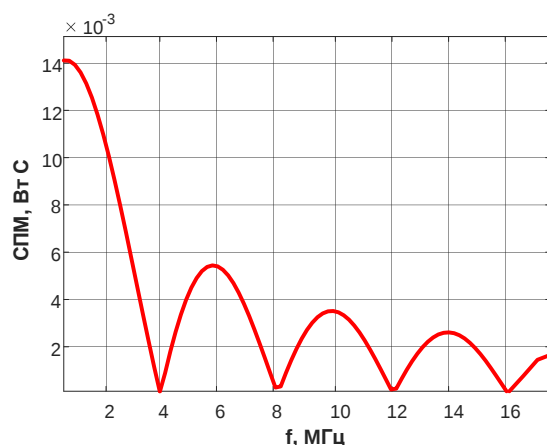


Рисунок 5.18 – Спектр одиночного акустического сигнала, формируемого в 50% растворе глицерина

В качестве сильного поглотителя лазерного излучения в жидкости выступают углеродные наночастицы. Фотография осциллограммы акустического сигнала в жидкости с наночастицами приведена на рисунке 5.19. Акустический сигнал в водном растворе и растворе с углеродными наночастицы, записан АЦП и построен в MatLab, приведен на рис. 5.20.

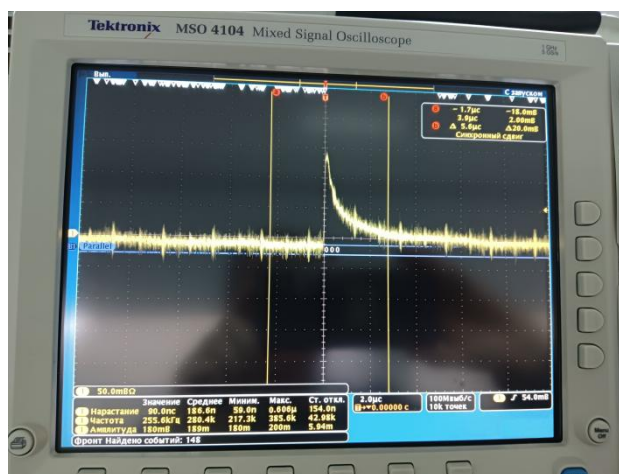


Рисунок 5.19 Фотография осциллограммы акустического сигнала в жидкости с наночастицами.

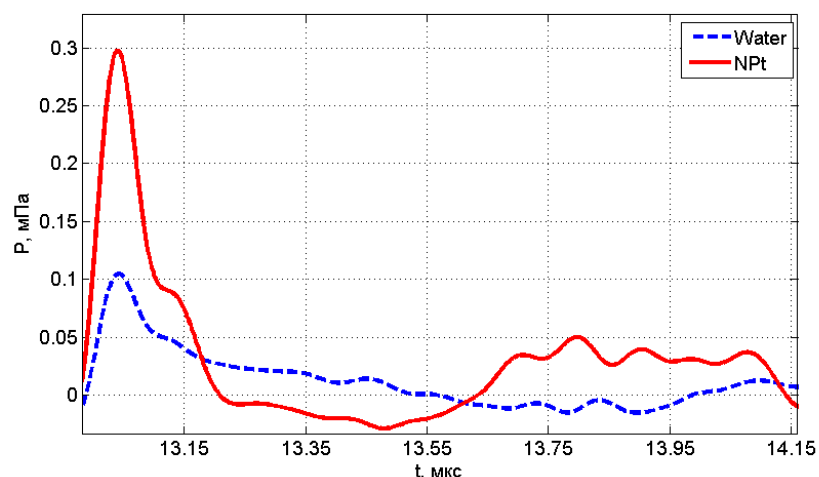


Рисунок 5.20 – Акустический сигнал, формируемый в водном растворе (пунктир), в водном растворе с наночастицами (сплошная)

Как видно из рисунка 5.20 акустический сигнал в жидкости с наночастицами имеет бóльшую амплитуду и меньшее время релаксации вследствие большого поглощения оптического излучения наночастицами [236].

В качестве поглотителей, для моделирования эритроцитов, использованы полистирольные микросферы диаметром 5,0 - 20 мкм (рис. 5.21), которые поставлялись в суспензии деионизированной воды с концентрацией $5,34 \times 10^9$ частиц/мл.

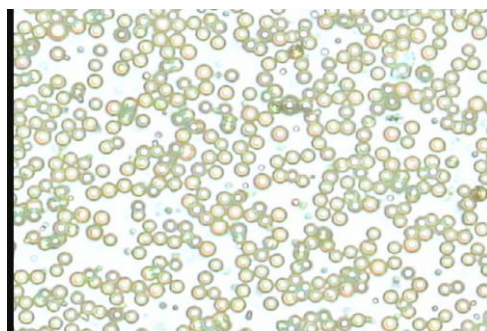


Рисунок 5.21 – Натрий-фосфатный раствор с полистирольными микросферами (52% микросфер)

На рисунке 5.22 приведены профили акустического сигнала генерируемого в натрий-фосфатном растворе и натрий-фосфатном растворе с 52% микросфер, что может соответствовать показателям гематокрита.

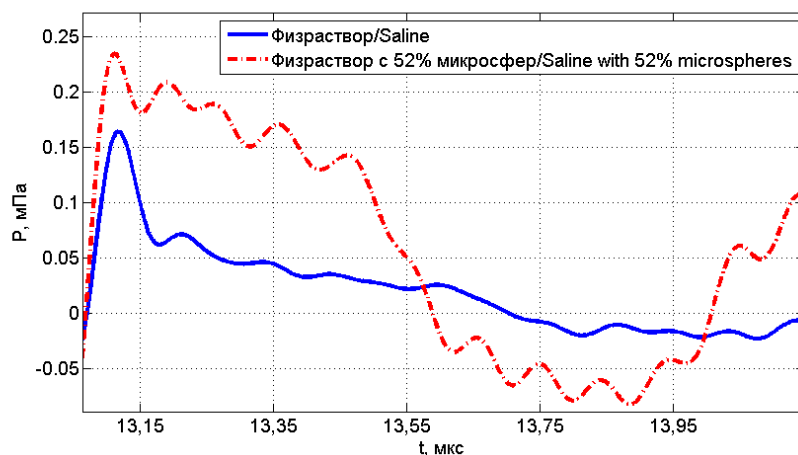


Рисунок 5.22 –Акустический сигнал в натрий-фосфатном растворе (сплошная линия), акустический сигнал в 52%-м растворе микросфер.

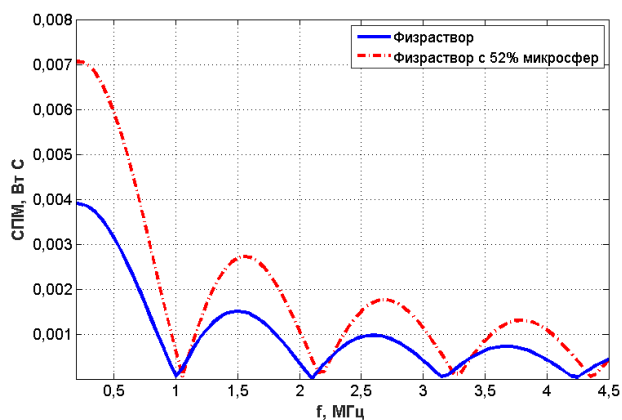


Рисунок 5.23 – Спектр акустического сигнала в натрий-фосфатном растворе (сплошная линия), акустический сигнал в 52%-м растворе микросфер.

Из рис. 5.22 видно, что в растворе без микросфер время релаксации составляет 1,05мкс, в присутствии микросфер время релаксации акустического сигнала уменьшается (0,93 мкс) за счет поглощения и рассеяния сферами оптического сигнала, при этом наблюдается увеличение амплитуды сигнала и смещение спектра сигнала в сторону уменьшения частоты, что также говорит о большей поглощающей способности раствора. Также в профиле акустического сигнала с микросферами наблюдаются флуктуации релаксационной части сигнала вследствие многократных отражений от микросфер.

На рисунке 5.24 приведено изображение раствора с 92% полистирольных микросфер и соответствующий профиль акустического сигнала на рисунке 5.25.

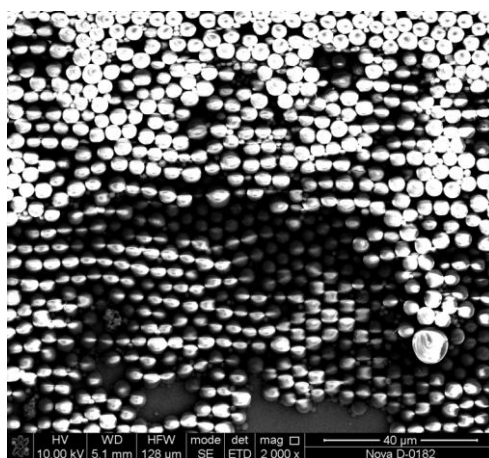


Рисунок 5.24 – Натрий-фосфатный раствор заполненный микросферами на 92% (Nova Nanolab 600)

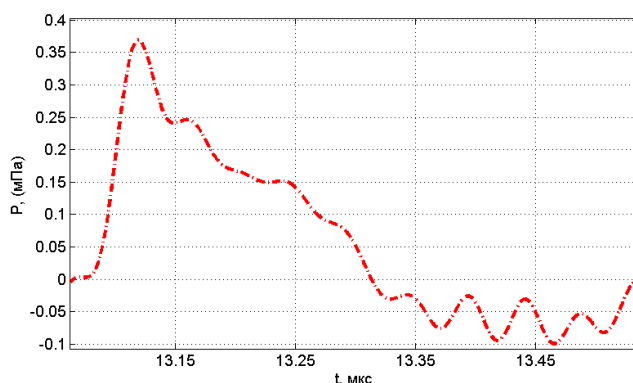


Рисунок 5.25 – Акустический сигнал в натрий-фосфатном растворе, заполненном микросферами на 92%

Акустический сигнал в натрий-фосфатном растворе с 92% микросферами имеет бóльшую амплитуду в результате воздействия лазера и время релаксации 0,44 мкс. Это меньше, чем для акустического сигнала в натрий-фосфатном растворе с 52%-м растворе микросфер (рис. 5.22), что обусловлено большей поглощающей способностью суспензии.

На рисунке 5.26 приведен рассчитанный спектр сигнала для теоретической модели, описанной в главе 2, для реального раствора объемом 30 мл. Он сравнивается со спектром сигнала, вычисленным по

экспериментальным данным измерений в натрий-фосфатном растворе, заполненном полистирольными микросферами на 45%.

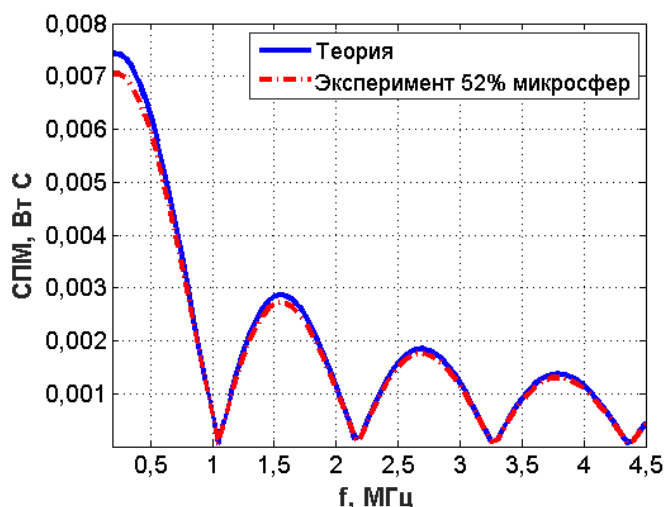


Рисунок 5.26 – Спектральная плотность мощности для теоретической модели жидкости (сплошная линия), спектральная плотность мощности сигнала, построенная по экспериментальным данным в модельной жидкости с микросферами (пунктирная линия, рис 5.22).

Использование контрастных веществ на основе наночастиц значительно расширяет применение оптоакустических методов. Это позволяет получать изображение в ткани с повышенной контрастностью. Наночастицы обычно синтезируют с пиковым поглощением в области ближней инфракрасной области (БИК), где оптическое затухание ткани относительно низкое, что обеспечивает глубокое проникновение света. Нацеливающие пептиды и антитела могут быть конъюгированы с поверхностью наночастиц для контрастирования клеток и молекулярной визуализации. Способность наночастиц и их конгломератов инкапсулировать вещества продемонстрирована на рисунке 5.27.

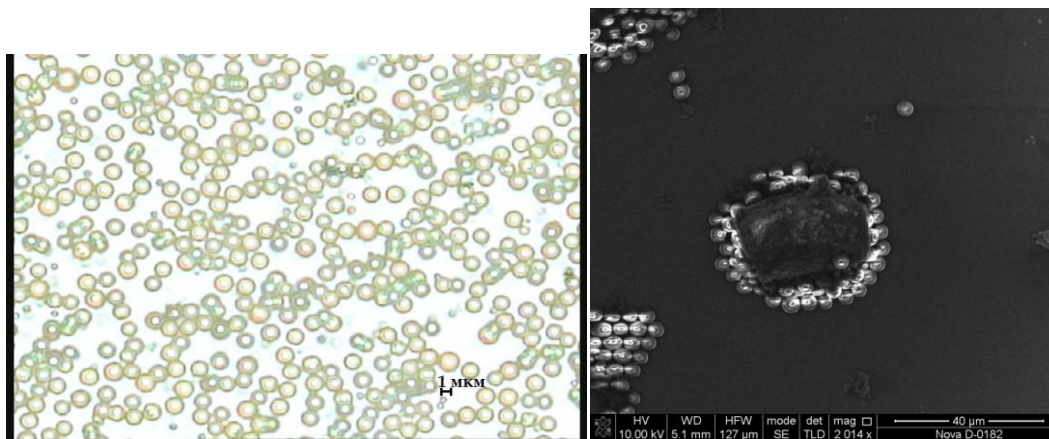


Рисунок 5.27 – Натрий-фосфатный раствор с микросферами и углеродными наночастицами (слева изображение с оптического микроскопа Olympus X-71, справа изображение с растрового микроскопа Nova Nanolab 600)

На рисунке 5.28 (а) приведены снимки с растрового микроскопа модельных жидкостей с полистирольными микросферами и углеродными нанотрубками. Видно, что конгломераты нанотрубок способны аккумулировать вокруг себя микрочастицы, это можно использовать для обнаружения вирусов, элементов злокачественных опухолей в качестве контрастных агентов. Увеличение отклика акустического сигнала в таких суспензиях приведено на рисунке 5.27 (б)[237].

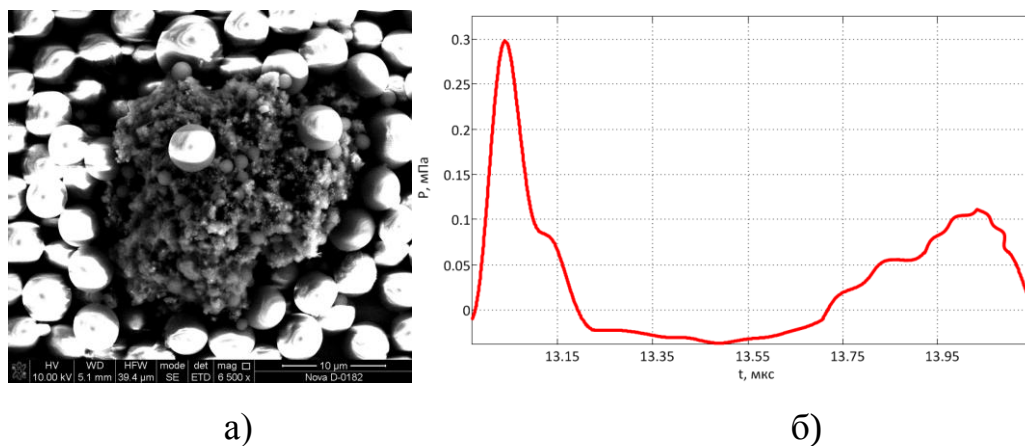


Рисунок 5.28 – а) Натрий-фосфатный раствор с микросферами и углеродными наночастицами, б) Акустический сигнал. Концентрация наночастиц составляла $20 \cdot 10^4$ NPs/микросферу.

Форма полученного акустического сигнала на рис. 5.28 качественно совпадает с теоретическим сигналом, полученным в разделе 4.2, рис 4.22-4.25. Полученная форма с нарастанием границы и подавлением амплитуды

сигнала в центральной области также хорошо согласуется с известными теориями в [189].

В соответствии с проведенным моделированием в разделе 4.5 по трехмерному моделированию эритроцитов, проведены экспериментальные исследования формирования акустического сигнала в жидкости, содержащей полистирольные диски в виде двояковогнутых дискоцитов.

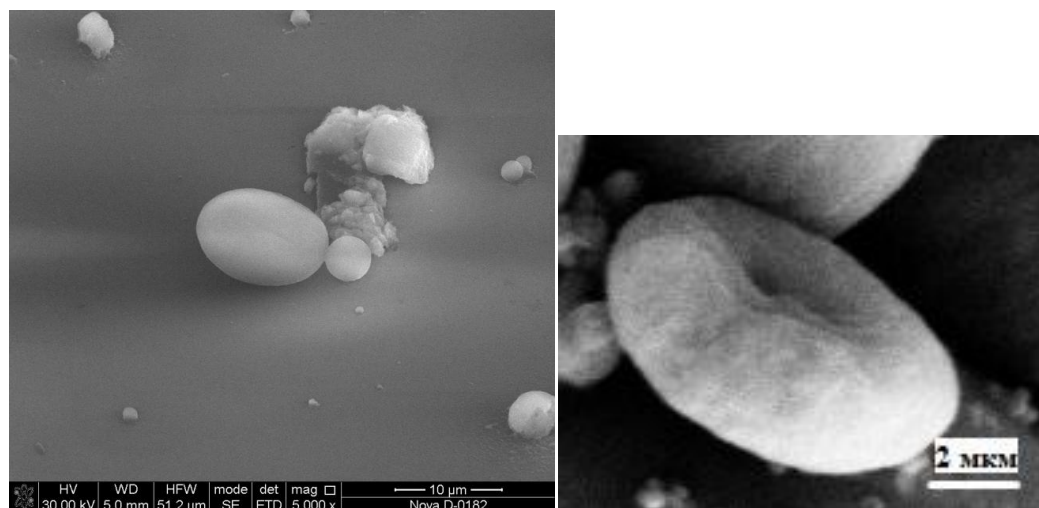


Рисунок 5.29 – Полистирольные диски (Nova Nanolab 600)

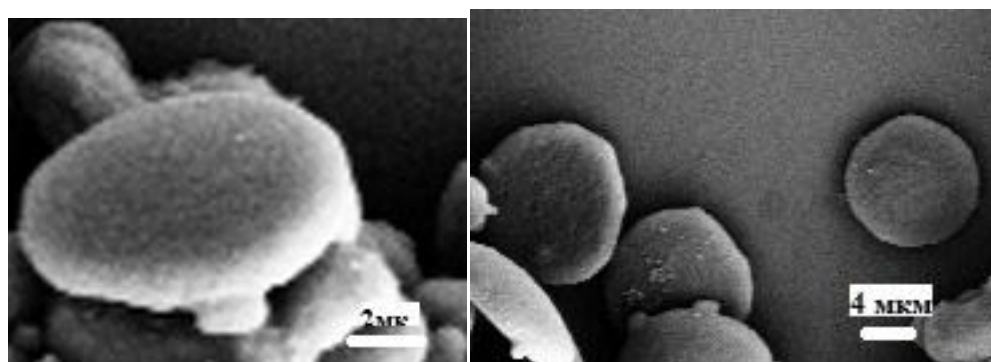


Рисунок 5.30 – Полистирольные диски (Nova Nanolab 600)

На рисунках 5.29 и 5.30 приведены снимки с растрового микроскопа модельных Nova Nanolab 600 жидкостей с полистирольными дисками, взятых после экспериментов с лазерным возбуждением акустического сигнала.

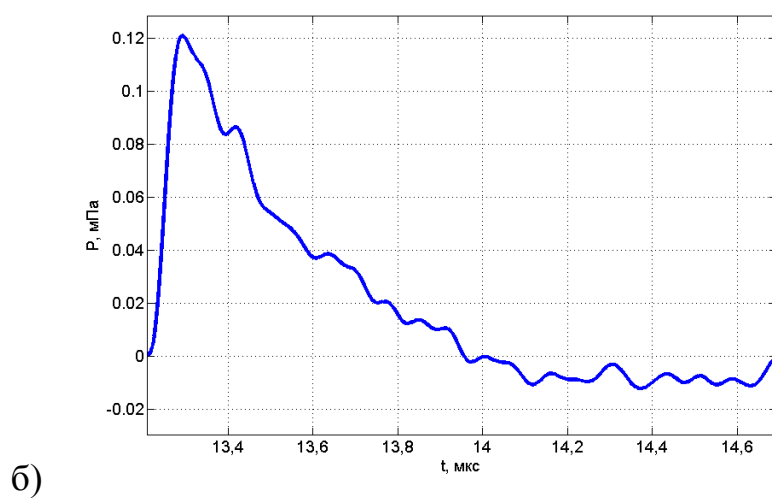
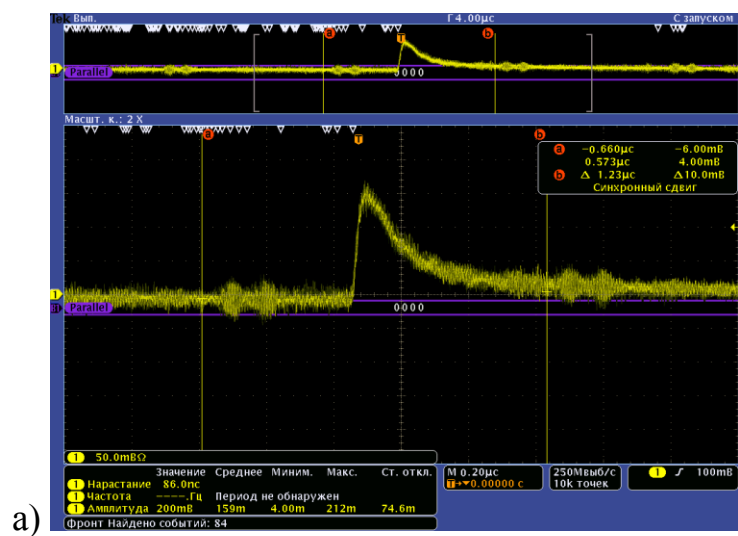


Рисунок 5.30 – а) Фотоснимок осциллограммы акустического сигнала
 б) Акустический сигнал в натрий-фосфатном растворе, заполненном полистирольными дисками на 45%;

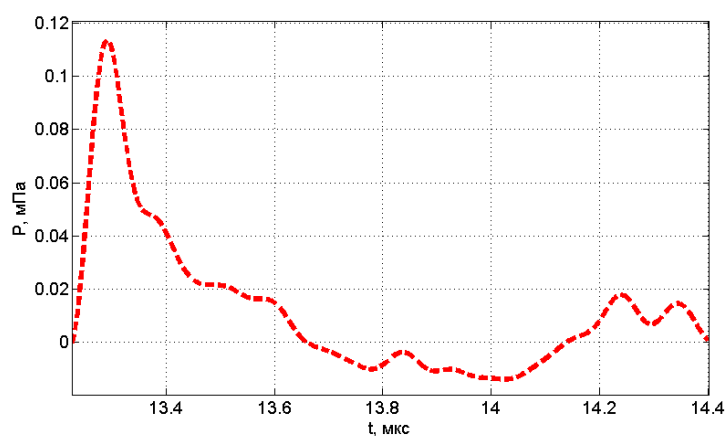


Рисунок 5.31 – Акустический сигнал в натрий-фосфатном растворе, заполненном полистирольными дисками на 40%

На рисунке 5.30а показан фотоснимок с осциллографа при проведении экспериментальных измерений в жидкости с полистирольными дисками, на рис. 5.30б приведен акустический сигнал, зарегистрированный в натрий-фосфатном растворе, заполненном полистирольными дисками на 45%, время релаксации сигнала составило 1,4 мкс, максимальная амплитуда давления составила 0,12 мПа. В растворе, заполненном полистирольными дисками на 40% (рис. 5.31), время релаксации составило 1,1 мкс и значение давления снизилось на 8,3% до 0,11 мПа.

5.5 Экспериментальное исследование ОА эффекта в свиной крови

Для подтверждения теоретических и экспериментальных исследований с моделями эритроцитов были проведены исследования с кровью. В экспериментах использовалась цельная кровь свиней, поскольку ее свойства очень похожи на свойства человеческой крови. Эритроциты в свиной крови имеют двояковогнутую круглую форму диска [238], а их диаметр от 4 до 8 мкм (рис. 5.32, 5.32б).

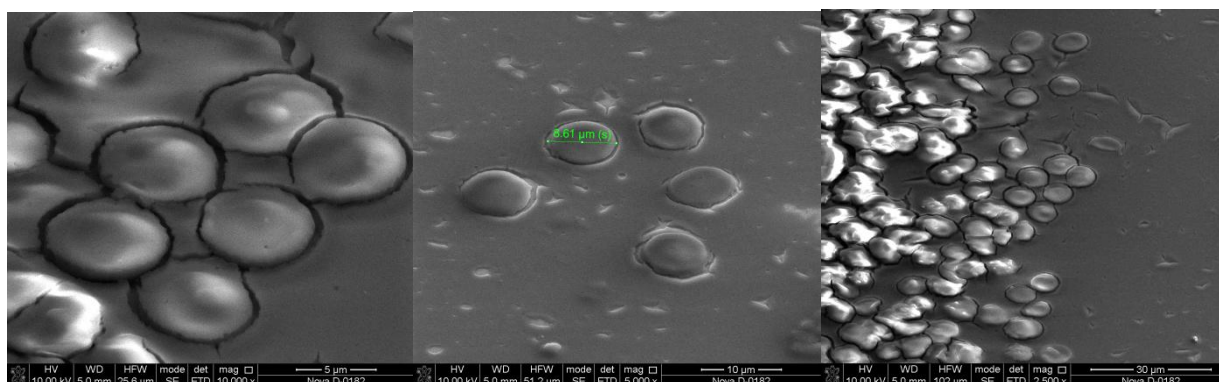


Рисунок 5.32 – Эритроциты в крови (Nova Nanolab 600)

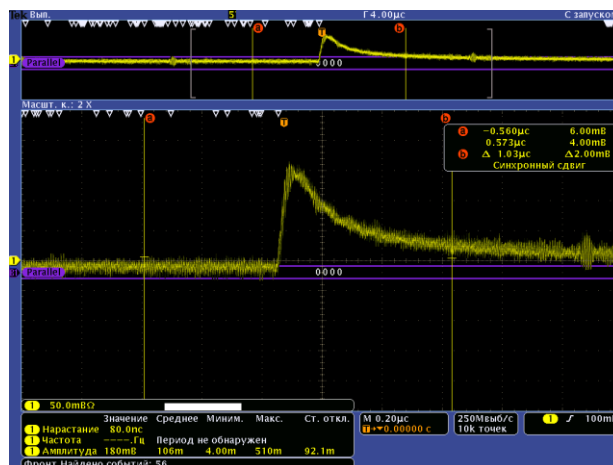


Рисунок 5.33 – Осциллограмма акустического импульса в свиной крови

Для остановки свертывания крови использовали гепарин ($\sim 0,08$ мл / 20 мл крови), который вводили в кювету. Значения гематокрита в образцах цельной крови свиньи составляло 20%. Максимальные значение акустического давления в свиной крови составило 0,08 мПа, при введении гепарина максимум давления акустического сигнала составил 0,11 мПа (рис. 5.34а). Рост давления обусловлен снижением вязкости крови и увеличением скорости звука в исследуемом образце [239].

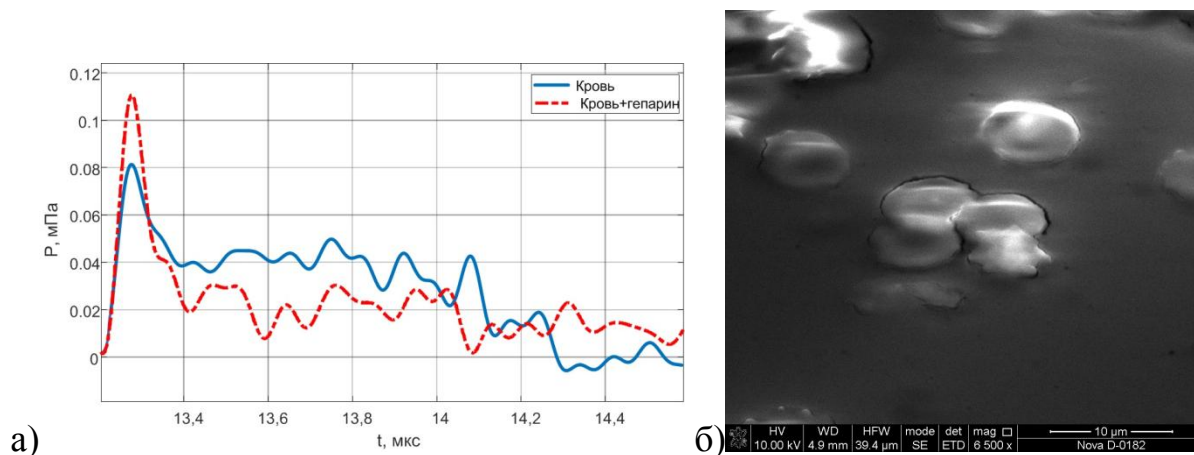


Рисунок 5.34 – а) Акустический сигнал в свиной крови (сплошная линия), с добавлением (1000 МЕ) гепарина (пунктирная линия); б) эритроциты в крови

В кювету добавляли раствор глюкозы для приращения концентрации глюкозы на ~ 40 мг/дл. Концентрация глюкозы в растворе составила 37,55%. Между приращениями глюкозы вводили период ожидания в несколько минут. Количество добавленной глюкозы находилось в диапазоне 0–560

мг/дл, что примерно в полтора раза превышает допустимый уровень для человека (20–400 мг/дл). Изображение эритроцитов, в составе крови с глюкозой, полученное с помощью микроскопа Nova Nanolab 600 приведено на рисунке 5.35б.

Как видно, увеличение содержания глюкозы увеличивает размах главного максимума акустического сигнала, но в то же время положение максимума импульса смещается в более раннее время [240]. На рис. 5.35а приведены изменения акустического сигнала, вызванные добавлением глюкозы, в цельную кровь свиной при длине волны 1064 нм. Сигналы были достаточно стабильными и усреднены после 20 измерений, также были замечены небольшие колебания сигнала из-за влияния кровотока.

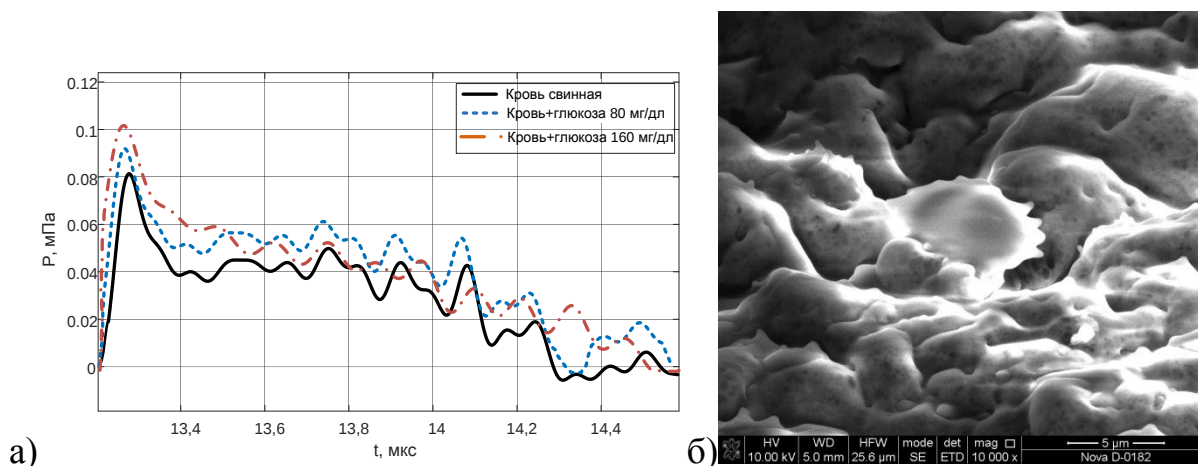


Рисунок 5.35 – а) Акустический сигнал в свиной крови (сплошная линия), с добавлением глюкозы 80мг/дл (пунктирная линия), с добавлением глюкозы 160мг/дл (пунктир с точкой); б) эритроциты в крови с глюкозой

Хорошо известно, что введение глюкозы в жидкость увеличивает ее показатель преломления. Снижение рассеяния, при добавлении глюкозы, увеличивает плотность энергии в источнике звука оптоакустического сигнала и вызывает увеличение давления оптоакустического сигнала [241,242]. Таким образом, на рисунке 5.35а приведено значительное увеличение размаха акустического сигнала в зависимости от концентрации глюкозы. Также наблюдается соответствующий сдвиг положения максимума акустического сигнала в сторону более ранних времен нагрева при высоких концентрациях глюкозы, вызванный изменениями скорости звука в образце после

добавления глюкозы. Увеличение концентрации глюкозы на 80 мг/дл привело в росту максимума давления акустического сигнала до 0,09 мПа - увеличение 12,5%, при концентрации на 160 мг/дл давления главного максимума акустического сигнала 0,1 мПа, при этом рост составил 25% по сравнению с чистой кровью. На рисунке 5.36 построена градуировочная кривая на которой приведены усредненные результаты (по 20 измерениям) измерения давления акустического сигнала сформированного в свиной крови при концентрациях глюкозы от 0 до 560 мг/дл [243].

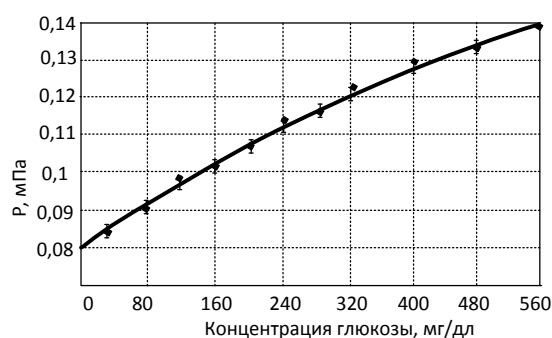


Рисунок 5.36 – Зависимость максимума амплитуды давления акустического сигнала в свиной крови от концентрации глюкозы (градуировочная кривая).

Поскольку кровь является основным поглотителем в «тканевом оптическом окне» (600–1100 нм), коэффициенты поглощения крови и воды значительно различаются. Коэффициент поглощения и фактор анизотропии в крови намного выше, чем в воде ($\mu_a = 4,5 \text{ см}^{-1}$ для крови, тогда как $\mu_a = 0,115 \text{ см}^{-1}$ при $\lambda = 1064 \text{ нм}$ для воды). Не исключено, что в измерениях вызванные глюкозой изменения в оптоакустическом сигнале могут быть частично вызваны изменениями формы и размера эритроцитов, а частично - изменением показателя преломления и поглощения в плазме крови.

На рисунке 5.37 приведены результаты экспериментальных измерений акустического сигнала сформированного в результате оптоакустического эффекта в физрастворе и в физрастворе с добавлением 80 мг/дл глюкозы. Максимум давления акустического сигнала в физрастворе составил 0,16 мПа, в физрастворе с глюкозой - 0,2 мПа. Наличие глюкозы в указанной

концентрации привело к росту давления акустического сигнала на 25% по сравнению с результатами на рисунке 5.21.

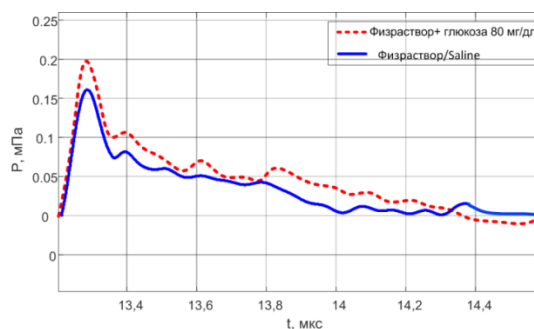


Рисунок 5.37 – Акустический сигнал в физрастворе и физрастворе с добавлением глюкозы 80мг/дл

Известно, что эритроциты составляют основной компонент человеческой и свиной крови, но при этом их значения гематокрита различаются. В наших измерениях значения гематокрита образца крови составляло 18%, т.е. были вдвое ниже типичных значений для крови человека. Установлено, что уменьшение значения гематокрита снижает коэффициент поглощения, но не оказывает значительного влияния на коэффициент рассеяния, это хорошо согласуется с результатами полученными в [244].

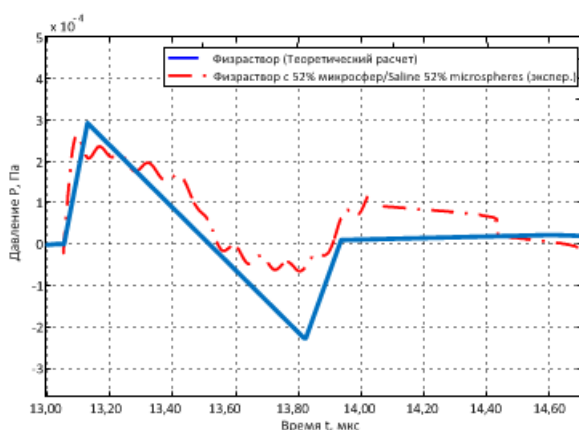


Рисунок 5.38 –Акустический сигнал в натрий-фосфатном растворе теоретический расчет (сплошная линия), акустический сигнал в 52%-м растворе полистирольных микросфер (пунктирная линия).

На рисунке 5.38 приведены результаты теоретических расчетов проведенных в главе 2 в сравнении с экспериментальными значениями,

полученными в физрастворе с 52%-м растворе полистирольных микросфер. Как видно результаты моделирования показали хорошее согласие с проведенными экспериментами.

Проведем сравнение результатов теоретических расчетов проведенных по моделям из второй и третьей главы с экспериментальными измерениями. Данные для расчета возьмем из таблицы 2.1 для гематокрита 20%. Результаты приведены на рисунке 5.39, из которых видно, что форма, время релаксации 1,1 мкс и длительность акустического сигнала порядка 1,4 мкс показали хорошее согласие с теоретических расчетов с экспериментальными измерениями.

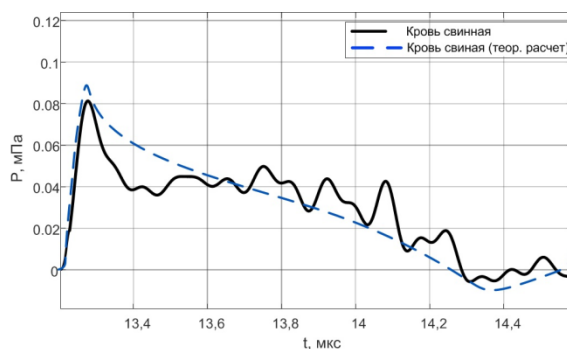


Рисунок 5.39 –Акустический сигнал в свиной крови полученный экспериментально (сплошная линия); акустический сигнал в свиной крови на основе теоретического моделирования (пунктирная линия).

5.6 Разработка и исследование прототипа системы экспресс анализа состояния форменных элементов на основе оптоакустического эффекта.

Оценка погрешности измерений.

Для подтверждения возможности создания лабораторной системы экспресс анализа на основе оптоакустического эффекта был разработан прототип устройства, на основе модернизированного прибора лазерной терапии «Улей 2к»

Измерения, с помощью экспериментального прототипа системы, проводились для анализа кислородонасыщения и гематокрита, технические характеристики, которого приведены в таблице 5.4. Обработка и регистрация акустических сигналов проводилась с помощью установки приведенной ранее на рис.5.2. Пример регистрируемого сигнала приведен на рисунке 5.40.

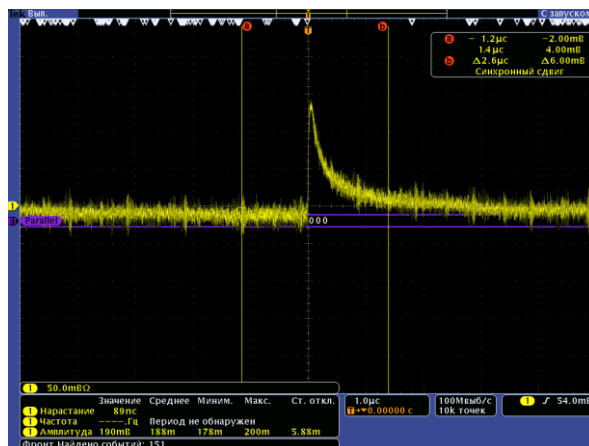


Рисунок 5.40 – Фотография осциллограммы одиночного акустического импульса в пробирке с кровью.

Сигналы, записанные в исследуемых образцах жидкости в течении 10 секунд представлены на рисунках 5.41-5.43.

Таблица 5.4 – Технические характеристики прототипа системы

Длина волны излучения, мкм	1,06
Мощность лазерного импульса, Вт	(20х2)
Длительность импульса, нс	90
Частота следования импульсов, Гц	от 100 до 10000
Форма лазерных “пачек”	Прямоугольная

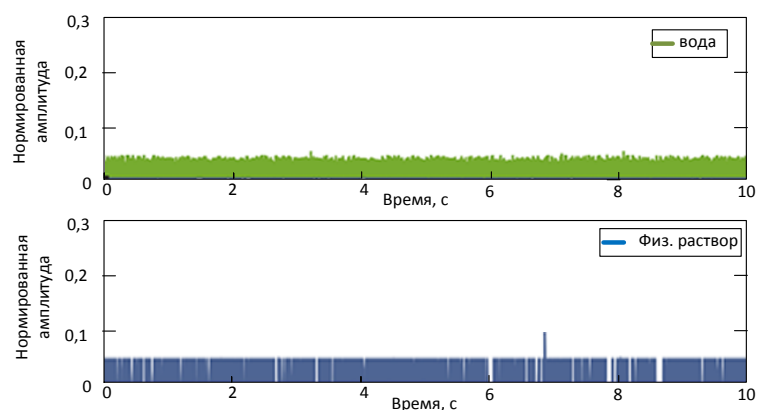


Рисунок 5.41 – Сигнал в пробирке с водой (зелены-верхний), сигнал в пробирке с физраствором (синий-нижний).

На рисунке 5.41 приведены уровни фонового сигнала водного раствора и изотонического водно-солевого. Используемые для моделирования полистирольные диски, в концентрации имитирующей гематокрит 45%, позволили зарегистрировать ОА сигнал в пробирке приведенный на рис 5.42 сверху, для сравнения проведены измерения в крови с гематокритом 45% - рисунок 5.42 нижний.

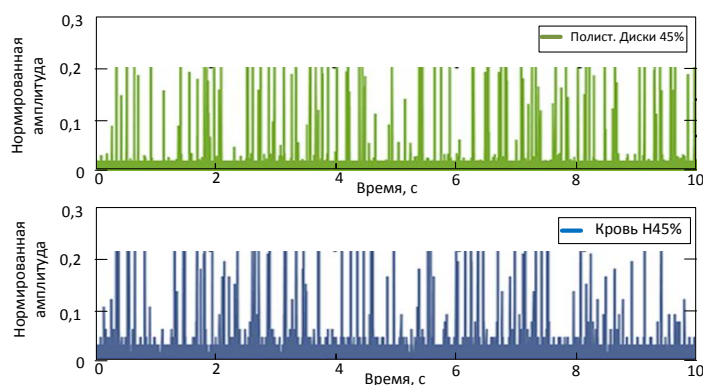


Рисунок 5.42 – Сигнала в пробирке с полистирольными дисками в концентрации 45% (зелены-верхний), сигнал в пробирке с кровью, гематокрит 45% (синий-нижний).

На рисунке 5.42 показаны результаты формирования ОА сигнала в изотоническом растворе заполненном полистирольными микросферами на 45% (верхний рисунок), а также ОА сигнал в пробирке с кровью (рис 5.42

нижний), полученные значения позволяют установить уровни гематокрита как модельной жидкости, так и в пробе крови.

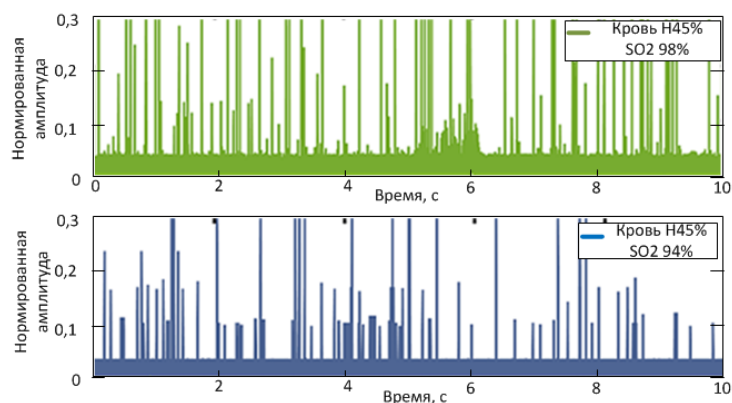


Рисунок 5.43 – Сигнал в пробирке с кровью, гематокрит 45%, насыщенность 98% (зеленый-верхний), сигнал в пробирке с кровью, гематокрит 45%, насыщенность 94% (синий-нижний).

На рисунке 5.43 приведены ОА сигналы зарегистрированные в пробах крови с 45% гематокритом с учетом кислородонасыщения в концентрациях 94 и 98% соответственно. В результате обработки данных с учетом кислородонасыщения были установлены соответствующие уровни насыщенности и гематокрита. Полученные результаты позволяют говорить о чувствительности системы и способность различать разные концентрации смесей клеток. Следует рассмотреть влияние различных факторов и погрешностей на результаты измерений, с учетом эталонных измерений проведенных в диагностических лабораториях.

Измерения уровня гематокрита и кислородонасыщения проводились на образцах крови взятых у пациентов разных возрастных групп и полов, а именно у мужчин 40-80 лет и женщин 38-70 лет. Одновременно эти же заборы крови были исследованы в клинических условиях диагностического центра.

Были проведены расчеты значений гематокрита и проведена оценка точности оптоакустических измерений. На рис.5.44 приведены результаты расчета корреляции между оптоакустическим анализом и фактическим гематокритом крови, установлена высокая корреляция между

оптоакустическим измерением и фактическим гематокритом, измеренным в лабораторных условиях ($R^2 = 0,92$). Измерения проводились на разных длинах волн лазерного излучения (1064нм и 700нм), чтобы определить оксигенацию крови, мы рассчитали отношение пика амплитуды, измеренной при 1064 нм, к амплитуде, измеренной при 700 нм.

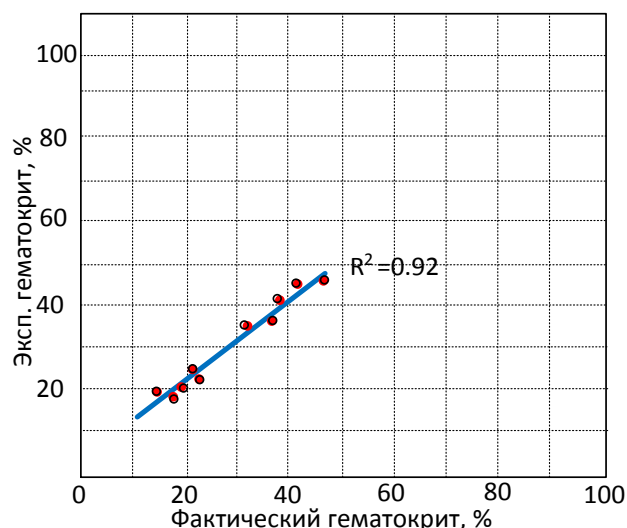


Рисунок 5.44 – Корреляция между оптоакустическим анализом и фактическим гематокритом крови

Расчеты стандартного отклонения, для определения точности оптоакустических измерений приведены на рис. 5.45.

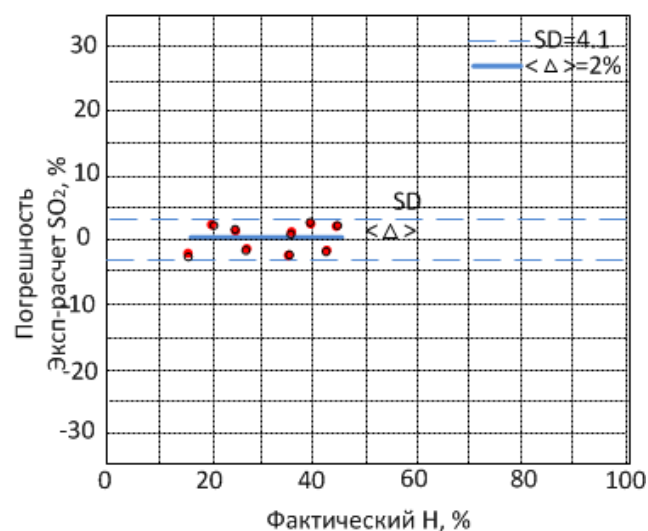


Рисунок 5.45 – Стандартное отклонение и погрешность разницы между экспериментальным и фактическим гематокритом крови

Результаты оценки измерений оптоакустическим методом, для оценки адекватности предложенной модели, по определению уровня гематокрита на моделях эритроцитов, в качестве которых использовали полистирольные диски (раздел 5.6) приведены на рисунке 5.46. Результаты определения среднеквадратического отклонения представлены на рис 5.47.

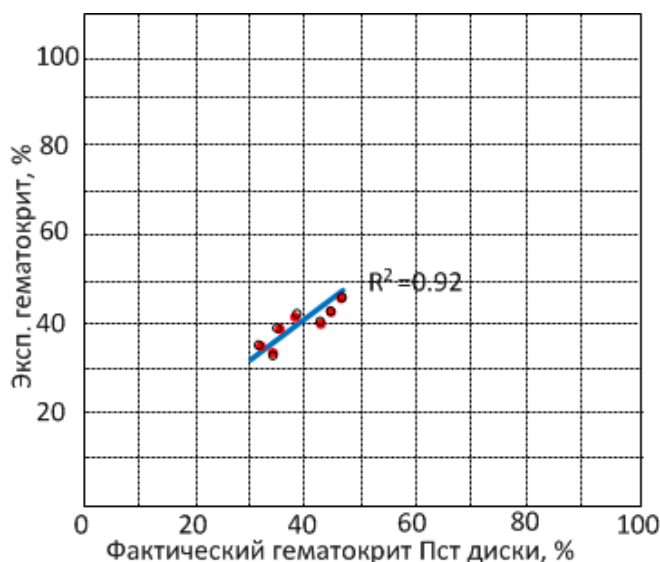


Рисунок 5. 46 – Корреляция между оптоакустическим анализом и фактическим гематокритом Пст дисков

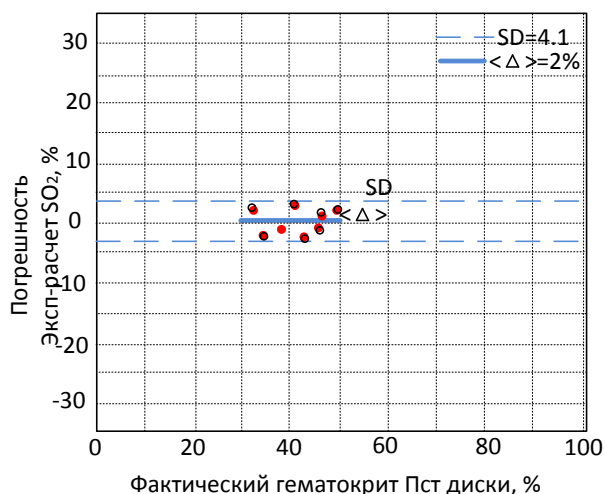


Рисунок 5.47 – Стандартное отклонение и погрешность разницы между экспериментальным и фактическим гематокритом Пст дисков

Проведены расчеты систематической ошибки ($\langle \Delta \rangle$) и стандартного отклонения (SD) оптоакустических измерений для

определения гематокрита в моделях эритроцитов – полистирольных микросферах (рис. 5.47). Чтобы оценить точность оптоакустических измерений, мы рассчитали погрешность и стандартное отклонение, используя разницу между оптоакустическим исследованием и фактическим гематокритом. Разница Δ между оптоакустическим исследованием и фактически установленным гематокритом $\langle \Delta \rangle = -2\%$, $SD = 4.1\%$ полученные результаты демонстрируют, что точность оптико-акустического измерения гематокрита в крови на модельных полистирольных микросферах приближается к точности измерений инвазивными, стандартными методами для определения гематокрита в крови.

Расчет ошибок первого и второго рода для выборки исследования:
 $H_0: \mu_0 = 45$, средний уровень значения гематокрита у мужчин равен 45;
 $H_1: \mu_0 = 40$, средний уровень значения гематокрита у женщин равен 40.

Математическая, статистическая модель представлена плотностями нормальных вероятностных распределений среднего значения гематокрита: $N(\mu_0 = 45; \sigma = 4/\sqrt{10})$, и $N(\mu_0 = 40; \sigma = 4/\sqrt{10})$.

По данным задачи рассматривается следующая система:

$$\begin{cases} P[\bar{X} \leq x_k / H_0 : m45] = \Phi\left(\frac{x_k - 45}{\sqrt{\frac{16}{n}}}\right) = 0.01 \\ P[\bar{X} \leq x_k / H_0 : m40] = \Phi\left(\frac{x_k - 40}{\sqrt{\frac{16}{n}}}\right) = 0.1 \end{cases}$$

Таким образом, система решается: $P[\bar{X} \leq \bar{x}_k / H_0 : m45] \approx \Phi(-2,339) = 0.016$

При условии, что гипотеза $H_1: \mu_0 = 40$ верна, статистика имеет нормальное распределение $N(\mu_0 = 40; \sigma = 4/\sqrt{n})$.

Согласно уравнению вероятность ошибки второго рода равна:

$$\beta = P\left[\bar{X} \geq x_k / H_0 : m40\right] = 1 - \Phi\left(\frac{x_k - 40}{\sqrt{\frac{16}{n}}}\right) \approx 0.12$$

Мы исследовали результаты измерения кислородонасыщения крови используя отношения амплитуд при 1064 нм и 700 нм, измеренное in vitro, для определения ошибки измерений. Полученные результаты расчета оксигенация крови экспериментальным ОА методом по сравнению с фактической оксигенацией приведены на рис. 5.48.

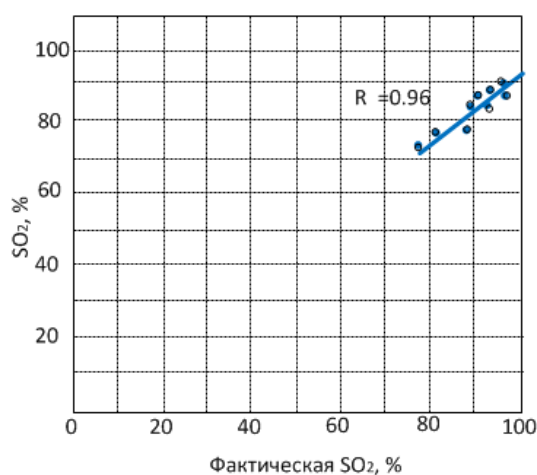


Рисунок 5.48 – Корреляция между оптоакустическим исследованием и фактической оксигенацией крови

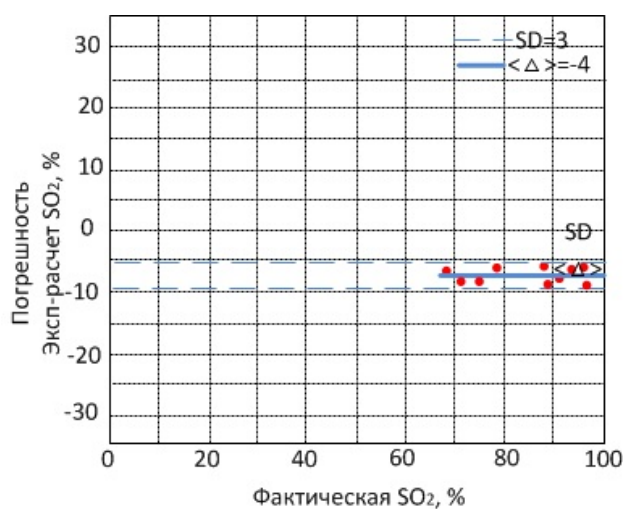


Рисунок 5.49 – Стандартное отклонение и погрешность разницы между прогнозируемой и фактической оксигенацией крови

Корреляция между оптоакустическим измерением и фактическим кислородонасыщением составила $R^2 = 0,96$ (рис. 5.49). Чтобы оценить систематическую ошибку ($\langle \Delta \rangle$) и стандартное отклонение (SD) оптоакустических измерений, мы рассчитали разницу Δ между оптоакустическим исследованием и фактической оксигенацией, измеренной в лабораторных условиях. Эти результаты ($\langle \Delta \rangle = -4\%$, $SD = 3\%$) демонстрируют, что точность оптико-акустического измерения оксигенации крови приближается к точности инвазивных измерений стандартными методами.

Амплитуда давления оптико-акустических сигналов имеет линейную зависимость от объема содержания дезоксигемоглобина и оксигемоглобина в крови. Рисунок 5.48 показывает процент насыщения кислородом для каждого образца крови, измеренный ОА методом и с помощью лабораторного анализатора газов крови. Измерения ОА методом имеют сильную линейную корреляцию ($R=0,96$) с показателями лабораторного анализа. Линейная аппроксимация дает наклон 1,07 и смещение 5 %. Комбинация смещения (4 %) и немного более высокого наклона (1,07) будем использовать для коррекции данных в *in-vitro* экспериментах.

5.7 Выводы по главе

Разработана и создана экспериментальная установка для исследования оптоакустического эффекта на базе лазера LIMO 100-532/1064-4. Разработана блок-диаграмма виртуального прибора в LabView для отображения и записи акустического сигнала с помощью измерительного цифрового осциллографа NI PXI5152 на базе системы 1042Q.

Проведена оценка изменения температуры в жидкости при воздействии лазерного излучения с учетом норм СанПиН 2.1.3.2630 и ГОСТ Р МЭК 60825-1- 2009. Рассчитана зависимость температуры от длительности воздействия лазера, при которой наблюдается рост температуры в пределах $0,3^{\circ}\text{C}$ при воздействии лазера с длительностью 84 нс и длиной волны 1064нм, используемая плотность потока мощности составила 420 мВт/см^2 .

Для проведения экспериментов был приготовлен ряд растворов: водный раствор; натрий-фосфатный раствор - изотонический водный раствор хлорида натрия; натрий-фосфатный раствор с полистирольными микросферами и дисками различных диаметров и концентраций; раствор с углеродными наночастицами. Используемые растворы были изучены с помощью растрового электронного микроскопа Nova Nanolab 600. Снимки, полученные с помощью микроскопов, доказали идентичность модельных растворов реальным биологическим средам и моделируемым тканям.

С помощью разработанного в среде Matlab математического аппарата были построены измеренные профили акустических сигналов, рассчитаны спектры для серии лазерных импульсов. Установлено, что в растворах с микросферами уменьшается время релаксации акустического сигнала за счет поглощения и рассеяния сферами оптического сигнала, при этом наблюдается увеличение амплитуды акустического сигнала и смещение спектра серии импульсов в сторону уменьшения частоты. Это говорит о большей поглощающей способности раствора. В профиле акустического сигнала с микросферами наблюдаются флуктуации релаксационной части сигнала вследствие многократных отражений сигнала от микросфер.

Проведенные исследования влияния контрастных веществ, на основе наночастиц, на формирование акустического сигнала, показали рост амплитуды акустического сигнала, вследствие увеличения поглощения наночастицами. Полученная форма акустического сигнала при большой концентрации наночастиц, подтверждает теоретические положения по расчету форм акустического сигнала, полученные нами ранее.

В экспериментах также использовалась цельная кровь свиней, поскольку ее свойства очень близки к человеческой крови. Проведены исследования в циркуляционной системе с насосом и трубкой из силиконовой резины. Максимальное значение акустического давления в свиной крови составляло 0,08 мПа, при введении гепарина максимум давления акустического сигнала составил 0,15 мПа. Рост давления обусловлен снижением вязкости крови и увеличением скорости звука в исследуемом образце.

Проведены исследования с добавлением 0,02 мл раствора глюкозы. Концентрация глюкозы в растворе составила 37,55%. Количество добавленной глюкозы находилось в диапазоне 0–560 мг/дл. Установлено, что увеличение содержания глюкозы увеличивает размах главного максимума акустического сигнала и в то же время положение максимума импульса смещается в более раннее время. Экспериментальные измерения акустического сигнала в физрастворе и в физрастворе с добавлением 80 мг/дл глюкозы показали, что максимум давления акустического сигнала в физрастворе составил 0,16 мПа, в физрастворе с глюкозой - 0,2 мПа. Наличие глюкозы в указанной концентрации привело к росту давления акустического сигнала на 25% .

По итогам проведенных экспериментов можно в качестве диагностического признака выделить амплитуду акустического отклика от исследуемых поглотителей. Максимальный рост значения акустического давления 0,37 мПа зарегистрирован с физрастворе с 92% полистирольных микросфер, при 52% заполнении 0,24 мПа и в чистом физрастворе 0,17 мПа.

Наблюдался трехкратный рост значения максимума сигнала в воде от значения 0,1 мПа до 0,3 мПа при введении наночастиц в количестве $20 \cdot 10^4$ NPs/клетку, что доказывает возможность увеличения глубины регистрации акустического сигнала путем введения наночастиц в качестве усилителей контраста.

При проведении экспериментов с полистирольными дисками максимальное значение акустического давления 0,12 мПа было при 45% заполнении и 0,11 мПа при 40% заполнении.

В акустическом сигнале, сформированном в свиной крови (0,08 мПа), при увеличении концентрации глюкозы на 80 мг/дл получили в рост максимума давления акустического сигнала до 0,09 мПа это увеличение на 12,5%, при увеличении концентрации до 160 мг/дл давления главного максимума акустического сигнала 0,11 мПа, при этом рост составил 25% по сравнению с чистой кровью.

По итогам проведенных экспериментов, на рис. 5.50 приведен ряд акустических сигналов полученных в ходе экспериментов.

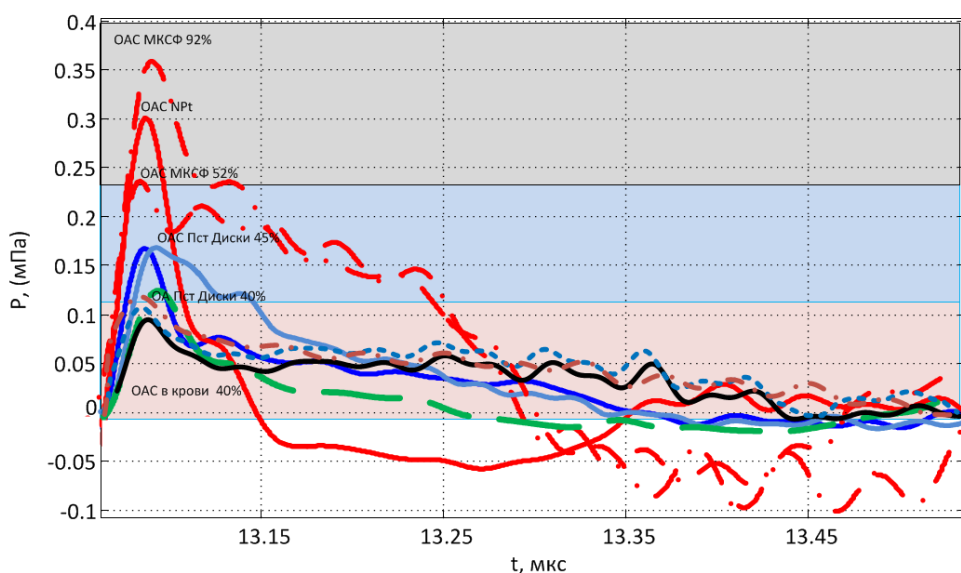


Рисунок 5.50 – «Диагностические окна значений» акустических сигналов в различных жидкостях

Приведенные значения акустического давления (рис. 5.50), для ряда измерений ОАС в растворах с микросферами, полистирольными дисками, наночастицами и в свиной крови, занимаю определенный диапазон значений

по которому можно диагностировать признаки определенного состояния крови или модельной жидкости. Полученные значения были сведены в так называемые «диагностические окна» для классификации моделируемых состояний.

По результатам проведенных экспериментальных измерений проведена оценка погрешности экспериментальных измерений были для измеренных значений гематокрита и проведена оценка точности оптоакустических измерений. Результаты расчета корреляции между оптоакустическим анализом и фактическим гематокритом крови, показали высокую корреляцию между оптоакустическим измерением и фактической оксигенацией крови, измеренной в лабораторных условиях ($R^2 = 0,92$). Измерения проводились на разных длинах волн лазерного излучения (1064 нм и 700 нм), чтобы определить оксигенацию крови, было рассчитано отношение пика амплитуды, измеренной при 1064 нм, к амплитуде, измеренной при 700 нм.

По результатам измерений значений гематокрита в крови человека установлена высокая корреляция между измерением оптоакустическим методом и фактическим гематокритом, измеренным в лабораторных условиях составила $R^2 = 0,92$, систематическая ошибка ($\langle \Delta \rangle$) и стандартное отклонение (SD) составили $\langle \Delta \rangle = 4,1\%$, $SD = 2\%$.

Установлено, что, применяемые модели полистирольных дисков для определения гематокрита доказывают адекватность выбранной модели, поскольку систематическая ошибка ($\langle \Delta \rangle$) и стандартное отклонение (SD) составили $\langle \Delta \rangle = -2\%$, $SD = 4.1\%$. Это означает, что точность оптоакустического измерения гематокрита в крови на модельных полистирольных дисках приближается к точности измерений инвазивными, стандартными методами для определения гематокрита в крови.

Корреляция между измерением оптоакустическим методом и фактическим кислородонасыщением составила $R^2 = 0,96$ (рис. 5.46). Систематическая ошибка ($\langle \Delta \rangle$) и стандартное отклонение (SD)

оптоакустических измерений составили $\langle \Delta \rangle = -4\%$ и $SD = 3\%$ таким образом, точность оптико-акустического измерения оксигенации крови приближается к точности инвазивных измерений стандартными методами.

В экспериментальных исследованиях в крови были использованы специальные пробирки объемом 3 мл, для измерения гематокрита и оксигенации пробирки содержали K2ЭДТА (1,8 мг/мл крови).

6. РАЗРАБОТКА БИОТЕХНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

6.1 Обобщенная структура биотехнической системы получения оптоакустических данных

В главах 2-4 было проведено теоретическое исследование формирования акустического сигнала, генерируемого мгновенным и однородным нагревом сферы и цилиндра при воздействии оптического излучения. Проведено моделирование неагрегированных и агрегированных эритроцитов для оценки степени агрегации, смоделирован процесс определения уровня кислородонасыщения эритроцитов и нахождения внутриэритроцитарных инфекций на разных стадиях, исследовано поведение акустического сигнала при наличии наночастиц в эритроцитах. Исследованы патологические формы эритроцитов, проведено моделирование эритроцитов (в том числе 3D) и исследован процесс изменения акустического сигнала от патологических форм эритроцитов.

В главе 5 описаны экспериментальные исследования с помощью модельных растворов на основе полистирольных микросфер, моделирующих эритроциты. Исследовано влияние контрастных веществ на основе наночастиц на формирование акустического сигнала, при этом наблюдался рост амплитуды акустического сигнала, вследствие увеличения поглощения наночастицами. Исследованы профили акустического сигнала при различных концентрациях микросфер.

На основе результатов, полученных в главах 2-5, была разработана биотехническая система экспресс-анализа эритроцитов крови человека, далее рассмотрим ее основные составляющие.

Оптоакустическая система, показанная на рисунке 6.1а, представляет собой устройство, включающее в себя антенну, соединенную посредством оптического и электрического трактов с блоком формирования лазерного излучения. Вычислительная подсистема включает в себя вычислительные

блоки для управления и анализа. Приемный преобразователь может регистрировать данные, полученные в ответ на стимуляцию образца крови, вызванную импульсными источниками света (то есть акустический сигнал).

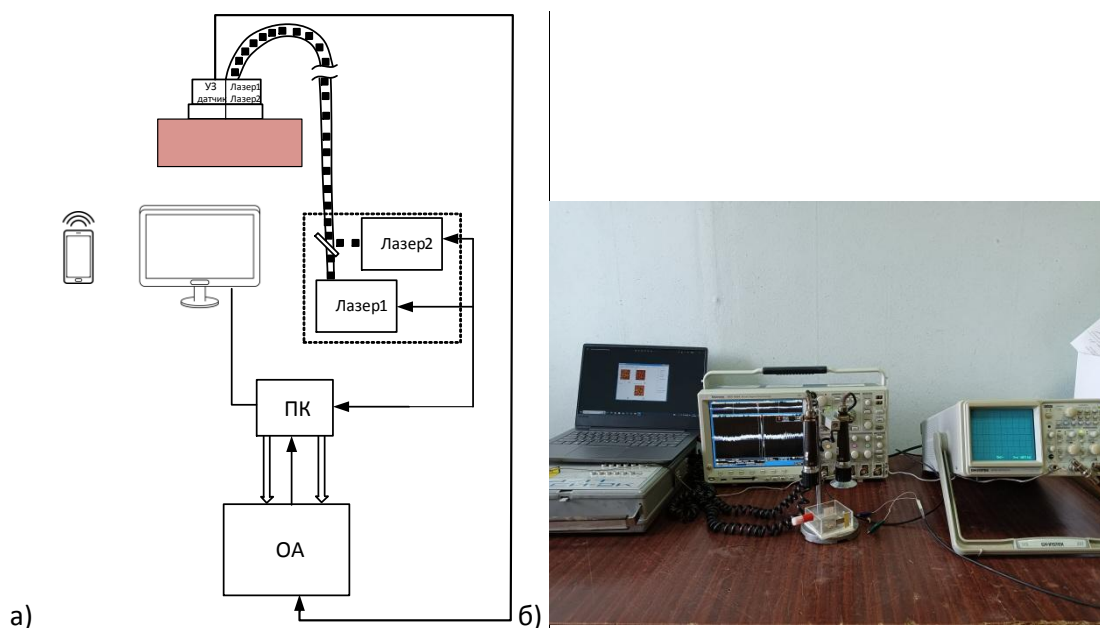


Рисунок 6.1 – а) Блок-схема оптоакустической системы экспресс анализа;

б) Фото опытного образца системы ОА диагностики

Система состоит из двух лазеров с длиной волны 532 нм и 1064 нм. Количество крови для анализа в пробирке составляет 3 мл. Оптические сигналы подаются на датчик, оснащенный оптическим окном и приемным преобразователем. Данные о вычисленных уровнях оксигенации, кислородонасыщения, агрегации, гемоглобина и их восстановленное изображение выводится на монитор с помощью программы интерфейса. Для обеспечения возможности функционирования мобильной медицины предусмотрено отображение информации на мобильных устройствах оснащенных операционной системой Android. На рисунке 6.1б приведено изображение опытного образца системы оптоакустической диагностики. Получены акты внедрения по итогам клинических испытаний опытного образца системы экспресс-анализа оптоакустическим методом в ФГБУ «СКК «Северокавказский» МО РФ, создание опытного образца ООО «Медтогр+».

Для получения изображений необходимо использовать принцип акустической микроскопии, для этого нужно соблюдать геометрию

экспериментального исследования, в котором вести учет угла наклона приемник и лазера. С помощью приемника регистрировать давление, создаваемое излучателем во фронтальном срезе акустического поля, перпендикулярном положению излучателя $\alpha=0^\circ$. Для оценки влияния изменения физических параметров рассеивателя на распределение давления во фронтальном срезе акустического поля, внутренний объем в первой части исследования наполнялся дистиллированной водой, а во второй части исследования – кровью или модельной жидкостью. Результирующая амплитуда акустического давления в каждой точке исследования получена усреднением по пяти измерениям.

6.2 Описание представления цифровых оптоакустических данных

Будем использовать термин синограмма по отношению к выборочным данным или обработанным выборочным данным, соответствующим одиночному импульсу лазера. Согласно ГОСТ Р МЭК 61675-1-2006 синограмма – это двумерное изображение всех одномерных проекций объекта как функция проекционного угла. Так как в системе используются акустические сигналы, каждый из которых соответствует разной длине волны света, то получим в результате два вида синограмм. Короткая синограмма будет соответствовать более короткой длине волны, а длинная – большей длине волны света. Короткая и длинная синограммы обрабатываются отдельно и, затем используются вместе для генерации параметрических изображений. Из параметрических изображений можно создавать карты оксигенации, гемоглобина и агрегации эритроцитов.

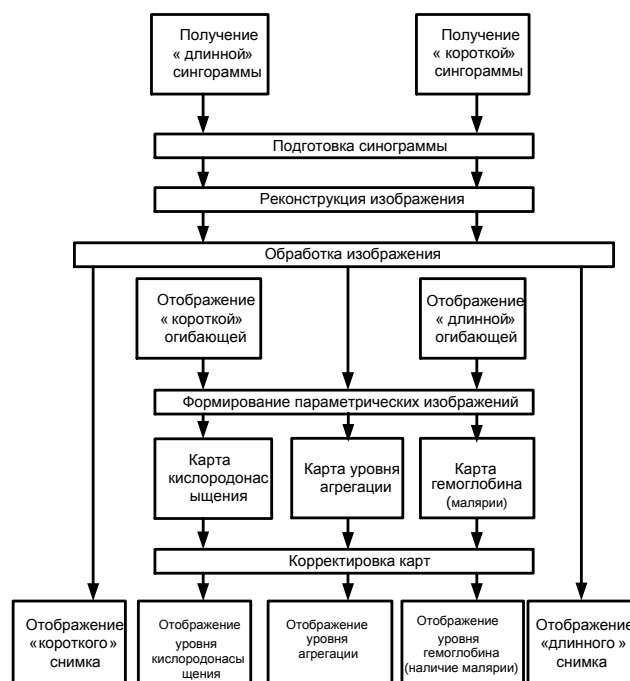


Рисунок 6.2 – Алгоритм предоставления выходных изображений, полученных из оптоакустического канала данных

На рис. 6.2 показан алгоритм, начиная с получения короткой синграммы, длинной синграммы и обработки данных уровней кислородонасыщения, агрегации, уровня гемоглобина и присутствия малярии. Данные могут быть получены с использованием портативной оптоакустической системы экспресс диагностики (рис. 6.1).

6.3 Алгоритмы обработки синограмм

После предварительной обработки по коротким и длинным синограммам изображения восстанавливаются. Действительные и мнимые компоненты сложных коротких и длинных синограмм являются результатом этапа реконструкции изображений. Изображения короткой и длинной огибающей используются для генерации процесса параметрических изображений. Процесс генерирования параметрических изображений выводит карту оксигенации, карту гемоглобина и карту агрегации.

На рис. 6.3 алгоритм предварительной обработки синограммы. После получения данных (рис. 6.2) синограммы предварительно обрабатываются, чтобы уменьшить или компенсировать артефакты.



Рисунок 6.3 – Алгоритм предварительной обработки синограмм для удаления нежелательной информации.

Предварительная обработка состоит из следующих этапов: полосовая фильтрация, учет передаточной функции датчика, регулировка динамического диапазона.

На рис. 6.4 показан алгоритм обработки изображения огибающей «короткого» сигнала и «длинного», чтобы получить одно из параметрических изображений.

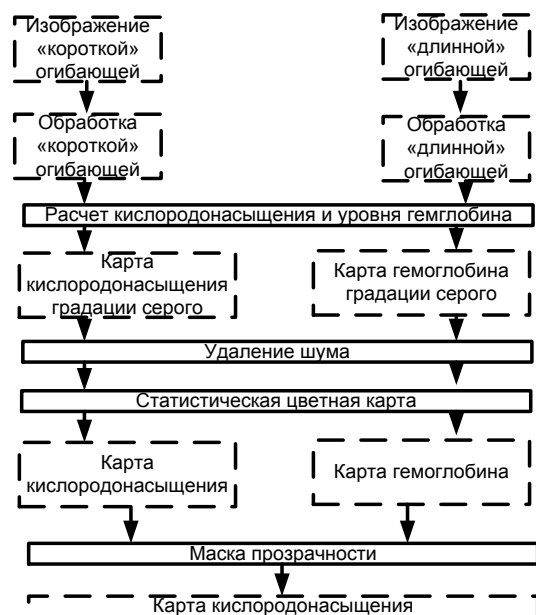


Рисунок 6.4 – Алгоритм создания цветных параметрических карт.

Изображение «короткой» огибающей и изображения «длинной» огибающей обрабатываются путем расчета оксигенации, гемоглобина и агрегации для получения карт шкалы оксигенации, гемоглобина и агрегации.

Карты градации серого статистически окрашены для получения цветных карт оксигенации и гемоглобина. Карта гемоглобина в сочетании с картой оксигенации формирует маску карты прозрачности. Результатом создания параметрических изображений является карта оксигенации RGBA, карта гемоглобина RGBA и карта агрегации.

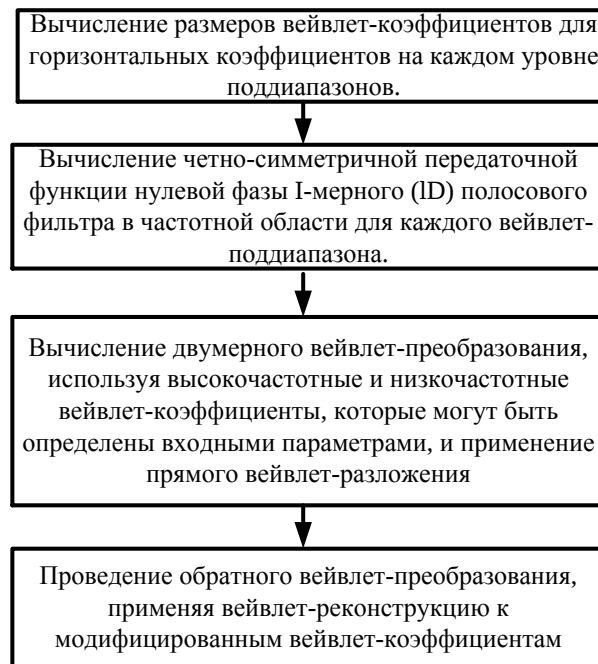


Рисунок 6.5 – Алгоритм реализации полосового фильтра

Алгоритм, приведенный на рис 6.5, является примером реализации полосового фильтра для удаления данных, которые могут отрицательно повлиять на последующие вычисления и операции, выполненные с оптоакустическими данными. Синфазная полосовая фильтрация может быть выполнена с использованием анализа основных компонентов синопаммы для удаления помех.

6.4 Разработка алгоритма восстановления изображения при оптоакустическом преобразовании сигнала на основе нейронных сетей

В последнее время применение глубокого обучения используется в качестве многообещающего метода для решения многих задач визуального распознавания, а также широко используются для усовершенствования получения изображения в области медицинской визуализации [245]. Известно, что методы основанные на глубоком обучении, обладают огромным потенциалом, особенно в улучшении исходных данных [246]:

в нейросети каждый слой имеет вход g и выход h с наборами индексов каналов I, J соответственно, тогда

$$h_i = \varphi \left(b_i + \sum_{j \in J} \omega_{i,j} * g_j \right), j \in J$$

с покомпонентно нелинейной функцией φ и сверткой $*$.

Таким образом, весь набор параметров θ сети задается смещениями $b_i \in R$ и сверточными фильтрами $\omega_{i,j} \in R^{s,n}$ (с размером ядра s и пространственным измерением n) каждого уровня. Архитектура сети с глубоким обучением показана на рисунке 6.6.

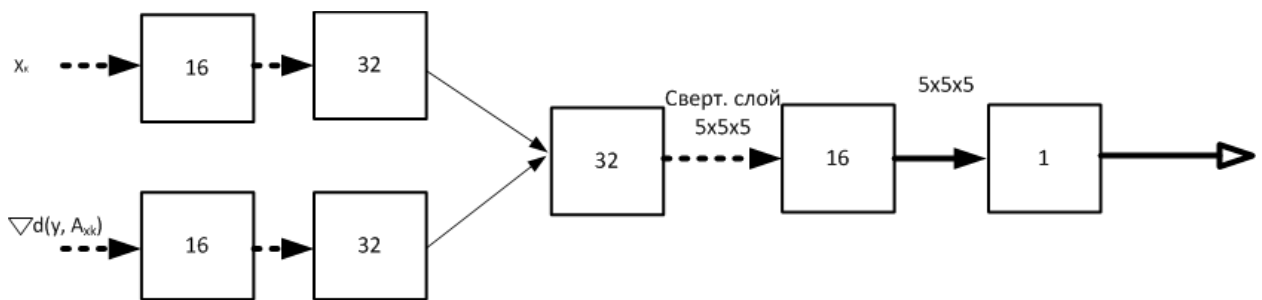


Рисунок 6.6 Схема сверточной нейронной сети, обозначенной как G_{0k} , представляющей одну вычислительную итерацию глубокого градиентного спуска.

Пунктирными линиями обозначен сверточный слой с ядрами $5 \times 5 \times 5$, за которыми следует выпрямленная линейная функция активации (каналы в каждом слое указаны в квадратах). Далее идет сверточный слой, после которого следует скалярное умножение. К полученному решению (положительные числа) применяется функция активации последним ReLU.

На каждом этапе расчета мы вводим x_k и $d(y, A_{xk})$ в аналогичный цикл, где оба распространяются на 16, а затем на 32 канала с помощью сверточного слоя с размером ядра $s = 5$ и размерностью $n = 3$, имеющим выпрямленные линейные единицы $\text{ReLU}(x) = \max(x, 0)$.

Выход обоих блоков суммируется и сначала сокращается до 16 каналов, оснащенных ReLU, а затем до 1 канала без нелинейности, а простым скалярным умножением. Результат добавляется к текущей итерации и проецируется на положительные числа с помощью ReLU. Архитектура в

этом исследовании основана на структуре, состоящей из частей анализа/кодирования и повторной сборки/декодирования. В этой части анализа число каналов между слоями увеличивается, чтобы улучшить анализ признаков, извлеченных в предыдущем слое. В части повторной сборки эти функции должны быть объединены/определены порогом для создания выходного изображения, поэтому количество каналов уменьшается.

Обучение глубокого градиентного спуска путем учета обучающего набора $\{y_i, x_i^{true}\}_i$, существует два варианта обучения параметров θ_k . Во-первых, предварительно определить максимальное количество итераций k_{max} и обучить все θ_k для $k = 0, \dots, k_{max} - 1$, вместе, чтобы минимизировать разницу между x_i^{true} и результатом последней итерации $x_{ik_{max}}$; то есть мы стремимся найти

$$\varepsilon_{k_{max}} = \min_{\theta_0 \dots \theta_{k_{max}-1}} \sum_i \|x_{k_{max}}^i - x_{true}^i\|$$

для некоторой подходящей нормы. Второй подход заключается в последовательном обучении параметров: θ_0 обучается для минимизации разницы между x_i^{true} и x_{i1} с заданными данными y_i для всех индексов i . После этого θ_0 обучается минимизировать разницу между x_i^{true} и x_{i2} , учитывая оптимальное x_{i1} встречаемое при обучении первого слоя перцептронов $G\theta_0$. Это означает, что минимизация значения $\varepsilon_{k_{max}}$ разбивается на k_{max} независимые задачи оптимизации относительно непересекающиеся подмножества параметров k , $k = 0, \dots, k_{max} - 1$, определяется выражением

$$\min_{\theta_k} \sum_i \|x_{k_{max}}^i - x_{true}^i\|, \quad x_{k+1}^i = G_{\theta_k}(\nabla d(y, Ax_k^i), x_k^i).$$

Преимущество этого подхода в том, что нейросеть более гибкая для достижения наилучшего возможного результата после k_{max} итераций, но в процессе обучения операторы A и A^* нужно оценивать много раз, так как для каждого шага обучения все x_k и соответствующие им градиенты должны быть вычислены для оценки $\varepsilon_{k_{max}}$. Подход хоть и не является оптимальным он имеет два важных преимущества: 1) вычисление градиента $A^*(Ax - y)$ и

обучение, во-вторых, он ограничивает верхнюю границу ошибки обучения $\varepsilon_{k_{\max}}$. Фактически, получение x_{k+1}^i можно рассматривать как трудоемкий подход, который стремится получить минимум в каждом слое k при заданном x_{k-1} из предыдущего шага обучения. Заметим, что это свойство можно использовать для определения количества слоев $k_{\max}$ градиентного спуска при обучении, контролируя ошибку обучения от слоя k к слою $k+1$ [246]. Следовательно, этот подход также можно использовать в качестве этапа предварительной подготовки для инициализации весов. Вся используемая нами процедура обучения заключается в алгоритме для заданного числа максимальных итераций $k_{\max}$ и эталонного решения x_{true} .

После обучения наборов параметров $\{\theta_k\}_{k=0}^{k_{\max}-1}$ предложенная схема итеративного восстановления может быть представлена следующим образом:

Процедура обучения

```

1:  $x_0 \leftarrow A^* y$ 
 $k \leftarrow 0$ 
пока  $k < k_{\max}$ 
    Вычислить  $\nabla d(y, Ax_k) = A^* (Ax_k - y)$ 
    функция Обучение( $\nabla d(y, Ax_k)$ ,  $x_k$ ,  $x_{\text{true}}$ )
    обучение заданной точностью
    (возврат  $\theta_k$ )
 $x_{k+1} \leftarrow G_{\theta_k}(\nabla d(y, Ax_k), x_k)$ 
 $k \leftarrow k + 1$ 

```

Новый расчет итераций x_{k+1} вычисляется путем применения сети G_{θ_k} к текущему результату x_k и градиента приближения данных, в частности, это означает, что градиент должен вычисляться на каждой стадии расчета.

Следует отметить, что обучение и контроль над ним проводился по открытым источникам баз данных:

https://github.com/asHauptmann/3DPAT_DGD,

<https://github.com/derekallman/Photoacoustic-FasterRCNN>,

[https://iee-](https://iee-dataport.org/open-access/photoacoustic-source-detection-and-reflection-artifact-deep-learning-dataset)

[dataport.org/open-access/photoacoustic-source-detection-and-reflection-artifact-deep-learning-dataset](https://iee-dataport.org/open-access/photoacoustic-source-detection-and-reflection-artifact-deep-learning-dataset).

Глубокие нейронные сети с прямой связью позволяют извлекать особенности данных через каскад нескольких нелинейных функций активации (рис. 6.7). Поскольку улучшение собранных данных можно рассматривать как экстраполяцию нелинейной функции, подход, заключается в использовании глубоких нейросетей.

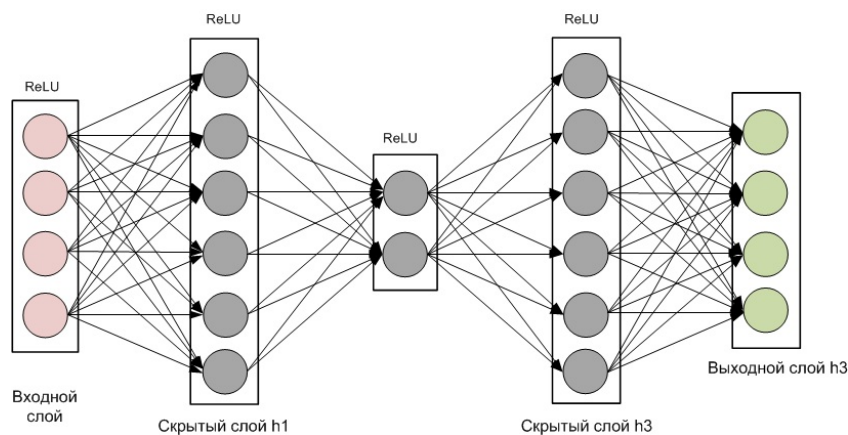


Рисунок 6.7 –Архитектура нейронной сети.

Идея предлагаемой сети состоит в том, чтобы сформулировать процесс деконволюции как нелинейную регрессию. Входом в сеть является сигнал $x = (x_1, x_2, \dots, x_N)$, а на выходе - сигнал $y = (y_1, y_2, \dots, y_N)$, где x_i и $y_i \in \mathbb{R}$. При этом обучающий набор данных $(x_i, y_i)_{i=1}^N$, цель состоит в том, чтобы определить нелинейную функцию ϕ , которая может эффективно отражать зависимость между входным ограниченным полосой сигналом x и выходным сигналом y : $y = \phi(x)$.

Архитектура сети показана на рисунке 6.7. Предлагаемая сеть содержит пять подключенных уровней, один из которых является входным, другой - выходным, а остальные три являются скрытыми. Сетевая архитектура похожа на сеть декодера, которая доказала свою эффективность в работах по глубокому обучению и применялась для решения задач прогнозирования

отсутствующих данных [247]. Первый и третий скрытые уровни (h_1 и h_3 на рис. 6.7) имеет 768 $[512 + (512 / 2)]$ узлов, т.е. путем увеличения исходного числа узлов на 50%. Второй скрытый слой (h_2 на фиг. 6.12) содержит 256 $(512/2)$ узлов, то есть рассматривает половину исходных узлов. К-й уровень сети оценивает: $h_k = f(W_k h_{k-1} + b_k)$, где h_k обозначает k-й скрытый слой, f - функция активации, W_k - матрица обучаемых весов, а b_k - вектор обучаемых смещений.

Функция активации, используемая в этой сети, представляет собой выпрямленную линейную единицу (ReLU). Следует отметить, что ReLU являются вычислительно эффективными, поскольку они не требуют вычисления возведения в степень и деления. Пример используемого кода активации:

```
>>> foo = tf.constant([-10, -5, 0.0, 5, 10], dtype = tf.float32)
>>> tf.keras.activations.relu(foo).numpy()
array([ 0.,  0.,  0.,  5., 10.], dtype=float32)
>>> tf.keras.activations.relu(foo, alpha=0.5).numpy()
array([-5. , -2.5,  0. ,  5. , 10. ], dtype=float32)
>>> tf.keras.activations.relu(foo, max_value=5.).numpy()
array([0., 0., 0., 5., 5.], dtype=float32)
>>> tf.keras.activations.relu(foo, threshold=5.).numpy()
array([-0., -0.,  0.,  0., 10.], dtype=float32).
```

Учитывая, что исследуемая биожидкость неоднородна и может содержать различные слои при экстраполяции волнового поля в слоистых неоднородных средах, необходимо учесть коэффициенты передачи. Коэффициент передачи описывает амплитуду и фазу передаваемой ультразвуковой волны, связанной с падающей волной, которая определяется акустическим граничным условием слоистой структуры между волновыми полями на верхнем и нижнем краях границы раздела. Предполагается, что между двумя полубесконечными средами имеется l слоев с номерами от 1 до l , как показано на рис. 6.8. Оптоакустическая волна распространяется на границу нижнего слоя с номером l под углом θ_{l+1} . Коэффициент передачи этой слоистой структуры представляется как комплексное отношение амплитуд между падающей волной на слое l и прошедшей волной на слое 1.

Чтобы аналитически выразить коэффициент передачи, мы используем импеданс слоя, определенный в виде:

$$Z_{in}^{(q)} = Z_q (Z_{in}^{(q-1)} - iZ_q s_q) / (Z_q - iZ_{in}^{(q-1)} s_q), Z_{in}^{(1)} = Z_1, \quad (6.1)$$

где

$$s_q = \tan[k_q d_q \cos(\theta_q)], \sin(\theta_q) = \sin(\theta_l) k_l / k_q \\ Z_q = \rho_q c_q / \cos(\theta_q); q = 1, 2, \dots, l-1 \quad (6.2)$$

K_q , d_q , ρ_q , s_q представляют волновое число, толщину слоя, плотность и скорость звука в q -м слое, соответственно [248]. На основании постоянных граничных условий давления и импеданса коэффициент передачи можно записать в виде

$$T_p = \prod_{q=1}^{l-1} e^{-ik_q d_q \cos(\theta_q)} (Z_{in}^{(q)} + Z_q) / (Z_{in}^{(q)} + Z_{q+1}) \quad (6.3)$$

Член $e^{-ik_q d_q \cos(\theta_q)}$ аналогичен коэффициенту фазового сдвига $e^{ik_z z_0}$, поскольку $k_q \cos(\theta_q) = k_{z,q}$ и является волновым числом z -направления q -го слоя. Коэффициент передачи описывает прямое распространение оптоакустической волны; следовательно, обратное распространение определяется как обратная операция T_p^* / T_p^2 в процессе реконструкции. На основании выражения $P_v(k_x, k_y, z = 0, \omega) = P(k_x, k_y, z = -d_v, \omega) e^{i\omega d_v / c}$ ($e^{i\omega d_v / c}$ работает как оператор сдвига во времени, чтобы компенсировать временной промежуток между преобразователем и виртуальным детектором) экстраполяция волнового поля в жидких слоистых средах равномерно выражается как

$$P(k_x, k_y, z = z_0, \omega) = P_v(k_x, k_y, z = 0, \omega) e^{ik_{z,l} (z_0 - \sum_{i=1}^{l-1} d_i)} T_p^* / T_p^2 \quad (6.4)$$

Волновое число $k_{z,q}$ должно также удовлетворять выражению, как показано ниже,

$$(\omega / c_q)^2 = k_x^2 + k_y^2 + k_{z,q}^2 \quad (6.5)$$

Начальное давление на произвольной глубине z_0 можно восстановить с начальным условием $t=0$,

$$p(x, y, z_0, t = 0) = \iiint P(k_x, k_y, z_0, \omega) e^{ik_x x + ik_y y - i\omega t} dk_x dk_y d\omega, \quad (6.6)$$

где $e^{-i\omega t}|_{t=0}=1$. Эта реконструкция последовательно реализуется на разных глубинах, для ускорения процесса реконструкции будем использовать неоднородное быстрое преобразование Фурье.

Моделирование формирования оптоакустического сигнала при распространении в образце жидкости, будем проводить методом перемещения виртуального приемника по слоям. При экстраполяция в эластичных слоистых средах сдвиговые волны и их многократные отражения возникают, когда оптоакустические волны проникают в слоистые эластичные среды. Слоистую структуру представим в двумерном виде, (рис. 6.13). Линейная зависимость между граничными условиями соседних упругих слоев записывается в виде [36]

$$\begin{bmatrix} u_x^{(q)} \\ u_z^{(q)} \\ \sigma_{zz}^{(q)} \\ \sigma_{zx}^{(q)} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} & a_{14} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} & a_{24} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} & a_{34} \\ a_{41} & a_{42} & a_{43} & a_{44} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_x^{(q-1)} \\ u_z^{(q-1)} \\ \sigma_{zz}^{(q-1)} \\ \sigma_{zx}^{(q-1)} \end{bmatrix} \quad (6.7)$$

где $u_x^{(q)}$ и $u_z^{(q)}$ - смещения на границе q-го слоя, а $\sigma_{zx}^{(q)}$ и $\sigma_{zz}^{(q)}$ - тензоры напряжений на границе q-го слоя. Элементы матрицы $a^{(q)}$ задаются следующими выражениями:

$$\begin{aligned}
a_{11} &= 2 \sin^2 \gamma \cos P + \cos 2\gamma \cos P, \\
a_{12} &= i(\tan \theta \cos 2\gamma \sin P - \sin 2\gamma \sin Q), \\
a_{13} &= i \sin \theta (\cos Q - \cos P) / \omega \rho c, \\
a_{14} &= (\tan \theta \sin \gamma \sin P + \cos \gamma \sin Q) / \omega \rho b, \\
a_{21} &= i(2 \cos \theta \sin^2 \gamma \sin P - \tan \gamma \cos 2\gamma \sin Q), \\
a_{22} &= \cos 2\gamma \cos P + 2 \sin^2 \gamma \cos Q, \\
a_{23} &= (\cos \theta \sin P + \tan \gamma \sin \theta \sin Q) / \omega \rho c, \\
a_{24} &= i \sin \gamma (\cos Q - \cos P) / \omega \rho b, \\
a_{31} &= -i \omega \rho b \sin \gamma \cos 2\gamma (\cos Q - \cos P), \\
a_{32} &= -\omega \rho \left[(c \cos^2 2\gamma / \cos \theta) \sin P + 4b \cos \gamma \sin^2 \gamma \sin Q \right], \\
a_{33} &= \cos 2\gamma \cos P + 2 \sin^2 \gamma \cos Q, \\
a_{34} &= i(\cos 2\gamma \tan \theta \sin P - \sin 2\gamma \sin Q), \\
a_{41} &= -\omega \rho b^2 \sin P [(4/c) \cos \theta \sin^2 \gamma + (\cos^2 2\gamma / b \cos \gamma)], \\
a_{42} &= -2i \omega \rho b^2 \sin \theta \cos 2\gamma (\cos Q - \cos P) / c, \\
a_{43} &= i b^2 [(\sin 2\theta / c^2) \sin P - (\cos 2\gamma / b^2) \tan \gamma \sin Q], \\
a_{44} &= 2 \sin^2 \gamma \cos P + \cos 2\gamma \cos Q, \\
P &= d \sqrt{(\omega / c)^2 - k_x^2}, Q = d \sqrt{(\omega / b)^2 - k_x^2}.
\end{aligned} \tag{6.8}$$

где $\theta, \gamma, d, c, b, \rho$ - угол продольной волны, угол поперечной волны, толщина слоя, скорость продольной волны, скорость поперечной волны и плотность материала в этом упругом слое, соответственно.

Предполагая значения величин $u_x^{(1)}, u_z^{(1)}, \sigma_{zx}^{(1)}, \sigma_{zz}^{(1)}$ на известной границе, которая разделяет среды 1 и среды 2, мы можем записать распространение волны в виде

$$\begin{bmatrix} u_x^{(l-1)} \\ u_z^{(l-1)} \\ \sigma_{zz}^{(l-1)} \\ \sigma_{zx}^{(l-1)} \end{bmatrix} = A^{(l)} \begin{bmatrix} u_x^{(l)} \\ u_z^{(l)} \\ \sigma_{zz}^{(l)} \\ \sigma_{zx}^{(l)} \end{bmatrix}, \tag{6.8}$$

где матрица пропагатора $A^{(l)}$ является произведением всех матриц $a^{(q)}$, начиная со слоя 2 и заканчивая в слое l-1 (рисунок 6.8),

$$A^{(l)} = \prod_{q=2}^{l-1} a^{(q)} \tag{18}$$

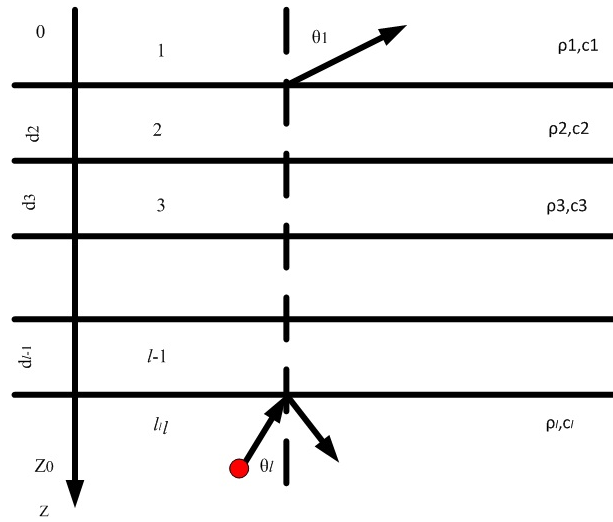


Рисунок 6.8 Векторы падающих, отраженных и проходящих плоских волн в системе l -слоев, каждый со своей плотностью ρ_q , скоростью звука c_q и толщиной d_q .

В оптоакустических исследованиях приемный преобразователь погружается в воду для лучшей акустической связи. Таким образом, верхнее полупространство заполнено жидкостью без поперечных волн ($\sigma_{zx}^{(1)} = 0$). Аналогично, ткани, в которых находятся мишени, также можно рассматривать как слой жидкости ($\sigma_{zx}^{(1)} = 0$). Используя обозначения $Z_1 = \rho_1 c_1 / \cos \theta_1$, $Z_l = \rho_l c_l / \cos \theta_l$, получаем простую формулу для полного сопротивления упругого слоя

$$Z_{in} = (i / \omega) \left[\frac{M_{32} - i\omega Z_1 M_{33}}{M_{22} - i\omega Z_1 M_{23}} \right], \quad (6.9)$$

где $M_{i,k}$ определяется матрицей пропагатора $A^{(l)}$:

$$M_{ik} = A_{ik} - A_{i1} A_{4k}, \quad i = 2, 3, k = 2, 3 \quad (6.10)$$

и коэффициент передачи

$$T_p = \frac{-2i\omega Z_1}{(M_{32} - i\omega Z_1 M_{33}) - (i\omega M_{22} + Z_1 \omega^2 M_{23}) Z_l} \quad (6.11)$$

В частности, обычно используемая модель жидкость-эритроциты-жидкость может быть упрощена как эластичный слой, зажатый между двумя

полубесконечными жидкими средами $Z_1 = Z_l, l = 3$. В таком случае выражение для коэффициента передачи может быть упрощено в виде

$$\begin{aligned} T_p &= 2U / [2V + i(U^2 - V^2 - 1)], \\ U &= Z_2 \cos^2 2\gamma_2 / Z_1 \sin P + Z_{2t} \sin^2 2\gamma_2 / Z_1 \sin Q, \\ V &= (Z_2 / Z_1) \cos^2 2\gamma_2 \cos P + (Z_{2t} / Z_1) \sin^2 2\gamma_2 \cos Q, \\ Z_1 &= \rho_1 c_1 / \cos \theta_1, Z_2 = \rho_2 c_2 / \cos \theta_2, Z_{2t} = \rho_2 b_2 / \cos \gamma_2, \\ P &= \omega d_2 \cos \theta_2 / c_2, Q = \omega d_2 \cos \gamma_2 / b_2 \end{aligned} \quad , (6.12)$$

где θ_1 , θ_2 и γ_2 - углы продольных волн в первом слое, углы продольных и поперечных волн во втором слое соответственно. А d_2 представляет толщину второго слоя. Отметим, что в этой модели второй слой является упругим, а первый и последний слои - текучими средами. После того, как мы получим коэффициент передачи T_p упругого слоя, мы можем экстраполировать волну, используя (6.12).

Сеть была обучена со среднеквадратичной ошибкой (MSE). MSE может быть написано как

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left\| \bar{y}_i - \phi(x_i) \right\|^2, \quad (6.13)$$

где $\bar{y}_i$ представляет расчет модели на тренировочном наборе. Оптимальные весовые коэффициенты для сети определяются таким образом, что MSE уменьшается путем расчета обучающего набора (x_i, y_i) . Другими словами, целью обучения является изучение весов и смещений параметров модели путем минимизации MSE (функции стоимости), которая измеряет расхождение между целевым (ожидаемым) и прогнозируемым результатом. Для нахождения оптимальных весов использовался эффективный алгоритм оптимизации ADAM [249], который оптимизирует стохастические целевые функции, при этом сочетает в себе преимущества AdaGrad [250], который эффективен для разреженных градиентов, и RMSProp, [251], который, эффективен для нестационарных процессов.

Поле звукового давления в плоскости $z=0$ может быть разложено на набор гармонических составляющих плоской волны:

$$p(x, y, z = 0, t) = \iiint P(k_x, k_y, z = 0, \omega) e^{ik_x x} e^{ik_y y} e^{-i\omega t} dk_x dk_y d\omega \quad (6.14)$$

где k_x и k_y представляют волновые числа x и y соответственно, $(\omega / c)^2 = k_x^2 + k_y^2 + k_z^2$ и z_0 - произвольная глубина в этой однородной среде. Такая экстраполяция волнового поля может рассматриваться как перемещение преобразователя в виртуальную плоскость сканирования на глубине $z = z_0$.

Простой способ улучшить реконструкцию - использовать миграцию Столта, которая широко используется в сейсмологии, для повышения эффективности реконструкции [252]. Восстановленное изображение для акустического сигнала (6.14) преобразуется в собственное обратное преобразование Фурье с отображением переменных от ω до k_z . Поскольку

$$\omega = c \sqrt{k_x^2 + k_y^2 + k_z^2} \quad , \quad (6.15)$$

то $d\omega$ выражается через dk_z как

$$d\omega = ck_z dk_z / \sqrt{k_x^2 + k_y^2 + k_z^2} \quad (6.16)$$

Подставляя (6.16) в (6.14) и расширяя глубины реконструкции с умножением $e^{ik_z z}$, миграция Столта может быть записана как

$$p(x, y, z, t = 0) = \iiint [P(k_x, k_y, z = z_0, \omega(k_x, k_y, k_z)) \cdot ck_z e^{ik_x x} e^{ik_y y} e^{ik_z z} / \sqrt{k_x^2 + k_y^2 + k_z^2}] dk_x dk_y dk_z \quad (6.17)$$

Решение интеграла представляет собой обратное преобразование Фурье

$$P(k_x, k_y, z = z_0, \omega(k_x, k_y, k_z)) ck_z / \sqrt{k_x^2 + k_y^2 + k_z^2} \quad (6.18)$$

Миграция Столта реализует реконструкцию в каждом слое. Используем неоднородное быстрое преобразование Фурье (NUFFT) [253,254]. Пусть $P(k_x, k_y, k_z): k_z \in [-\pi f / c, \pi f / c]$ - матрица, представляющая выборочные коэффициенты и $P(k_x, k_y, \omega): \omega \in [-\pi f, \pi f]$ - дискретизированные сигналы, где обе матрицы $P \in C^{M \times N \times L}$, M , N и L - количество выборок по осям x , y и z . Оператор NUFFT отображает сигнал на передискретизированной равномерной основе $\Phi \in C^{L \times uL}$ перед интерполяцией. Φ действует вдоль оси z

при отображении сигнала на основе передискретизации, и процесс описывается как

$$P(k_x, k_y, z = z_0, k_z) \approx P(k_x, k_y, z = z_0, \omega) \Phi U_p, \quad (6.19)$$

где $U_p \in C^{uL \times L}$ обозначает оператор интерполяции, а u - коэффициент передискретизации, который обычно устанавливается равным 2 или 4. U_p может использовать соседние однородные выборки для аппроксимации каждого неоднородного образца. Равномерный базис, отображающий Φ , построен функцией *sinc* с интерполяцией L точек

$$\begin{aligned} \Phi_{l,k} &= e^{-i\pi(k-ul)/u} \text{sinc}[(k-ul)/u], \\ l &\in [0, L-1], k \in [0, uL-1] \end{aligned} \quad (6.20)$$

Наконец, восстановление изображения с NUFFT может быть установлено как

$$\begin{aligned} p(x, y, z, t=0) &= \sum_{k_x} \sum_{k_y} \sum_{k_z} [P(k_x, k_y, z = z_0, \omega(k_x, k_y, k_z)) \\ &\Phi U_p c k_z e^{ik_x x} e^{ik_y y} e^{ik_z z} / \sqrt{k_x^2 + k_y^2 + k_z^2}] \end{aligned} \quad (6.21)$$

Блок-схема реализации алгоритма показана на рис. 6.9. Предлагаемый алгоритм разделен на три этапа: отображение, экстраполяция и реконструкция. Во-первых, входные данные преобразуются в область волновых чисел посредством трехмерного преобразования Фурье. Затем экстраполяция волнового поля в неоднородных средах компенсирует фазовый сдвиг сфокусированного преобразователя. Наконец, NUFFT используется для восстановления оптоакустических изображений из экстраполированных волновых полей и выражается как неравномерная интерполяция и обратное преобразование Фурье в блок-схеме. Экстраполяция для многослойных сред фактически перемещает преобразователь между различными слоями, при этом NUFFT может быстро восстанавливать оптоакустическое изображение в каждом слое.

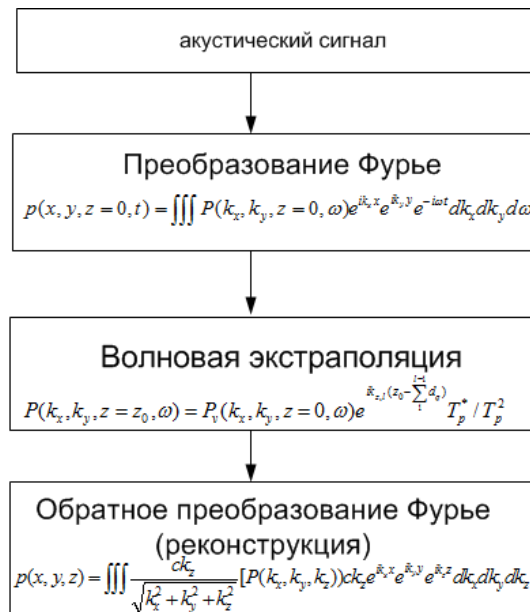


Рисунок 6.9 Обобщенная блок-схема реконструкции оптоакустического изображения.

Проведем реконструкцию оптоакустического изображения по акустическому сигналу, полученному от агрегированных эритроцитов в гл.3, и от эритроцитов, имеющих зараженные стадии малярии.

На рисунке 6.10 приведены результаты расчетов по реконструкции оптоакустического изображения эритроцитов с различной степенью агрегации.

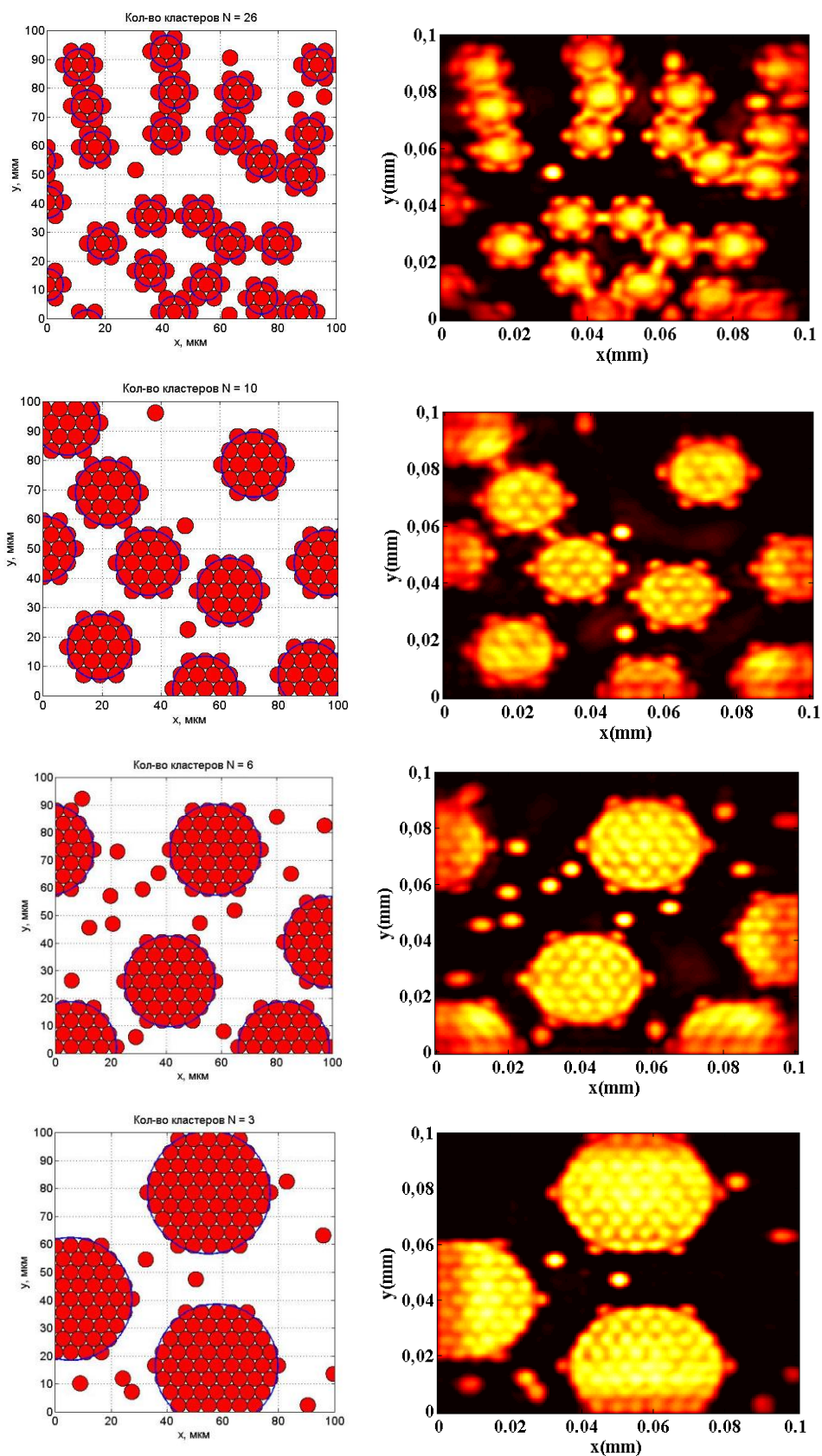


Рисунок 6.10 – Двумерные модели ткани агрегированных эритроцитов (слева). Реконструированное изображение, полученное в результате восстановления акустического сигнала после оптоакустического эффекта (справа)

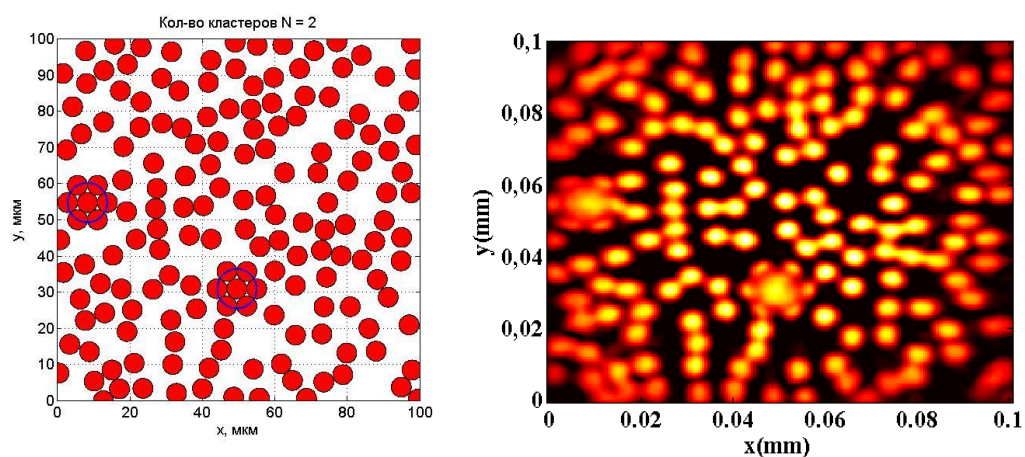
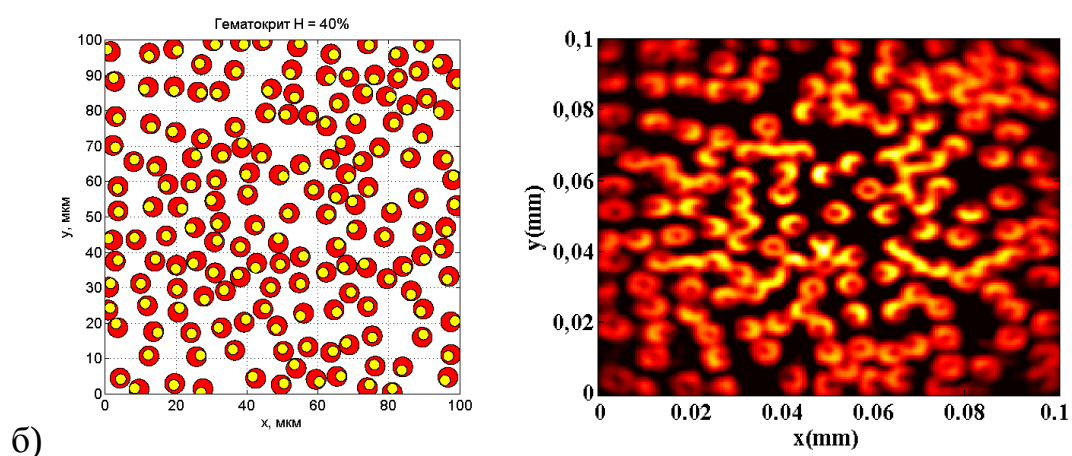
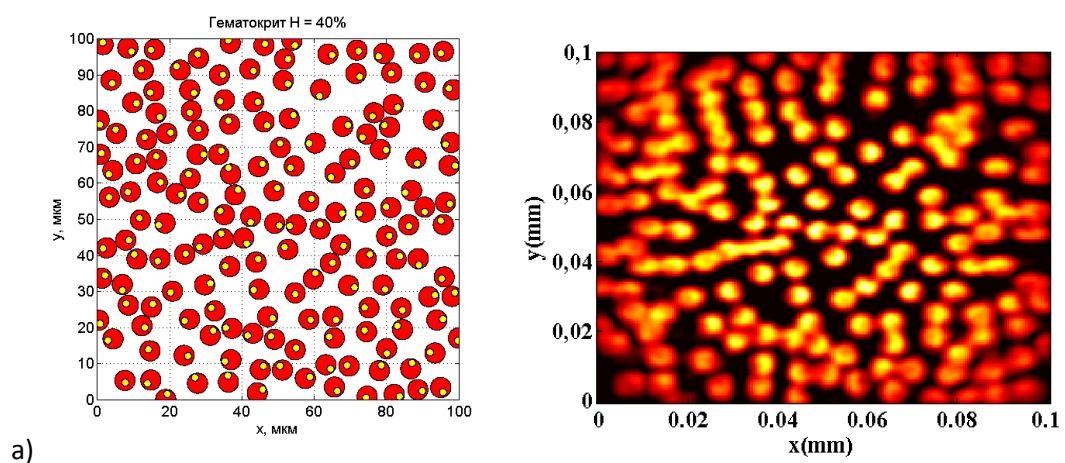
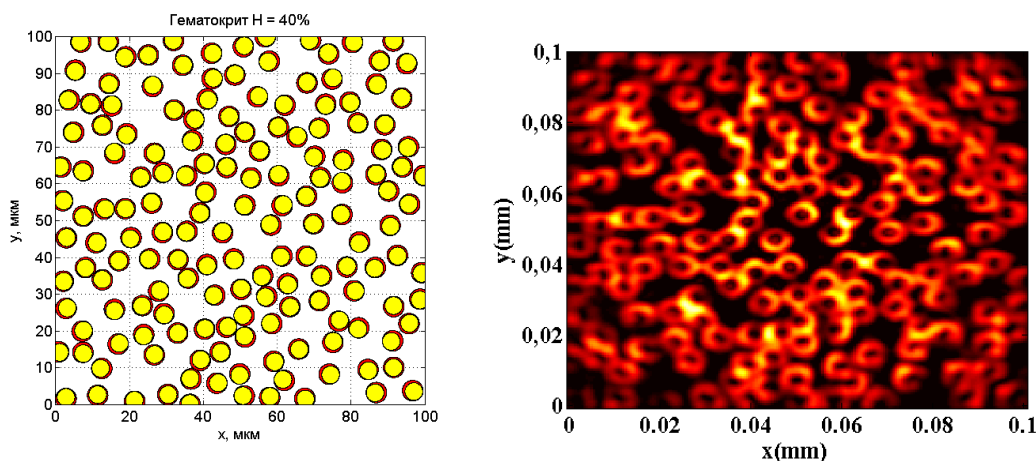


Рисунок 6.11 – Двумерная модель ткани с двумя кластерами агрегированных эритроцитов (слева). Реконструированное изображение, полученное в результате восстановления акустического сигнала после оптоакустического эффекта (справа)





в)

Рисунок 6.12 –Реализация 2D-ткани с внутриэритроцитарными инфекциями а - кольцо, б - трофозоит, в - шизонт (слева). Реконструированное изображение, полученное в результате восстановления акустического сигнала после оптоакустического эффекта (справа)

Полученные результаты по реконструкции оптоакустического изображения эритроцитов (рис. 6.10-6.12) с различной степенью агрегации проводилось с использованием пакета Matlab 2017. Известно, что крупномасштабные расчеты данных, можно ускорить распараллеливанием на плате GPU (графического ускорителя). Для облегчения быстрой обработки алгоритма при программировании для GPU был использован GPU среднего уровня (GeForce GTX 1050, NVIDIA, США). При обычной обработке ЦП для микроскопии изображений в диапазоне 10 мм × 10 мм составляет около 10 минут. Благодаря ускоренному программированию на GPU время для процесса восстановления изображения может быть сокращено до нескольких секунд в силу параллельных расчетов на большом количестве процессоров графического ускорителя [255].

6.5 Разработка интерфейса программы отображения акустического сигнала при оптоакустическом преобразовании

Таблица весов представляет собой таблицу, представляющую относительный вклад каждого образца на синограмме в каждый пиксель в

результатирующем изображении. Целевое изображение составляет 512×512 пикселей. Восстановление изображения - вычисление весов и задержек может использоваться таблица весов. Алгоритм может использоваться для расчета таблицы задержки выборки и таблицы весов для каждого преобразователя. Нормализованные, сглаженные изображения коротких и длинных синограмм используются в вычислении гемоглобина матрицей 2×2 . Коэффициенты гемоглобина, обозначаемые как k_{11} , k_{12} , k_{21} и k_{22} , пропорциональны псевдообратным коэффициентам поглощения для гемоглобина или крови. Карты гемоглобина в градациях серого могут быть вычислены на пиксельной основе как $(k_{11} + k_{21}) * \text{short_image} + (k_{12} + k_{22}) * \text{longimage}$.

Формирование параметрических изображений - статистическое сопоставление цветов. Цветное отображение генерируется из изображения в градациях серого (например, канал с одним изображением) в предварительно определенную цветовую карту. Карта цветов определяет упорядоченный список цветов (например, цветов RGB), который будет использоваться для представления информации в выходном изображении. Интенсивности сигнала, вносящие вклад в каждый пиксель в изображении объединяются для формирования реконструкции изображения.

На рисунке 6.13 и 6.14 приведены примеры пользовательского интерфейса программы, разработанного для ПК и мобильных телефонов с ОС Android для мобильной медицины.

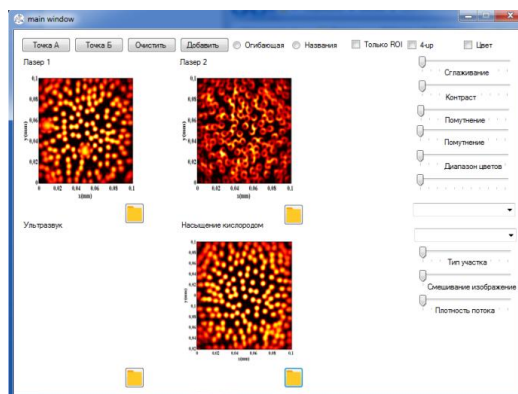


Рисунок 6.13 – Интерфейс программы для четырех изображений и их обработки

Реконструкция - это термин, используемый для обозначения процесса преобразования обработанных или необработанных данных на синограмме в изображение, представляющее локализованные признаки в объеме ткани. Как правило, реконструкция принимает необработанные данные канала, то есть синограмму, и использует эту информацию для получения двумерного изображения с заранее определенным разрешением.

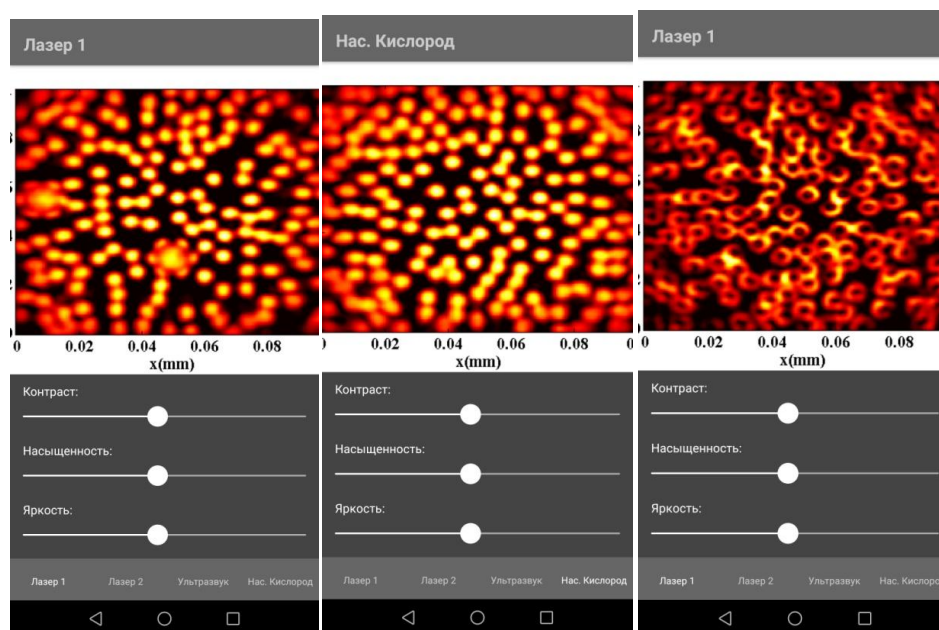


Рисунок 6.14 – Интерфейс программы для мобильного телефона на ОС Android.

Принципы построения оптоакустической системы экспресс-анализа: Использование двух лазеров на различных длинах волн излучения. При длине волны 700 нм амплитуда акустического сигнала изменяется в направлении, противоположном направлению роста кислородонасыщения крови и напротив, оба этих параметра изменяются в сторону увеличения, с ростом оксигенации при длине волны 1064 нм. Использование этого факта позволяет избежать ошибок и снизить погрешность измерения до 3 % при определении уровня кислородонасыщения;

Применение алгоритмов обработки акустического сигнала, обработки оптоакустических данных для удаления нежелательной информации, а

именно полосовая фильтрация, удаление постоянных помех, применение алгоритма создания параметрических карт для получения цветных карт оксигенации и гемоглобина;

Применение метода восстановления изображения при оптоакустическом преобразовании сигнала на основе нейронных сетей состоящего из трех этапов: отображение, экстраполяция и реконструкция, с использованием для быстрой обработки алгоритма расчета на основе графического ускорителя GPU на ядре CUDA. При это необходимо учитывать коэффициент передачи, описывающий амплитуду и фазу передаваемой ультразвуковой волны, которая определяется акустическим граничным условием слоистой структуры между волновыми полями на верхнем и нижнем краях границы раздела, возникающие из-за неоднородности биожидкости (наличие различных слоев) при экстраполяции волнового поля в слоистых неоднородных средах.

Использование разработанной программы графического интерфейса ПК можно использовать для вывода информации и внедрения в сегмент мобильного здравоохранения (свидетельство № 2023610836 о регистрации программы для ЭВМ «Система оптоакустического анализа и диагностики жидкостей (биожидкостей)» заявка №2023610836).

6.6 Выводы по главе

1. Предложены алгоритмы реализации системы оптоакустической визуализации проб крови, в которой ПК сконфигурирован для управления системой.

2. Разработана система экспресс-анализа крови, обоснованы принципы построения двухлучевой системы экспресс анализа форменных элементов крови включающие в себя: использование двух лазеров на различных длинах волн излучения, применение алгоритмов обработки акустического сигнала, применение метода восстановления изображения при оптоакустическом преобразовании сигнала на основе нейронных сетей состоящего из трех этапов - отображение, экстраполяция и реконструкция.

Разработаны программы для обработки и отображения информации системы экспресс анализа для ПК и мобильных устройств (ОС Android) для мобильной медицины.

3. Разработан алгоритм восстановления изображения при оптоакустическом преобразовании. Предложена структура обучаемой нейронной сети с обучением, основанным на открытых источниках баз данных, с учетом коэффициентов передачи в неоднородных биологических средах. Проведена реконструкция оптоакустического изображения по акустическому сигналу, полученному от агрегированных эритроцитов (гл.3) и от эритроцитов, имеющих зараженные стадии малярии, с помощью открытого кода, на основе распараллеливания задач графическим ускорителем на плате GPU (графического ускорителя), что позволило ускорить расчеты в 33,1 раза в сравнении с CPU [255].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований в диссертационной работе получены следующие основные результаты:

Рассмотрены методы диагностики форменных элементов крови с использованием лазерного излучения в биомедицинских исследованиях, подробно рассмотрены характеристики эритроцитов как объекта исследования. Изучены особенности формирования акустических волн при оптоакустическом преобразовании и применение оптоакустических методов в биологических тканях. Показана возможность диагностики форменных элементов в пробах крови с помощью оптоакустических методов.

Исследованы оптоакустические эффекты, наблюдаемые в жидких средах от поглотителей сферической формы, при различных функциях нагрева.

Разработана модельная картина распределения эритроцитов в крови в зависимости от гематокрита, рассчитан акустический сигнал от эритроцитов и от моделей образцов крови при разных значениях гематокрита. Теоретически смоделирован процесс агрегации форменных элементов крови человека - эритроцитов. Изучен процесс изменения амплитуды и спектра мощности акустического сигнала в зависимости от уровня агрегации эритроцитов. Теоретически исследована возможность установления степени насыщения кислородом проб крови с помощью оптоакустического метода. Разработаны модели пространственных организаций тканей, случайно распределенных смесей оксигенированных и дезоксигенированных эритроцитов в двумерном пространстве. Разработанные модели и их исследование позволяют сделать вывод об эффективном методе оптоакустической регистрации уровня гематокрита, агрегации и кислородонасыщения в крови.

Разработана модель пространственной организаций тканей с внутриэритроцитарными инфекциями на примере малярии и проведены

теоретические исследования, по обнаружению внутриэритроцитарной инфекции малярийного паразита с использованием оптоакустического метода на различных длинах волн оптического излучения, позволяющие обнаруживать ранние стадии малярии в пробах крови вдали от специализированных лабораторий со сложными лабораторными процедурами.

Теоретически исследована трансформация акустического сигнала для патологически измененных несферических форм эритроцитов. Разработана математическая модель оптоакустического эффекта в клетках с эндоцитозными.

Экспериментально исследован процесс возбуждения акустических сигналов при помощи лазера в модельных средах и биологических пробах. Исследован состав модельных жидкостей с использованием полистирольных микросфер, дисков и углеродных наночастиц. Разработан алгоритм и методика диагностики жидких биологических сред оптоакустическим методом на примере измерения значений гематокрита в пробах крови человека. При этом установлена высокая корреляция, в пробах, между измерением оптоакустическим методом и фактическим гематокритом, измеренным в лабораторных условиях составила $R^2 = 0,92$, систематическая ошибка составила $\langle \Delta \rangle = 4,1\%$ и стандартное отклонение $SD = 2\%$. Эффективность измерения кислородонасыщения оптоакустическим методом доказана, достаточно высоким уровнем корреляции, между измерением оптоакустическим методом и фактическим кислородонасыщением, и составила $R^2 = 0,96$, систематическая ошибка $\langle \Delta \rangle = -4\%$, стандартное отклонение $SD = 3\%$.

Установлено, точность измерения оптоакустическим методом гематокрита и кислородонасыщения в крови приближается к точности измерений стандартными методами для определения кислородонасыщения и гематокрита в крови.

Разработаны принципы построения двухлучевой системы экспресс-анализа форменных элементов крови на основе использования двух лазеров на различных длинах волн излучения.

Разработаны программы для обработки и отображения информации системы экспресс-анализа для ПК и мобильных устройств (ОС Android) для мобильной медицины. Получено свидетельство № 2023610836 о регистрации программы для ЭВМ «Система оптоакустического анализа и диагностики жидкостей (биожидкостей)» заявка №2023610836.

Полученные результаты могут быть применены для создания портативных систем экспресс-анализа состояния форменных элементов крови проводимых условиях лаборатории.

Результаты диссертационной работы внедрены на предприятиях:

- "Tiara Medical" (г. Санкт-Петербург);
- НПП "Монитор" (г. Ростов-на-Дону);
- ЗАО ОКБ "РИТМ" (г. Таганрог);
- ООО "МРТ диагностика" (г. Воронеж);
- ООО "Т Сервис" (г. Воронеж);
- ООО "Эксперт плюс" (г. Воронеж);
- ООО "Медицинская диагностика" (г. Воронеж).
- ООО «Медторг+» (г. Воронеж) - **создание опытного образца** прибора экспресс анализа.

- В ФГБУ «СКК «Северокавказский» Министерства обороны РФ – **испытания опытного образца** экспресс анализа.

- В ФГБОУ ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России.

- **Свидетельство** № 2023610836 о государственной регистрации программы для ЭВМ «Система оптоакустического анализа и диагностики жидкостей (биожидкостей)» заявка №2023610836.

Автор выражает благодарность научному консультанту профессору, д.т.н. **Чернову Николаю Николаевичу**, руководителю докторантуры д.т.н. **Старченко И.Б.** Благодарность коллективу кафедры

электрогидроакустической и медицинской техники за помощь в консультировании в теоретических вопросах и организации эксперимента. Благодарность кафедре нанотехнологий и микросистемной техники Института нанотехнологий, электроники и приборостроения Южного федерального университета, ЦКП «Лазерный центр» и ЦКП «Нанотехнологии» за оказанную помощь в ходе проведения экспериментальных исследований.

Литература

1. Berger A.J. и др. Multicomponent blood analysis by near-infrared Raman spectroscopy // *Appl. Opt. OSA*, 1999. Т. 38, № 13. С. 2916–2926.
2. Tromberg B.J. и др. Diffuse optics in breast cancer: Detecting tumors in premenopausal women and monitoring neoadjuvant chemotherapy // *Breast Cancer Research*. 2005. Т. 7, № 6. С. 279–285.
3. Xu M., Wang L. V. Photoacoustic imaging in biomedicine Photoacoustic imaging in biomedicine // *Rev. Sci. Instrum.* 2006. Т. 041101, № 4. С. 41101–41122.
4. Wang X. и др. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain // *Nat. Biotechnol.* 2003.
5. Ermilov S.A. и др. Laser optoacoustic imaging system for detection of breast cancer // *J. Biomed. Opt. International Society for Optics and Photonics*, 2009. Т. 14, № 2. С. 24007.
6. Stoltz J.F., Donner M. Red blood cell aggregation: measurements and clinical applications // *Tr. J. Med. Sci.* 1991. Т. 15. С. 26–39.
7. Bacskurt O.K. и др. Cyclosporin A affects red blood cell deformability in vivo but not in vitro in guinea pig. // *J. Pharmacol. Exp. Ther. ASPET*, 1995. Т. 274, № 3. С. 1438–1442.
8. Муравьев А.В. Деформация эритроцитов: роль в микроциркуляции // *Ярославский педагогический вестник. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»*, 2013. Т. 3, № 2. 93–102 с.
9. Mohandas N., Chasis J.A. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. // *Seminars in hematology*. 1993. Т. 30, № 3. С. 171–192.
10. Chien S., Sung L.A. Molecular basis of red cell membrane rheology // *Biorheology. IOS Press*, 1990. Т. 27, № 3–4. С. 327–344.
11. Stuart J., Nash G.B. Red cell deformability and haematological disorders // *Blood Rev. Elsevier*, 1990. Т. 4, № 3. С. 141–147.
12. Freedman J.C., Hoffman J.F. Ionic and osmotic equilibria of human red blood cells treated with nystatin. // *J. Gen. Physiol. Rockefeller University Press*, 1979. Т. 74, № 2. С. 157–185.
13. Esenaliev R.O. и др. Laser opto-acoustic tomography for medical diagnostics: Experiments with biological tissues // *Biomedical Sensing, Imaging, and Tracking Technologies I*. 1996. Т. 2676. С. 84–90.
14. Oraevsky A.A., Karabutov A.A. Optoacoustic tomography *Biomedical Photonics Handbook* ed T Vo-Dinh. Boca Raton, FL: CRC Press, 2003. С. 34–1.
15. Oraevsky A.A., Karabutov A.A. Ultimate sensitivity of time-resolved optoacoustic detection // *Biomedical Optoacoustics*. 2000. Т. 3916. С. 228–

16. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Математическое моделирование оптоакустического сигнала от агрегированных эритроцитов для оценки уровня агрегации // Научное приборостроение. 2018. Т. 28, № 1. С. 30–36.
17. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Моделирование процесса насыщения кислородом биологических тканей с помощью оптоакустического метода. // Научное приборостроение. 2018. Т. 28, № 2. С. 20–25.
18. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Математическое моделирование оптикоакустического сигнала от эритроцитов. // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 1. С. 96–101.
19. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Математическое моделирование оптикоакустического 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.
20. Kumar S., Singh V.B. Pseudo-Grüneisen parameter of organic liquids // Indian J. pure Appl. Phys. Council of Scientific & Industrial Research, 1992. Т. 30, № 3. С. 89–93.
21. Larin K. V., Larina I. V., Esenaliev R.O. Monitoring of tissue coagulation during thermotherapy using optoacoustic technique // J. Phys. D. Appl. Phys. 2005. Т. 38, № 15. С. 2645–2653.
22. Petrova I.Y. и др. Optoacoustic monitoring of total hemoglobin concentration: In vitro and in vivo studies // Biomedical Topical Meeting. 2004. С. FH4.
23. Soehle M., Jaeger M., Meixensberger J. Online assessment of brain tissue oxygen autoregulation in traumatic brain injury and subarachnoid hemorrhage // Neurol. Res. Taylor & Francis, 2003. Т. 25, № 4. С. 411–417.
24. Старченко И.Б., Кравчук Д.А., Кириченко И.А. Прототип оптоакустического лазерного цитометра // Медицинская техника. 2017. № 5. С. 4–7.
25. Vlad R.M. и др. An increase in cellular size variance contributes to the increase in ultrasound backscatter during cell death // Ultrasound Med. Biol. 2010.
26. Franceschini E. и др. Structure factor model for understanding the measured backscatter coefficients from concentrated cell pellet biophantoms // J. Acoust. Soc. Am. ASA, 2014. Т. 135, № 6. С. 3620–3631.
27. Oelze M.L., Zachary J.F. Examination of cancer in mouse models using high-frequency quantitative ultrasound // Ultrasound Med. Biol. Elsevier, 2006. Т. 32, № 11. С. 1639–1648.
28. Schmid-Schnbein H. и др. Red cell aggregation in blood flow // Klin. Wochenschr. 1976. Т. 54, № 4. С. 159–167.
29. Schmid-Schonbein H., Malotta H., Striesow F. Erythrocyte aggregation: causes, consequences and methods of assessment // Tijdschr NvKC. 1990. Т.

15. C. 88–97.
30. Franceschini E., Metzger B., Cloutier G. Forward problem study of an effective medium model for ultrasound blood characterization // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.* IEEE, 2011. T. 58, № 12. C. 2668–2679.
31. Franceschini E., Saha R.K., Cloutier G. Comparison of three scattering models for ultrasound blood characterization // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.* IEEE, 2013. T. 60, № 11. C. 2321–2334.
32. Tam A.C. Applications of photoacoustic sensing techniques // *Rev. Mod. Phys. APS*, 1986. T. 58, № 2. C. 381.
33. Davies S.J. и др. Laser-generated ultrasound: its properties, mechanisms and multifarious applications // *J. Phys. D. Appl. Phys.* IOP Publishing, 1993. T. 26, № 3. C. 329.
34. Patel C.K.N., Tam A.C. Pulsed optoacoustic spectroscopy of condensed matter // *Rev. Mod. Phys. APS*, 1981. T. 53, № 3. C. 517.
35. Hutchins D.A. Mechanisms of pulsed photoacoustic generation // *Can. J. Phys.* NRC Research Press, 1986. T. 64, № 9. C. 1247–1264.
36. Hutchins D., Tam A.C. Pulsed photoacoustic materials characterization // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.* IEEE, 1986. T. 33, № 5. C. 429–449.
37. Gusev V.E., Karabutov A.A. *Laser Optoacoustics* American Institute of Physics, Woodbury, NY, 1993; SA Akmanov and VE Gusev // *Sov. Phys. Usp.* 1992. T. 35. C. 153.
38. Sigrist M.W. Laser generation of acoustic waves in liquids and gases // *J. Appl. Phys.* 1986.
39. Cheong W.-F., Prahl S.A., Welch A.J. A review of the optical properties of biological tissues // *IEEE J. Quantum Electron.* IEEE, 1990. T. 26, № 12. C. 2166–2185.
40. Laufer J. и др. Quantitative spatially resolved measurement of tissue chromophore concentrations using photoacoustic spectroscopy: Application to the measurement of blood oxygenation and haemoglobin concentration // *Phys. Med. Biol.* 2007. T. 52, № 1. C. 141–168.
41. McKenzie A.L. *Physics of thermal processes in laser-tissue interaction* // *Phys. Med. Biol.* IOP Publishing, 1990. T. 35, № 9. C. 1175.
42. Duck F.A. *Physical Properties of Tissue. A Comprehensive Reference Book* // *Medical Physics.* 1990.
43. Weidner N. и др. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma // *N. Engl. J. Med.* Mass Medical Soc, 1991. T. 324, № 1. C. 1–8.
44. Mobley J. Optical properties of tissue // *Biomed. photonics Handb.* CRC press, 2003. T. 2. C. 20–26.
45. Кравчук Д.А. Применение оптоакустических методов в биомедицинских исследованиях // *Инженерный вестник Дона. ФГАОУ ЮФУ*, 2017. Т. 47, № 4 (47).
46. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease // *Nat. Med.* Nature Publishing Group, 1995. T. 1, № 1. C. 27–31.

47. Hutchins D.A., Nadeau F., Cielo P. A pulsed photoacoustic investigation of ultrasonic mode conversion // *Can. J. Phys.* NRC Research Press, 1986. T. 64, № 9. С. 1334–1340.
48. Bresse L.F., Hutchins D.A. Transient generation by a wide thermoelastic source at a solid surface // *J. Appl. Phys.* AIP, 1989. T. 65, № 4. С. 1441–1446.
49. Lerski R.A. Practical ultrasound. IRL Press. Oxford University Press, USA, 1988. 15–19 с.
50. Dudgeon D.E. Fundamentals of digital array processing // *Proc. IEEE.* IEEE, 1977. T. 65, № 6. С. 898–904.
51. Johnson D.H., Dudgeon D.E. Array signal processing: concepts and techniques. PTR Prentice Hall Englewood Cliffs, 1993. 111–190 с.
52. Hoelen C.G.A. и др. Photoacoustic blood cell detection and imaging of blood vessels in phantom tissue // *Optical and Imaging Techniques for Biomonitoring III.* 1998. Т. 3196. С. 142–153.
53. Hoelen C.G.A. и др. 3D-Photoacoustic Imaging of Blood Vessels // *Advances in Optical Imaging and Photon Migration.* Optical Society of America, 1998. С. AWA1.
54. Hoelen C.G.A. и др. Three-dimensional photoacoustic imaging of blood vessels in tissue // *Opt. Lett.* Optical Society of America, 1998. Т. 23, № 8. С. 648–650.
55. Hu C.-L. Spherical model of an acoustical wave generated by rapid laser heating in a liquid // *J. Acoust. Soc. Am.* 1969. Т. 46, № 3B. С. 728–736.
56. Diebold G.J., Sun T., Khan M.I. Photoacoustic waveforms generated by fluid bodies // *Photoacoustic and Photothermal Phenomena III.* Springer, 1992. С. 263–269.
57. Diebold G.J., Sun T. Properties of photoacoustic waves in one, two, and three dimensions // *Acta Acust. united with Acust. S.* Hirzel Verlag, 1994. Т. 80, № 4. С. 339–351.
58. Lai H.M., Young K. Theory of the pulsed optoacoustic technique // *J. Acoust. Soc. Am.* 1982.
59. Ristic V.M. Principles of acoustic devices. Wiley New York, 1983.
60. Esenaliev R.O. и др. Optical properties of normal and coagulated tissues: measurements using combination of optoacoustic and diffuse reflectance techniques // *Saratov Fall Meeting '98: Light Scattering Technologies for Mechanics, Biomedicine, and Material Science.* 1999.
61. Larin K. V. и др. Optoacoustic laser monitoring of cooling and freezing of tissues // *Kvantovaya Elektron.* 2002.
62. Larina I. V., Larin K. V., Esenaliev R.O. Real-time optoacoustic monitoring of temperature in tissues // *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2005.
63. Esenaliev R.O. Application of light and ultrasound for medical diagnostics and treatment // *Saratov Fall Meeting 2001: Optical Technologies in Biophysics and Medicine III.* 2002. Т. 4707. С. 158–164.
64. Esenaliev R.O. Novel optical and ultrasound techniques for biomedicine // *Saratov Fall Meeting 2002: Optical Technologies in Biophysics and*

- Medicine IV. 2003. T. 5068. C. 217–221.
65. Esenaliev R.O. и др. Axial resolution of laser opto-acoustic imaging: influence of acoustic attenuation and diffraction // *Laser-Tissue Interaction IX*. 1998. T. 3254. C. 294–306.
 66. Oraevsky A.A., Jacques S.L., Esenaliev R.O. Optoacoustic imaging for medical diagnosis. Google Patents, 1998.
 67. Oraevsky A.A. и др. Laser optoacoustic imaging of highly scattering media: comparison of experimental results and Monte Carlo simulations // *Proc. SPIE*. 1996. T. 2681. C. 277.
 68. Esenaliev R.O., Karabutov A.A., Oraevsky A.A. Sensitivity of laser opto-acoustic imaging in detection of small deeply embedded tumors // *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron*. 1999. T. 5, № 4. C. 981–988.
 69. Esenaliev R.O. и др. Laser optoacoustic imaging for breast cancer diagnostics: limit of detection and comparison with x-ray and ultrasound imaging // *Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue: Theory, Instrumentation, Model, and Human Studies II*. 1997. T. 2979. C. 71–82.
 70. Larin K. V. и др. Comparison of optoacoustic tomography with ultrasound and x-ray imaging for breast cancer detection // *Biomedical Optoacoustics II*. 2001.
 71. Бункин Ф.В., Комиссаров В.М. Оптическое возбуждение звуковых волн // *Акуст. журн*. 1973. T. 19, № 3. C. 305–320.
 72. Лямшев М.Л. Возбуждение звука лазерными импульсами при оптическом пробое микронеоднородной жидкости // *Письма в ЖТФ*. 2000. T. 26, № 8. C. 56–64.
 73. Новиков Б.К., Руденко О.В., Тимошенко В.И. Нелинейная гидроакустика. Судостроение Ленинград, 1981.
 74. Гусев В.Э. Карабутов А.А. Лазерная оптоакустика. Москва: Наука, 1991. 304 с.
 75. Лямшев Л.М., Ильичев В.Д. Лазерное термооптическое возбуждение звука. Наука, 1989.
 76. Petrov Y.Y. и др. Optoacoustic, noninvasive, real-time, continuous monitoring of cerebral blood oxygenation: An in vivo study in sheep // *Anesthesiology*. 2005.
 77. Petrova I.Y. и др. Optoacoustic monitoring of blood hemoglobin concentration: a pilot clinical study // *Opt. Lett.* 2005.
 78. Esenaliev R.O. Interaction of radiation with microparticles for enhancement of drug delivery in tumors // *Proc.SPIE*. 1999. T. 3601.
 79. Esenaliev R.O. Radiation and nanoparticles for enhancement of drug delivery in solid tumors // *USPTO*. 2000.
 80. Esenaliev R.O. Noninvasive therapies in the absence or presence of exogenous particulate agents: пат. US9504824B2 USA. Google Patents, 2016.
 81. Petrov Y.Y. и др. Multiwavelength optoacoustic system for noninvasive monitoring of cerebral venous oxygenation: a pilot clinical test in the internal jugular vein // *Opt. Lett.* 2006.

82. Patrikeev I. и др. Monte Carlo modeling of optoacoustic signals from human internal jugular veins // *Appl. Opt.* 2007.
83. Brecht H.P. и др. In vivo monitoring of blood oxygenation in large veins with a triple-wavelength optoacoustic system // *Opt. Express.* 2007. С. 16261–16269.
84. Petrova I.Y. и др. Noninvasive monitoring of cerebral blood oxygenation in ovine superior sagittal sinus with novel multi-wavelength optoacoustic system // *Opt. Express.* 2009.
85. Petrov I.Y. и др. Optoacoustic monitoring of cerebral venous blood oxygenation through intact scalp in large animals // *Opt. Express.* 2012.
86. Petrov I.Y. и др. Optoacoustic monitoring of cerebral venous blood oxygenation through extracerebral blood // *Biomed. Opt. Express.* 2012.
87. Касоев С.Г., Лямшев Л.М. К теории генерации звука в жидкости лазерными импульсами // *Акуст. журн.* 1977. Т. 23, № 6. С. 890–898.
88. Касоев С.Г., Лямшев Л.М. О генерации звука в жидкости лазерными импульсами произвольной формы // *Акуст. ж.* 1978. Т. 24, № 4. С. 534–539.
89. Yuan Z. и др. Three-dimensional diffuse optical tomography of osteoarthritis: initial results in the finger joints // *J. Biomed. Opt.* 2007.
90. Brecht H.-P. и др. Whole-body three-dimensional optoacoustic tomography system for small animals // *J. Biomed. Opt.* 2009.
91. Y. S., E.S. S., H. J. First assessment of three-dimensional quantitative photoacoustic tomography for in vivo detection of osteoarthritis in the finger joints // *Medical Physics.* 2011.
92. Laufer J. и др. Three-dimensional noninvasive imaging of the vasculature in the mouse brain using a high resolution photoacoustic scanner // *Appl. Opt.* 2009.
93. Wang L. V. и др. High-resolution functional photoacoustic tomography // 2004 2nd IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: Macro to Nano. 2004.
94. Hoelen C.G.A., de Mul F.F.M. A new theoretical approach to photoacoustic signal generation // *J. Acoust. Soc. Am.* 1999.
95. Karabutov A.A., Podymova N.B., Letokhov V.S. Time-resolved laser optoacoustic tomography of inhomogeneous media // *Appl. Phys. B Lasers Opt.* 1996.
96. Gournay L.S. Conversion of Electromagnetic to Acoustic Energy by Surface Heating // *J. Acoust. Soc. Am.* 1966.
97. Diebold G.J., Westervel P.J. The photoacoustic effect generated by a spherical droplet in a fluid // *J. Acoust. Soc. Am.* 1988.
98. Sigrist M.W., Kneubohl F.K. Laser-generated stress waves in liquids // *J. Acoust. Soc. Am.* 1978.
99. Diebold G.J., Beveridge A.C., Hamilton T.J. The photoacoustic effect generated by an incompressible sphere // *J. Acoust. Soc. Am.* 2002.
100. Huang D.-H. и др. Simulations of optoacoustic wave propagation in light-absorbing media using a finite-difference time-domain method // *J. Acoust.*

- Soc. Am. ASA, 2005. Т. 117, № 5. С. 2795–2801.
101. Larina I. V., Larin K. V., Esenaliev R.O. Real-time optoacoustic monitoring of temperature in tissues // J. Phys. D. Appl. Phys. 2005. Т. 38, № 15. С. 2633–2639.
 102. Prough D.S. и др. Patent Application Publication (10) Pub. No.: US 2008/0255433 A1. 2008. Т. 1, № 19.
 103. Джуплина Г.Ю. и др. Экспериментальные исследования оптоакустического эффекта в модельных суспензиях нанотрубок и нановолокон с использованием инфракрасного лазера // Известия Южного федерального университета. Технические науки. ФГАОУ ЮФУ, 2011. Т. 122, № 9. С. 180–186.
 104. Кравчук Д.А. Экспериментальные исследования и моделирование процесса генерации оптоакустических волн // Инженерный вестник Дона. ФГАОУ ЮФУ, 2017. Т. 45, № 2 (45). С. 20.
 105. Кравчук Д.А. Теоретические исследования генерации оптоакустических волн в жидкости цилиндрическими поглотителями // Инженерный вестник Дона. 2017. Т. 46, № 3 (46).
 106. Diebold G.J., Khan M.I., Park S.M. Photoacoustic "signatures" of particulate matter: optical production of acoustic monopole radiation // Science (80-.). American Association for the Advancement of Science, 1990. Т. 250, № 4977. С. 101–104.
 107. Lyamshev L.M., Sedov L. V. Optical-generation of sound in a liquid-thermal mechanism-review // Sov. Phys. Acoust. AMER INST PHYSICS CIRCULATION FULFILLMENT DIV, 500 SUNNYSIDE BLVD, WOODBURY, 1981. Т. 27, № 1. С. 4–18.
 108. Morse P.M. KU Ingard, Theoretical Acoustics // Princeton University Press, 949p. 1968. Т. 4. (120)150 с.
 109. Westervelt P.J., Larson R.S. Laser-excited broadside array // J. Acoust. Soc. Am. ASA, 1973. Т. 54, № 1. С. 121–122.
 110. Morse P.M., Feshbach H. Methods of theoretical physics // Am. J. Phys. AAPT, 1954. Т. 22, № 6. С. 410–413.
 111. Firsov O.B. Определение сил, действующих между атомами, при помощи дифференциального эффективного упругого рассеяния // Zh. Eksp. Teor. Fiz. 1953. Т. 24.
 112. Miller W.H. WKB solution of inversion problems for potential scattering // J. Chem. Phys. AIP, 1969. Т. 51, № 9. С. 3631–3638.
 113. Stein E.M. Singular integrals and differentiability properties of functions. Princeton university press, 1970. Т. 2.
 114. Lighthill M.J., Lighthill J. Waves in fluids. Cambridge university press, 2001.
 115. Diebold G.J. Photoacoustic Monopole Radiation: Waves from Objects with Symmetry in One, Two, and Three Dimensions // Photoacoustic Imaging and Spectroscopy / под ред. Wong, L. V. Taylor & Francis Group, LLC, London 2009. CRC Press, 2017. С. 3–18.
 116. Park S.M. и др. Photoacoustic effect in strongly absorbing fluids //

- Ultrasonics. Elsevier, 1991. Т. 29, № 1. С. 63–67.
117. Carome E.F., Clark N.A., Moeller C.E. Generation of acoustic signals in liquids by ruby laser-induced thermal stress transients // *Appl. Phys. Lett.* AIP, 1964. Т. 4, № 6. С. 95–97.
 118. Burmistrova L. V, Karabutov A.A., Portnyagin A.I. O. V. Rudenko, and EB Cherepetskaya: *Sov // Phys.-Acoust.* 1978. Т. 24. С. 655.
 119. Heritier J.-M. Electrostrictive limit and focusing effects in pulsed photoacoustic detection // *Opt. Commun.* Elsevier, 1983. Т. 44, № 4. С. 267–272.
 120. Sullivan B., Tam A.C. Profile of laser-produced acoustic pulse in a liquid // *J. Acoust. Soc. Am. ASA*, 1984. Т. 75, № 2. С. 437–441.
 121. Tam A.C. Signal enhancement and noise suppression considerations in photothermal spectroscopy // *Photoacoustic and Photothermal Phenomena III*. Springer, 1992. С. 447–462.
 122. Lyamshev L.M., Naugol'nykh K.A. The generation of sound by thermal sources // *Akust. Zh.* 1976. Т. 22. С. 625–627.
 123. Temkin S., Temkin S. *Elements of acoustics*. Wiley New York, 1981. Т. 81.
 124. Landau L.D., Lifshitz E.M. *Fluid mechanics // Fluid Mech.* Second Ed. 1987. Pergamon, Oxford. 1987.
 125. Beard P. Biomedical photoacoustic imaging // *Interface Focus*. The Royal Society, 2011. Т. 1, № 4. С. 602–631.
 126. Кравчук Д.А. Система регистрации акустического сигнала в результате возбуждения оптико-акустического эффекта в жидкости. // *Проблемы автоматизации. Региональное управление. Связь и автоматика (Паруса - 2016) Сборник трудов V Всероссийской научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов*. 2016. С. 116–119.
 127. Кравчук Д.А., Орда-Жигулина Д.В. и др. Экспериментальные исследования оптоакустического эффекта в движущейся жидкости. // *Известия ЮФУ. Технические науки*. 2017. Т. 4, № 189. С. 246–254.
 128. Кравчук Д.А. Моделирование системы регистрации акустического сигнала в результате возбуждения оптико-акустического эффекта в жидкости // *Успехи современной науки*. Ключев Сергей Васильевич, 2016. Т. 4, № 11. С. 121–123.
 129. Кравчук Д.А. Система регистрации оптоакустического эффекта в жидкости. Результаты эксперимента // *Успехи современной науки и образования*. Ключев Сергей Васильевич, 2016. Т. 5, № 12. С. 131–133.
 130. Орда-Жигулина Д.В., Старченко И.Б. Теоретическая модель процесса лазерного возбуждения акустических сигналов в жидкой среде с присутствием наноразмерных объектов // *Инженерный вестник Дона. ФГАОУ ЮФУ*, 2012. Т. 22, № 4–1. С. 28.
 131. Shung K.K., Thieme G.A. *Ultrasonic scattering in biological tissues*. CRC press, 1992.
 132. Rui M. и др. Photoacoustic microscopy and spectroscopy of individual red blood cells // *Biomedical Optics*. 2010. С. BSuD93.
 133. Meiselman H.J. Red blood cell aggregation: 45 Years being curious //

- Biorheology. 2009. T. 46, № 1. С. 1–19.
134. Bishop J.J. и др. Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies // Biorheology. IOS Press, 2001. Т. 38, № 2, 3. С. 263–274.
 135. Kim S. и др. Aggregate formation of erythrocytes in postcapillary venules // Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol. 2005. Т. 288, № 2 57-2. С. H584–H590.
 136. Bäumlér Н. и др. Basic phenomena of red blood cell rouleaux formation // Biorheology. IOS Press, 1999. Т. 36, № 5, 6. С. 439–442.
 137. Chabanel А. и др. Red blood cell aggregability in patients with a history of leg vein thrombosis: Influence of post-thrombotic treatment // Br. J. Haematol. Blackwell Publishing Ltd, 1994. Т. 88, № 1. С. 174–179.
 138. Le C.D. и др. Red blood cell aggregation in diabetes mellitus. // Int. Angiol. a J. Int. Union Angiol. 1990. Т. 9, № 1. С. 11–15.
 139. Priezzhev А. V и др. Aggregation and disaggregation of erythrocytes in whole blood: study by backscattering technique // J. Biomed. Opt. International Society for Optics and Photonics, 1999. Т. 4, № 1. С. 76–85.
 140. Chien S., Usami S., Bertles J.F. Abnormal rheology of oxygenated blood in sickle cell anemia // J. Clin. Invest. Am Soc Clin Investig, 1970. Т. 49, № 4. С. 623–634.
 141. Baskurt O.K., Temiz A., Meiselman H.J. Red blood cell aggregation in experimental sepsis // J. Lab. Clin. Med. Elsevier, 1997. Т. 130, № 2. С. 183–190.
 142. Fisher M., Meiselman H.J. Hemorheological factors in cerebral ischemia. // Stroke. Am Heart Assoc, 1991. Т. 22, № 9. С. 1164–1169.
 143. Lee B.K. и др. Microcirculatory dysfunction in cardiac syndrome X: role of abnormal blood rheology // Microcirculation. Taylor & Francis, 2008. Т. 15, № 5. С. 451–459.
 144. Rainer C. и др. Blood rheology and RBC aggregation in patients with angina pectoris and a prior history of myocardial infarction // Clin. Hemorheol. Microcirc. IOS Press, 1989. Т. 9, № 6. С. 923–934.
 145. Toth K. и др. The effect of RheothRx injection on the hemorheological parameters in patients with acute myocardial infarction // Clin. Hemorheol. Microcirc. IOS Press, 1997. Т. 17, № 2. С. 117–125.
 146. Ami R. Ben и др. Parameters of red blood cell aggregation as correlates of the inflammatory state // Am. J. Physiol. Circ. Physiol. 2001. Т. 280, № 5. С. H1982–H1988.
 147. Xu X., Yu L., Chen Z. Velocity variation assessment of red blood cell aggregation with spectral domain doppler optical coherence tomography // Ann. Biomed. Eng. 2010. Т. 38, № 10. С. 3210–3217.
 148. Lee S.J., Ha H., Nam K.-H. Measurement of red blood cell aggregation using X-ray phase contrast imaging // Opt. Express. The Optical Society, 2010. Т. 18, № 25. С. 26052–26061.
 149. Yu F.T.H., Cloutier G. Experimental ultrasound characterization of red blood cell aggregation using the structure factor size estimator // J. Acoust. Soc.

- Am. Acoustical Society of America (ASA), 2007. Т. 122, № 1. С. 645–656.
150. Franceschini E. и др. Ultrasound characterization of red blood cell aggregation with intervening attenuating tissue-mimicking phantoms // J. Acoust. Soc. Am. Acoustical Society of America (ASA), 2010. Т. 127, № 2. С. 1104–1115.
 151. Morse P.M., Ingard K.U., Beyer R.T. Theoretical acoustics. American Society of Mechanical Engineers Digital Collection, 1969.
 152. Saha R.K., Kolios M.C. A simulation study on photoacoustic signals from red blood cells // J. Acoust. Soc. Am. Acoustical Society of America (ASA), 2011. Т. 129, № 5. С. 2935–2943.
 153. Seiyama A., Hazeki O., Tamura M. Noninvasive quantitative analysis of blood oxygenation in rat skeletal muscle // J. Biochem. Oxford University Press, 1988. Т. 103, № 3. С. 419–424.
 154. Ishimaru A. Wave propagation and scattering in random media. Academic press New York, 1978. Т. 4. 69–92 с.
 155. Insana M.F. и др. Describing small-scale structure in random media using pulse-echo ultrasound // J. Acoust. Soc. Am. ASA, 1990. Т. 87, № 1. С. 179–192.
 156. Кравчук Д.А. Система проточной лазерной диагностики жидкостей при генерации оптоакустического сигнала на рассеивателях сферической формы // Качество и жизнь. Межрегиональная общественная организация Академия проблем качества, 2017. № 4. С. 78–82.
 157. Starchenko I., Kravchuk D., Kirichenko I. An Optoacoustic laser cytometer prototype. // Biomed. Eng. (NY). 2018. Т. 51, № 5.
 158. Кравчук Д.А. Исследование генерации оптоакустического сигнала на рассеивателях различной формы для диагностики клеток методом проточной цитометрии in vivo. // Прикаспийский журнал управление и высокие технологии. 2017. Т. 3, № 39. С. 139–147.
 159. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Модель формирования оптоакустического сигнала от эритроцитов для лазерного цитомера // Лазерная медицина. 2018. Т. 22, № 1. С. 57–60.
 160. Shung K.K. и др. Effect of flow disturbance on ultrasonic backscatter from blood // J. Acoust. Soc. Am. ASA, 1984. Т. 75, № 4. С. 1265–1272.
 161. Savéry D., Cloutier G. Effect of red cell clustering and anisotropy on ultrasound blood backscatter: A Monte Carlo study // IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control. IEEE, 2005. Т. 52, № 1. С. 94–103.
 162. Saha R.K., Cloutier G. Monte Carlo study on ultrasound backscattering by three-dimensional distributions of red blood cells // Phys. Rev. E. APS, 2008. Т. 78, № 6. С. 61919.
 163. Hinrichsen E.L., Feder J., Jøssang T. Random packing of disks in two dimensions // Phys. Rev. A. APS, 1990. Т. 41, № 8. С. 4199.
 164. Кравчук Д.А. О методе моделирования оптоакустических сигналов от источников сферической формы на примере эритроцитов // Качество и жизнь. Межрегиональная общественная организация Академия проблем качества, 2017. № 4. С. 82–84.

165. Кравчук Д.А. Старченко И.Б. Модельная оценка уровня агрегации эритроцитов оптоакустическим методом. // Прикаспийский журнал управление и высокие технологии. 2017. Т. 4, № 40. С. 174–183.
166. Кравчук Д.А. Математическая модель агрегации эритроцитов для исследования оптоакустическим методом // Качество и жизнь. Межрегиональная общественная организация Академия проблем качества, 2018. Т. 16, № 1. С. 41–43.
167. Kravchuk D.A., Stachenko I.B. Application of the optoacoustic method for model calculation of non-aggregated erythrocytes and determination of hematocrit // Proceedings of the 2018 International Conference on “Physics, Mechanics of New Materials and Their Applications”. Nova, 2018.
168. Wang L. V. Prospects of photoacoustic tomography // Medical Physics. John Wiley and Sons Ltd, 2008. Т. 35, № 12. С. 5758–5767.
169. Esenaliev R.O. и др. Optoacoustic technique for noninvasive monitoring of blood oxygenation: a feasibility study // Appl. Opt. Optical Society of America, 2002. Т. 41, № 22. С. 4722–4731.
170. Prahl S. Data compiled <http://omlc.ogi.edu/spectra> [Электронный ресурс]. URL: <http://omlc.ogi.edu/spectra>.
171. Fox S. i . Human physiology. Tenth. New York: McGraw-Hill, 2008. С. 388–430.
172. Kravchuk D.A., Starchenko I.B. Theoretical model for diagnostics of the oxygen saturation of erythrocytes with the help of optoacoustic signals // Appl. Phys. Federal Informational-Analytical Center of the Defense Industry, 2018. Т. 2018-Janua, № 4. С. 89–93.
173. Bell D., Wongsrichanalai C., Barnwell J.W. Ensuring quality and access for malaria diagnosis: how can it be achieved? // Nat. Rev. Microbiol. Nature Publishing Group, 2006. Т. 4, № 9. С. 682–695.
174. Makler M.T., Palmer C.J., Ager A.L. A review of practical techniques for the diagnosis of malaria // Ann. Trop. Med. Parasitol. London, Orlando [etc.] Academic Press [etc.], 1998. Т. 92, № 4. С. 419–434.
175. Bélisle J.M. и др. Sensitive detection of malaria infection by third harmonic generation imaging // Biophys. J. Elsevier, 2008. Т. 94, № 4. С. L26--L28.
176. Newman D.M. и др. A magneto-optic route toward the in vivo diagnosis of malaria: preliminary results and preclinical trial data // Biophys. J. Elsevier, 2008. Т. 95, № 2. С. 994–1000.
177. Park Y. и др. Refractive index maps and membrane dynamics of human red blood cells parasitized by Plasmodium falciparum // Proc. Natl. Acad. Sci. National Acad Sciences, 2008. Т. 105, № 37. С. 13730–13735.
178. Balasubramanian D. Photoacoustic spectroscopy and its use in biology // Biosci. Rep. Springer, 1983. Т. 3, № 11. С. 981–994.
179. Balasubramanian D., Rao C.M., Panijpan B. The malaria parasite monitored by photoacoustic spectroscopy // Science (80-.). American Association for the Advancement of Science, 1984. Т. 223, № 4638. С. 828–830.
180. Кравчук Д.А. Направления в исследовании оптоакустического эффекта для медицинской диагностики (обзор) // Инженерный вестник Дона.

2019. Т. 5.
181. Orjih A.U., Fitch C.D. Hemozoin production by *Plasmodium falciparum*: variation with strain and exposure to chloroquine // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-General Subj.* Elsevier, 1993. Т. 1157, № 2. С. 270–274.
 182. Huang X. и др. Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy. *Future Medicine*, 2007. Т. 2, № 5. С. 681–693.
 183. Jain P.K. и др. Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine // *J. Phys. Chem. B.* ACS Publications, 2006. Т. 110, № 14. С. 7238–7248.
 184. Agarwal A. и др. Targeted gold nanorod contrast agent for prostate cancer detection by photoacoustic imaging // *J. Appl. Phys. AIP*, 2007. Т. 102, № 6. С. 64701.
 185. Zhang H.F. и др. Functional photoacoustic microscopy for high-resolution and noninvasive in vivo imaging // *Nat. Biotechnol.* Nature Publishing Group, 2006. Т. 24, № 7. С. 848.
 186. Mallidi S. и др. On sensitivity of molecular specific photoacoustic imaging using plasmonic gold nanoparticles // 2009 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 2009. С. 6338–6340.
 187. De La Zerda A. и др. Carbon nanotubes as photoacoustic molecular imaging agents in living mice // *Nat. Nanotechnol.* Nature Publishing Group, 2008. Т. 3, № 9. С. 557–562.
 188. Chen Y.-S. и др. Environment-dependent generation of photoacoustic waves from plasmonic nanoparticles // *Small.* Wiley Online Library, 2012. Т. 8, № 1. С. 47–52.
 189. Guo Z., Li L., Wang L. V. On the speckle-free nature of photoacoustic tomography // *Med. Phys.* Wiley Online Library, 2009. Т. 36, № 9Part1. С. 4084–4088.
 190. И.Б. Старченко, С.П. Малюков, Д.В. Орда-Жигулина и др. Измерительный комплекс для лазерной диагностики биообъектов с использованием наночастиц на базе LIMO 100 // *Прикаспийский журнал управление и высокие технологии.* ФБОУВО Астраханский государственный университет, 2013. № 2. С. 166–173.
 191. Старченко И.Б., Кравчук Д.А., Созинова А.М. Моделирование распределения наночастиц в дисперсной жидкости для повышения эффекта от физиотерапии // *Моделирование, оптимизация и информационные технологии.* Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования, 2018. Т. 6, № 1. С. 21–29.
 192. Falou O. и др. The measurement of ultrasound scattering from individual micron-sized objects and its application in single cell scattering // *J. Acoust. Soc. Am.* Acoustical Society of America (ASA), 2010. Т. 128, № 2. С. 894–902.

193. Johnson P.B., Christy R.-W. Optical constants of the noble metals // *Phys. Rev. B. APS*, 1972. T. 6, № 12. С. 4370–4379.
194. Taruttis A., Ntziachristos V. Advances in real-time multispectral optoacoustic imaging and its applications // *Nat. Photonics* 2015 94. Nature Publishing Group, 2015. T. 9, № 4. С. 219–227.
195. HW G.L., Wortis M., Mukhopadhyay R. Stomatocyte--discocyte--echinocyte sequence of the human red blood cell: Evidence for the bilayer--couple hypothesis from membrane mechanics // *Proc. Natl. Acad. Sci. National Acad Sciences*, 2002. T. 99, № 26. С. 16766–16769.
196. Reinhart W.H., Chien S. Red cell rheology in stomatocyte-echinocyte transformation: roles of cell geometry and cell shape // *Blood. Am Soc Hematology*, 1986. T. 67, № 4. С. 1110–1118.
197. Strohm E.M., Berndt E.S.L., Kolios M.C. Probing red blood cell morphology using high-frequency photoacoustics // *Biophys. J. Elsevier*, 2013. T. 105, № 1. С. 59–67.
198. Кравчук Д.А. Математическая модель изменения формы эритроцитов для регистрации патологии оптоакустическим методом // *Качество и жизнь. Межрегиональная общественная организация Академия проблем качества*, 2018. № 1. С. 44–46.
199. Evans E., Fung Y.-C. Improved measurements of the erythrocyte geometry // *Microvasc. Res. Elsevier*, 1972. T. 4, № 4. С. 335–347.
200. Kuchel P.W., Fackerell E.D. Parametric-equation representation of biconcave erythrocytes // *Bull. Math. Biol. Elsevier*, 1999. T. 61, № 2. С. 209–220.
201. Bi L., Yang P. Modeling of light scattering by biconcave and deformed red blood cells with the invariant imbedding T-matrix method // *J. Biomed. Opt. International Society for Optics and Photonics*, 2013. T. 18, № 5. С. 55001.
202. Mugnai A., Wiscombe W.J. Scattering from nonspherical Chebyshev particles. I: cross sections, single-scattering albedo, asymmetry factor, and backscattered fraction // *Appl. Opt. Optical Society of America*, 1986. T. 25, № 7. С. 1235–1244.
203. Khairy K., Howard J. Spherical harmonics-based parametric deconvolution of 3D surface images using bending energy minimization // *Med. Image Anal. Elsevier*, 2008. T. 12, № 2. С. 217–227.
204. Khairy K., Foo J., Howard J. Shapes of red blood cells: Comparison of 3D confocal images with the bilayer-couple model // *Cell. Mol. Bioeng. Springer*, 2008. T. 1, № 2–3. С. 173–181.
205. Кравчук Д.А. Моделирование акустических сигналов при оптоакустическом преобразовании для осесимметричных несферических форм эритроцитов // *Научное приборостроение. ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН*, 2019. Т. 29, № 2. С. 83–89.
206. Кравчук Д.А. Моделирование акустических сигналов при оптоакустическом эффекте для обнаружения эритроцитов различной формы лазерным цитометром // *Прикладная физика*. 2019. Т. 5. С. 93–95.

207. Кравчук Д.А. Моделирование акустического сигнала от источников различной формы при оптоакустическом эффекте в жидкости // Научное приборостроение. ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН, 2019. Т. 29, № 4. С. 124–128.
208. Franceschini E., Cloutier G. Modeling of ultrasound backscattering by aggregating red blood cells // Quantitative ultrasound in soft tissues. Springer, 2013. С. 117–145.
209. Schmid-Schönbein H. и др. Red cell aggregation in blood flow // Klin. Wochenschr. Springer, 1976. Т. 54, № 4. С. 149–157.
210. Hinrichsen E.L., Feder J., Jøssang T. Geometry of random sequential adsorption // J. Stat. Phys. Springer, 1986. Т. 44, № 5–6. С. 793–827.
211. Kravchuk D.A., Starchenko I.B. 3D simulation of aggregation of red blood cells for the study of the optoacoustic response // J. Phys. Conf. Ser. {IOP} Publishing, 2019. Т. 1353. С. 12088.
212. И.Б. Старченко, С.П. Малюков, Д.В. Орда-Жигулина и др. Измерительный комплекс для лазерной диагностики биообъектов с использованием наночастиц на базе LIMO 100 // Прикаспийский журнал управление и высокие технологии. 2013. Т. 2, № 22. С. 166–173.
213. Джуплина Г.Ю., Старченко И.Б. Система и методика исследования наноразмерных артефактов в кровотоке // Известия Южного федерального университета. Технические науки. ФГАОУ ЮФУ, 2010. Т. 109, № 8. С. 61–64.
214. Кравчук Д.А., Кириченко И.А., Орда-Жигулина Д.В. Обзор методов использования наноразмерных объектов в биомедицинских исследованиях // Научные труды SWorld. ООО « НАУЧНЫЙ МИР», 2015. Т. 5, № 4. С. 24–27.
215. Kravchuk D.A. Experimental studies on the excitation and registration of an optoacoustic signal in a liquid // 2019 International Siberian Conference on Control and Communications, SIBCON 2019 - Proceedings. Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc., 2019. С. 8729639.
216. Kravchuk D.A., Vtorushin A.S., Myakinin V.A. Tendencies of development of optoacoustic methods and devices in biomedicine // SWorldJournal. ООО « НАУЧНЫЙ МИР», 2016. Т. 10, № j116. С. 42–45.
217. Кикоин И.К. Таблицы физических величин. Рипол Классик, 1976.
218. Shapiro H.M. Practical flow cytometry. John Wiley & Sons, 2003. 565–566 с.
219. Бурмистрова Л.В. и др. О влиянии тепловой нелинейности на термооптическую генерацию звука // Акуст. журн. 1979. № 4. С. 616–619.
220. Дунина Т.А. и др. К нелинейной теории теплового механизма генерации звука лазерным излучением // Акуст. журн. 1979. Т. 25. С. 622–625.
221. Джуплина, Г. Ю., Вишневецкий В.Ю., Старченко И.Б., Шашкин М.С. Теоретическая модель оптоакустического рассеяния на наноразмерных объектах для учета распределения загрязняющих веществ в водной среде // Инженерный вестник Дона. ФГАОУ ЮФУ, 2011. Т. 18, № 4. С.

- 13–19.
222. Карабутов А.А. и др. Измерение оптических характеристик рассеивающих сред лазерным оптико-акустическим методом // Квантовая электроника. Физический институт им. ПН Лебедева Российской академии наук, 1999. Т. 29, № 3. С. 215.
 223. Ботыгина Н.Н., Букатый В.И., Хмелевцов С.С. Генерация акустических волн, возникающих в процессе взаимодействия лазерного импульса с водой // Акустический журнал. 1976. Т. 22, № 5. С. 652–657.
 224. Тучин В.В. Оптическая биомедицинская диагностика. Москва: Физматлит, 2007. 511 с.
 225. Грашин П.С. и др. Измерение оптических характеристик рассеивающих сред по временному профилю оптико-акустического сигнала // Вестник Московского университета. 2001. Т. 2. С. 39–42.
 226. Бондаренко А.Н. Лазерные методы возбуждения и регистрации акустических сигналов // М. Изд-во стандартов. 1989. С. 115.
 227. Boas G. Photoacoustic imaging gets dynamic // Biophotonic Int. 2008. С. 26–29.
 228. Shapiro H.M. The evolution of cytometers // Cytom. Part A J. Int. Soc. Anal. Cytol. Wiley Online Library, 2004. Т. 58A, № 1. С. 13–20.
 229. Островская Г.В. Эффективность преобразования световой энергии в акустическую при взаимодействии импульсного лазерного излучения с жидкой средой. I. Расчет эффективности преобразования при оптоакустическом взаимодействии // Журнал технической физики. 2002. Т. 72, № 10. С. 95–102.
 230. ГОСТ Р. 50723--94. Лазерная безопасность // Общие требования безопасности при разработке и эксплуатации лазерных изделий. 1995. С. 34.
 231. 60601-2-22-2008 Г.Р.М. Изделия медицинские электрические. Часть 2–22. Частные требования к безопасности при работе с хирургическим, косметическим, терапевтическим и диагностическим лазерным оборудованием. Москва: Издательство стандартов, 2009. 21 с.
 232. 60825-1-2009 Г.Р.М. Безопасность лазерной аппаратуры. Ч. 1. Классификация оборудования, требования и руководство для потребителей. Москва: Изд-во стандартов, 2010. 72 с.
 233. Бондарева Л.А., Дунаев А.В. Биотехнические медицинские системы терапевтического назначения. ОрелГТУ, 2005. 64 с.
 234. Progelhof R.C., Franey J., Haas T.W. Absorption coefficient of unpigmented poly (methyl methacrylate), polystyrene, polycarbonate, and poly (4-methylpentene-1) sheets // J. Appl. Polym. Sci. Wiley Online Library, 1971. Т. 15, № 7. С. 1803–1807.
 235. Sun X. и др. Broadband optical limiting with multiwalled carbon nanotubes // Appl. Phys. Lett. AIP, 1998. Т. 73, № 25. С. 3632–3634.
 236. Кравчук Д.А., Орда-Жигулина Д.В. Экспериментальные исследования оптоакустического воздействия на модель эритроцитов в присутствии углеродных наночастиц // Biomed. Photonics. 2019. Т. 8, № 3. С. 11–18.

237. Kravchuk D.A. и др. Study of optoacoustic signals using models of erythrocytes in a liquid with contrast nanoagents // *Acoust. Phys.* 2021 673. Springer, 2021. Т. 67, № 3. С. 336–339.
238. Swenson M.J. *DUKES' Physiology of Domestic Animals*. 8-е изд. / под ред. Swenson. London, 1970.
239. Д.А. Кравчук. Результаты экспериментальных исследований оптоакустического отклика в биологических тканях и их моделях // *Прикладная физика*. 2022. Т. 3. С. 63–66.
240. Кравчук Д.А. Использование оптоакустического эффекта для измерения концентрации глюкозы // *Прикладная физика*. 2021. Т. 6. С. 63–66.
241. Gr̈unewald H. *Handbook of Chemistry and Physics*. Von R. C. Weast. The Chemical Rubber Co., Cleveland, Ohio/USA 1972. 52. Aufl., XXVII, 2313 S., geb. DM 99.80 // *Angew. Chemie*. John Wiley & Sons, Ltd, 1972. Т. 84, № 9. С. 445–446.
242. Jacques S.L. Origins of Tissue Optical Properties in the UVA, Visible, and NIR Regions. // *OSA Trends Opt. Photonics*, Vol.2 Adv. Opt. Imaging Phot. Migr. 1996. С. 364–371.
243. Kravchuk D.A. Application of the optoacoustic effect to measure glucose concentration // *Appl. Phys.* 2021. № 6. С. 63–66.
244. Roggan A. и др. Optical Properties of Circulating Human Blood in the Wavelength Range 400–2500 nm // *J. Biomed. Opt. SPIE-Intl Soc Optical Eng*, 1999. Т. 4, № 1. С. 36.
245. Girshick R. и др. Rich feature hierarchies for accurate object detection and semantic segmentation.
246. Hauptmann A. и др. Model-Based Learning for Accelerated, Limited-View 3-D Photoacoustic Tomography // *IEEE Trans. Med. Imaging*. IEEE, 2018. Т. 37, № 6. С. 1382–1393.
247. Badrinarayanan V., Kendall A., Cipolla R. SegNet: A Deep Convolutional Encoder-Decoder Architecture for Image Segmentation // *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* IEEE Computer Society, 2017. Т. 39, № 12. С. 2481–2495.
248. Jin H. и др. Pre-migration: A General Extension for Photoacoustic Imaging Reconstruction // *IEEE Trans. Comput. Imaging*. Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc., 2020. Т. 6. С. 1097–1105.
249. Kingma D.P., Ba J.L. Adam: A method for stochastic optimization // 3rd International Conference on Learning Representations, ICLR 2015 - Conference Track Proceedings. International Conference on Learning Representations, ICLR, 2015.
250. Duchi J., Singer Y. Adaptive Subgradient Methods for Online Learning and Stochastic Optimization * Elad Hazan // *Journal of Machine Learning Research*. 2011. Т. 12. 2121–2159 с.
251. Tieleman T., Hinton G. Lecture 6.5-rmsprop, coursera: Neural networks for machine learning // Univ. Toronto, Tech. Rep. 2012.
252. Stolt R.H. Migration by fourier transform. // *Geophysics*. 1978. Т. 43, № 1. С. 23–48.

253. Schmid J. и др. Nonequispaced grid sampling in photoacoustics with a nonuniform fast Fourier transform // J. Biomed. Opt. SPIE-Intl Soc Optical Eng, 2016. Т. 21, № 1. С. 015005.
254. Haltmeier M., Scherzer O., Zangerl G. A reconstruction algorithm for photoacoustic imaging based on the nonuniform FFT // IEEE Trans. Med. Imaging. 2009. Т. 28, № 11. С. 1727–1735.
255. Кравчук Д.А. Построение оптоакустического изображения биологических тканей на основе алгоритма для графического процессора // Прикладная физика. 2021. Т. 5. С. 106–109.

Приложения



Секретарь «Кисловодский» МО РФ
Кириченко Н.Н.
" 11 " марта 2023 г.

О внедрении научных результатов

Комиссия в составе: начальника медицинской части - И.Э.Полякова, врача-лаборанта - В.А. Гавриловой, врача-лаборанта - И.Я. Костелянчик, заведующего кабинетом ОФД - В.С. Бернарда, составила настоящий акт в том, что результаты научных исследований, полученные Кравчуком Д.А. в диссертационной работе, в частности - метод определения уровня гематокрита и кислородонасыщения в крови с помощью опытного образца на основе оптоакустического метода, использованы для экспресс-анализа проб крови для установления уровня гематокрита, кислородонасыщения и уровня глюкозы.

Цель проведенных испытаний – определение уровня гематокрита, кислородонасыщения и уровня глюкозы в пробах крови, оптоакустическим методом. Полученные результаты демонстрируют достаточную точность измерения, в сравнении с лабораторными исследованиями, и позволяют использовать демонстрационный опытный образец для проведения экспресс-анализа.

И.С.

И.Э. Поляков

Stamp.

В.А. Гаврилова

Robert A.

И.Я. Костелянчик

2. С. Б. С.

В.С. Бернارد

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2023611761

**Система оптоакустического анализа и диагностики
жидкостей (биожидкостей)**

Правообладатель: **Кравчук Денис Александрович (RU)**

Автор(ы): **Кравчук Денис Александрович (RU)**



Заявка № **2023610836**

Дата поступления **16 января 2023 г.**

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ **24 января 2023 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 68b80077e14c40f0a94edbd24145d5c7
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 2.04.2022 по 26.05.2023

Ю.С. Зубов

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
“МЕДТОРГ + ”

394042 г. Воронеж
ул. Минская, 2а
тел/факс (473)239-60-21, 225-49-39
ИНН/КПП 3664037437/366401001
ОКПО 51715746, ОКОНХ 19320
E-Mail: med349@mail.ru

р/с 40702810713380103142
в Центральном-Черноземном банке СБ
РФ
БИК 042007681
кор/с 30101810600000000681

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор _____ к.м.н., Решетин А.Г.
12.04.2023 г.

А К Т

о внедрении научных результатов
полученных Кравчук Д.А. в диссертации
на соискание ученой степени доктора технических наук

Комиссия в составе: Председателя – заместителя директора, к.т.н. Попов С.В. и членов комиссии – начальника производства Левченко А.А., главного конструктора Давискибы Н.А. составили настоящий Акт о том, что результаты научных исследований, полученные Кравчуком Д.А. в диссертационной работе, использованы для создания опытного образца прибора экспресс-анализа крови оптоакустическим методом.

Председатель комиссии: _____ Попов С.В.

Члены комиссии: _____ Левченко А.А.

_____ Давискиба Н.А.





Tiara Medical
медицинское оборудование

196650, Россия, Санкт-Петербург
ул. Финляндская, д. 16, лит. А
Тел. (812) 748-26-76, 8 (800) 500-26-76
E-mail: info@tiaramed.ru
Сайт: www.tiaramed.ru

Исх. № «ТМ-022» от «21.02.2019»

УТВЕРЖДАЮ
Ведущий инженер
Алексеев И.В.



2019г.

АКТ
о внедрении результатов докторской диссертационной работы
Кравчук Дениса Александровича

Комиссия в составе: председателя Алексеева И.В., ведущего инженера, и члена комиссии Степанова И.С., медицинского техника, составила настоящий акт в том, что модели агрегации эритроцитов, разработанные Кравчук Д.А. в диссертационной работе, использованы при разработке демонстрационного материала для клинико-лабораторного оборудования. В разработку включены:

- метод моделирования агрегированных эритроцитов, с помощью гексагональной упаковки эритроцитов в кластеры;
- метод выявления внутриэритроцитарного развития малярийного паразита на основе оптоакустического эффекта;
- модель клеток с эндоцитозными наночастицами;
- результаты моделирования биожидкостей с помощью полистирольных микросфер и оценка влияния введения углеродных наночастиц на оптоакустический сигнал.

Данные результаты помогут улучшить наглядность и качество демонстрируемого материала.

Член комиссии

Степанов И.С., медицинский техник



МОНИТОР
ИННОВАЦИИ И ИМПОРТОЗАМЕНА В МЕДИЦИНЕ С.1992

344068, Россия, г. Ростов-на-Дону,
ул. Краснокурская, 104А.
Телефоны: +7 (863) 231-04-01 +7 (863) 243-61-11
Факс: +7 (863) 243-63-77
E-mail: mon@monitor-ltd.ru

АКТ

о внедрении результатов докторской диссертационной работы Кравчук Дениса Александровича

Настоящий акт составлен о том, что модель агрегации эритроцитов, разработанная Кравчук Д.А. в диссертационной работе, использована в разработке неинвазивного диагностического оборудования. В разработку включены:

- Метод моделирования агрегированных эритроцитов, с помощью гексагональной упаковки эритроцитов в кластеры;
- Метод выявления внутриэритроцитарного развития малярийного паразита на основе оптоакустического эффекта;
- Модель клеток с эндоцитазами наночастицами;
- Результаты моделирования биожидкостей с помощью полистирольных микросфер и оценка влияния введения углеродных наночастиц на оптоакустический сигнал.

Использованные результаты помогают улучшить качество разрабатываемой медицинской техники.

15.01.2020 г.



 /Попов Ю.Б./
Директор ООО "НПП "Монитор"
к.т.н., с.н.с., лауреат премии Совета Министров СССР

УТВЕРЖДАЮ



Генеральный директор
ОАО «ОКБ «РИТМ»
Старовойтов Ю.Ю.

«18» 02 2020 г.

А К Т

о внедрении результатов докторской диссертационной работы
КРАВЧУКА ДЕНИСА АЛЕКСАНДРОВИЧА
на тему «**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИНЦИПОВ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ
ЭРИТРОЦИТОВ НА ОСНОВЕ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА И
РАЗРАБОТКА БИОТЕХНИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА**»

Комиссия в составе: председатель Старовойтов Ю.Ю., члены комиссии: Слива А.С., Кононов А.Ф. составили настоящий акт о том, что теоретические и экспериментальные результаты научных исследований, полученные Кравчук Д.А. в диссертационной работе, использованы при разработке системы диагностики состояния человека. В разработку включены:

- метод моделирования агрегированных эритроцитов, с помощью гексагональной упаковки эритроцитов в кластеры;
- метод выявления внутриэритроцитарного развития малярийного паразита на основе оптоакустического эффекта;
- результаты моделирования биожидкостей с помощью полистирольных микросфер и оценка влияния введения углеродных наночастиц на оптоакустический сигнал.

Использование указанных результатов позволяет применять оптоакустический эффект как неинвазивное средство диагностики состояния эритроцитов и создать систему анализа состояния человека для мобильной медицины.

Председатель комиссии
Генеральный директор

Ю.Ю. Старовойтов

Члены комиссии:

Заместитель генерального директора

А.С. Слива

Ведущий инженер, к.т.н.

А.Ф. Кононов

« 20 » 01 202 г. Зуйкова А.А.
(МП)

Будневский А.В.
20 01 2021 г.
(МП)

внедрения результатов научно-исследовательской работы «Исследование принципов диагностики состояния эритроцитов на основе оптоакустического эффекта и разработка биотехнической системы экспресс-анализа» представленной на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 05.11.17 – приборы, системы и изделия медицинского назначения;

автор Кравчук Д.А., федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Комиссия в составе: председателя заведующего кафедрой стоматологии ИДПО Шумиловича Б.Р. и членов комиссии профессора кафедры стоматологии ИДПО Ельковой Н.Л. и ассистента кафедры стоматологии ИДПО Сериковой О.В. удостоверяет, что результаты научного исследования используются в образовательном процессе кафедры стоматологии ИДПО.

Получен от внедрения эффект – повышение клинической и эргономической эффективности лабораторной диагностики заболеваний СОПР. На лекционных и практических занятиях приводится методика установления уровня оксигенации и дезоксигенации эритроцитов оптоакустическим методом; методика исследования оптоакустического сигнала для обнаружения внутриэритроцитарных инфекций на ранних стадиях. Демонстрируется алгоритм восстановления изображения при оптоакустическом преобразовании сигнала.

Количество специалистов, освоивших результаты научно-исследовательской работы: 6 – Серикова О.В., Щербаченко О.И., Прудникова М.М., Кудрявцев О.А., Киков Р.Н., Шумилов Б.Р.

 Шумилович Б.Р.

ЕЛЬКОВА Н.Л.

 Серикова О.В.

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «Т СЕРВИС»

394026, г. Воронеж, Московский проспект, д. 11В
ОГРН 1133668044850 ИНН 3662194378 КПП 366201001

УТВЕРЖДАЮ
Директор
Чирский Иван Федорович

«21» января 2021г.

АКТ

о внедрении результатов докторской диссертационной работы
Кравчук Дениса Александровича
на тему «Исследование принципов диагностики состояния эритроцитов на основе
оптоакустического эффекта и разработка биотехнической системы экспресс-анализа»

Комиссия в составе: председатель директор Чирский И. Ф., члены комиссии: главный инженер Чибирев С. А. составили настоящий акт о том, что результаты, полученные в диссертации Кравчук Д.А. на соискании ученой степени доктора технических наук по специальности 05.11.17 – приборы, системы и изделия медицинского назначения использованы для разработки демонстрационной клинико-лабораторной системы, а именно:

- архитектура нейронной сети для получения изображения при оптоакустическом преобразовании сигнала;
- разработка алгоритма восстановления изображения состава крови при оптоакустическом преобразовании сигнала на основе нейронных сетей;
- метод реконструкции оптоакустического изображения.

Указанные результаты позволяют построить демонстрационную клинико-лабораторную систему для проведения анализа здоровья пациента.

С уважением, Директор ООО «Т СЕРВИС»



Чирский И.Ф.

ЛИЦЕНЗИЯ № 36.ВЦ.01.002.Л.000193.02.14 ОТ 07.02.2014
ВЫДАНА ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБОЙ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ЛИЦЕНЗИЯ № ФС-99-04-001330 ОТ 06-05-2014
ВЫДАНА ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБОЙ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«Эксперт Плюс»**

Юридический адрес: 394055, Воронежская область, г. Воронеж, ул. Космонавтов, д. 60, офис 65
Фактический адрес: 397160, Воронежская область, г. Борисоглебск, ул. Победы, д. 66
ОГРН 1133668035380; ИНН 3604020816 КПП 360401001

УТВЕРЖДАЮ

Директор

Харин Александр Викторович

«20» января 2021г.

АКТ

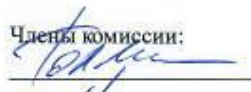
о внедрении результатов докторской диссертационной работы
Кравчук Дениса Александровича
по специальности 05.11.17 – приборы, системы и изделия медицинского назначения

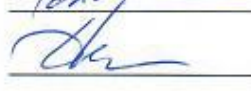
Комиссия в составе: председателя директора Харина А. В. и членов комиссии – инженера Томачева К. В., старшей медсестры Кыран Д. А. составила настоящий акт в том, что результаты научных исследований, полученные Кравчук Д.А. в диссертационной работе использованы для разработки системы диагностики крови человека, а именно:

- алгоритм моделирования генерации компактных кластеров, при измерении уровня агрегации эритроцитов.
- алгоритм моделирования реализации 2D тканей, состоящей из оксигенированных эритроцитов и дезоксигенированных эритроцитов, для определения уровня оксигенации.

Председатель комиссии  Харин А. В.

Члены комиссии:

 Толмачев К. В.

 Кыран Д. А.



ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «МРТ ДИАГНОСТИКА»

Юридический адрес: 394055, Воронежская область, г. Воронеж, ул. Космонавтов, д. 60, офис 72
ОГРН 1143668035697; ИНН 3665101653 КПП 366501001
Фактический адрес: 141981, г. Дубна, ул. Промышленная, д. 4а

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
Шишков Борис Викторович
«21» январь 2021г.

АКТ о внедрении результатов докторской диссертационной работы Кравчук Дениса Александровича

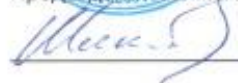
Комиссия в составе: председателя Шишкова Б. В., члены комиссии: инженера Мишина С. В., заместителя директора Гасилиной А. В. составили настоящий акт о том, что теоретические и экспериментальные результаты полученные в докторской диссертации Кравчук Д.А. использованы при построении системы для исследования состава крови оптоакустическим методом. В систему включены следующие результаты:

- алгоритм построения системы экспресс диагностики эритроцитов на основе оптоакустического эффекта.
- разработка алгоритма восстановления изображения состава крови при оптоакустическом преобразовании сигнала на основе нейронных сетей.

Члены комиссии:

 Мишин С. В.
Гасилина А. В.

Председатель комиссии

 Шишков Б. В.

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«ООО "МЕДИЦИНСКАЯ ДИАГНОСТИКА"»**

Юридический адрес: 394030, Воронежская обл, Воронеж г, Желябова ул, дом № 46, офис 1

Фактический адрес: 424032, г. Йошкар-Ола, ул. Карла Либкнехта, д. 106в

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
Стурикова Лариса Васильевна
«25» января 2021г.

АКТ

о внедрении результатов докторской диссертационной работы
Кравчук Дениса Александровича
на тему «Исследование принципов диагностики состояния эритроцитов на основе
оптоакустического эффекта и разработка биотехнической системы экспресс-анализа»

Комиссия в составе: председателя директора Стуриковой А. В, члены комиссии: инженера Ростовцева В. А., составили настоящий акт о том, что результаты, полученные в диссертации Кравчук Д.А. на соискании ученой степени доктора технических наук по специальности 05.11.17 – приборы, системы и изделия медицинского назначения использованы для разработки демонстрационной клинику-лабораторной системы, а именно:

- архитектура нейронной сети для получения изображения при оптоакустическом преобразовании сигнала
- метод реконструкции оптоакустического изображения.

Указанные результаты позволяют построить демонстрационную клинику-лабораторную систему для проведения анализа здоровья пациента.

Члены комиссии:

 Ростовцев В. А.

Председатель комиссии

 Стурикова Л. В.



Приложение Б

```
clear all;close all;
plotCircle = @(xc, yc, R) plot(xc + R * cos(0:0.02:2*pi), yc + R
* sin(0:0.02:2*pi),'r');
R=2.75;% радиус в мкм
R1=22.0 % радиус кластера в мкм

sq=100; % сторона квадрата в мкм
z=1;
H=0.40;% Гематокрит
N=round(H*sq^2/(pi*R^2))% количество эритроцитов

N2=3; %количество кластеров
Nmaxp=1e6; % максимальное число попыток

%% Отбор кластеров
Nmaxp1=Nmaxp;
dy=sqrt(3)*R;
Ni=1;
D2=(2.4*R1)^2;
while Ni<=N2 && Nmaxp>0
    xi0=(sq)*rand(1);
    yi0=(sq)*rand(1);
    xi=xi0-mod(xi0,1*R);
    yi=yi0-mod(yi0,dy)-dy/2;
    if
        ((mod(ceil(yi/dy),2)>0.5)&&(mod(ceil(xi/R),2)>0.5)) || ((mod(ceil(
yi/dy),2)<0.5)&&(mod(ceil(xi/R),2)<0.5))
        xi=xi-R;
    end
    if Ni==1
        x1(Ni)=xi;
        y1(Ni)=yi;
        Ni=Ni+1;
    else
        L2=((x1-xi).^2+(y1-yi).^2);
        L2min=min(L2);
        if L2min>=D2
            x1(Ni)=xi;
            y1(Ni)=yi;
            Ni=Ni+1;
        end
    end
end
Nmaxp=Nmaxp-1;
```

```

end

%% Создание сетки
nx=ceil(sq/(2*R));
ny=ceil(sq/(sqrt(3)*R));
Cx=[0:nx-1]*2*R;
Cy=ones(1,nx)*sqrt(3)*R/2;
for j=2:ny
    if mod(j,2)==0
        Cx(j,:)=Cx(1,:)+R;
    else Cx(j,:)=Cx(1,:);
    end
end
for j=2:ny
    Cy(j,:)=Cy(j-1,:)+sqrt(3)*R;
end

Cx=Cx(:);
Cy=Cy(:);

%% Отбор попавших в кластеры
for j=1: numel(x1)
    Ni=1;
    k=1;
    while Ni<=numel(Cx) && Nmaxp>0
        xn=Cx(Ni);
        yn=Cy(Ni);
        L1(Ni)=(xn-x1(j)).^2+(yn-y1(j)).^2);
        if L1(Ni)<=R1^2+0.001
            x(k,j)=xn;
            y(k,j)=yn;
            k=k+1;
        end
        Ni=Ni+1;
        Nmaxp=Nmaxp-1;
    end
end
% Количество агрегированных эритроцитов
Kolvo=sum(y>0);
Kol_agr=sum(Kolvo)
Kol_no_agr=N-Kol_agr
if Kol_no_agr<0
    disp('Уменьшите количество кластеров')
    break
end
%% Отбор не попавших в кластеры

```

```

D1=2*R;
k=1;
Nj=1;
while Nj<=Kol_no_agr && Nmaxp1>0
    xi0=(sq)*rand(1);
    yi0=(sq)*rand(1);
    L3=sqrt((xi0-x1).^2+(yi0-y1).^2);
    if min(L3)>(R1+2*R)
        x_sep=xi0;
        y_sep=yi0;
        if Nj==1
            x2(Nj)=xi0;
            y2(Nj)=yi0;
            Nj=Nj+1;
        else
            L4=sqrt((x_sep-x2).^2+(y_sep-y2).^2);
            L4min=min(L4);
            if L4min>=D1
                x2(Nj)=x_sep;
                y2(Nj)=y_sep;
                Nj=Nj+1;
            end
        end
    end
    Nmaxp1=Nmaxp1-1;
end
%% Графики
figure('Position',[250 250 600 600],'Resize','off');
for j=1:numel(x)
    if not(x(j)==0 && y(j)==0)
        plotCircle(x(j), y(j), R);hold on;
        fill(x(j)+R*cos(0:0.02:2*pi),y(j)+R*sin(0:0.02:2*pi),'r'); %
        заливка кругов
    end
end
% Неагрегированные
for j=1:numel(x2)
    plotCircle(x2(j), y2(j), R);
    fill(x2(j)+R*cos(0:0.02:2*pi),y2(j)+R*sin(0:0.02:2*pi),'r'); %
    заливка кругов
end

for j=1:numel(x1)
    h=plotCircle(x1(j), y1(j), R1);
    set(h,'LineWidth',2,'Color','b');
    %h=plotCircle(x1(j), y1(j), sqrt(D2)/2);

```

```

%set(h,'Color','k','LineStyle','--');
end
hold off;
axis([0,sq,0,sq], 'square');grid on;
xlabel('x, мкм','FontSize',14);
ylabel('y, мкм','FontSize',14);
set(gca,'FontSize',14);
title(['Кол-во кластеров N = ' num2str(N2) ],'FontSize',14); %
Надпись на графике
%% Формирование вектора расстояний
rn_no_agr=sqrt(x2.^2+y2.^2);
rr_agr=sqrt(x.^2+y.^2);
rn_agr=rot90(rr_agr(rr_agr>0));
rn=cat(2,rn_agr,rn_no_agr);

```

Приложение В

```

plotCircle = @(xc, yc, R) plot(xc + R * cos(0:0.02:2*pi), yc + R
* sin(0:0.02:2*pi), 'b');
R=2.75;%радиус в мкм
sq=100; % сторона квадрата в мкм
H=[0.1 0.35 0.4 0.45];% Гематокрит
N=round(H*sq^2/(pi*R^2));% количество эритроцитов
Nmaxp=1e6; % максимальное число попыток
for k=1:length(H)
    Ni=1;
    D2=(2*R)^2;
    while Ni<=N(k) && Nmaxp>0
        xi=sq*rand(1);
        yi=sq*rand(1);
        if Ni==1
            x(Ni)=xi;
            y(Ni)=yi;
            Ni=Ni+1;
        else
            L2=((x-xi).^2+(y-yi).^2);
            L2min=min(L2);
            if L2min>=D2
                x(Ni)=xi;
                y(Ni)=yi;
                Ni=Ni+1;
            end
        end
        Nmaxp=Nmaxp-1;
    end
end
rn=sqrt(x.^2+y.^2);

```

```

figure ('Position', [250 250 600
600], 'Resize', 'off', 'Name', ['Срез ткани при H = ' num2str(H(k))
]);
for j=1:length(x)
plotCircle(x(j), y(j), R);hold on;
fill(x(j)+R*cos(0:0.02:2*pi),y(j)+R*sin(0:0.02:2*pi),'r'); %
заливка кругов
end
hold off;
axis([0,sq,0,sq], 'square');grid on;
xlabel('x, мкм','FontSize',14);
ylabel('y, мкм','FontSize',14);
set(gca,'FontSize',14);
title(['Гематокрит H = ' num2str(H(k)) ' (количество эритроцитов
N = ' num2str(N(k)) ')],'FontSize',14);% Название на графике

```