ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ НА
ЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АРМЕНИИ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF ARMENIA
ДОКЛАДЫ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ REPORTS

Հատոր
Том 120 2020 № 1
Volume

ОПТИКА
БИОФИЗИКА

УДК 577.34 + 53.08, 535.4

Г. П. Саркисян

Теоретическое описание дифракции лазерного излучения на монослое эритроцитов

(Представлено академиком В. М. Арутюняном 10/II 2020)

Ключевые слова: *лазерное излучение, дифракционная картина, популяция эритроцитов, поперечный размер эритроцита.*

В последние десятилетия была показана эффективность применения лазеров (когерентных источников электромагнитного излучения видимого диапазона) в решении ряда научно-практических вопросов биологии и медицины [1-4]. В настоящей работе приведено математическое описание дифракции монохроматического излучения гелий-неонового лазера (длина волны 0.628 мкм) на монослое цельной крови в идеализированном случае. Поскольку в нормальных условиях эритроциты доминируют во всей массе форменных элементов цельной крови, а также имеет место существенное различие геометрических размеров форменных элементов крови, оправданно предположение, что основной вклад в дифракционную картину в зоне Фраунгофера вносит популяция эритроцитов.

Допустим, что клетки на мазке образуют систему дисков одинаковой толщины, и все диски имеют одинаковый диаметр. Будем рассматривать двумерную дифракцию монохроматического лазерного излучения на краях эритроцитов.

Для решения этой задачи была использована скалярная теория дифракции Фраунгофера [5-8]. В основе разработанного подхода лежит математический аппарат на основе интегральной теоремы Кирхгофа, обобщающей принцип Гюйгенса – Френеля. Согласно этому принципу дифракционная картина образуется в результате интерференции когерентных волн, идущих от вторичных источников. Метод Кирхгофа применим для случая, когда размер диска намного больше длины волны падающего излучения, а также отсутствуют многократные отражения.

В реальных популяциях эритроцитов поперечные размеры клеток в 5-7 раз превышают их толщину. Наличие такого различия между поперечными размерами и толщиной клеток позволяет ограничиваться двумерной задачей. Допустимость такого ограничения подтверждается имеющимися экспериментальными данными.

Введем некоторые линейные параметры, характеризующие препарат:

1. L – среднее расстояние между центрами любой пары эритроцитов с диаметром $d \sim 10$ мкм. Оно зависит от условий приготовления мазка. Предполагая отсутствие наложения (перекрывания) эритроцитов (т. е. $L > d$), обеспечивается выполнение условия $L \gg \lambda$ (где λ – длина волны падающего излучения). Это позволяет рассматривать дифракцию на каждой клетке отдельно.

2. R – размер участка изучаемого объекта. В рассматриваемой задаче он определяется сечением пучка лазерного излучения. Например, для несфокусированного пучка гелий-неонового лазера ЛГ-52-2 $R = 1$ мм. Простым вычислением можно показать, что при условии $d < L < 2d$ лазерным излучением одновременно охватывается порядка 10^4 клеток. Этим подтверждается возможность получения информации о форменных показателях большого статистического массива методом лазерной дифрактометрии.

В оптике известно, что в зоне дифракции Фраунгофера при выполнении условия

$$z \gg \frac{2\pi L^2}{\lambda}, \tag{1}$$

где z – расстояние между дифракционным экраном и плоскостью наблюдения, можно работать без собирающей линзы.

Вычисления упрощаются в случае, когда обеспечивается однородность и изотропность поля препарата. Будем рассматривать мазок как случайное точечное поле, подчиняющееся закону Пуассона, где каждая точка является центром одного эритроцита. Плотность вероятности попадания n клеток на участок площадью s определяется по формуле (см., например, [9])

$$w(n) = (ms)^n e^{-ms}/n), \tag{2}$$

где m – среднее число клеток на единицу площади.

Следуя принципу построения в дифракционной теории Френеля, рассмотрим дифракцию на двух клетках. Так как клетки распределены согласно закону Пуассона, то для рассмотрения можно брать любые две точки (клетки).

Пусть центр первой клетки находится в начале системы координат, а центр второй клетки случайным образом расположен в изучаемом участке. Введем амплитуду поля $A(\vec{r_i})$, достигающего экрана после дифракции на - ой клетке с радиус-вектором $\vec{r_i}$. Тогда для первой клетки получим согласно [5-8]

$$A(O) = A_0[\frac{2J_1(kwa)}{kwa}] . \tag{3}$$

где $k = 2\pi/\lambda$ – волновой вектор, $w = \sin\alpha$ ($\alpha -$ угол между направлением $(p,\ q)$ и центральным направлением $p = q = 0$), $a = d/2$, J_1 – функция Бесселя I рода I порядка.

Для второй клетки в полярной системе координат амплитуда поля определяется выражением

$$A(\vec{r_i}) = A(0)\exp(-iwr\cos\theta), \tag{4}$$

где $\vec{r_i}$ – радиус-вектор центра второй клетки.

Формула (4) показывает, что клетки образуют пуассоновский фазовый экран.

Согласно [5, 6] при интерференционном взаимодействии двух случайных полей средняя интенсивность интерференционной картины в точке $(p,\ q)$ равна

$$I(p,q) = \langle|A(p,q)|^2\rangle = I_1 + I_2 + 2|G|^2 ReB(\vec{r_i}) \tag{5}$$

где $I_1,\ I_2$ – интенсивность для каждой из клеток в отдельности, G – функция, равная в рассматриваемом случае единице в пределах клетки и нулю – за ее пределами, $B(\vec{r_i})$ – функция автокорреляции поля $A(\vec{r_i})$. Задача сводится к вычислению $B(\vec{r_i})$. Ввиду однородности и изотропности поля препарата $B(\vec{r_i})$ зависит только от величины $|\vec{r}|$.

Согласно [7, 8] функция автокорреляции $B(|\vec{r}|)$ записывается в виде

$$B(r) = \int_d^r \int_0^{2\pi} A(0)A(\rho)\, \rho d\rho d\theta, \tag{6}$$

где $(\rho,\ \theta)$ – полярные координаты.

После подстановки $A(0)$ и (ρ) из формул (3) и (4) в (6) получаем для функции автокорреляции поля $A(\vec{r_i})$

$$B(r) = I_1 \int_d^r \int_0^{2\pi} \exp[-ikw\rho\cos\theta]\rho d\rho d\theta \tag{7}$$

С помощью интегрального представления функций Бесселя I рода целого порядка [11]

$$J_n(z) = \frac{i^{-n}}{\pi}\int_0^{2\pi} e^{-iz\cos\theta\sin\theta} d\theta \tag{8}$$

и известного рекуррентного соотношения для $J_n(z)$

$$\frac{d}{dz}\{z^{n+1}J_{n+1}(z)\} = z^{n+1}J_n(z) \tag{9}$$

выражение $A(\vec{r_i})$ приводится к известной формуле, устанавливающей зависимость амплитуды поля в точке $(p,\ q)$ экрана наблюдения от размера объекта, его формы и характеристик падающего излучения:

$$A(p,q) = C'S\left[\frac{2J_1(kwa)}{kwa}\right], \tag{10}$$

где J_1 – функция Бесселя I рода I порядка.

Коэффициент

$$Q(w) = 2J_1(kwa)/(kwa) \qquad (11)$$

отражает характер изменения амплитуды поля в плоскости наблюдения. Распределение интенсивности в дифракционной картине на экране наблюдения определяется следующим выражением:

$$I(p,q) = [A(p,q)]^2 = I_o[2J_1(kwa)/(kwa)]^2, \qquad (12)$$

где I_o – интенсивность в нулевом направлении.

Нормированная функция распределения интенсивности в картине дифракции будет иметь такой вид:

$$K(w) = [2J_1(kwa)/(kwa)]^2. \qquad (13)$$

Функция $K(w)$ отражает зависимость между размером объекта и углом дифракции. Действительно, после замены переменной $kwa = \pi\mu$, где $\mu -$ параметр функции Бесселя, с учетом выражений $w = \sin\alpha$, $k = 2\pi/\lambda$, $a = d/2$, получаем

$$d\sin\alpha = \mu\lambda, \qquad (14)$$

Выражение (14) является основной формулой галометрии – способа оценки размеров объектов методом дифракции световой волны на краях этих объектов. Действительно, из (14) видно, что при $\mu = \text{const}$ и определенном значении длины волны между диаметром круглого объекта (например, эритроцита) и синусом угла дифракции обеспечивается взаимно однозначное соответствие.

Простейший способ решения обратной задачи дифракции – измерение угла дифракции в точке экстремума (например, первого максимума) на экране наблюдения, использование табличного значения μ для этой точки, подстановка этих величин в формулу (14) и вычисление размера

$$d = \frac{\mu_{\text{экстр}}\lambda}{\sin\alpha_{\text{экстр}}} = \frac{\text{const}}{\sin\alpha_{\text{экстр}}}, \qquad (15)$$

где $\mu_{\text{экстр}}$ – значение параметра в точке экстремума, $\alpha_{\text{экстр}}$ – соответствующий угол дифракции, const – постоянная величина при определенном значении длины волны (например, для гелий-неонового лазера $\lambda = 0.63$ мкм).

Выражение для $B(r)$ запишется в виде

$$B(r) = 2\pi I_1 \frac{J_1(kw(r-d))(r-d)}{kw}, \qquad (16)$$

где $I_1 -$ интенсивность для отдельной клетки. Предполагается, что $r - d > 0$.

Для пуассоновского фазового экрана средняя интенсивность дифракционной картины в некоторой точке на экране наблюдения определяется по формуле

$$I(w) = \frac{1}{\pi L^2}\int_d^R \int_0^{2\pi} \{\mathrm{I}_1 + \mathrm{I}_2 + 2|\mathrm{G}|^2 ReB(r\} rdrd\varphi. \qquad (17)$$

Здесь проведена нормировка по площади, охватывающая любую пару клеток.

С учетом выражения (16), а также (8) и (9), формула (17) записывается в виде

$$I(w) = 2\frac{(R-d)^2}{L^2} I_1 \left\{1 + \int_0^{R-d} (r-d)^2 J_1\big(kw(r-d)\big) * J_o\big(kw(r-d)\big) \mathrm{d}(kw(r-d))\right\}. \quad (18)$$

Используя интегральное соотношение для функций Бесселя целого порядка (см., например, [10])

$$\int_0^z t^2 J_1(t) J_0(t) \mathrm{d}t = \frac{z^3}{4}\{J_1(z)J_0(z) + J_2(z)J_1(z)\}, \quad (19)$$

и принимая во внимание рекуррентную формулу (9), выражение (18) записываем в виде

$$I(w) = 2\frac{(R-d)^2}{L^2} I_1 \left\{1 + \left[\frac{2J_1(kw(R-d))}{kw(R-d)}\right]^2\right\}. \quad (20)$$

При определенном значении $w \geq w_{1min}$, где w_{1min} – координата точки первого минимума в картине дифракции, второе слагаемое в больших скобках правой части выражения (20) всегда много меньше единицы. Величина $2\frac{(R-d)^2}{L^2}$ пропорциональна числу клеток внутри сечения пучка лазерного излучения. Таким образом, в первом приближении можно принимать, что интенсивность дифракционной картины от одинаковых клеток в направлении $w = sin\alpha$ на экране наблюдения складывается из интенсивностей всех клеток вместе:

$$I(w) = NI_1(w) \quad (21)$$

где N– число клеток, участвующих в образовании дифракционной картины, I_1– интенсивность для отдельной клетки в точке w экрана наблюдения.

Полученный результат показывает, что из дифрактограммы (кривая распределения интенсивности дифракционной картины в плоскости наблюдения) от множества одинаковых клеток можно установить диаметр популяции эритроцитов аналогично случаю одной клетки.

В реальных популяциях эритроцитов имеется дисперсия по размерам (анизоцитоз), который естественно приведет к изменению дифракционной кривой по сравнению со случаем одинаковых клеток. Характер изменения дифрактограммы будет зависеть от степени анизоцитоза. Параметры степени анизоцитоза возможно установить путем решения обратной задачи дифракции [12,13].

Институт химической физики им. А. Налбандяна НАН РА
e-mail: hrachya_sargsyan@mail.ru

Г. П. Саркисян

Теоретическое описание дифракции лазерного излучения на монослое эритроцитов

Приведено теоретическое описание дифракции Фраунгофера монохроматического лазерного излучения на монослое эритроцитов, рассматриваемых в качестве дисков. С помощью развитого Кирхгофом математического аппарата для скалярной теории дифракции получено соотношение, которое позволяет экспериментально определить диаметр эритроцита моноразмерной популяции. На основе полученных результатов может быть разработан метод лазерной дифрактометрии реальной популяции эритроцитов, где имеет место дисперсия по размерам.

Հ. Պ. Սարգսյան

Էրիթրոցիտների միաշերտի վրա լազերային ճառագայթման դիֆրակցիայի տեսական նկարագրությունը

Բերվում է որպես սկավառակներ դիտարկվող էրիթրոցիտների միաշերտի վրա մեներանգ լազերային ճառագայթման Ֆրաունհոֆերի դիֆրակցիայի տեսական նկարագրությունը: Կիրառելով Կիրխհոֆի կողմից դիֆրակցիայի սկալյար տեսության համար զարգացված մաթեմատիկական ապարատը, ստացվել է առնչություն, որը հնարավորություն է տալիս փորձարարապես որոշելու միաչափ էրիթրոցիտների պոպուլյացիայի տրամագծի մեծությունը: Ստացված արդյունքների հիման վրա կարող է մշակվել լազերային դիֆրակտոմետրիայի եղանակ՝ կիրառելի էրիթրոցիտների իրական պոպուլյացիայի համար, որտեղ առկա է չափային դիսպերսիան:

H. P. Sargsyan

Theoretical Description of Laser Radiation Diffraction from a Monolayer of Red Blood Cells

The work is devoted to the theoretical description of the Fraunhofer diffraction of monochromatic laser radiation on a monolayer of red blood cells, considered as disks. Using the mathematical apparatus developed by Kirchhoff for the scalar theory of diffraction, a relation is obtained that allows one to experimentally determine the diameter of a red blood cell of a mono-sized population. Based on the results obtained, a laser diffractometry method can be developed for real erythrocyte populations, with size dispersion.

Литература

1. *Nikitin S. Yu., Ustinov V. D., Yurchuk Yu. S. et al.* – JQSRT. 2016. V. 178. P. 315–324.
2. *Никитин С. Ю., Юрчук Ю. С., Устинов В. Д.* В кн.: Физиология кровообращения: VI Всероссийская с международным участием школа-конференция. Тезисы докладов. М. МАКС Пресс. 2016. С. 117-118.

3. *Nikitin S. Y., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E. et al.* – J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 2014. V. 146. P. 365-375.
4. *Nikitin S. Yu., Priezzhev A. V., Lugovtsov A. E.* – JQSRT. 2013. V. 121. P. 1–8.
5. *Саркисян Г. П., Дубынин В. Н., Мкоян Ф. А. и др*. Теоретические аспекты дифрактоэритрометрии. Красноярск. 1984. 30 с. (Препринт N 35Б/ИФ СО АН СССР).
6. *Юу Ф.Т.С.* Введение в теорию дифракции обработки информации и голографию. М. Советское радио. 1979. 304 с.
7. *Рытов С.М*. Введение в статистическую радиофизику. Ч. 1. Случайные процессы. М. Наука. 1979. 484 с.
8. *Ахманов С. А., Дьяков Ю. Е., Чиркин А. С. и др.* Введение в статистическую радиофизику и оптику. М. Наука. 1981. 640 с.
9. *Крамер Г*. Математические методы статистики. М. Наука. 1975. 520 с.
10. *Прудников А. П., Бричков Ю. А., Марычев О. И.* Интегралы и ряды. Специальные функции. М. Наука. 1983. 750 с.
11. Справочник по специальным функциям с формулами, правилами и математическими таблицами. *Под ред. М. Абрамовича и И. Стиган.* М. Наука. 1979. 830 с.
12. *Никитин С. Ю., Устинов В. Д., Цыбров Е. Г. и др.* – Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 150–157.
13. *Устинов В. Д.* – Математическое моделирование. 2017. Т. 29. № 3. С. 51-62.