

# МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ОБНАРУЖЕНИЯ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНЫХ ИНФЕКЦИЙ С ПОМОЩЬЮ ОПТОАКУСТИЧЕСКОГО МЕТОДА

Д.А. Кравчук

Южный федеральный университет, Таганрог, Россия

## Резюме

Малярия вызывает серьезную проблему со здоровьем в тропических и субтропических регионах земного шара. Во многих случаях последствия этого заболевания являются фатальными. Поэтому необходима простая, быстрая, точная и доступная диагностическая система раннего выявления этого заболевания для своевременного назначения противомалярийных препаратов.

Малярийный паразит во время его внутриэритроцитарного развития перерабатывает значительное количество гемоглобина, который при этом превращается в форму гема, называемую гемозоином. Гемозоин и гемоглобин имеют разные молярные коэффициенты экстинкции при определенных длинах волн оптического излучения, следовательно, поглощение света и оптоакустический сигнал (ОАС) от зараженной клетки будут отличаться от аналогичных параметров здоровой клетки. В работе описана теоретическая модель, предназначенная для изучения влияния внутриэритроцитарного развития малярийного паразита на оптоакустические сигналы. ОАС были рассчитаны на основе смоделированных на основе 3D-модели образцов здоровой и инфицированной крови.

Моделируемые ОАС анализировались во временной и частотной областях для получения признаков наличия инфекции разных стадий. Рассчитанные спектры ОАС имеют различные уровни амплитуды, что указывает на то, что оптоакустический метод может быть полезен для дифференциации различных внутриэритроцитарных стадий малярийного паразита. Проведенное моделирование и полученные результаты позволяют продолжить работы по созданию оптоакустического проточного цитометра.

**Ключевые слова:** оптоакустический сигнал, агрегация, эритроциты, спектральная плотность мощности, лазер.

**Для цитирования:** Кравчук Д.А. Математическая модель обнаружения внутриэритроцитарных патологий с помощью оптоакустического метода // *Biomedical Photonics*. – 2018 – Т. 7, № 3 – С. 36–42. doi: 10.24931/2413-9432-2018-7- 3-36-42.

**Контакты:** Кравчук Д.А., e-mail: Kravchukda@sfnedu.ru

## MATHEMATICAL MODEL OF DETECTION OF INTRA-ERYTHROCYTE PATHOLOGIES USING OPTOACOUSTIC METHOD

Kravchuk D.A.

Southern Federal University, Taganrog, Russia

## Abstract

Malaria causes a serious health problem in the tropical and subtropical regions of the globe. In many cases, the consequences of this disease are fatal. Therefore, a simple, fast, accurate and affordable diagnostic system for the early detection of this disease is necessary for the timely administration of antimalarial drugs.

The malarial parasite, during its intra-erythrocyte development, processes a significant amount of hemoglobin, which in this case turns into a hem form called hemozoin. Hemozoin and hemoglobin have different molar extinction coefficients at certain optical wavelengths, hence, light absorption and an optoacoustic signal (OAS) from the infected cell will be different from that of a healthy cell. The paper describes the developed theoretical model intended for studying the influence of intra-erythrocyte malarial parasite development on optoacoustic signals. The OAS were calculated based on the models of healthy and infected blood modeled on the basis of a 3D model.

The simulated OAS were analyzed in the temporal and frequency domains to obtain signs of infection at various stages. The calculated OAS spectra have different amplitude levels, which indicates that the optoacoustic method can be useful for differentiating various intra-erythrocyte stages of the malarial parasite. The carried out modeling and the results obtained allow us to continue working on the creation of an optoacoustic flow cytometer.

**Keywords:** optoacoustic signal, aggregation, erythrocytes, spectral power density, laser.

**For citations:** Kravchuk D.A. Mathematical model of detection of intra-erythrocyte pathologies with the help of an optoacoustic method, *Biomedical Photonics*, 2018, T. 7, No. 3. pp. 36–42 (in Russian). doi: 10.24931/2413-9432-2018-7- 3-36-42.

**Contacts:** Kravchuk D.A., e-mail: Kravchukda@sfnedu.ru

## Введение

Известно, что при оптоакустическом эффекте ультразвуковая волна генерируется при поглощении оптической энергии в жидкости. Поглощение ближнего инфракрасного лазерного излучения в крови зависит от концентрации гемоглобина, являющегося наиболее распространенным ее хромофором. При облучении кровеносного сосуда коротким лазерным импульсом генерируется ультразвуковая волна в крови при поглощении и следующим за ним термоупругим расширением; затем волна детектируется ультразвуковым преобразователем. Амплитуда и временный профиль сигнала преобразователя зависят от коэффициента затухания крови и, следовательно, от общей концентрации гемоглобина [1–3]. Помимо проблемы, затрагиваемой в этой статье, данное свойство лежит в основе исследований возможности использования оптоакустических методов для визуализации тканей [4–6].

Многие исследования направлены на изучение структурных и биохимических свойств малярийного пигмента, известного как гемозоин, но, к сожалению, в настоящее время лучшим диагностическим методом обнаружения малярии остается микроскопическое исследование мазков. Малярийный паразит во время его развития в клетке эритроцитов поражает гемоглобин, необходимый для его метаболизма, и вырабатывает гемозоин. D. Balasubramanian с соавт. [7, 8] для обнаружения пигмента малярии использовали оптоакустический эффект. Выводы этого исследования заключаются в следующем – в спектрах оптоакустического сигнала (ОАС) для хлороатомных паразитов обнаруживается изменение при наличии эритроцитарных форм плазмодиев и феррипротопорфирина (гема). Плазмодии получают аминокислоты из гемоглобина эритроцитов, расщепляя его протеазами, в результате чего, помимо аминокислот, высвобождается токсичный для плазмодия феррипротопорфирин, который полимеризуется и утрачивает свою токсичность, превращаясь в нетоксичный гемозоин. Отмечено, что устойчивые к хлорохину паразиты легко определяются этим методом по причине частичного ухудшения показателей гемоглобина.

### Теоретические сведения

Если освещенная область содержит два вида поглощающих сфер с различными коэффициентами оптического поглощения, то генерируемое оптоакустическое поле может быть выражено через линейную суперпозицию волн, излучаемых отдельными ячейками. Исходным уравнением является неоднородное волновое уравнение [9]:

$$\Delta p' - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 p'}{\partial t^2} + \frac{b}{c_0^2 \rho_0} \frac{\partial}{\partial t} \Delta p' = -Q,$$

$$\text{где источники } Q = \rho_0 \beta \frac{\partial^2 T'}{\partial t^2},$$

$\beta$  – коэффициент объемного расширения,  $\rho_0$  – равновесное значение плотности,  $c_0$  – скорость звука в жидкости,

$$b = \zeta + \frac{4}{3} \eta + k \left( \frac{1}{C_v} - \frac{1}{C_{ps}} \right),$$

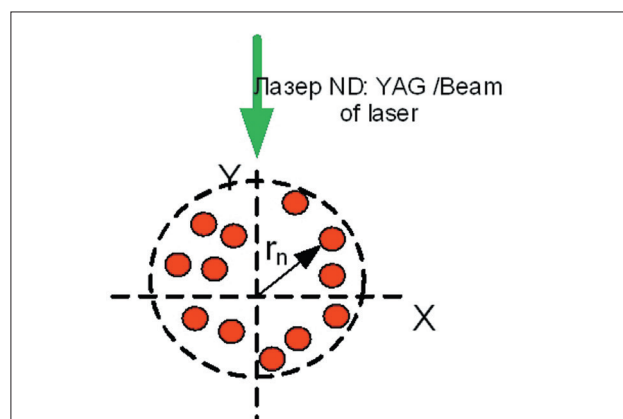
$\eta$  и  $\zeta$  – сдвиговая и объемная вязкости,  $k$  – коэффициент теплопроводности,  $C_{ps}$  и  $C_v$  – удельные теплоемкости при постоянном давлении и объеме соответственно.

Поле ОАС, генерируемое сферическим поглотителем радиуса, получается путем решения волнового уравнения, которое получается при условии теплового ограничения в частотной области с соответствующими граничными условиями [10]:

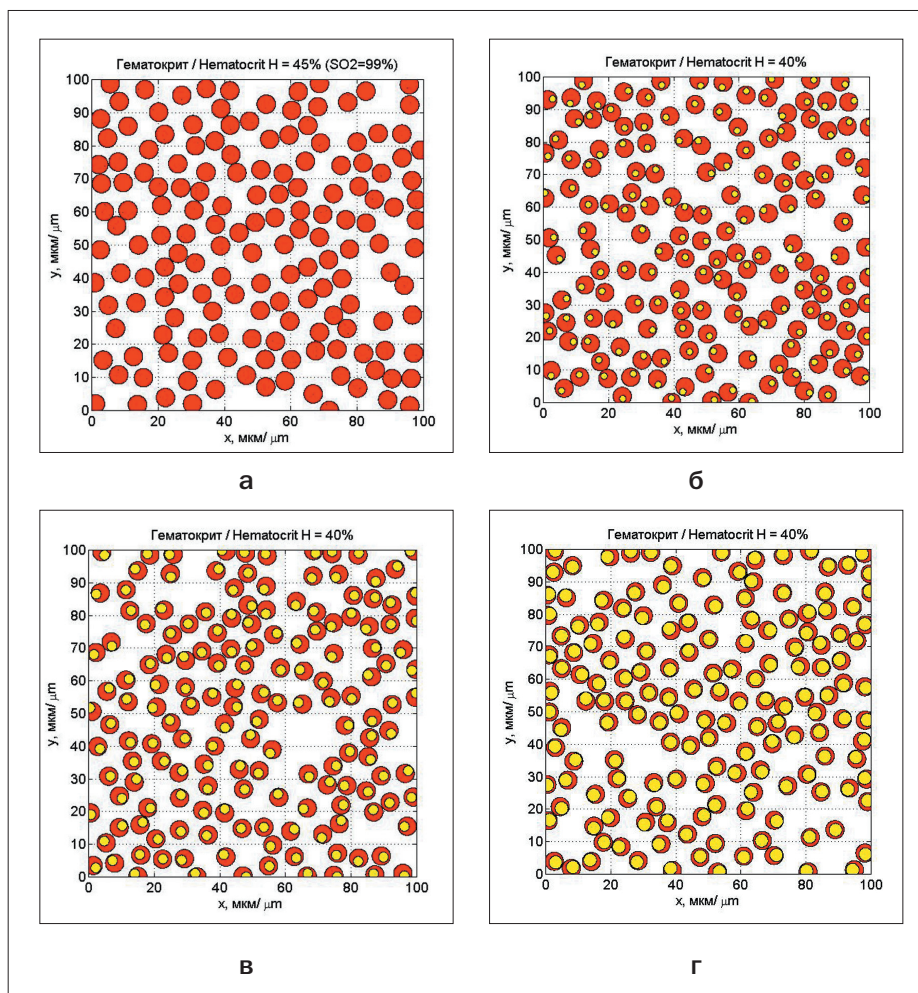
$$p(r_n, f) = \frac{i \mu_s \beta_s I_0 c_s a_s^2}{C_{ps} r_n} \times \frac{j_1(q) e^{jk_f(r_n - a_s)}}{[(1 - \rho)(\sin q / q) - \cos q + i \rho c \sin q]}$$

где  $I_0$  – интенсивность падающего света, распространяющегося вдоль оси  $x$  и модулированного частотой  $\omega$ . Волновые числа акустической волны внутри жидкости и поглощающей среды обозначаются, соответственно,  $k_f = \omega/c_f$  и  $k_s = \omega/c_s$ . Здесь  $c_f$  и  $c_s$  – скорость звука для этих носителей, соответственно. Аналогично,  $\rho_f$  и  $\rho_s$  указывают плотность для таких случаев. Безразмерные величины определяются как  $\rho = \rho_s/\rho_f$ ,  $c = c_s/c_f$  и  $q = k_s a_s$ . Кроме того,  $\beta_s$ ,  $C_{ps}$  и  $\mu_s$  являются изобарическим коэффициентом теплового расширения, изобарической удельной теплоемкостью и коэффициентом поглощения света для среды внутри сферического поглотителя соответственно.  $j_1$  – сферическая функции Бесселя первого порядка.

Если освещенная область содержит более одного поглотителя (рис. 1), результирующая звуковая дав-



**Рис. 1.** Схема геометрии формирования оптоакустического сигнала (где  $r_n$  – радиус-вектор до  $n$  эритроцита)  
**Fig. 1.** The geometry of the optoacoustic signal formation (where  $r_n$  is the radius vector to the  $n$ th erythrocyte)



**Рис. 2.** Случайно помещенные неперекрывающиеся эритроциты, моделирующие реализацию 2D-ткани:

- а – здоровый эритроцит;
- б – кольцо;
- в – трофозоит;
- г – шизонт

**Fig. 2.** Randomly placed non-overlapping erythrocytes modeling the 2D tissue:

- a – healthy erythrocyte;
- b – ring;
- v – trophozoite;
- г – schizont

ления ОАС может быть получена с использованием принципа линейной суперпозиции волн, излучаемых отдельными источниками, как [11]:

$$p_f^s(r_n, k_f) \approx \frac{i\mu_s \beta_s I_0 c_s a_s^2}{C_{ps} r_n} \times \frac{j_1(q) e^{ik_f(r_n - a_s)}}{[(1-\rho)(\sin q / q) - \cos q + i\rho c \sin q]} \times \sum_{n=1}^N e^{-ik_f r_n} \quad (1).$$

## Материалы и методы

Метод математического моделирования заключается в следующем: сначала генерируется трехмерная реализация тканей с условием неперекрывания сфер, представляющих собой моделируемые эритроциты. Моделирование проводится с помощью программной среды MathLab. Размер объема моделирования

был взят за  $100 \times 100 \times 100$  мкм<sup>3</sup>. Этот объем заполняется эритроцитами, аппроксимированными в виде жидкостных сфер с уровнем гематокрита 40% [12–14]. Расчет конфигураций тканей в 3D при такой высокой концентрации клеток является довольно сложным для вычисления, поэтому для эффективного создания реализаций ткани моделируемый объем был разделен на несколько подблоков.

Одним из условий моделирования было неперекрывание сфер. Сферы, близкие к границам, также поддерживали условие отсутствия перекрытия с соседними подблоками. На рис. 2 показаны моделируемые конфигурации тканей, соответствующие нормальным, кольцевым, трофозоитовым и шизотным ста-

диям. Здесь сплошные заполненные круги представляют собой эритроциты, а внутренние окружности обозначают паразитические вакуоли.

Внутренние круги также были случайным образом размещены внутри ячеек. В каждой зараженной клетке существуют два ядра. Молекулы гемоглобина и гемозоина присутствуют во внешнем и внутреннем ядрах, соответственно.

На рис. 2 показаны четыре разных этапа инфицирования. Каждый большой круг представляет собой эритроцит, а внутренние круги указывают на паразитические вакуоли на разных стадиях. 2D-реализация была выбрана для лучшей визуализации конфигураций тканей.

Для вычисления выражения (1) требуются численные значения различных физических параметров для эритроцитов. Оцененные значения механических и тепловых параметров были взяты из литературных источников [15–17]. Количественные значения для физических параметров эритроцита человека  $a_s = 2,7$  мкм,  $c_s = 1639$  м/с,  $c_f = 1498$  м/с, другие параметры для расчета были взяты из работ Y.K. Park, K.K. Shung, M. Toubal и соавт. [15–17]. Оптические коэффициенты поглощения для полностью оксигенированного эритроцита на разных стадиях инфекции взяты из работы A.U. Orjih и C.D. Fitch [18].

Малярийный пигмент (гемозоин) содержится в цитоплазме эритроцитарных стадий плазмодия и представляет собой продукт распада гемоглобина, гемозоин при этом находится в вакуолях. (рис. 2). Оба эти вещества действуют как хромофоры и вносят свой вклад в коэффициент поглощения [18].

Для каждого этапа были смоделированы 200 различных конфигураций трехмерной ткани. Усреднен-

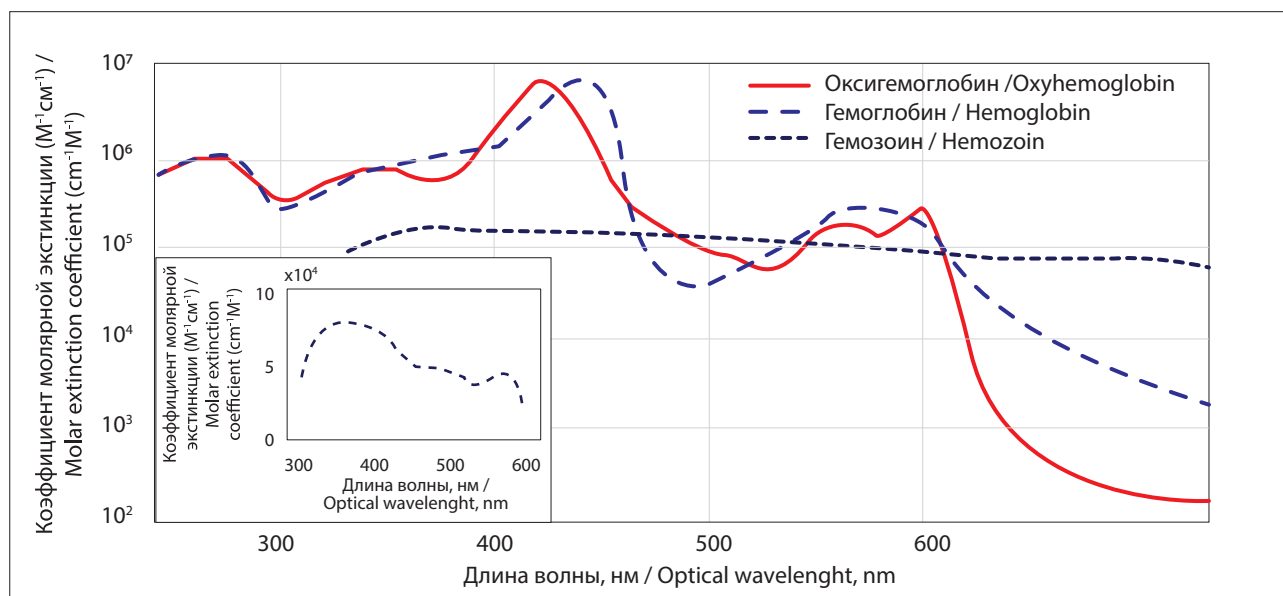
ные результаты моделирования по 200 измерениям представлены на рис. 4а-г.

На рис. 4а показан ОАС для образца со здоровыми клетками при освещении лазерным лучом 532 нм. Аналогично, на рис. 4г показан ОАС из множества инфицированных клеток (в степени шизонта) при падающем свете с одной и той же длиной волны.

Из этих рисунков видно, что уровень сигнала от каждой границы значительно выше, чем у центральной области. Это происходит потому, что ОАС от отдельных источников, близких к каждой границе, встречаются одновременно из-за их близости. Однако для центральной области сигналы из разных источников мешают росту амплитуды, что приводит к большому подавлению сигнала в этой области. Кроме того, уровень сигнала на рис. 4а намного больше, чем уровень сигнала, изображенный на рис. 4г. Ожидается, что коэффициент клеточного поглощения для здоровых клеток выше, чем у инфицированных клеток при данных параметрах оптического излучения [15–17].

## Заключение

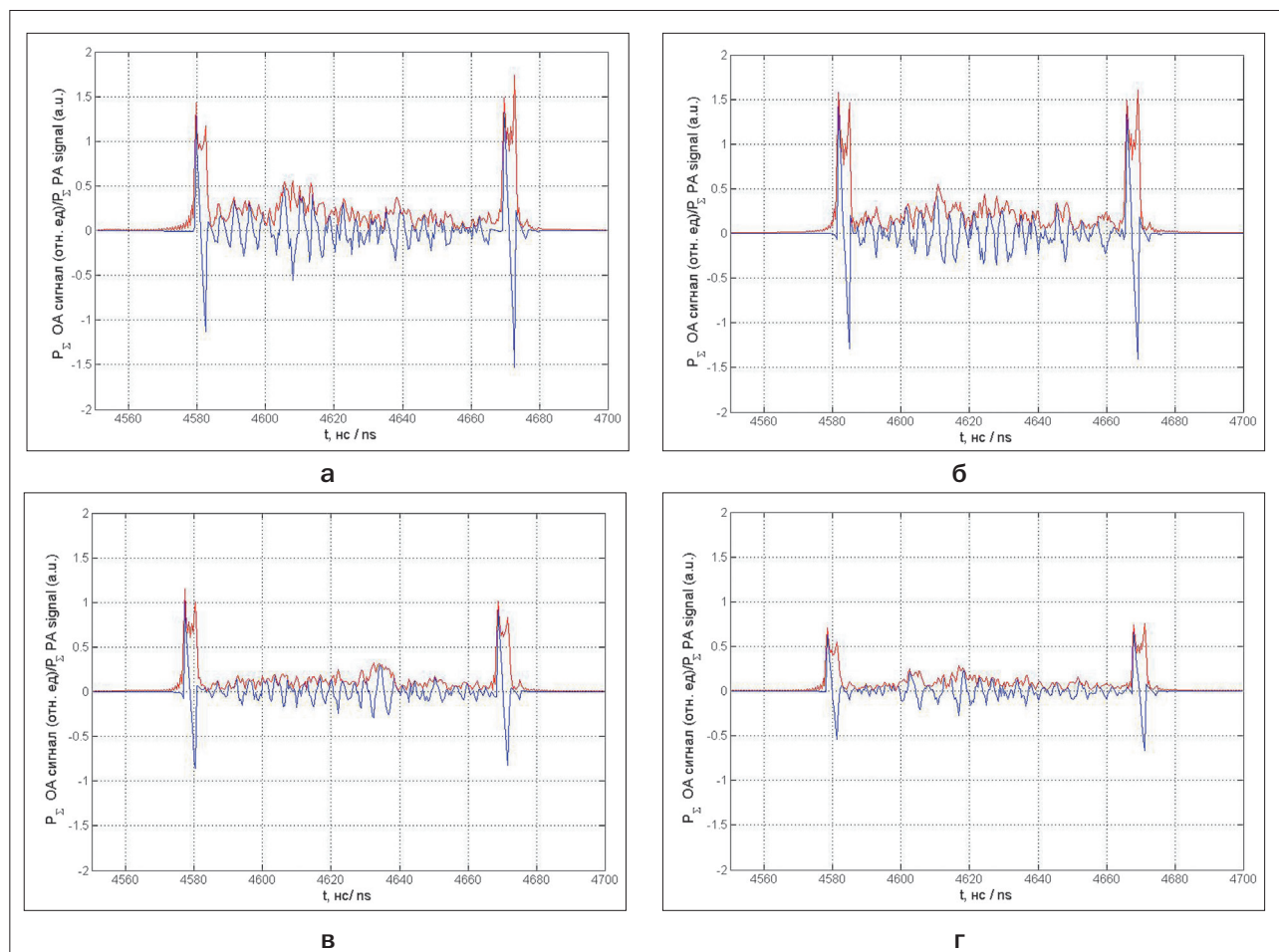
Спектральная плотность мощности сигнала, усредненная по 200 результатам моделирования, показана на рис. 5 и 6 для нормальных и зараженных клеток. Спектральные кривые для здоровых эритроцитов и эритроцитов с кольцевой степенью поражения почти не разделяются. Тем не менее, спектры, полученные при анализе образцов с эритроцитами в других стадиях поражения, отчетливо отделимы. Также отмечается, что интенсивность ультразвукового сигнала уменьшается с развитием малярийной инфекции при длине волны лазерного излучения 532 нм.



**Рис. 3.** Спектральная зависимость молярного коэффициента экстинкции оксигемоглобина и гемозойных молекул [18]

**Fig. 3.** Spectral dependence of the molar extinction coefficient of oxyhemoglobin and hemozoic molecules [18]



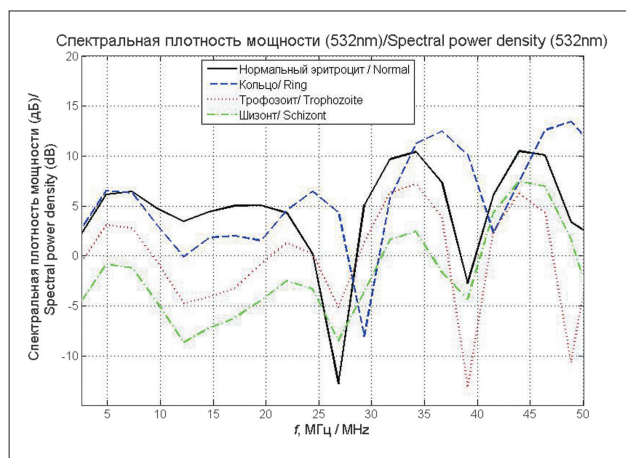


**Рис. 4.** Моделируемый при 532 нм оптоакустический сигнал падающего оптического излучения для образца:

- а – состоящего из нормальных клеток;
- б – для клеток со стадией кольца;
- в – для клеток со стадией трофозонта;
- г – для клеток со стадией шизонта

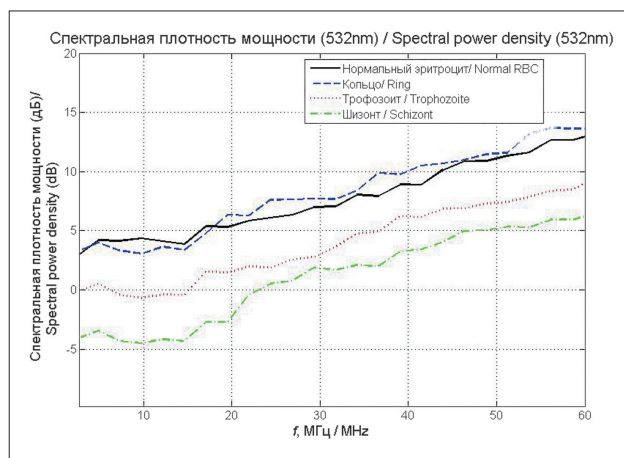
**Fig. 4.** Simulated optoacoustic signal for 532 nm incident optical radiation for a sample:

- а – consisting of normal cells;
- б – for cells at the ring stage;
- в – for cells at the trophozoite stage;
- г – for cells at the schizont stage



**Рис. 5.** Спектральная плотность мощности оптоакустического сигнала при длине волны оптического излучения 532 нм

**Fig. 5.** The spectral power density of the optoacoustic signal under optical irradiation at 532 nm



**Рис. 6.** Спектральная плотность мощности ОАС (скользящие средние) при облучении оптическим излучением с длиной волны 532 нм

**Fig. 6.** Spectral power density of the optoacoustic signal (moving averages) under optical radiation irradiation at 532 nm

Спектры имеют различные уровни амплитуды, что указывает на то, что оптоакустический метод может быть полезен для дифференциации различных внутриэритроцитарных стадий малярийного паразита на практике. Проведенное моделирование и полученные результаты позволяют продолжить работы по созданию оптоакустического проточного цитометра

[19–20]. Также необходимо провести моделирование для других длин волн лазерного излучения, например, для 1064 нм (рабочая длина волны лазера ND: YAG) и проверить адекватность применяемой математической модели экспериментальным данным, полученным на имеющейся установке LIMO 100–532/1064-U [19].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Deán-Ben X.L., Razansky D. Functional optoacoustic human angiography with handheld video rate three-dimensional scanner // *Photoacoustics*. – 2013. – Vol. 1(3). – P. 68–73.
2. Kirillin M., Perekatova V., Turchin I., Subochev P. Fluence compensation in raster-scan optoacoustic angiography // *Photoacoustics*. – 2017. – Vol. 8. – P. 59–67.
3. Held K.G., Jaeger M., Rička J., Frenz M., Akarçay H.G. Multiple irradiation sensing of the optical effective attenuation coefficient for spectral correction in handheld OA imaging // *Photoacoustics*. – 2016. – Vol. 4(2). – P. 70–80.
4. Petrov I., Petrov Y., Prough D., et al. Optoacoustic monitoring of cerebral venous blood oxygenation through intact scalp in large animals // *Optics express*. – 2012. – Vol. 20(4). – P. 4159–4167.
5. Perekatova V., Subochev P., Kleshnin M., Turchin I. Optimal wavelengths for optoacoustic measurements of blood oxygen saturation in biological tissues // *Biomedical Optics Express*. – 2016. – Vol. 7(10). – P. 3979–3995.
6. Bosschaart N., Edelman G.J., Aalders M.C., et al. A literature review and novel theoretical approach on the optical properties of whole blood // *Lasers in medical science*. – 2014. – Vol. 29(2). – P. 453–479.
7. Balasubramanian D. Photoacoustic spectroscopy and its use in biology // *Bioscience Reports*. – 1983. – Vol. 3. – P. 981–995.
8. Balasubramanian D., Rao C.M., Panijpan B. The malaria parasite monitored by photoacoustic spectroscopy // *Science*. – 1984. – Vol. 223. – P. 828–830.
9. Новиков Б.К., Руденко О.В., Тимошенко В.И. Нелинейная гидроакустика. – Ленинград: Судостроение, 1981. – 264 с.
10. Diebold G.J. Photoacoustic monopole radiation: Waves from objects with symmetry in one, two and three dimensions in *Photoacoustic imaging and spectroscopy* / Edt. L.V. Wang. – Taylor and Francis Group, LLC, 2009. – P. 3–17.
11. Saha R.K., Kolios M.C. A simulation study on photoacoustic signals from red blood cells // *J. Acoust. Soc. Am.* – 2011. – Vol. 129(5). – P. 2935–2943.
12. 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.
13. 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.
14. Кравчук Д.А., Старченко И.Б. Математическое моделирование оптоакустического сигнала от эритроцитов // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2018. – № 1. – С. 96–101.
15. Park Y., Diez-Silva M., Popescu G., et al. Refractive index maps and membrane dynamics of human red blood cells parasitized by *Plasmodium falciparum* // *Proceedings of National Academy of Sciences*. – 2008. – Vol. 105(37). – P. 13730–13735.
16. Shung K.K., Yuan Y.W., Fei D.Y., Tarbell J.M. Effect of flow disturbance on ultrasonic backscatter from blood // *J. Acoust. Soc. Am.* – 1984. – Vol. 75. – P. 1265–1272.

## REFERENCES

1. Deán-Ben X.L., Razansky D. Functional optoacoustic human angiography with handheld video rate three dimensional scanner, *Photoacoustics*, Vol. 1(3), pp. 68–73.
2. Kirillin M., Perekatova V., Turchin I., Subochev P. Fluence compensation in raster-scan optoacoustic angiography, 2017, *Photoacoustics*, Vol. 8, pp. 59–67.
3. Held K.G., Jaeger M., Rička J., Frenz M., Akarçay H.G. Multiple irradiation sensing of the optical effective attenuation coefficient for spectral correction in handheld OA imaging, *Photoacoustics*, 2016, Vol. 4(2), pp. 70–80.
4. Petrov I., Petrov Y., Prough D., Civenaite I., Deyo D., Esenaliev R. Optoacoustic monitoring of cerebral venous blood oxygenation through intact scalp in large animals, *Optics express*, 2012, Vol. 20(4), pp. 4159–4167.
5. Perekatova V., Subochev P., Kleshnin M., Turchin I. Optimal wavelengths for optoacoustic measurements of blood oxygen saturation in biological tissues, *Biomedical Optics Express*, 2016, Vol. 7(10), pp. 3979–3995.
6. Bosschaart N., Edelman G.J., Aalders M.C., van Leeuwen T.G., Faber D.J. A literature review and novel theoretical approach on the optical properties of whole blood, *Lasers in medical science*, 2014, Vol. 29(2), pp. 453–479.
7. Balasubramanian D. Photoacoustic spectroscopy and its use in biology, *Bioscience Reports*, 1983, Vol. 3, pp. 981–995.
8. Balasubramanian D., Rao C.M., Panijpan B. The malaria parasite monitored by photoacoustic spectroscopy, *Science*, 1984, Vol. 223, pp. 828–830.
9. Novikov B.K., Rudenko O.V., Timoshenko V.I. *Nelinejnaya gidroakustika*. Leningrad, Sudostroenie Publ., 1981. 264 p.
10. Diebold G.J. Photoacoustic monopole radiation: Waves from objects with symmetry in one, two and three dimensions in *Photoacoustic imaging and spectroscopy*, Edt. L.V. Wang. Taylor and Francis Group, LLC. pp. 3–17.
11. Saha R.K., Kolios M.C. A simulation study on photoacoustic signals from red blood cells, *J. Acoust. Soc. Am.*, 2011, Vol. 129(5), pp. 2935–2943.
12. Kravchuk D.A., Starchenko I.B. Mathematical modeling of the optoacoustic signal from aggregated erythrocytes to assess the level of aggregation, *Nauchnoe priborostroenie*, 2018, Vol. 28, No. 1, pp. 30–36. (in Russian)
13. Kravchuk D.A., Starchenko I.B. Modeling the process of oxygen saturation of biological tissues using the optoacoustic method, *Nauchnoe priborostroenie*, 2018, Vol. 28, No. 2, pp. 20–25. (in Russian)
14. Kravchuk D.A., Starchenko I.B. Mathematical modeling of the optoacoustic signal from erythrocytes, *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii*, 2018, No. 1, pp. 96–101. (in Russian)
15. Park Y., Diez-Silva M., Popescu G., Lykotraftis G., Choi W., Feld M.S., Suresh S. Refractive index maps and membrane dynamics of human red blood cells parasitized by *Plasmodium falciparum*, *Proceedings of National Academy of Sciences*, 2008, Vol. 105(37), pp. 13730–13735.

17. Toubal M., Asmani M., Radziszewski E., Nongaillard B. Acoustic measurement of compressibility and thermal expansion coefficient of erythrocytes // *Phys. Med. Biol.* – 1999. – Vol. 44. – P. 1277–1287.
18. Orjih A.U., Fitch C.D. Hemozoin production by *Plasmodium falciparum*: variation with strain and exposure to chloroquine // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 1993. – Vol. 1157. – P. 270–274.
19. Старченко И.Б., Кравчук Д.А., Кириченко И.А. Прототип оптоакустического лазерного цитометра // *Медицинская техника.* – 2017. – № 5. – С. 4–7.
20. Starchenko I.B., Kravchuk D.A., Kirichenko I.A. An Optoacoustic Laser Cytometer Prototype // *Biomedical Engineering.* – 2018. – Vol. 51, No. 5. – P. 308–312.
16. Shung K.K., Yuan Y.W., Fei D.Y., Tarbell J.M. Effect of flow disturbance on ultrasonic backscatter from blood, *J. Acoust. Soc. Am.*, 1984, Vol. 75, pp. 1265–1272.
17. Toubal M., Asmani M., Radziszewski E., Nongaillard B. Acoustic measurement of compressibility and thermal expansion coefficient of erythrocytes, *Phys. Med. Biol.*, 1999, Vol. 44, pp. 1277–1287.
18. Orjih A.U., Fitch C.D. Hemozoin production by *Plasmodium falciparum*: variation with strain and exposure to chloroquine, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1993, Vol. 1157, pp. 270–274.
19. Starchenko I.B., Kravchuk D.A., Kirichenko I.A. An Optoacoustic Laser Cytometer Prototype, *Meditsinskaya tekhnika*, 2017, No. 5, pp. 4–7. (in Russian)
20. Starchenko I. B., Kravchuk D.A., Kirichenko I.A. An Optoacoustic Laser Cytometer Prototype, *Biomedical Engineering*, 2018, Vol. 51, No. 5, pp. 308–312.