THEORETICAL DESCRIPTION OF DIFFRACTION OF LASER RADIATION ON ERYTHROCYTES MONOLAYER

Sargsyan G.P. (Republic of Armenia)
Email: Sargsyan515@scientifictext.ru

Sargsyan Grachya Pargevich – PhD in Physics and Mathematics, Senior Researcher,
LABORATORY OF LIQUID-PHASE FREE RADICAL REACTIONS,
INSTITUTE OF CHEMICAL PHYSICS AFTER A.B. NALBANDYAN
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF REPUBLIC OF ARMENIA,
YEREVAN, REPUBLIC OF ARMENIA

Abstract: *the article is devoted to the mathematical description of the physical phenomenon of diffraction of monochromatic laser radiation on a monolayer of erythrocytes - disks, within the framework of geometric optics in the Fraunhofer's zone. Using the mathematical apparatus developed by Kirchhoff for the scalar theory of diffraction, we have obtained a ratio that allows us to determine experimentally the diameter of an erythrocyte of a single-sized population. The results are the basis for the development of laser diffractometry for real populations of red blood cells, where there is a dispersion in size.*
Keywords: *laser radiation, erythrocyte population, transverse erythrocyte size, diffraction pattern.*

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ДИФРАКЦИИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МОНОСЛОЕ ЭРИТРОЦИТОВ

Саркисян Г.П. (Республика Армения)

Саркисян Грачья Паргевович – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник,
лаборатория жидкофазных свободно-радикальных реакций,
Институт химической физики им. А.Б. Налбандяна
Национальная академия наук Республики Армения,
г. Ереван, Республика Армения

Аннотация: *работа посвящена математическому описанию физического явления дифракции монохроматического лазерного излучения на монослое эритроцитов – дисков, в рамках геометрической оптики в зоне Фраунгофера. С помощью развитого Кирхгофом математического аппарата для скалярной теории дифракции нами получено соотношение, которое позволяет экспериментально определить диаметр эритроцита моноразмерной популяции. Полученные результаты возложены в основу*

разработки метода лазерной дифрактометрии для реальных популяций эритроцитов, где имеет место дисперсия по размерам.

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

Рассмотрим дифракцию монохроматического излучения гелий-неонового лазера (длина волны $\lambda = 628\textit{нм}$, или 0,63мкм) на монослое цельной крови в идеализированном случае. Если учитывать, что в норме эритроцитарная часть всей массы форменных элементов цельной крови намного больше, чем тромбоцитарная и лейкоцитарная части, а также различны их размеры, тогда допустимо предположение, что основной совокупный вклад в дифракционную картину в зоне Фраунгофера сделает популяция эритроцитов.

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

При решении этой задачи была использована скалярная теория дифракции Фраунгофера [1, 3-5]. В основе разработанного подхода лежит развитый Кирхгофом математический аппарат, что является обобщением принципа Гюйгенса-Френеля. Согласно этому принципу дифракционная картина образуется в результате интерференции когерентных волн, идущих от вторичных источников. Приближение Кирхгофа для случая, когда размер диска много больше длины волны падающего излучения, дает хорошие результаты.

В реальных популяциях эритроцитов поперечные размеры клеток 5-7 раз превышают их толщину. Наличие такого различия между поперечными размерами и толщиной клеток позволяет ограничиваться двумерной задачей. Ясно, что такое ограничение приведет к дополнительным теоретическим ошибкам. Однако полученные экспериментальные данные подтверждают допустимость такого ограничения.

Для характеристики поля препарата введем некоторые линейные параметры:

I. L - среднее расстояние между центрами любой пары эритроцитов. Оно зависит от условий приготовления мазка. Предполагая отсутствие наложения (перекрывания) эритроцитов (т. е. $L > d$), мы обеспечиваем 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 гелий-неонового лазера ЛГ-52-2 R = 1мм, т.е. площадь поперечного сечения пучка равна π мм^2. Простым вычислением можно показать, что при условии

$d < L < 2d$ под пучком излучения одновременно попадают порядка 10^4 клеток. Этим подтверждается возможность единовременного получения информации о форменных показателях большого статистического массива методом лазерной дифрактометрии.

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

$$z \gg \frac{2\pi L^2}{\lambda}, \qquad (1)$$

где z - расстояние между дифрагирующим экраном и плоскостью наблюдения, можно работать без собирающей линзы, принимая, что все параллельные лучи собираются в одной точке на экране наблюдения.

Вычисления резко 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. При пуассоновском распределении центры эритроцитов образуют однородное и изотропное точечное поле. Плотность вероятности попадания n клеток на участок площадью s определяется по формуле (см., например, книгу [2]):

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

где m - среднее число клеток на единицу площади.

Следуя принципу построения дифракционной теории Френеля, согласно которому вторичные волны входят в интерференционное взаимодействие попарно, 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 прямоугольной системы координат, а центр второй клетки случайным образом расположен в изучаемом участке. Введем амплитуду поля $A(\vec{r_i})$ - достигающего на экран наблюдения после дифракции на i - ой клетке, где $\vec{r_i}$ - радиус вектор i - ой клетки. Тогда, для первой клетки получим согласно [1, 3-5]

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

Для второй клетки в полярной системе координат амплитуда поля определяется выражением:

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

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

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

Согласно [3] при интерференционном взаимодействии двух случайных полей средняя интенсивность интерференционной картины в точке $(p,\ q)$ равна;

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

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 [3] функция автокорреляции $B(|\vec{r}|)$ записывается в виде:

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

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

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

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

С помощью интегрального представления функций Бесселя I рода целого порядка [7]:

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

и известного рекуррентного соотношения для $J_n(z)$:

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

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

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

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 дафракции. Действительно, после замены переменной $kwa = \pi\mu$, с учетом выражений $w = sin\alpha$, $k = 2\pi/\lambda$, $a = d/2$, получаем

$$dsin\alpha = \mu\lambda \qquad (14)$$

где $d -$ диаметр эритроцита; $\alpha -$ угол между направлением $(p,\ q)$ и центральным направлением $(p = q = 0)$; $\mu -$ параметр функции Бесселя.

Формула (14) является основной формулой галометрии - способ оценки размеров объектов методом дифракции световой волны на краях этих объектов.

Действительно, из (14) видно, что при $\mu = const$ и определенном значении длины волны, между диаметром круглого объекта (например, эритроцита) и синусом угла дифракции обеспечивается взаимно однозначное соответствие.

Простейшим способом решения обратной задачи дифракции – это измерение угла дифракции в точке экстремума (например, первого максимума) наэкрана наблюдения, использование табличного значения μ для этой точки, подстановка этих величин в формулу (14) и вычисление размера:

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

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

Выражение для $B(r)$ запишется в виде:

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

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:

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

Здесь проведена нормировка по площади, охватывающая любую пару клеток.

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

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

Используя интегральное соотношение для функций Бесселя целого порядка (см., например, [6]):

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

принимая во внимание рекуррентную формулу (9), выраяжение (18) записываем в виде:

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

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:

$$I(w) = NI_1(w) \tag{21}$$

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) 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.

Список литературы / References

1. *Саркисян Г.П., Дубынин В.Н., Мкоян Ф.А., Хлебопрос Р.Г.* Теоретические аспекты дифрактоэритрометрии. Красноярск, 1984. 30 с. (Препринт N 35Б/ ИФ СО АН СССР).
2. *Крамер Г.* Математические методы статистики. М.: Наука, 1975. 520 с.
3. *Юу Ф.Т.С.* Введение в теорию дифракции обработки информации и голографию. М.: Советское радио, 1979. 304 с.
4. *Рытов С.М.* Введение в статистическую радиофизику. Ч. 1. Случайные процессы. М.: Наука, 1979. 484 с.
5. *Ахманов С.А., Дьяков Ю.Е., Чиркин А.С. и др.* Введение в статистическую радиофизику и оптику. М.: Наука, 1981. 640 с.
6. *Прудников А.П., Брычков Ю.А., Маричев О.И.* Интегралы и ряды. Специальные функции. М: Наука, 1983. 750 с.
7. Справочник по специальным функциям с формулами, правилами и математическими таблицами / Под ред. М. Абрамовича и И. Стиган. М.: Наука, 1979. 830 с.