



MD 869 Z 2015.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **869** (13) **Z**
(51) Int.Cl: *A61B 18/20* (2006.01)
G01N 21/00 (2006.01)
G01N 21/39 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 33/487 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

(21) Nr. depozit: s 2013 0205 (22) Data depozit: 2013.12.09	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.01.31, BOPI nr. 1/2015
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: ȘONTEA Victor, MD; SEREACOV Alexandr, MD; BARUN Vladimir, BY; DIC Serghei, BY; YASHIN Constantin, BY (73) Titular: UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD	

(54) **Metodă de captare optică a particulelor mobile în țesuturile biologice**

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la metode de captare optică a particulelor mobile în țesuturi biologice cu penseta optică și poate fi utilizată pentru a studia proprietățile structurale, biofizice, morfologice și optice ale particulelor unui țesut biologic in vivo și interacțiunile lor cu mediul înconjurător pentru reținerea particulelor într-un anumit loc în țesutul biologic sau manipularea cu ele.

Metoda de captare optică a particulelor mobile în țesuturile biologice constă în

2
determinarea adancimii de localizare a particulei mobile, formarea unui fascicul paralel de lumină coerentă a laserului cu o lungime de undă de iradiere optimă, selectată în funcție de valoarea adancimii de localizare a particulei mobile, iradierea țesutului cu acest fascicul și captarea particulei mobile.

Revendicări: 1

Figuri: 3

MD 869 Z 2015.08.31

(54) Method for optical capture of mobile particles in biological tissues**(57) Abstract:**

1

The invention relates to methods for optical capture of mobile particles in biological tissues with the optical forceps and can be used to study the structural, biophysical, morphological and optical properties of biological tissue particles *in vivo* and their interactions with the environment for the retention of particles in a particular site in a biological tissue or their manipulation.

The method for optical capture of mobile particles in biological tissues consists in the

2

determination of the mobile particle localization depth, formation of a parallel beam of coherent laser light with an optimal irradiation wavelength, selected depending on the value of the mobile particle localization depth, tissue irradiation with this beam and capture of the mobile particle.

Claims: 1

Fig.: 3

(54) Метод оптического захвата подвижных частиц в биологических тканях**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к методам оптического захвата мобильных частиц в биологических тканях оптическим пинцетом, и может быть использовано для изучения структурных, биофизических, морфологических и оптических свойств частиц биологической ткани в условиях *in vivo* и их взаимодействия с окружающей средой для удерживания частиц в определенном месте в биологической ткани или манипулирования ими.

2

Метод оптического захвата подвижных частиц в биологических тканях состоит в определении глубины локализации подвижной частицы, формировании параллельного пучка когерентного лазерного излучения с оптимальной длиной волны облучения, выбранной в зависимости от значения глубины локализации подвижной частицы, облучении ткани этим пучком и захвате подвижной частицы.

П. формулы: 1

Фиг.: 3

Descriere:

Invenția se referă la metode de captare optică a particulelor mobile în țesuturi biologice cu penseta optică și poate fi utilizată pentru a studia proprietățile structurale, biofizice, morfologice și optice ale particulelor unui țesut biologic *in vivo* și interacțiunile lor cu mediul înconjurător pentru reținerea particulelor într-un anumit loc în țesutul biologic sau manipularea cu ele.

La modificarea densității fluxului I de câmp de lumină de-a lungul unei axe arbitrare x , apare forța de origine electromagnetică (F_{grad}), care acționează asupra particulelor dielectrice mobile aflate în regiunea spațială a modificării fluxului. Valoarea absolută a forței F_{grad} depinde de gradientul dI/dx - de-a lungul axei x , precum și de parametrii optici și structurali ai particulelor mobile și ai mediului în care se află. Forța F_{grad} , numită forță de gradient, se folosește în capcane optice (pensete cu laser) pentru a capta, deplasa și efectua alte tranzacții fără contact cu particule mobile mici [1].

Este cunoscută o metodă de captare a particulelor dielectrice într-o capcană optică, creată de presiunea luminii F_p generată de una sau mai multe surse laser. Forța acționează în direcția de propagare, iar valoarea lor absolută este egală cu

$$F_p = \pi R^2 (1 + A) I / c, \quad (1)$$

unde A - coeficientul de reflexie a luminii pentru particulă [2].

Dezavantajele acestor metode constau în formarea unor forțe slabe și imposibilitatea de a fi utilizate pentru captarea particulelor în țesuturi din cauza necesității de a utiliza iradiere cu densități de putere mare (E_0) ale suprafeței țesutului pentru crearea forței necesare. Creșterea E_0 provoacă încălzirea excesivă a țesuturilor și poate cauza leziuni sau deces.

De asemenea, este cunoscută metoda în care gradientul densității fluxului de lumină este creat de interferența a două fascicule de la lasere monomod cu lungime de undă $\lambda = 632,8$ nm. Aceste fascicule sunt îndreptate spre particulă, care, datorită acțiunii forțelor de gradient, sunt capturate în apropiere de maximele (porțiuni luminoase) imaginii de interferență [3].

Dezavantajul acestei metode este imposibilitatea aplicării ei în condițiile *in vivo*, deoarece lumina cu o lungime de undă de 632,8 nm nu exercită forța necesară F_{grad} la o gamă largă de adâncimi ale țesutului z , unde poate fi capturată particula. În plus, din cauza disipării luminii în țesut imaginea de interferență formată în profunzimea mediului este, de obicei, foarte neclară în spațiu, ceea ce duce la o reducere considerabilă a gradientului densității de flux, și, prin urmare, a forței de gradient F_{grad} .

Cea mai apropiată soluție este o metodă de captare a particulelor biologice în capcana optică creată de lumină infraroșie emisă cu laser de o lungime de undă fixă într-un interval 800...1800 nm. Lumina laser cade pe o lentilă convergentă cu distanța focală scurtă, iar în punctul de focalizare (constricția fasciculului) este format un gradient mare al câmpului luminii și forța corespunzătoare F_{grad} . Raza laser convergentă este îndreptată într-o arie, care conține o particulă, ce este captată în apropierea punctului focal al lentilei convergente [4].

Dezavantajul acestei metode este imposibilitatea utilizării acesteia în țesutul *in vivo*, deoarece diapazonul de lungimi de undă infraroșie nu oferă mărimea dorită a forței F_{grad} la o gamă largă de adâncimi ale țesutului z , unde poate fi captată particula. În plus, din cauza disipării puternice a luminii în țesut, regiunea de constricție a fasciculului este de obicei spațial neclară, ceea ce duce la o reducere considerabilă a gradientului de densitate de flux și, prin urmare, a forței F_{grad} . De asemenea, metoda nu răspunde la întrebarea, ce lungime de undă a radiației laser este optimă pentru captarea particulei la o anumită adâncime z în țesut din punct de vedere al asigurării puterii maxime de captare a particulei.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unei metode de captare a unei particule mobile într-o gamă largă de adâncimi ale țesutului, formând o forță maximă de captare a particulei mobile, cu încălzirea minimă a țesutului.

Metoda, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate mai sus prin aceea că constă în determinarea adâncimii z de localizare a particulei mobile, formarea unui fascicul paralel de lumină coerentă a laserului cu o lungime de undă de iradiere λ^* optimă, selectată în funcție de valoarea z , care:

pentru $z < 0,1$ mm este $\lambda^* = 450$ nm și

pentru $z \geq 0,1$ mm este $\lambda^* = \{1250[1 - \exp(-z/1,35)]\}$ nm,

iradierea țesutului cu acest fascicul și captarea particulei mobile.

Invenția se explică prin desenele din fig. 1-3, care reprezintă:

- fig. 1, structura radială a densității fluxului $I(r)$ în țesutul moale pentru derma pielii la lungimea de undă $\lambda = 600$ nm (curbe continue) și 700 nm (curbe punctate) cu gradul de oxigenare

a sângelui $S = 0,5$ (fig. a, c) și $0,97$ (fig. b, d) cu densitatea volumică a sângelui $C_b = 0,04$ (fig. a, b) și $0,02$ (fig. c, d) și concentrația volumică a melaninei $C_m = 0,08$, $z = 1$ mm, $E_0 = 1$ W/cm²;

– fig. 2, dependența gradientului forței F , generată de fasciculul de lumină laser la o adancime $z = 0,16$ (curba 1), $0,2$ (curba 2), $0,5$ (curba 3), 1 (curba 4), 2 (curba 5), 4 (curba 6) și 8 mm (curba 7), la iradierea pielii la diferite lungimi de undă $\lambda = 400 \dots 1800$ nm;

– fig. 3, dependența calculată (curba continuă) și după aproximare (curba punctată) a lungimii de undă λ^* de iradiere, care asigură un gradient de forță maximal F_{max} , în funcție de adancimea z a particulelor captate in derma pielii.

Dispersia fasciculului de radiație coerentă în țesuturile biologice duce la formarea in interiorul țesutului a structurii speckle a câmpului luminii. Structura speckle este rezultatul interferenței luminii împrăștiată la unghiuri mici față de direcția de incidență a luminii [Иванов А. П., Кацев И. Л. О спекл-структуре светового поля в дисперсной среде, освещенной лазерным пучком, Квантовая электроника, 2005, Т. 35, № 7, с. 670 - 674]. In plan radial sau in plan perpendicular pe această direcție, structura prezintă regiuni luminoase și întunecate, numite speckles. Această modificare a densității de flux I provoacă formarea F_{grad} , care poate fi calculată cu formula

$$F_{grad} = (8\pi^2/3c)\alpha R^3(dI/dx) = B(dI/dx), \quad (2)$$

unde $c = 3 \cdot 10^{10}/n$ cm/s – viteza luminii in mediu,

n – valoarea absolută a indicelui de refracție al mediului,

$\alpha = 3(m^2 - 1)/(m^2 + 2)$ – polarizabilitatea specifică a particulei,

$m = n_p/n$ – indicele de refracție relativă a particulei,

n_p – valoarea absolută a indicelui de refracție a particulelor,

R – raza sferei de același volum ca și al particulei,

dI/dx – gradient de densitate a fluxului de lumină (W/cm³),

B – o constantă de proporționalitate în funcție de parametrii particulei (n_p și R) și al mediului (n), în care se află.

Din (2) rezultă că forța F_{grad} este direcționată de-a lungul axei x în direcția de creștere (dacă $m > 1$) sau scădere (dacă $m < 1$) a densității fluxului luminos. Pentru particulele mobile de țesut de obicei $m \approx 1,05$.

Raza caracteristică L specklelor, care depinde de lungimea de undă λ și adâncimea z , poate fi definită prin formula [Иванов А. П., Кацев И. Л. О спекл-структуре светового поля в дисперсной среде, освещенной лазерным пучком, Квантовая электроника. 2005, Т. 35, № 7, с. 670 – 674; Абрамович Н. Д., Барун В. В., Дик С. К., Терех А. С. Аналитическая методика оценки контраста спекл-структуры светового поля, рассеянного мягкими биотканями // 5-я Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине», Сборник материалов. 2012, Т. 1, с. 212 - 214]:

$$L(\lambda, z) = \lambda / \left\{ \pi [2D(\lambda, z)]^{0.5} \right\}, \quad (3)$$

unde $D(\lambda, z)$ - dispersia distribuției unghiulare a intensității luminii, care se propagă la unghiuri mici față de direcția iradierii suprafeței.

Densitatea totală a fluxului luminos la adâncimea z in plan radial poate fi calculată prin formula [Абрамович Н. Д., Барун В. В., Дик С. К., Терех А. С. Аналитическая методика оценки контраста спекл-структуры светового поля, рассеянного мягкими биотканями // 5-я Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине». Сборник материалов. 2012, Т. 1, с. 212 - 214]:

$$I(\lambda, z, r)/E_0 = E_c(\lambda, z) \{1 + \cos[\pi r/L(\lambda, z) + \phi]\} + E_{nc}(\lambda, z), \quad (4)$$

unde E_0 – iluminarea suprafeței materialului,

r – distanța măsurată de la axa fasciculului,

ϕ – faza aleatorie.

In partea dreaptă a formulei (4), primul termen dă componenta de câmp a luminii, care depinde de r , iar al doilea - fundalul necoerent, care este independent de r . De aceea, la formarea forțelor de gradient in profunzimea mediului contribuie doar primul termen.

Fig. 1 arată structura radială a densității $I(\lambda, z, r)$, calculată de autori prin formula (4), pentru două lungimi de undă $\lambda = 600$ și 700 nm, la o adâncime $z = 1$ mm.

Ca exemplu de țesut servește pielea umană. Parametrii structurali și optici sunt prezentați în [Барун В. В., Иванов А. П., Вологовская А. В., Улащик В. С. Спектры поглощения и глубина проникновения света в нормальную и патологически измененную кожу человека // Журнал

прикладной спектроскопии. 2007, Т. 74, № 3, с. 387 - 394], iar metoda de calcul al caracteristicilor $E_c(\lambda, z)$ și $L(\lambda, z)$ in [Иванов А. П., Кацев И. Л. О спекл-структуре светового поля в дисперсной среде, освещенной лазерным пучком. Квантовая электроника, 2005, Т. 35, № 7, с. 670 - 674; Абрамович Н. Д., Барун В. В., Дик С. К., Терех А. С. Аналитическая методика оценки контраста спекл-структуры светового поля, рассеянного мягкими биотканями // 5-я Троицкая конференция „Медицинская физика и инновации в медицине”. Сборник материалов, 2012, Т. 1, с. 212 - 214; Барун В. В., Иванов А. П. Поглощение света кровью при низкоинтенсивном лазерном облучении кожи // Квантовая электроника, 2010, Т. 40, № 4, с. 371 - 376]. Au fost selectate valori tipice ale parametrilor structurali și biofizici ai pielii. Aici, gradul de oxigenare a sangelui $S = 0,5$ (fig. a, c) и $0,97$ (fig. b, d), concentrația volumică a sangelui $C_b = 0,04$ (a, b) и $0,02$ (c, d), concentrația volumică a melaninei $C_m = 0,08$, grosimea stratului cornos al epidermei este de $20 \mu\text{m}$ și $100 \mu\text{m}$. Autorii au efectuat calcule pentru alte valori ale acestor parametri ai pielii. S-a dovedit că componenta variabilă r (primul termen din partea dreaptă a formulei (4)) depinde slab de aceste modificări și este determinată în principal de valorile λ și z .

Din formula (4) găsim gradientul densității dI/dr , care creează forța F_{grad} , care acționează asupra particulei mobile aflate la adancimea z :

$$dI/dr = -E_c(\lambda, z)\pi \sin[\pi r/L(\lambda, z) + \phi]/L(\lambda, z). \quad (5)$$

Semnul "minus" indică direcția forței - în direcția micșorării sau creșterii lui r . După cum se vede din (1) și (5), F_{grad} in plan radial, primește cea mai mare valoare absolută, care corespunde egalității $|\sin[\pi r/L(\lambda, z) + \phi]| = 1$. Din (1) și (5) rezultă, de asemenea, că valoarea maximă absolută a forței F_{grad} :

$$F_{max}(\lambda, z) = \pi R E_c(\lambda, z)/L(\lambda, z) \quad (6)$$

depinde de z și de λ ale caracteristicilor specklelor $E_c(\lambda, z)$ și $L(\lambda, z)$. Comparăm valorile maxime ale forței de gradient (6) și presiunii luminii, la aceeași densitate a puterii de iradiere a suprafeței. În acest scop, luăm ca exemplu o particulă mobilă cu $R=3 \mu\text{m}$ și evaluăm ecuația:

$$F_{max}(\lambda, z)/F_{pmax} = \{8\pi\alpha R/[3(1+A)I_{max}(\lambda, z, r)]\}(dI/dr)_{max},$$

unde indicele max indică valoarea maximă a mărimilor corespunzătoare. De exemplu, $A = 1$. Calculele au demonstrat că acest raport este situat în limitele $150...800$ la $z < 2 \text{ cm}$. Deci, forța maximă de gradient este de circa $2...3$ ordine mai mare decât forța de presiune, astfel încât ultima poate fi ignorată.

Calcule similare au arătat că, din cauza valorii mici în comparație cu dI/dr , este posibil de a nu lua în considerare gradientul densității dI/dz în direcția axei z , în direcția de propagare a luminii.

Fig. 2 prezintă valorile forței $F_{grad}(\lambda, z)$ (in newtoni), create de un fascicul laser paralel de lumină cu $E_0 = 1 \text{ W/cm}^2$ la o adancime $z = 0,16$ (curba 1), $0,2$ (curba 2), $0,5$ (curba 3), 1 (curba 4), 2 (curba 5), 4 (curba 6) și 8 mm (curba 7) la iradierea suprafeței țesutului cu diferite lungimi de undă $\lambda = 400...1800 \text{ nm}$. In calcule s-au utilizat parametrii tipici pentru țesuturile moi $n = 1,33$, $m = 1,05$ și $R = 3 \mu\text{m}$. După cum se poate vedea, cu creșterea z , pentru a obține forța maximă F_{max} , trebuie de mărit lungimea de undă λ^* . Astfel, la nivelul dermei superioare de $z \approx 0,12 \text{ mm}$ mai mare valoare F_{max} are la $\lambda^* \approx 450 \text{ nm}$, $z \approx 0,5 \text{ mm}$ - $\lambda^* \approx 700 \text{ nm}$, $z \approx 1 \text{ mm}$ - $\lambda^* \approx 850 \text{ nm}$, etc. Particularitățile dependenței forței F de lungimea de undă λ sunt prezentate in fig. 2, și valoarea maximă pentru $\lambda = \lambda^*$ se datorează comportamentului caracteristicilor spectrale de absorbție și împrăștiere a componentelor țesuturilor moi, în primul rand - derivate ale hemoglobinei și apei.

Folosind datele din fig. 2, comparăm valorile forței F_{max} , care acționează asupra particulelor mobile in mediul iradiat, $\lambda = 800...1800 \text{ nm}$. Presupunem că iradierea se efectuează la lungimea de undă $\lambda = 1000 \text{ nm}$. După cum se vede din fig. 2, în stratul superior al țesutului la $z \leq 0,5 \text{ mm}$ (curbele 1...3) și la o adancime $z \geq 4 \text{ mm}$ (curbele 6 și 7) valorile F_{max} obținute, conform metodei propuse în invenție, sunt de aproximativ $2...4$ ori mai mari decât forța maximă în conformitate cu [US 4893886 A 1990.01.16] cu aceeași densitate de putere E_0 . Cand $z = 1...2 \text{ mm}$ (curbele 4 și 5), ambele metode dau aproximativ aceeași putere maximă. Concluzii similare pot fi făcute pentru alte lungimi de undă ale radiației într-o gamă de $800...1800 \text{ nm}$, așa cum s-a propus în sursa menționată. Evidențiem că rezultatele calculelor la fig. 2 arată cazul iradierii suprafeței țesuturilor cu un fascicul paralel de lumină. Dacă fasciculul este convergent, ca în sursa menționată, atunci valoarea F_{max} calculată după metoda propusă va fi și mai mare decât în sursa menționată in gama

largă de adâncimi z , fiindcă în acest caz energia laserului la o adâncime va fi alocată la o suprafață mai mare.

În fig. 3 este reprezentată modalitatea de determinare a lungimii de undă λ^* , pentru obținerea forței maxime F_{max} la o anumită adâncime z a țesutului. Sunt prezentate dependența calculată $\lambda^*(z)$, obținută din grafic (fig. 2, linie continuă) și aproximarea acesteia (fig. 2, linie punctată) după formula $\lambda^* = \{1250[1 - \exp(-z/1,35)]\}$, unde λ^* se exprimă în nm și z în mm. Diferența valorilor obținute între aceste curbe ale forței maxime F_{max} este minoră și nu depășește 5%.

Exemplu de realizare a invenției

Presupunem că este necesar de a capta celule roșii din sânge într-un capilar, care este situat la o adâncime $z = 1$ mm sub suprafața pielii. După formula $\lambda^* = \{1250[1 - \exp(-z/1,35)]\}$ calculăm $\lambda^* = 654$ nm. Astfel, pentru captarea optică a eritrocitului este necesar de a iradia suprafața pielii cu o rază laser paralelă cu lungimea de undă de 654 nm. Metoda de captare optică cuprinde următoarele etape:

1. Determinarea adâncimii z de localizare a particulei mobile. În cazul eritrocitelor, se știe că acestea sunt distribuite pe întreaga grosime a dermei și stratului subcutanat de grăsime până la adâncimea de 8...10 mm. În cazul altor particule mobile, le putem urmări neinvaziv, folosind tomografia optică coerentă.

2. Selectarea laserului care emite radiația la o lungime de undă calculată.

3. Formarea fasciculului de lumină paralelă, utilizând laserul selectat.

4. Iradierea suprafeței țesutului cu fasciculul paralel de lumină laser.

Astfel, metoda propusă permite generarea forței maxime F_{max} de captare a particulei mobile într-o gamă largă de adâncimi z în țesuturile moi datorită alegerii lungimii de undă optime de iradiere a suprafeței țesutului. Forța obținută este de 2 sau mai multe ori mai mare decât cea calculată conform celei mai apropiate soluții.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Яворский Б.М., Детлаф А. А. Справочник по физике, Москва, Наука, 3-е издание, 1965, p. 347 - 348
2. US 3710279 A 1973.01.09
3. Афанасьев А. А., Катаркевич В. М., Рубинов А. Н., Эфендиев Т. Ш. Модуляция концентрации частиц в интерференционном поле лазерного излучения, Журн. прикл. спектроск. 2002, Т. 69, № 5, p. 675 - 679
4. US 4893886 A 1990.01.16

(57) Revendicări:

Metodă de captare optică a particulelor mobile în țesuturile biologice, care constă în determinarea adâncimii z de localizare a particulei mobile, formarea unui fascicul paralel de lumină coerentă a laserului cu o lungime de undă de iradiere λ^* optimă, selectată în funcție de valoarea z , care:

pentru $z < 0,1$ mm este $\lambda^* = 450$ nm și

pentru $z \geq 0,1$ mm este $\lambda^* = \{1250[1 - \exp(-z/1,35)]\}$ nm,

iradierea țesutului cu acest fascicul și captarea particulei mobile.

Șef Secție Examinare:

GROSU Petru

Examinator:

GHIȚU Irina

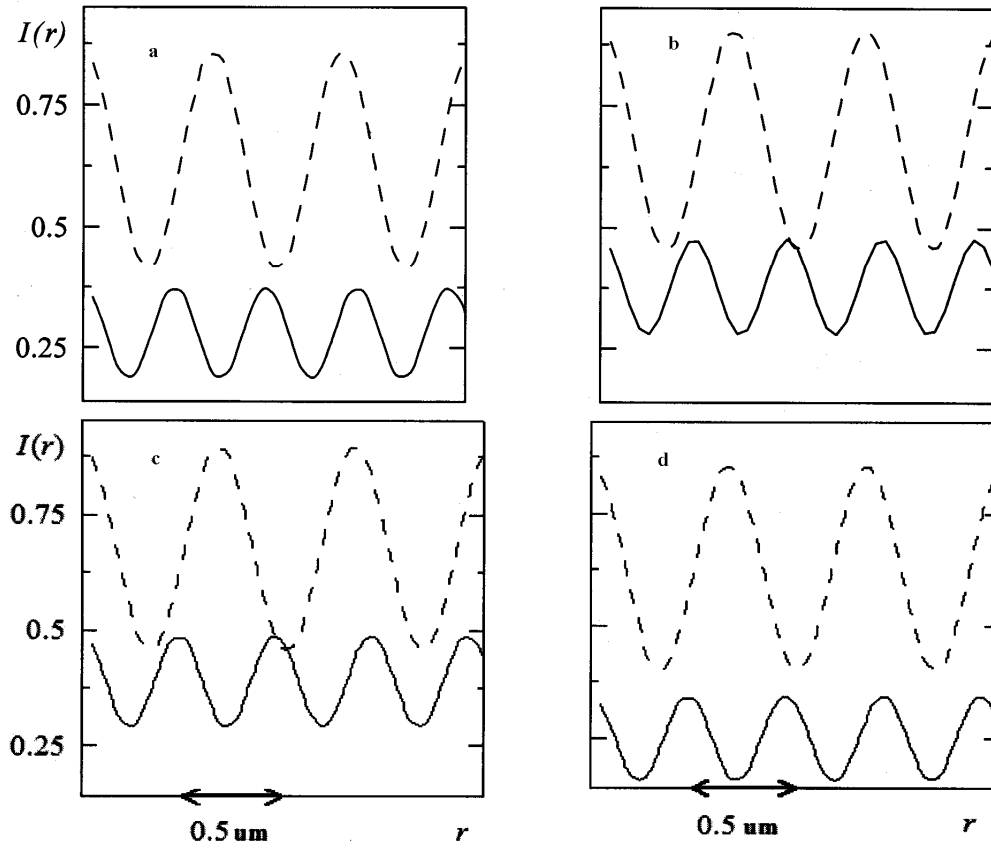


Fig. 1

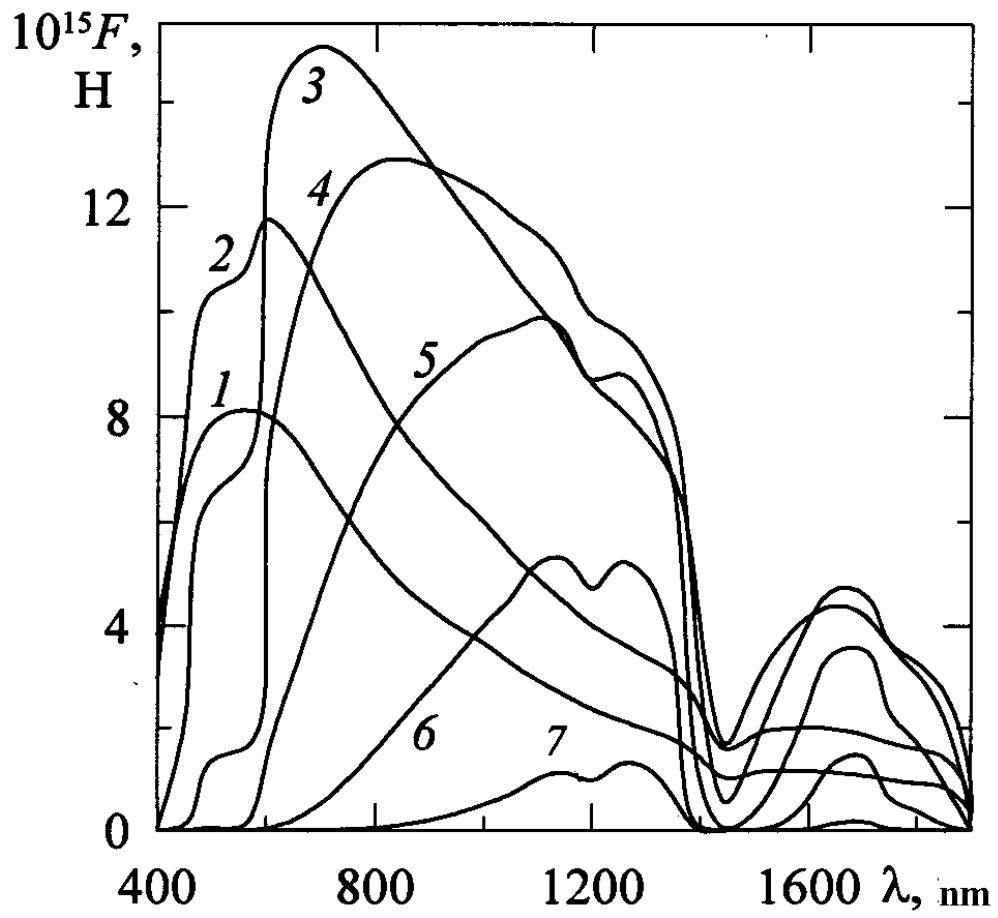


Fig. 2

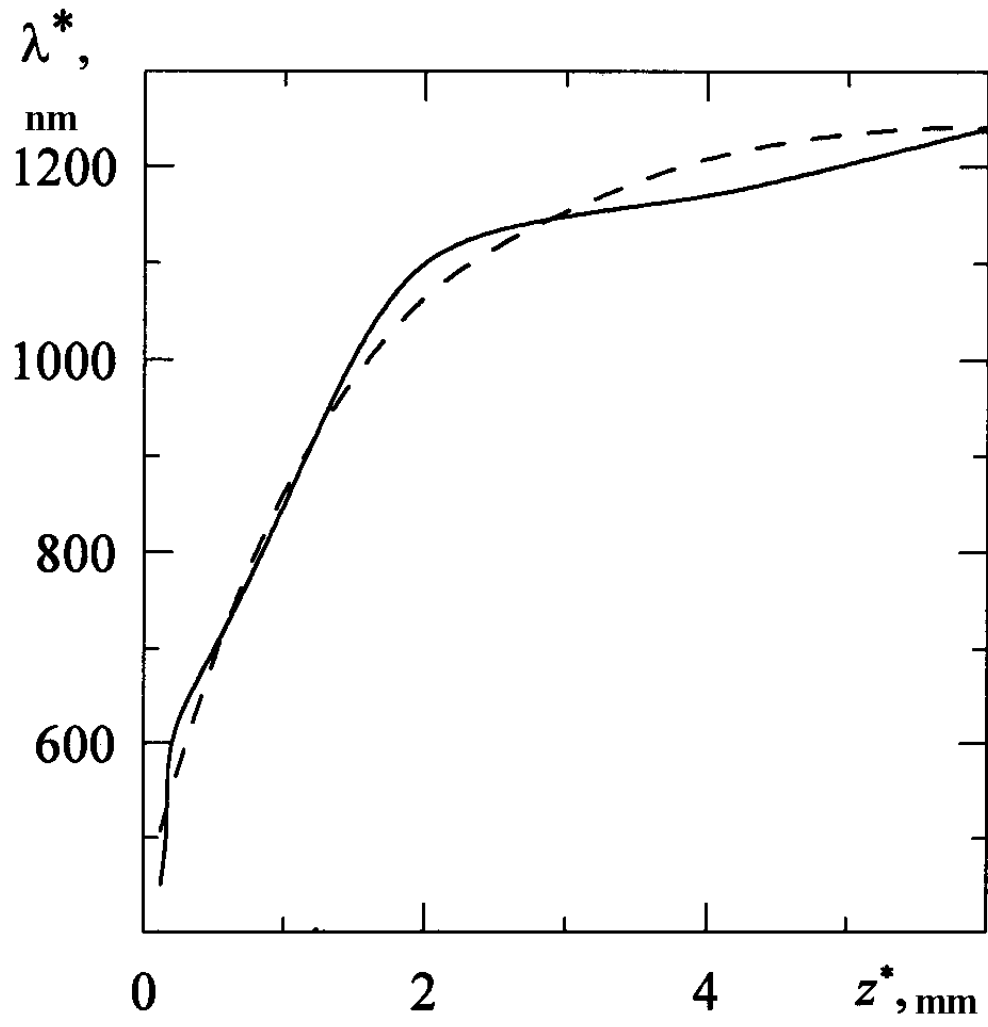


Fig. 3