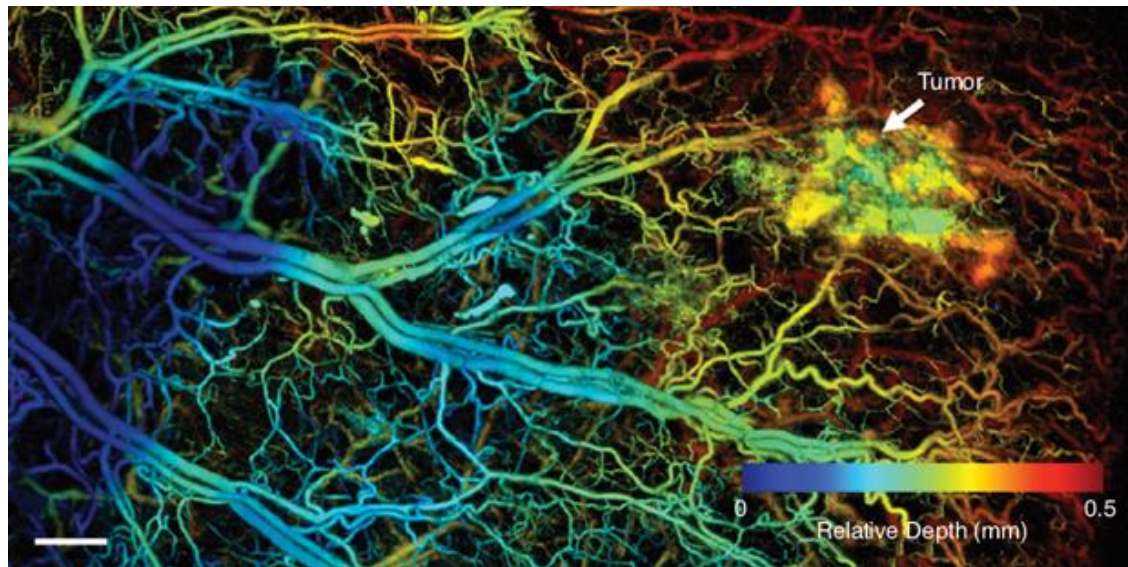


Φωτοακουστική μικροσκοπία

Ακούγοντας το φως στη μικροκλίμακα



Είσοδος



Ακτινοβολία λέιζερ
(παλμική ή χρονικά μεταβαλλόμενη)

Εξοδος



Υπερηχητικά κύματα
(τυπικές συχνότητες
1-150 MHz)

Αλληλεπίδραση



Προσομοίωση παραγωγής και διάδοσης φωτοακουστικού κύματος

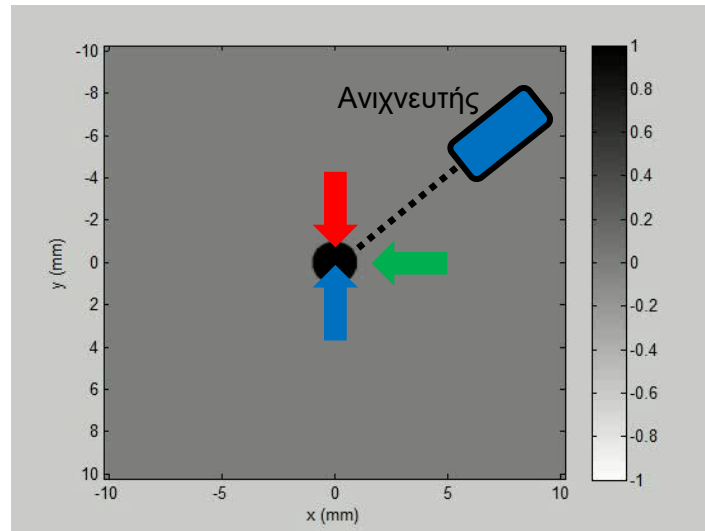
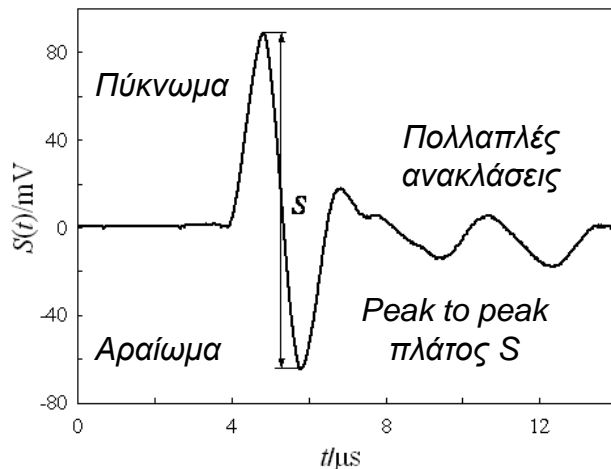
A. Συγκλίνον σφαιρικό κύμα πίεσης

B. Αποκλίνον σφαιρικό κύμα πίεσης

C. Αποκλίνον σφαιρικό κύμα αραιώσης που προκύπτει από το A. όταν αυτό περνάει από το κέντρο του

Η απεικονιστική αντίθεση προέρχεται από τις μεταβολές του **συντελεστή απορρόφησης** ανάμεσα στα διαφορετικά στοιχεία του ιστού

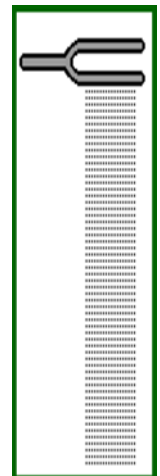
Προσομοίωση φωτοακουστικού σήματος από σφαιρικό απορροφητή ($R = 1$ mm)



Πύκνωμα

Μηδενική πίεση

Αραίωμα



Είδη φωτοακουστικής απεικόνισης

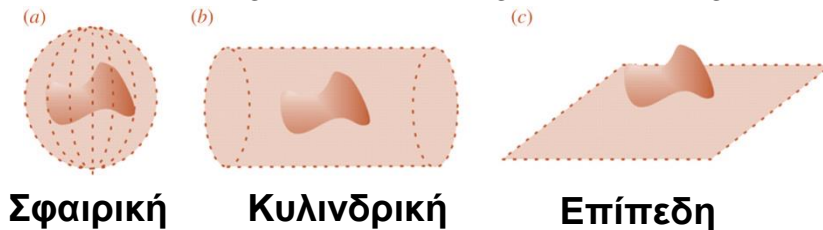
Υπολογιστική τομογραφία

- ✓ Χρησιμοποιεί τυπικά ομοιογενή φωτισμό και ανίχνευση μέσω μη εστιασμένων ανιχνευτών
- ✓ Απαιτεί αλγόριθμο ανακατασκευής (filtered-backprojection)
- ✓ Προσφέρει υψηλό βάθος απεικόνισης (~5 cm) με χωρική ανάλυση της τάξης των μερικών εκατοντάδων μm

Μικροσκοπία

- ✓ Χρησιμοποιεί ασθενώς ή έντονα εστιασμένο φωτισμό αλλά και εστιασμένη ανίχνευση
- ✓ Δεν απαιτεί αλγόριθμο ανακατασκευής
- ✓ Χαμηλότερα βάθη απεικόνισης (~3-4 mm) με πολύ υψηλότερη ωστόσο χωρική ανάλυση

Κοινές γεωμετρίες σάρωσης



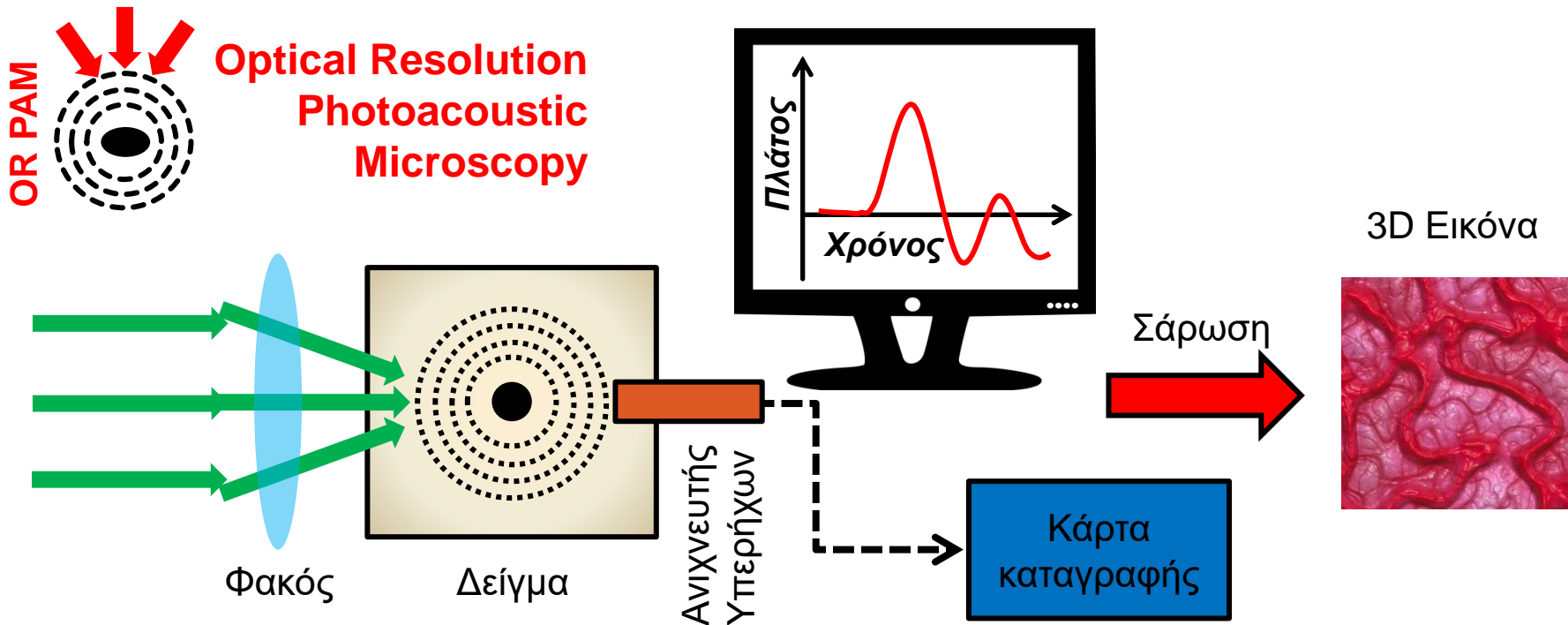
Φωτοακουστική μικροσκοπία...



Υψηλή ανάλυση
(~1 μm)
Μικρό βάθος
(~1 mm)



Χαμηλότερη ανάλυση
(~25 μm)
Υψηλό βάθος
(~3-4 mm)



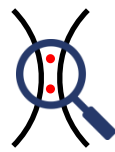
Επιδόσεις

**Πλευρική
ανάλυση**



Καθορίζεται
από την εστία
του φωτός
(~1-2 μm)

**Αξονική
ανάλυση**



Καθορίζεται από το
εύρος συχνοτήτων
του ανιχνευτή (~7 μm)

**Χρονική
ανάλυση**

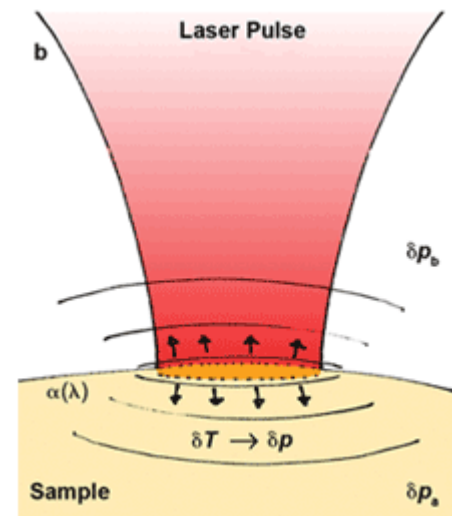


Σάρωση δείγματος
μέσω stages:
~ 10 mins
Σάρωση δέσμης
μέσω galvos:
~ 1 sec

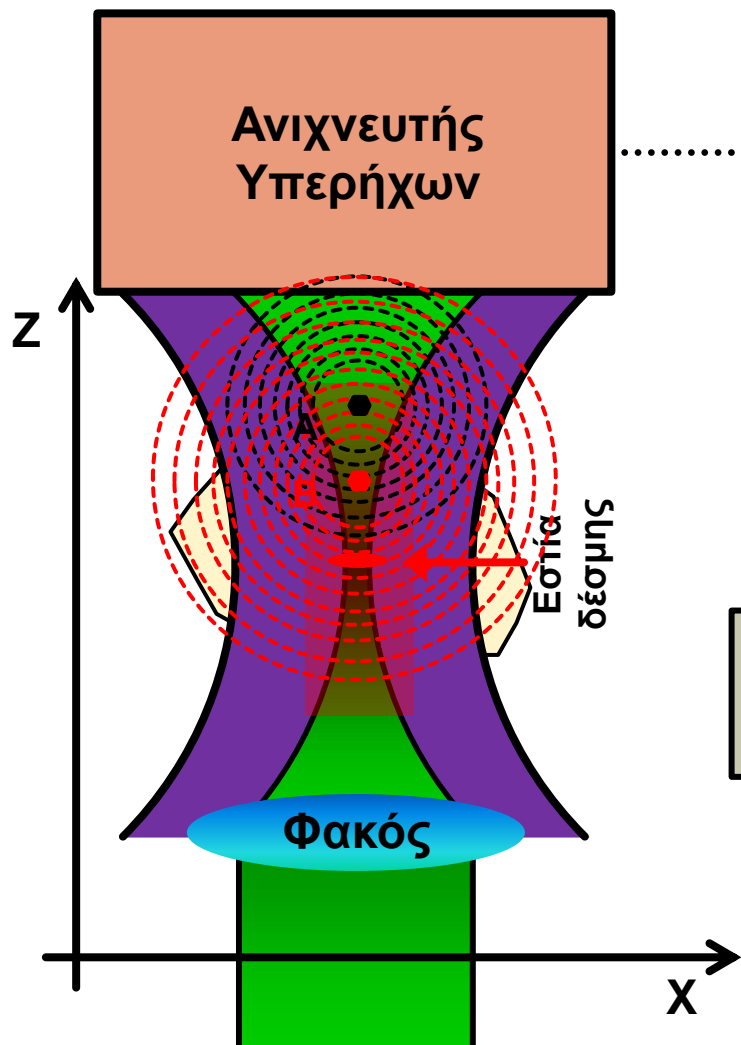
**Βάθος
απεικόνισης**



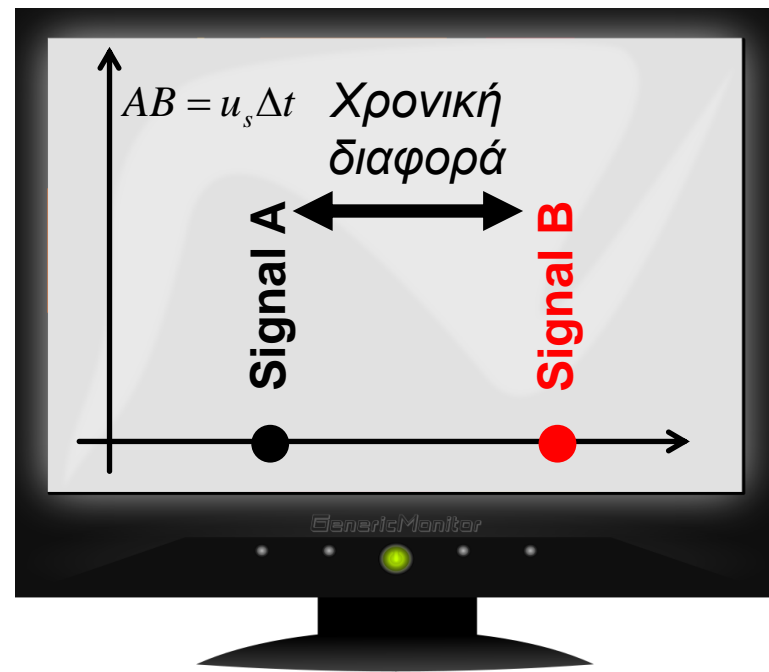
Καθορίζεται κυρίως
από τη σκέδαση του
φωτός (~1 mm)



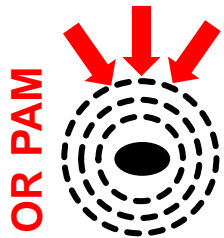
OR PAM
Optical Resolution
Photoacoustic
Microscopy



Κάρτα
καταγραφής

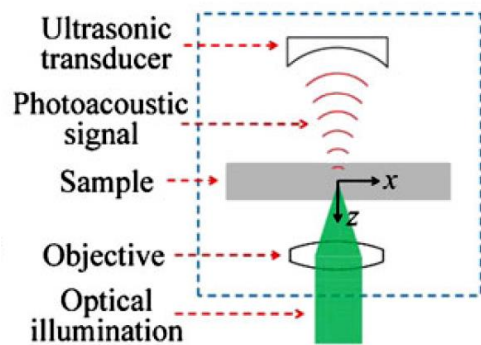


- ✓ Η **πλευρική ανάλυση** προκύπτει από τον περιορισμό της περιοχής διέγερσης λόγω της εστίασης του φωτός
- ✓ Η **αξονική ανάλυση** προκύπτει από το διαφορετικό χρόνο άφιξης των παραγόμενων σημάτων και άρα εξαρτάται μόνο από τις ανιχνευόμενες ακουστικές συχνότητες

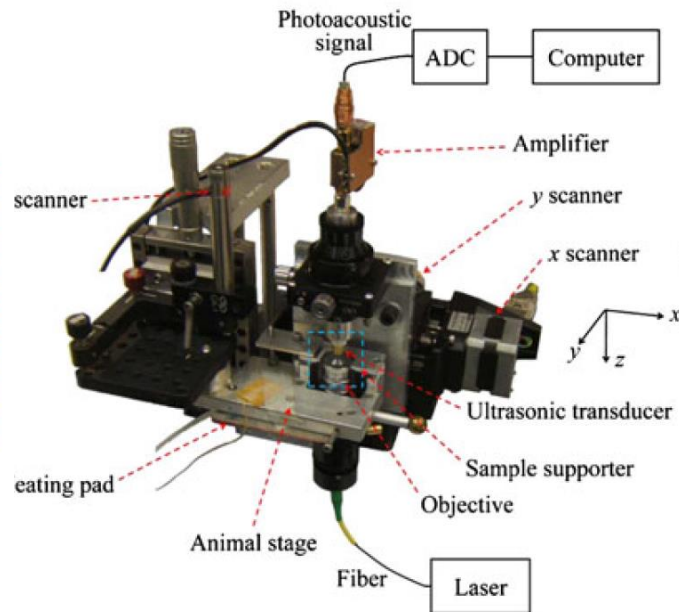
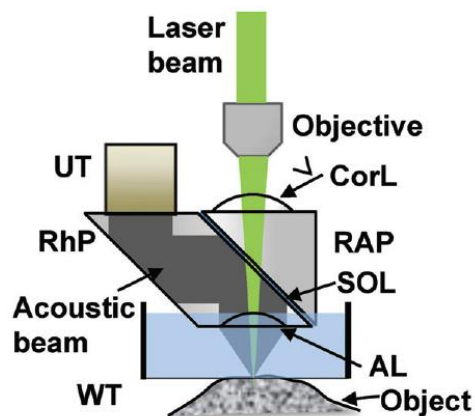


Optical Resolution Photoacoustic Microscopy

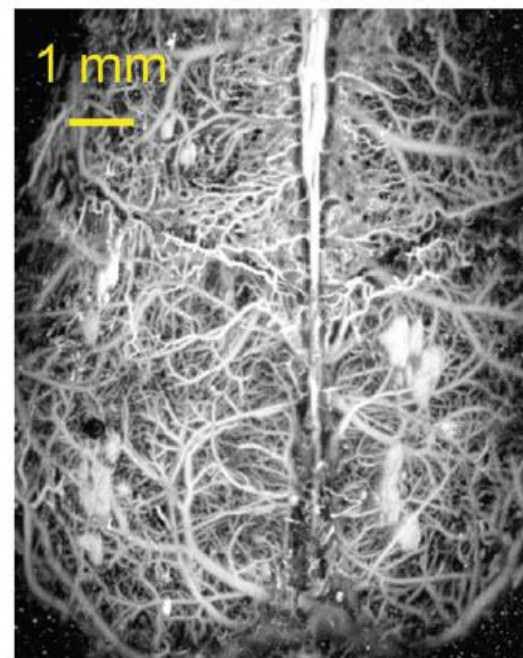
1^η γενιάς OR PAM (διέλευσης)



2^η γενιάς OR PAM (ανάκλασης)



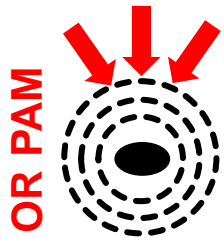
Τα 1^ης γενιάς OR PAM μικροσκόπια αν και πιο απλά, δεν επιτρέπουν την απεικόνιση δειγμάτων μεγάλου πάχους



- CorL:** Correction Lens
- RAP:** Right Angled Prism
- SOL:** Silicon Oil Layer
- RhP:** Rhomboid Prism
- AL:** Acoustic Lens
- UT:** Ultrasound Transducer
- WT:** Water Tank

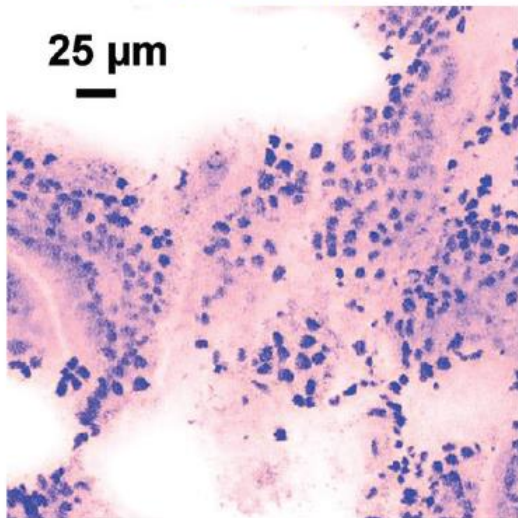


Αγγειακό σύστημα εγκεφάλου ζωντανού ποντικού (scalp removed)



Optical Resolution Photoacoustic Microscopy

DNA/RNA

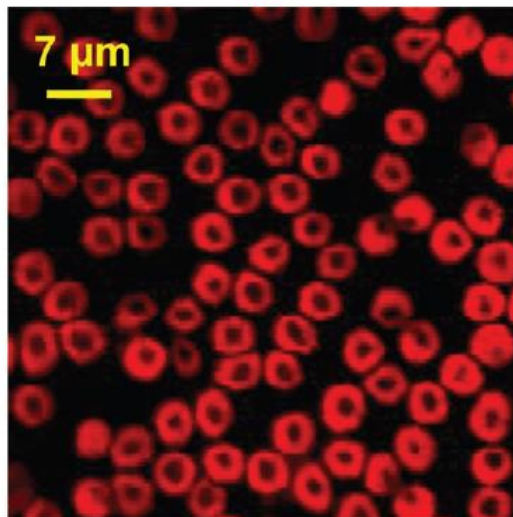


Yao et al., Opt. Lett. 35(24), (2010)



OR PAM of cell nuclei in a
6 μm thick slice from
mouse small intestine (UV)

Hb

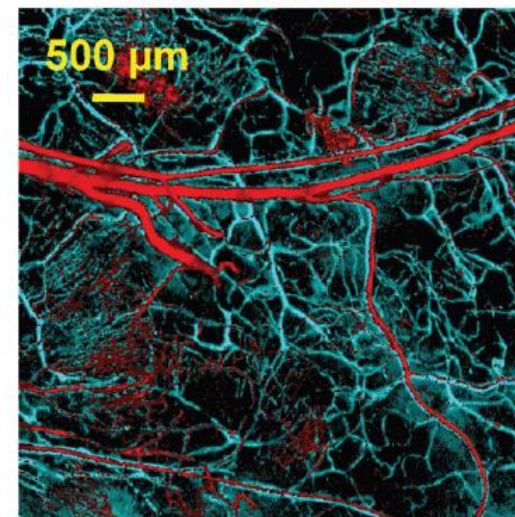


Zhang et al., Opt. Lett. 35(19), (2010)



OR PAM of red blood cells

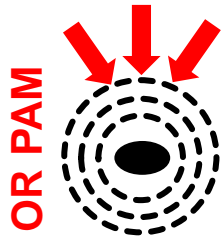
Hb/Evans blue



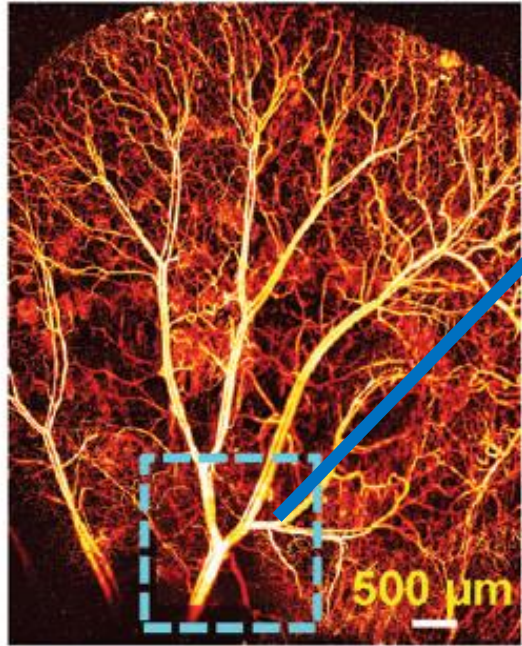
Jiao et al., Opt. Expr. 18(4), (2010)



Mouse ear vasculature where
capillaries are enhanced by
Evans blue dye

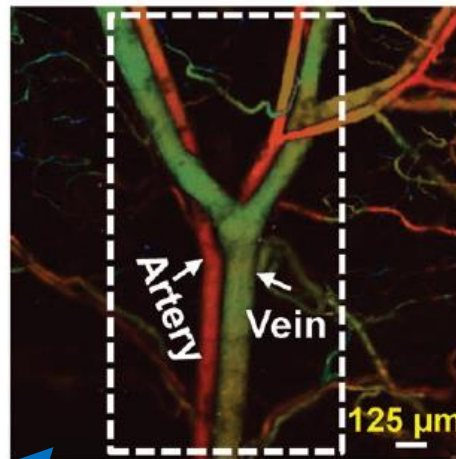


Optical Resolution Photoacoustic Microscopy



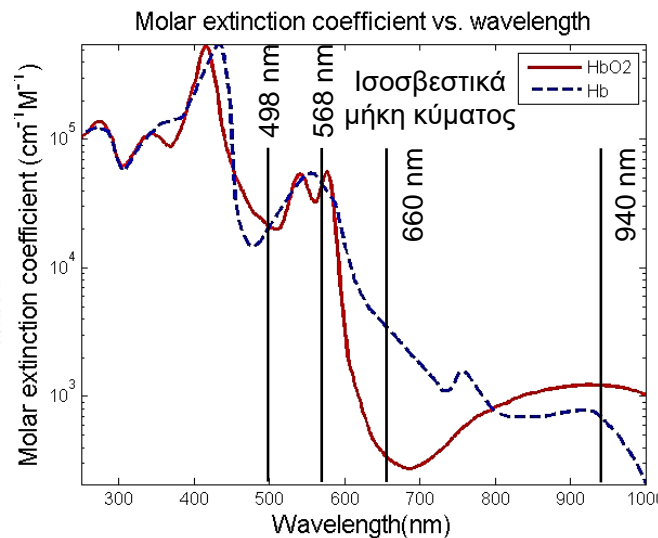
C_{Hb} (g/l)

Συνολική συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης σε αυτή ποντικού μέσω χρήσης ισοσβεστικών μηκών κύματος



sO_2

Κορεσμός οξυγόνου αιμοσφαιρίνης sO_2



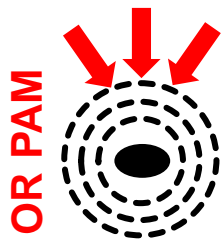
Γραμμικός φασματικός διαχωρισμός

Η φωτεινότητα του κάθε στοιχείου P της εικόνας για ένα μήκος κύματος ακτινοβολίας λ θα εξαρτάται από:

- Τη σχετική συγκέντρωση οξυγονωμένης και μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης C
- Το συντελεστή απορρόφησης για κάθε απορροφητή $\mu(\lambda)$
- Την τοπική ένταση διέγερσης $I(\lambda)$

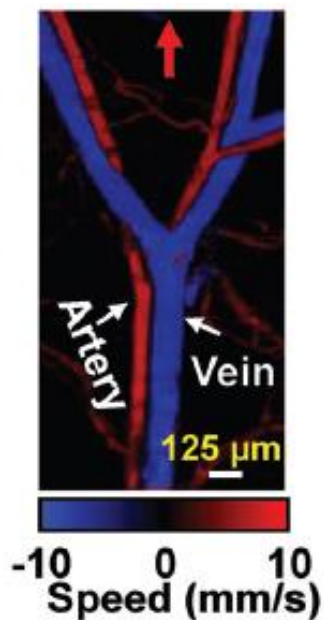
$$P(\lambda) = C_{oxy} * \mu_{oxy}(\lambda) * I(\lambda) + C_{deoxy} * \mu_{deoxy}(\lambda) * I(\lambda)$$



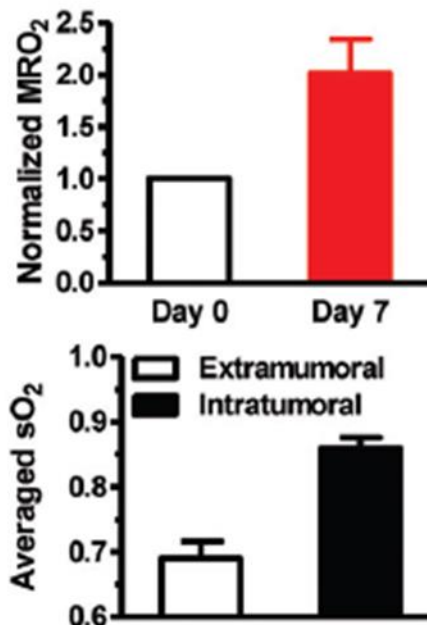
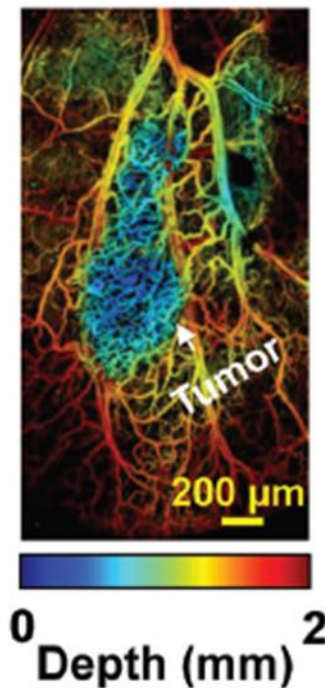


Optical Resolution Photoacoustic Microscopy

Φωτοακουστικό
φαινόμενο Doppler

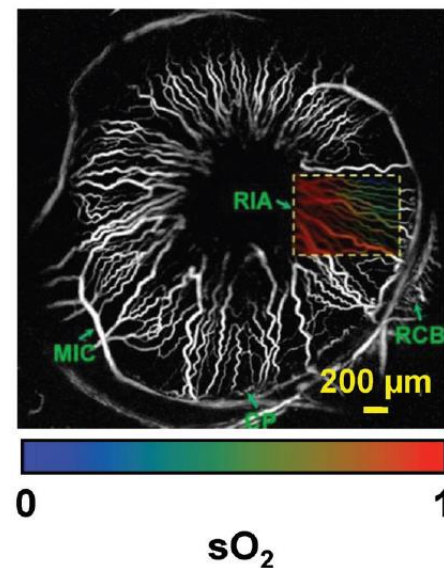


Μεταβολισμός οξυγόνου σε
διαφορετικές περιοχές του όγκου



Ιn vivo μέτρηση αγγείωσης
σε ίριδα ποντικού

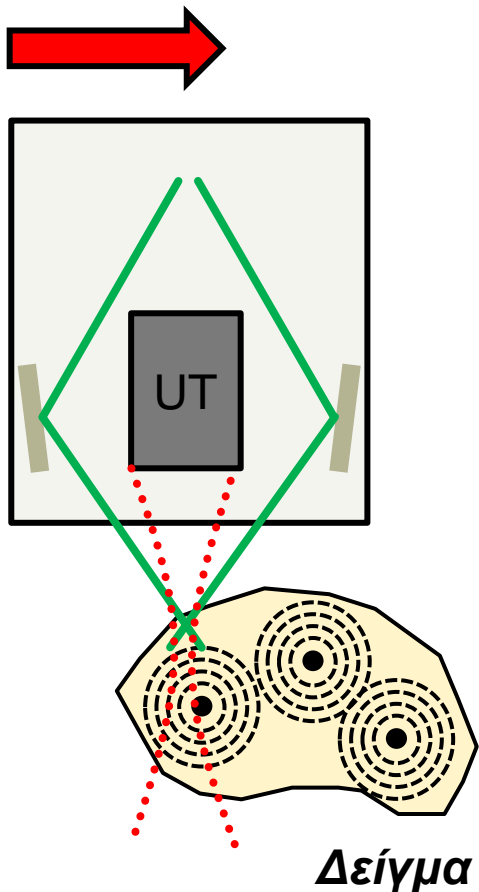
Hu et al., Opt. Lett. 35(1), (2012)



RIA: Radial Iris Artery
MIC: Major Iris Circle
RCB: Recurrent Choroidal
Branch

- ✓ Επιφανειακή ανίχνευση όγκου
- ✓ MRO₂ : Metabolic Rate of Oxygen
- ✓ Ο όγκος παρουσιάζει μη φυσιολογικό μεταβολισμό οξυγόνου (hyperoxia)

AR PAM Acoustic Resolution Photoacoustic Microscopy



Πλευρική ανάλυση



Καθορίζεται από την εστία του ανιχνευτή υπερήχων (~25 μm)

Αξονική ανάλυση



Καθορίζεται από το εύρος συχνοτήτων του ανιχνευτή (~7 μm)

Χρονική ανάλυση



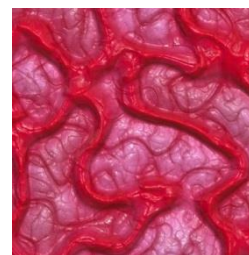
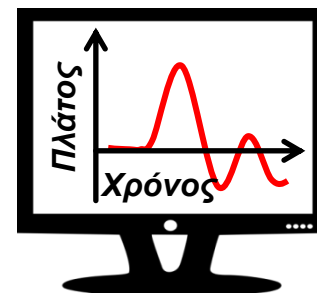
Μηχανική Σάρωση: ~ 10 mins

Βάθος απεικόνισης

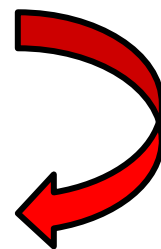


Καθορίζεται κυρίως από την εξασθένηση των υπερήχων (~3-4 mm)

Κάρτα καταγραφής



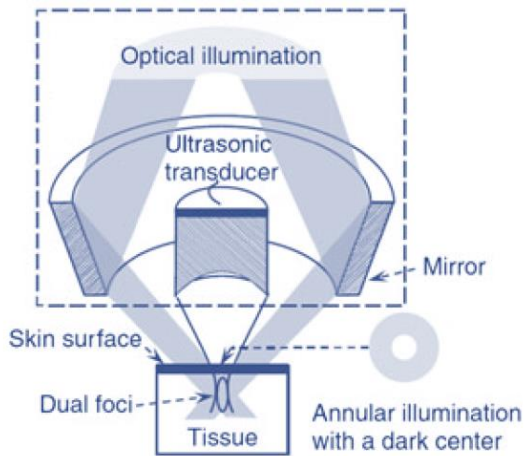
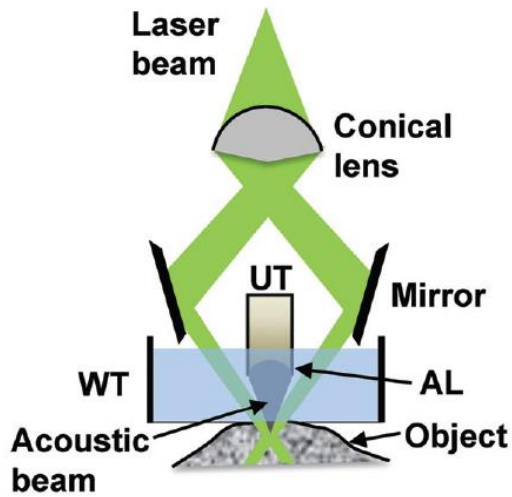
3D Εικόνα



- ✓ Η **πλευρική ανάλυση** προκύπτει από τον περιορισμό της ανίχνευσης μέσω της ακουστικής εστίασης
- ✓ Η **αξονική ανάλυση** προκύπτει από το διαφορετικό χρόνο άφιξης των παραγόμενων σημάτων

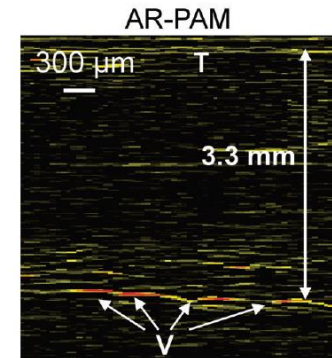
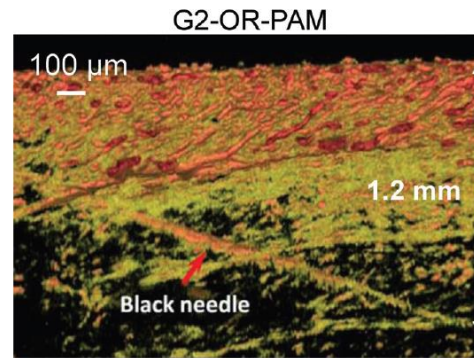
AR PAM

Acoustic Resolution Photoacoustic Microscopy



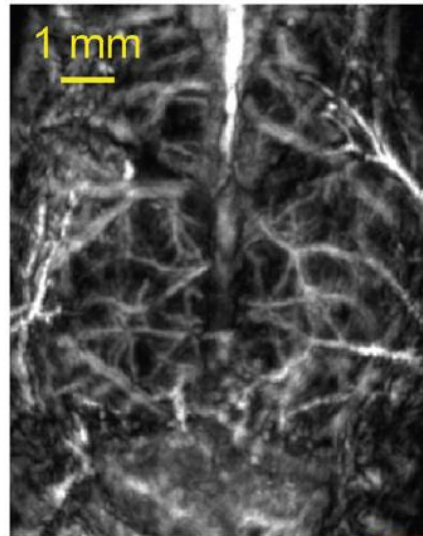
Σύγκριση βάθους απεικόνισης μεταξύ OR PAM vs AR PAM

Zhang et al., Opt. Lett. 35(19), (2010)
Zhang et al., Nat. Biot. 24(7), (2006)



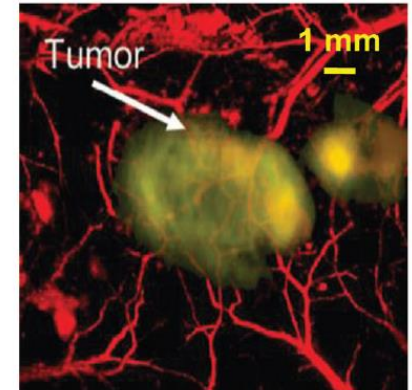
Min Max
PA amplitude (A.U.)

Stein et al., Proc. SPIE 6856, (2008)



Αγγειακό σύστημα εγκεφάλου ζωντανού ποντικού (scalp and skull intact)

Kim et al., Acs Nano 4(8), (2010)



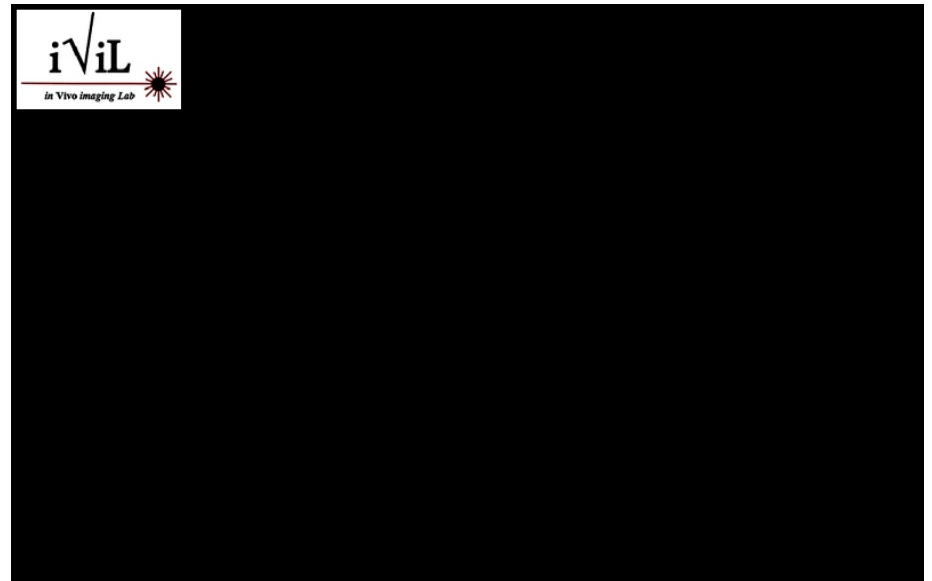
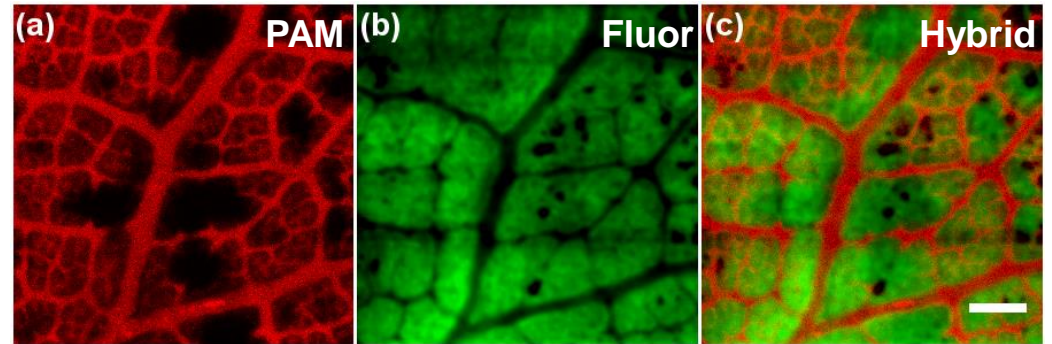
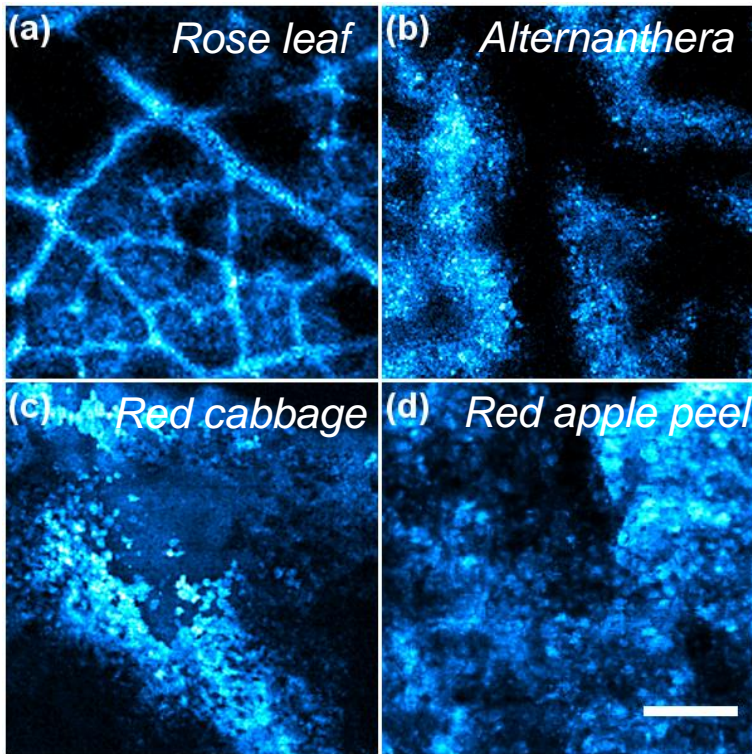
Hb
GNC
0 1
Normalized PA amplitude

Σημασμένος όγκος και περιβάλλοντα αγγεία



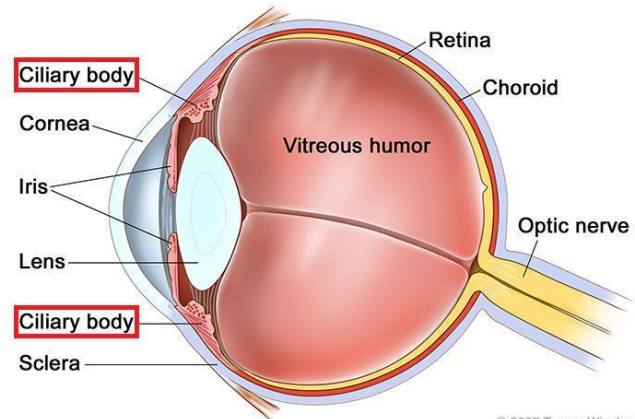
Hybrid photoacoustic and optical imaging of pigments in vegetative tissues

Hybrid imaging of a rose leaf

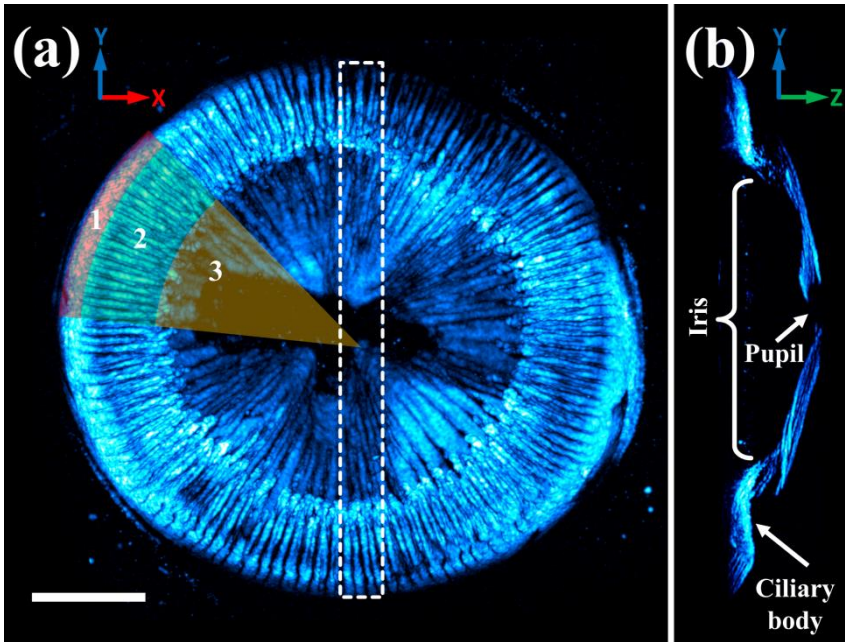




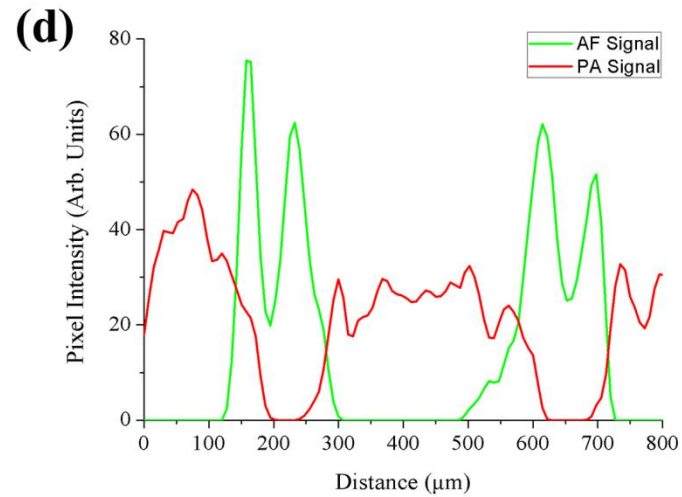
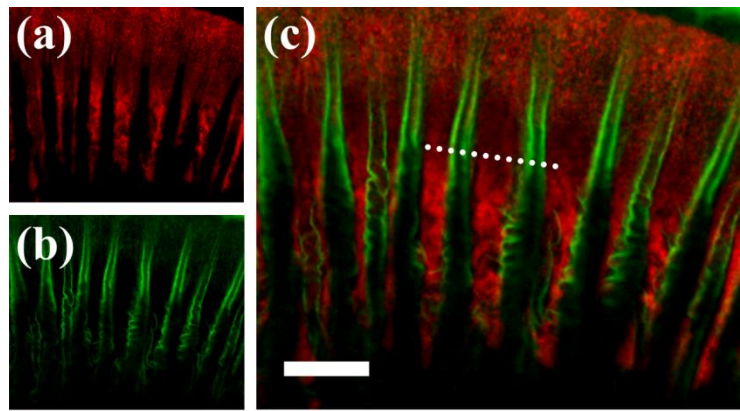
Delineating the anatomy of ciliary body using hybrid photoacoustic and optical imaging



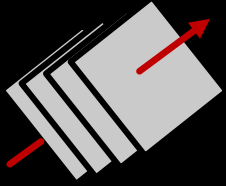
© 2007 Terese Winslow
U.S. Govt. has certain rights



Hybrid imaging of ciliary body region



Z-Stack



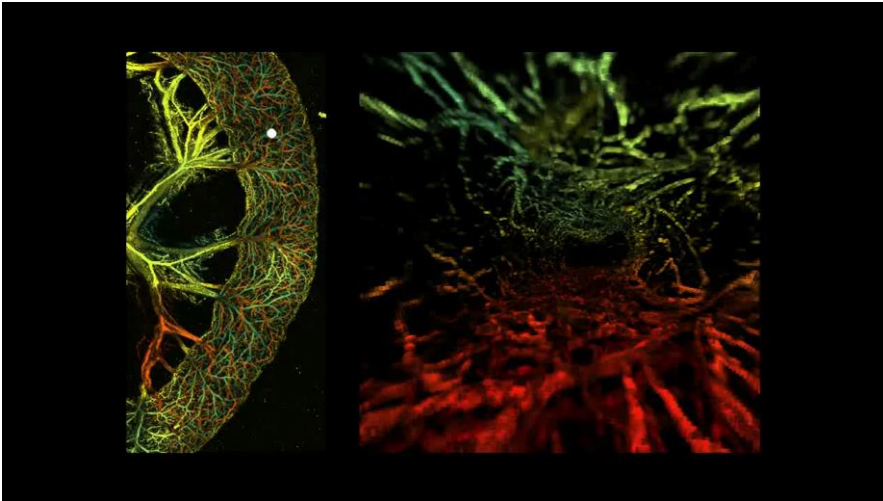
**Progressive
MAP**



**Rotating
3D MAP**



Ποια ερωτήματα πρέπει να μπορούμε να απαντάμε;



<https://www.youtube.com/watch?v=MornTHa9J90>

- Ποια είναι τα δύο είδη της φωτοακουστικής μικροσκοπίας και ποιες οι διαφορές μεταξύ τους;
- Πώς καθορίζεται η χωρική ανάλυση και το βάθος απεικόνισης σε κάθε περίπτωση;
- Ποια πιστεύετε πως είναι τα πλεονεκτήματα της φωτοακουστικής μικροσκοπίας έναντι των αμιγώς οπτικών τεχνικών μικροσκοπίας;
- Πως λειτουργεί ο γραμμικός φασματικός διαχωρισμός απορροφητών;
- Ποιες είναι οι κύριες εφαρμογές της φωτοακουστικής μικροσκοπίας στη βασική έρευνα;