

MĚŘENÍ ULTRAZVUKOVÉHO POLE V ZAŘÍZENÍ PRO OZAŘOVÁNÍ BIOLOGICKÝCH VZORKŮ

J. Vachutka¹, L. Doležal^{1,2}

¹Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, ČR

²Laboratoř pro výzkum medicínských aplikací ultrazvuku, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, ČR

Souhrn

V současné době je intenzivně studován vliv ultrazvukové energie na biologické systémy. Výsledky *in vitro* experimentů není možné objektivně posoudit bez znalosti parametrů ultrazvukového pole, kterému byly biologické vzorky vystaveny. Cílem této práce je určení intenzity ultrazvukového vlnění v zařízení, které využíváme k ozařování nádorových buněk. Biologické vzorky jsou ozařovány běžným terapeutickým ultrazvukovým přístrojem. Aby byla zjištěna optimální vzdálenost mezi měničem a Petriho miskou s biologickým vzorkem, byla ohnisková vzdálenost aplikační hlavice stanovena nejprve měřením ultrazvukového pole v testovací vaně. Intenzita ultrazvuku byla měřena jehlovým hydrofonem. Dále bylo určeno rozložení intenzity ultrazvukového vlnění v Petriho misce. Výsledky měření ukazují, že hodnota intenzity ultrazvuku zobrazovaná na displeji terapeutického ultrazvukového přístroje není dostačující pro popis parametrů ultrazvukového pole, kterému jsou biologické vzorky vystaveny během *in vitro* experimentů. Jedinou objektivní metodou pro zjištění těchto parametrů v zařízení pro ozvučování biologických vzorků tedy zůstává jejich experimentální stanovení.

Klíčová slova

ozařování ultrazvukem, ultrazvukové pole, hydrofon

MEASUREMENT OF ULTRASOUND FIELD IN INSONATION APPARATUS

Abstract

The effect of ultrasound energy on biological systems is intensively investigated. The results of *in vitro* experiments cannot be objectively evaluated without the knowledge of the parameters of ultrasound field which the biological samples were exposed to. The aim of this work is to determine the intensity of ultrasound field in an apparatus which is used during ultrasound irradiation of biological samples. Biological samples are irradiated by a conventional therapeutic ultrasound device. The ultrasound field of the application head was measured first in ultrasonic measurement tank to determine a focal length of the head which is an optimum distance between the source of ultrasound and the Petri dish with the biological sample. The ultrasound intensity was measured using a needle hydrophone. Then we determined the ultrasound intensity distribution within the Petri dish. We measured ultrasound intensity within two planes parallel to the dish bottom. We revealed that the intensity distribution within the Petri dish is not uniform. We can conclude that spatial average ultrasound intensity in the centre of Petri dish reaches 10–40 % of the value set on the therapeutic device. Spatial average ultrasound intensity at the edge of Petri dish is approximately half compared to the value in the centre. However, it is possible to measure significantly higher values in local maxima of ultrasound intensity. The results of the measurements show that the value of the ultrasound intensity which is displayed on the therapeutic ultrasound device is not sufficient for the description of ultrasound field parameters in the insonation apparatus. The measurement of the ultrasound intensity is therefore the only one objective method of determination of these parameters.

Keywords

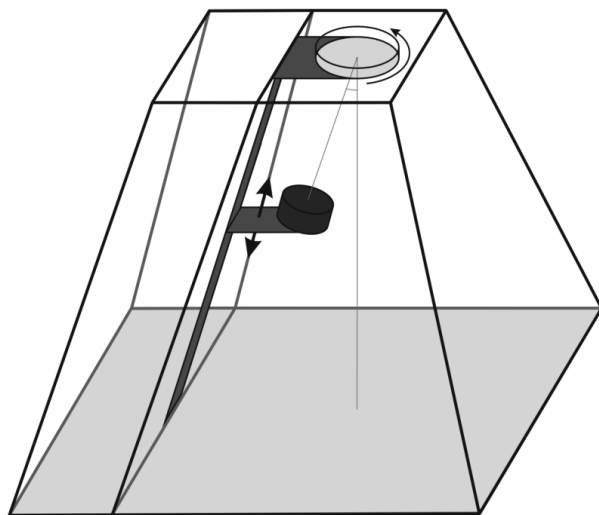
ultrasound irradiation, ultrasound field, hydrophone

Úvod

V současné době je intenzivně studován vliv ultrazvukové energie na biologické systémy. Naše pracoviště se

zaměřuje na možné využití ultrazvuku v léčbě nádorových onemocnění prostřednictvím kombinované fotodynamické a sonodynamické terapie [1]. Výsledek sonodynamické terapie není možné objektivně posoudit bez znalosti para-

metrů ultrazvukového pole, kterému byl biologický vzorek vystaven. Cílem této práce je určení intenzity ultrazvukového vlnění v zařízení, které využíváme k ozařování nádorových buněk. Toto zařízení je tvořeno nádobou z plexiskla ve tvaru čtyřbokého komolého jehlanu, držákem ultrazvukové hlavičky, držákem Petriho misky, termostatem a topným tělesem (obr. 1).



Obr. 1: Zařízení pro ozařování biologických vzorků

Nádoba je naplněna destilovanou vodou do výše držáku Petriho misky. Teplota vody je udržována na konstantní hodnotě 37°C. Držák ultrazvukové hlavičky se nachází ve vnitřním prostoru nádoby, přičemž je možné měnit vzájemnou vzdálenost mezi zdrojem ultrazvuku a Petriho miskou. Zařízení je navrženo tak, že osa ultrazvukového paprsku vyzařovaného zdrojem prochází středem misky v celém rozsahu nastavení této vzdálenosti. Ultrazvukový paprsek dopadá na dno misky pod úhlem 15°. Tvar nádoby snižuje prostřednictvím vhodných odrazových ploch pravděpodobnost vzniku interferenčních jevů, aby tak bylo zajištěno co nejrovnoměrnější ozvučení biologického vzorku. Ze stejného důvodu je držák Petriho misky vybaven zařízením, které během aplikace ultrazvuku otáčí misku kolem její svislé osy. Technické řešení celého zařízení je popsáno v užitém vzoru č. CZ 19375 [2].

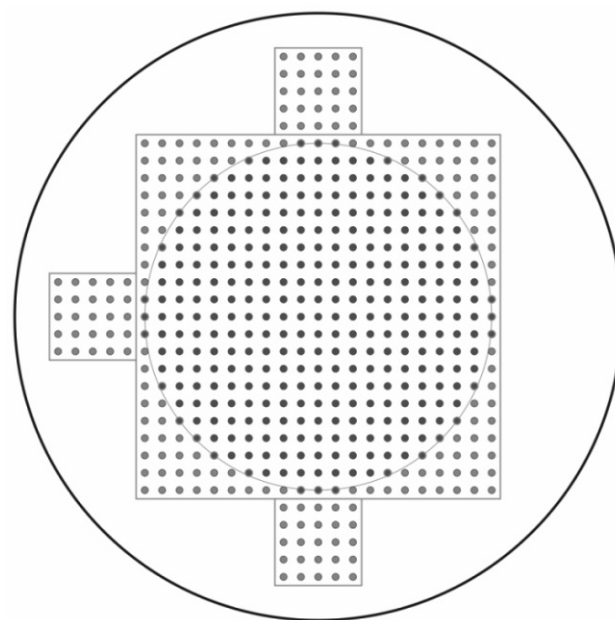
Metody

Vzorky byly ozařovány terapeutickým ultrazvukovým přístrojem BTL 4000, který je vybaven aplikační hlavičkou s kruhovým měničem. Efektivní vyzařovací plocha této hlavičky je 3,2 cm². Během všech měření byly na terapeutickém ultrazvukovém přístroji nastaveny následující parametry: frekvence 1 MHz a intenzita 2 W cm⁻². Intenzita ultrazvuku byla měřena jehlovým hydrofonem o průměru 0,5 mm

(Precision Acoustics, United Kingdom).

Aby byla zjištěna optimální vzdálenost L mezi aplikační hlavičkou a Petriho miskou, která odpovídá délce tzv. blízkého pole měniče, bylo ultrazvukové pole aplikační hlavičky měřeno nejprve v testovací vaně (Precision Acoustics, United Kingdom), která umožňuje vytvářet pravoúhlé sítě měřených bodů ve zvolené rovině. Intenzitu jsme měřili v ose paprsku ve vzdálenosti $z = 10\text{--}200$ mm od aplikační hlavičky. Vzdálenost L byla určena jako vzdálenost od aplikační hlavičky, ve které intenzita ultrazvuku dosahovala posledního maxima. Dále jsme určili rozložení intenzity v rovině kolmé k ose paprsku, která se nachází ve vzdálenosti L od aplikační hlavičky (sít 41 × 41 bodů, vzdálenost mezi body 1 mm, centrální bod v ose paprsku).

Během měření rozložení intenzity ultrazvuku v Petriho misce o průměru 35 mm byla aplikační hlavička ultrazvukového přístroje umístěna do vzdálenosti L ode dna misky. Výška hladiny roztoku s biologickým vzorkem dosahovala přibližně 2 mm. Pro účely měření intenzity ultrazvukového pole byl biologický vzorek nahrazen destilovanou vodou. Intenzitu jsme měřili ve dvou rovinách rovnoběžných se dnem misky, které se nacházejí v hloubkách $d = 0,4$ a 0,6 mm pod hladinou vody. V obou rovinách jsme určili rozložení intenzity s využitím příslušenství testovací vany. Obr. 2 znázorňuje schéma měření a zpracování výsledků.



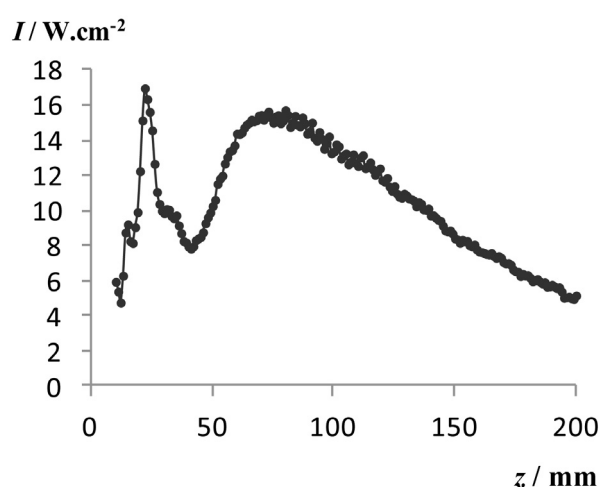
Obr. 2: Schéma měření a zpracování výsledků

Aby byla pokryta celá plocha misky, byla intenzita měřena jednak v centru misky (sít 21 × 21 bodů, vzdálenost mezi body 1 mm, centrální bod ve středu misky) a jednak na okraji misky (3 sítě o 5 × 5 bodech, které se nacházejí mimo oblast předchozího měření). V obou rovinách jsme provedli 3 měření a vyhodnotili jsme statistické parametry.

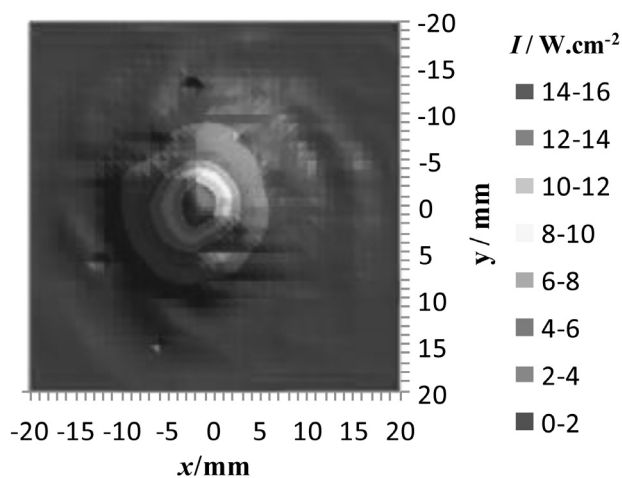
Prostorově průměrná intenzita ultrazvuku v centru misky I_C byla vypočtena z hodnot naměřených v bodech, jejichž vzdálenost od středu misky je menší než 10 mm (v obr. 2 vyznačeny fialově). Prostorově průměrná hodnota intenzity na okraji misky I_E byla vypočtena z hodnot naměřených v bodech, jejichž vzdálenost od středu misky je větší než 10 mm (v obr. 2 vyznačeny oranžově).

Výsledky

Grafy 1 a 2 ukazují hodnoty intenzity ultrazvuku naměřené v testovací vaně.



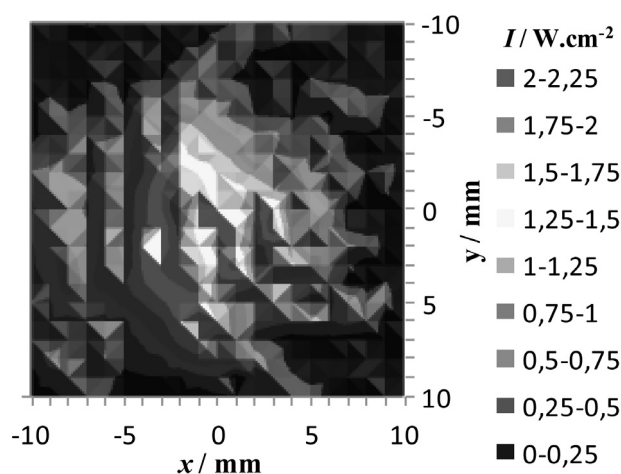
Graf 1: Intenzita ultrazvuku v ose paprsku



Graf 2: Rozložení intenzity v $z = L$

Z grafu 1 jsme určili, že optimální vzdálenost pro ozvučování biologických vzorků je pro danou aplikační hlavici $L = 80$ mm.

Graf 3 ukazuje rozložení intenzity ultrazvuku v Petriho misce v hloubce $d = 0,4$ mm.



Graf 3: Intenzita v centru Petriho misky ($d = 0,4$ mm)

Vypočtené hodnoty průměrné intenzity v centru misky I_C a na okraji misky I_E jsou shrnuty v tabulce 1.

Tab. 1: Průměrné hodnoty intenzity v Petriho misce

d / mm	$I_C / \text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$	$I_E / \text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$
0,4	$0,67 \pm 0,15$	$0,29 \pm 0,16$
0,6	$0,23 \pm 0,05$	$0,15 \pm 0,06$

Diskuze

Z výsledků měření vyplývá, že hodnota intenzity zobrazená na displeji terapeutického ultrazvukového přístroje není dostačující pro popis parametrů ultrazvukového pole, kterému jsou biologické vzorky vystaveny během in vitro experimentů. Bylo ověřeno, že jak v testovací vaně, tak v Petriho misce dosahuje intenzita ultrazvuku maximálních hodnot v ose paprsku. Ačkoliv byla intenzita nastavena na $2 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$, v ose paprsku jsme ve vzdálenosti L od aplikační hlavice naměřili v testovací vaně hodnotu intenzity $15,7 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$. Hodnoty naměřené v Petriho misce jsou oproti hodnotám naměřeným v testovací vaně několikanásobně nižší. Příčinou tohoto snížení intenzity jsou rozdílné vlastnosti prostředí, kterým se ultrazvuk šíří. V testovací vaně je ultrazvuková energie vyzařována do homogenního prostředí destilované vody. V zařízení na ozařování vzorků se ultrazvuk šíří také destilovanou vodou, takže před dopadem na dno Petriho misky by měla intenzita dosahovat podobných hodnot jako v grafu 2. Rozhraní mezi vodou a dnem misky však představuje rozhraní dvou prostředí s rozdílnou akustickou impedancí, kde dochází k odrazu ultrazvukové energie. Ke stejnému jevu dochází také na rozhraní mezi dnem misky a roztokem s biologickým vzorkem. To vede k výslednému poklesu intenzity oproti homogennímu prostředí. Výsledky uvedené v tabulce 1 ukazují, že rozložení intenzity v jednotlivých hloubkách pod hladinou není rovnoměrné. V hloubce 0,4 mm byla

v centru misky naměřena přibližně 3 krát vyšší průměrná intenzita než v hloubce 0,6 mm. To lze vysvětlit odrazem ultrazvukových vln od hladiny kapaliny v Petriho misce, která představuje další rozhraní dvou prostředí s rozdílnou akustickou impedancí. Ultrazvukové pole v Petriho misce je pak výsledkem interference mezi vlnami vysílanými aplikační hlavicí a vlnami odraženými od hladiny, což vede ke vzniku stojatých vln a v jejich důsledku maxim a minim intenzity a tím k prostorově nerovnoměrnému rozložení energie v kapalině. Maximální hodnota intenzity zjištěná během měření v Petriho misce byla $3,4 \text{ W cm}^{-2}$. Aby bylo zajištěno co nejrovnoměrnější ozáření biologického vzorku, miska se během ozvučování otáčela, takže žádná z buněk se trvale nenacházela v oblasti maxima či minima intenzity ultrazvukové energie. Z naměřených výsledků lze usoudit, že průměrná intenzita ultrazvuku dosahuje v Petriho misce 10–40 % z hodnoty nastavené na terapeutickém přístroji. V lokálních maximech je ovšem možné naměřit hodnoty výrazně vyšší.

Závěr

Výsledky našeho měření prokázaly, že při hodnocení parametrů ultrazvukového pole, kterému jsou vystaveny biologické vzorky, nelze vycházet pouze z údajů o intenzitě ultrazvuku vyzařované terapeutickým přístrojem. Vedle zdroje ultrazvukového vlnění je totiž ultrazvukové pole zásadně ovlivněno vlastnostmi prostředí, kterým se ultrazvuková energie šíří, a tedy i technickým řešením zařízení pro ozáření biologických vzorků. Vzhledem ke komplexnosti problému není možné jednoduše určit para-

metry ultrazvukového pole na základě údajů o vyzařované intenzitě a o vlastnostech prostředí mezi aplikační hlavicí a ozařovaným vzorkem. Jedinou objektivní metodou pro zjištění těchto parametrů v zařízení pro ozařování biologických vzorků ultrazvukem tedy zůstává jejich experimentální stanovení.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem LF_2011_009.

Literatura

- [1] Kolarova, H., Tomankova, K., Bajgar, R., Kolar, P., Kunbinek, R. *Photodynamic and Sonodynamic Treatment by Phthalocyanine on Cancer Cell Lines*. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 2009, vol. 35, no. 8, pp. 1397–1404.
- [2] Užitečný vzor č. CZ 19375: Zařízení pro ozařování vzorků ultrazvukem [online]. Dostupný z <<http://spisy.upv.cz/UtilityModels/FullDocuments/FDUM0019/uv019375.pdf>> [cit. 31. 10. 2011].

Mgr. Jaromír Vachutka
Ústav lékařské biofyziky
Lékařská fakulta
Univerzita Palackého v Olomouci
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc

E-mail: jaromir.vachutka@upol.cz
Tel.: 585 632 113