

BIOFYZIKÁLNÍ PRINCIPY FOTOAKUSTICKÉ TOMOGRAFIE

Ivo Hrazdira¹, Ladislav Doležal²

¹Biofyzikální ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno

²Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc

Souhrn

Fotoakustická tomografie je nová biomedicínská zobrazovací metoda, založená na fotoakustickém jevu, popsaném již v roce 1880 G. Bellem. V současné experimentální podobě se jedná o hybridní metodu, spojující optické a ultraakustické zobrazení. Algoritmus fotoakustického zobrazení zahrnuje 3 základní kroky: Generování elektromagnetického impulsu v oblasti viditelného nebo infračerveného spektra, snímání fotoakustických signálů a tvorbu tomografického obrazu. Na základě literárních údajů jsou uvedeny příklady praktického využití.

Klíčová slova

fotoakustický jev, fotoakustické zobrazení, tomografie, akustická detekce

BIOPHYSICAL PRINCIPLES OF PHOTOACOUSTIC TOMOGRAPHY

Abstract

Photoacoustic tomography is a new biomedical imaging method based on photoacoustic phenomenon already described in 1880 by G. Bell. In the present experimental form represents a hybrid method, combining optical and ultrasonic imaging. The algorithm of photoacoustic imaging procedure includes 3 basic steps: generating an electromagnetic pulse in the visible or infrared spectrum, exploring of photoacoustic signals and tomographic image formation. Based on literature data are examples of practical applications.

Keywords

photoacoustic effect, photoacoustic imaging, tomography, acoustic detection

Úvod

V posledních dvou desetiletích jsme svědky prudkého rozvoje řady biomedicínských technologií, které hledají místo v lékařské diagnostice či terapii. Jednou z nich je fotoakustické zobrazení. Z fyzikálního hlediska je založeno na fotoakustickém jevu. Tento jev, označovaný též jako optoakustický nebo termoakustický, byl popsán A. G. Bellem již v roce 1880 [1]. Šlo o zjištění, že v objektech ozářených přerušovaným slunečním světlem jsou generovány akustické vlny. K praktickému využívání tohoto jevu dochází až v souvislosti s rozvojem laserové technologie. Fotoakustické zobrazení se v oblasti biologie a medicíny realizuje v několika podobách, jako fotoakustické tomografie (PAT), fotoakustická flowmetrie (PAFM) a fotoakustická mikroskopie (PAM) [2,3]. Pokud se k buzení fotoakustických impulsů používá část elektromagnetického spektra o delší vlnové délce než viditelné světlo (infračervená nebo mikrovlnná), označuje se metoda jako termoakustická tomografie (TAT).

Algoritmus fotoakustické tomografie (PAT)

- Generování fotoakustického signálu

Ozařovaný objekt absorbuje energii elektromagnetického záření, přemění ji v teplo, v jehož důsledku vzroste teplota objektu. Zvýšení teploty vede k tepelné expanzi, která vytváří akustický tlak v daném prostředí. Stálá tepelná expanze však akustické vlny nevytváří. Tepelný zdroj musí být časově proměnný. Toho lze dosáhnout dvěma způsoby: elektromagnetickými impulsy nebo amplitudově modulovaným souvislým zářením. Výhodnější jsou elektromagnetické impulsy, protože vykazují lepší poměr signál/šum a navíc umožňují určení vzdálenosti fotoakustického zdroje podle časového průběhu signálu.

Jakým způsobem absorbují biologické objekty elektromagnetickou energii?

Všechny látky jsou tvořeny nabitými částicemi. I elektrická neutralita vzniká v důsledku stejného množství opačně nabitých částic. Elektromagnetické záření interaguje s těmito nabitými systémy různým způsobem (elastic-

kým rozptylem, Ramanovým rozptylem, absorpcí apod.). I samotná absorpce elektromagnetické energie může mít různou formu. Může být transformována v teplo, využita jako zdroj energie pro chemické reakce nebo může být reemitována např. ve formě fluorescenčního záření. Pro vznik fotoakustického jevu je důležitá jen ta část absorbované energie, která se přeměnila v teplo. Absorpční schopnost závisí rovněž na řadě faktorů, jako je např. molekulová struktura, iontová hustota, vlastnosti okolního prostředí, vlnová délka elektromagnetického záření, jeho polarizace apod.

V současné době vyvíjené fotoakustické systémy používají jako zdroj ozáření pulsních laserů s typickou délkou pulsů ~ 10 ns. Množství vzniklého tepla je úměrné energetické hustotě ozáření. Při uvedené délce pulsu je tepelná difúze zanedbatelná. Např. u biologického objektu ozářeného pulsním laserem o vlnové délce 800 nm se známým absorpčním koeficientem pro tuto vlnovou délku ($\mu_a = 4,3 \text{ cm}^{-1}$) je hustota odevzdaného tepla $9 \cdot 10^4 \text{ Jm}^{-3}$ a tomu odpovídá tlaková vlna $p_0 = 22 \text{ kPa}$. Tlaková vlna generovaná fotoakustickým jevem má určité vlastnosti: Ačkoliv vzniká jako pozitivní, průchodem biologickým prostředím nabývá bipolární tvar (tzv. N tvar). Hodnota tlaku akustické vlny je přímo úměrná velikosti zdroje a nepřímo úměrná jeho vzdálenosti. Časová šíře signálu z jediného objektu je úměrná jeho velikosti, tzn., že menší objekt obsahuje vyšší frekvenční komponenty v generovaném fotoakustickém spektru.

Nárůst akustického tlaku ΔP v důsledku absorpce optické energie laserového záření v ozářeném objemu tkáně je vyjádřen vzorcem

$$\Delta P = \frac{c_0^2 \beta}{C_p} \mu_a F = \Gamma \mu_a F, \quad (1)$$

kde c_0 [m/s] je rychlost šíření zvuku ve tkáni, β [K^{-1}] je teplotní koeficient objemové roztažnosti, C_p [J/gK] je teplotní kapacita tkáně při konstantním tlaku, μ_a [cm^{-1}] je absorpční koeficient tkáně a F [J/ cm^2] je hustota energie (fluence) laseru. Bezrozměrný Grüneisenův parametr Γ představuje termoakustickou efektivitu [4].

- Šíření elektromagnetického záření a ultrazvukových vln tkáněmi

Pro fotoakustické zobrazení se používají spektrální oblasti elektromagnetického záření: optická a radiofrekvenční, včetně mikrovlnné. Šíření elektromagnetického záření obou těchto oblastí ve tkáních je však rozdílné.

Propagaci světelného záření lze modelovat vyzařovací rovnicí, a to ve dvou podobách, a to pro balistický režim (2) a pro difuzivní režim (3):

$$\Phi(z) = \Phi_0 e^{-\mu_a z}, \quad (2)$$

kde Φ - je zářivý tok, μ_a - absorpční koeficient, z - hloub-

ka průniku.

Při balistickém režimu zachovávají fotony svůj původní směr a hodnota zářivého toku v uvažované hloubce x závisí jen na absorpčním koeficientu.

V difuzivním režimu je situace složitější. Fotony se rozptylují do různých směrů a hodnota zářivého toku v hloubce z nabývá podoby:

$$\Phi(z) \approx \Phi_0 e^{-\mu_e f z}, \quad (3)$$

kde exponent $\mu_e f = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$, kde μ'_s je tzv. redukovaný koeficient rozptylu. Z rovnice (3) vyplývá, že útlum světla závisí při difuzivním režimu jak na koeficientu absorpce, tak na koeficientu rozptylu, který má ve tkáních mnohem větší hodnotu než koeficient absorpce ve srovnání s homogenním prostředím.

Přechod mezi balistickým a difuzivním režimem představuje tzv. střední volná transportní dráha, která má pro viditelné světlo hodnotu přibližně 1 mm. Dráha fotonů v difuzivním režimu je asi 10krát delší (~ 1 cm). Překonání této poměrně malé penetrace světla do tkání nabízí použití radiofrekvenční oblasti nebo mikrovln pro fotoakustickou excitaci. Vzhledem k tomu, že vlnová délka radiofrekvenčních vln je řádově shodná s velikostí zobrazovaných struktur, je propagace elektromagnetického záření této části spektra spojena s výraznou difrakcí.

Na rozdíl od elektromagnetického záření vykazují akustické vlny, vzniklé v důsledku fotoakustické excitace, mnohem nižší koeficient rozptylu (až o 3 řády), takže rozptyl akustických vln může být při propagaci fotoakustické vlny zanedbán. Nicméně útlum akustických vln nemůže být zanedbán při vysokých frekvencích a u silně absorbujících akustických prostředí. Koeficient útlumu, pohybující se u běžně používaných zobrazovacích frekvencích kolem hodnoty $\sim 0,3 \text{ dB/cm/MHz}$, může v těchto případech vzrůst až na desetinásobek této hodnoty.

Akustická heterogenita tkání se u fotoakustického zobrazení projevuje méně než u čistě akustické detekce. Je to mimo jiné způsobeno tím, že na rozdíl od impulsní odrazové ultrazvukové metody je průběh fotoakustické vlny jen jednosměrný.

- Snímání fotoakustických signálů

Protože u fotoakustického zobrazení jsou přijímaným signálem ultrazvukové vlny o širokém spektru frekvencí, musí být pro jejich zachycení a převod na elektrický signál používány ultrazvukové měniče, dostatečně citlivé v celém frekvenčním pásmu přijímaného signálu. Přijímací sonda může být tvořena jedním nebo více měniči, jejichž signály jsou synchronně zesíleny. Mohou tak být využity i širokopásmové elektronické multikrystalové sondy běžných ultrasonografů [5]. Mezi zobrazovanou tkání a přijímací sondou musí být zajištěn vhodný akustický kontakt. V experimentálních sestavách to bývá nejčastěji vodní lázeň, v klinic-

kých aplikacích, například při snímání povrchových cév je používán průzračný gel.

Analogový elektrický signál, který je generován na výstupu měniče (měničů), je po zesílení digitizován a dále zpracován v zobrazovacím systému.

- Tvorba tomografického obrazu

Světelné impulzy laseru jsou nejčastěji aplikovány s pomocí vláknové optiky opatřené vhodným optickým systémem pro zaměření světelného pulzu do zobrazované linie. Složitější optické systémy jsou používány u laboratorních zařízení, vyžadujících větší flexibilitu nastavení optického buzení. Ozařovací systém vysílá světelné impulzy s odstupem laterálního skenovacího kroku místo po místo ve směru skenování v zobrazovací rovině. Tím je dosaženo postupné prozařování zobrazované tkáně při tvorbě dvourozměrného obrazu. V případě trojrozměrného zobrazení je zobrazovací rovina před započítáním snímání dalšího skenu vždy posunuta o transversální skenovací krok ve směru třetího rozměru.

Obrazová frekvence zobrazovacího systému je limitována opakovací frekvencí laserových pulzů a počtem zobrazovacích linií v jednom snímku. Vzhledem k malé dráze, kterou prochází ultrazvukový signál z místa jeho generování k ultrazvukové sondě, není rychlost šíření ultrazvuku překážkou dosažení vyšší obrazové frekvence. Fournelle [5] uvádí při použití laseru Nd:YAG dosaženou obrazovou frekvenci až 20 snímků/s při dvourozměrném zobrazení povrchové vaskulatury na hřbetu ruky.

Lokalizace místa, ze kterého je přijímán aktuální signál je odvozena ze směru vyslaného světelného paprsku a zpoždění přijatého akustického signálu proti okamžiku vyslání světelného impulzu. Systém je tím podobný klasické sonografii s tím rozdílem, že hloubka aktuálně zobrazovaného bodu je počítána z rychlosti šíření ultrazvuku v zobrazované tkáni a celé doby mezi vysláním budícího impulzu a příjmem příslušného signálu. Rychlost šíření elektromagnetických vln ve tkáni je řádově 105krát větší než rychlost šíření ultrazvuku a tudíž doba průchodu budícího impulzu do místa generování ultrazvukového signálu je z tohoto pohledu zcela zanedbatelná.

Tvar a směr zobrazovací roviny je určen parametry světelného paprsku, nikoliv vyzařovací charakteristikou ultrazvukové sondy. Ta slouží pouze k efektivnímu zachycení vygenerovaných ultrazvukových vln.

Vzhledem k tomu, že je přijímán signál vytvářen přímým účinkem a nikoliv odrazem vyzařované světelné energie v místě zobrazované struktury, je dosaženo větší hloubky zobrazení než klasickým optickým systémem. Nedochozí k absorpci světla na cestě od objektu k snímači, tuto dráhu prochází méně absorbované ultrazvukové vlny.

- Kontrastní látky pro fotoakustické zobrazení

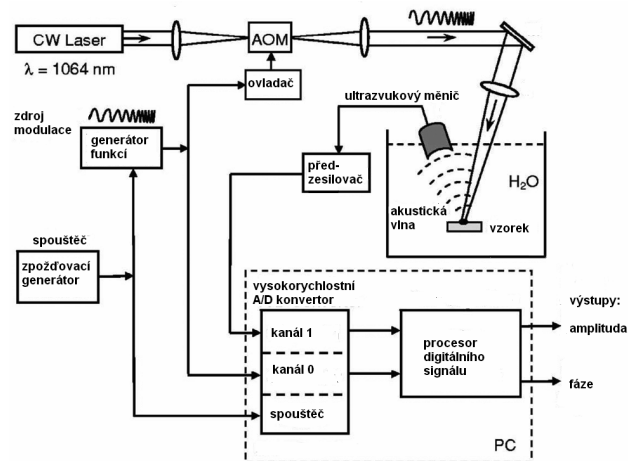
Optická absorpce v biologických tkáních je způsobena jednak endogenními molekulami, jednak exogenně vpravenými kontrastními látkami [6]. Příkladem endogenně absorbující molekuly je hemoglobin [7]. Kontrastní látkou mohou být barviva nebo nanočástice. Představitelem barvivových kontrastních látek je např. indocyaninová zeleň, která má absorpční maximum v blízké infračervené oblasti [8]. Zkouší se také použití metylénové modři [9]. Výhodou většiny barviv je, že nejsou toxické, nevýhodou je krátký cirkulační čas při aplikaci do krevního oběhu. Ve srovnání s barvivou vykazují nanočástice vysoké a laditelné absorpční spektrum a delší cirkulační čas. Absorpční maximum se mění s tvarem a velikostí částice [10].

Užití fotoakustických kontrastních látek umožňuje molekulární zobrazení, a to dvěma hlavními mechanismy:

- Určité kontrastní látky mění své absorpční vlastnosti v optické nebo radiofrekvenční oblasti spektra v důsledku změn na molekulové úrovni.
- Kontrastní látky se specifickými absorpčními spektry se mohou vázat na určité bílkoviny.

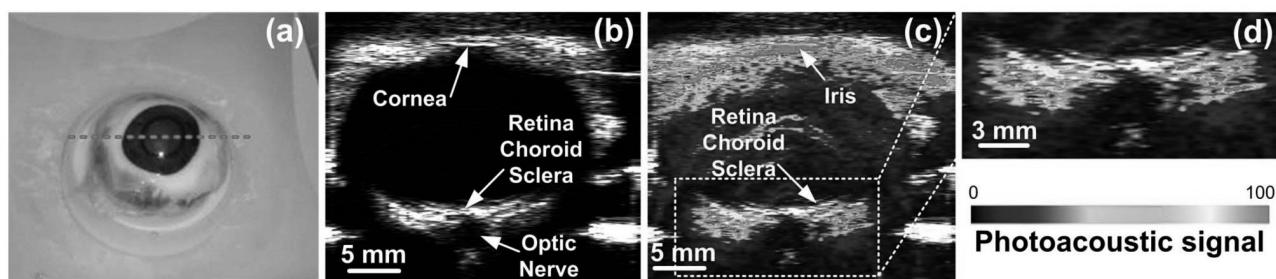
První mechanismus může být využit v genovém inženýrství, druhého mechanismu lze využít k zobrazení některých nádorů. Kontrastní látky mohou být aplikovány do krevního oběhu nebo přímo injikovány do zobrazované tkáně.

Experimentální zařízení



Obr. 1: Experimentální sestava pro fotoakustické zobrazení

Není známo, že by sestava pro fotoakustickou tomografii existovala v České republice a rovněž není známo, že by některá firma tato zařízení v současné době komerčně vyráběla. Autoři publikací zabývající se touto problematikou využívají vlastní experimentální sestavy. Jejich složení odpovídá algoritmu v úvodu této práce. Většinou slouží k zobrazení fantomů nebo tkání in vitro. In vivo byly zatím



Obr. 2: (a) fotografie, (b) ultrazvukový, (c) fotoakustický obraz enukleovaného prasečího oka podél vyznačené červené linie v (a), (d) zvětšený pohled na zadní pól oka v (c). Relativní barevná stupnice fotoakustického signálu 0–100. Publikováno se svolením [14].

zobrazovány především tkáně drobných laboratorních zvířat. Klinické aplikace jsou zcela ojedinělé.

Na obr. 1 je schéma experimentálního zařízení, volně zpracované podle [11].

Zařízení využívá amplitudově modulovaného laserového paprsku blízké infračervené oblasti, který je soustavou čoček směřován na experimentální vzorek, umístěný ve vodní lázni. Fotoakustický signál je snímán piezoelektrickým ultrazvukovým měničem.

Příklady praktického využití

Fotoakustická tomografie zatím nepřekročila experimentální stadium. Je to mj. i proto, že podle dostupných informací zařízení není zatím komerčně vyráběno. Přesto byly k dané problematice publikovány desítky prací. Soustřeďují se především na zobrazení fantomů [12] a tkání laboratorních zvířat [13]. Příklady klinického využití jsou zatím zcela ojedinělé.

- Zobrazení oka

De la Zerda et al. [14] vyvinuli fotoakustické oční zobrazovací zařízení, které prokázalo svou prospěšnost při zobrazování hlubších vrstev oka, včetně sítnice, cévnatky a zřetivého nervu. Při použití bezpečné laserové intenzity lze tohoto zařízení využít jak pro fotoakustické zobrazení enukleovaných očí, tak pro zobrazení očí laboratorních zvířat. Jedná se o superpozici ultrazvukového a fotoakustického obrazu a takový systém by mohl být použit v budoucnu pro včasnou detekci jednak nádorové neovaskularizace, jednak věkem podmíněné makulární degenerace a proliferativní diabetické retinopatie.

Oko dospělého praseta představuje vhodný model v oftalmologii díky své podobné velikosti s lidským okem (asi 22 mm délky oproti 24 mm u lidí). Fotoakustické a ultrazvukové snímky byly pořízeny za použití 15 MHz sondy, která byla ponořena do vody za pokojové teploty spolu s enukleovaným okem. K fotoakustickému zobrazení byl použit laserový zdroj o vlnové délce 700 nm. Anatomie

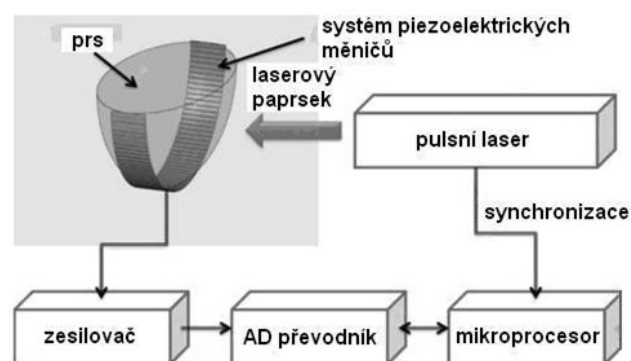
oka může být posouzena pouze z ultrazvukového obrazu [obr. 2(b)]. Avšak vzhledem k malému kontrastu a nízkému prostorovému rozlišení ultrasonogramu jsou vrstvy zadního pólu oka přesněji zobrazeny na fotoakustickém obraze.

- Zobrazení prsu

Rakovina prsu je nejčastější rakovinou u žen a druhou nejčastější příčinou úmrtí. Vyléčení a doba přežití velmi záleží na včasné diagnostice a účinném léčení. Současné rutinní metody vyšetření jsou rtg mamografie a ultrazvuk. Nicméně obě metody mají své limity. Proto jsou hledány nové metody, citlivé na časnou fázi vývoje tohoto onemocnění.

Vývoj nádoru obvykle doprovázen novotvorbu cév - angiogenezi. Mimo to nádorová tkáň vykazuje vyšší dielektrickou vodivost. Obě tyto skutečnosti vedly k pokusům zobrazit nádorové ložisko v prsu pomocí fotoakustické a termoakustické tomografie [15,16].

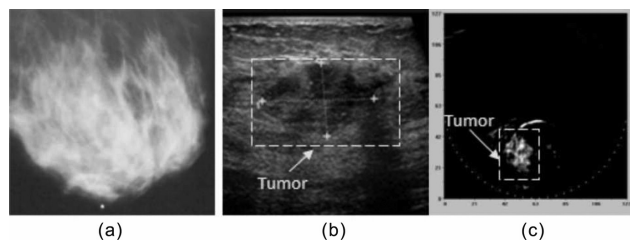
Laserový paprsek blízké infračervené oblasti může v prsní tkáni proniknout do hloubky ~ 5 cm. Bylo vyvinuto několik experimentálních zařízení, schéma jednoho z nich je na obr. 3 [15].



Obr. 3: Schéma snímání fotoakustického obrazu prsu. Volně podle [15].

Při klinickém použití tohoto zařízení bylo prokázáno, že fotoakustická tomografie je schopna zachytit drobné povr-

chově uložené nádorové ložisko, které bylo neprokazatelné rtg mamografií a málo kontrastní v ultrazvukovém obraze (obr. 4).



Obr. 4: Příklad klinického využití fotoakustické tomografie. (a) mediolaterální mamografie, (b) ultrasonogram, (c) optoakustický obraz. Vysoký kontrast objektu v obraze (c) svědčí pro zhoubný nádor. Přetištěno se svolením [15].

Závěr

Fotoakustická tomografie představuje kombinaci optického a ultrazvukového zobrazení. Z dostupné literatury vyplývá, že dobrých výsledků bylo touto metodou zatím dosaženo na fantomech a ve zvířecích studiích. V současné době se objevují první klinické studie.

Podle dosud publikovaných výsledků fotoakustická tomografie nemůže nahradit běžné biomedicínské zobrazovací metody. Může být však jejich vhodným doplňkem, a to především proto, že je schopna zobrazit nejen morfolologii, ale i některé fyziologické funkce.

Poděkování

Tato práce byla zpracována za podpory projektu CZ.1.07/2.4.00/17.0058 Prohloubení odborné spolupráce a propojení ústavů lékařské biofyziky na lékařských fakultách v ČR.

Literatura

- [1] Bell, A.G.: On the production of sound by light. American Journal of Science 20,1880, 305.
- [2] Wang, L. V.: Prospects of photoacoustic tomography. Med. Phys. 35 (12) 2008, pp 5758–5867.
- [3] Wang, L.V.: Tutorial on photoacoustic microscopy and computed tomography. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics 14(1), 2008, pp. 171–179.
- [4] Jansen, K., Springeling, G., Lancée, Ch., Beurskens, R., Mastik, F., van der Steen A.F.W., van Soest, G.: An Intravascular Photoacoustic Imaging Catheter. IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings 2009, pp. 378–381.
- [5] Fournelle, M., Hewener, H., Günther, Ch., Fonfara, H., Welsch, H.-J., Lemor, R.: Free-hand 3d optoacoustic imaging of vasculature. IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings 2009, pp. 116–119.
- [6] Huang, S.W., Eary, J.F., Huang, L., O'Donnell, M., Jia, C., Ashkenazi, S.: Contrast Enhancement in Photoacoustic Imaging. IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings 2009, pp. 112–115.
- [7] Kiser, W.L. Jr, Kruger, R.A., Reinecke, D.R., Kruger, G.A., Miller, K.D. Thermoacoustic in vivo determination of blood oxygenation. Proceedings of the SPIE – The International Society for Optical Engineering, 5320 (1), 2004, pp. 1–7.
- [8] Wang, X.D., Ku, G., Wegiel, M.A., Bornhop, D.J., Stoica, G., Wang, L.H.V: Noninvasive photoacoustic angiography of animal brains in vivo with near-infrared light and an optical contrast agent. Opt. Lett. 29 (7), 2004, pp. 730–732.
- [9] Hyun, S.K., Stein, E.W., Margenthaler, J.A., Wang, L.V.: Noninvasive photoacoustic identification of sentinel lymph nodes containing methylene blue in vivo in a rat model. Journal of Biomedical Optics 13(5), 2008, pp. 54033–54036.
- [10] De la Zerda, A., Zavalena, C., Keren, S., Vaithilingam, S., Bodapati, S., Liu, Z., Levi, J., Smith, B.R., Ma, T.J., Oralkan, O., Cheby, Z., Chen, X.Y., Dai, H.J., Khuri-Yakub, B.T., Gambhir, S.S.: Carbon nanotubes as photoacoustic molecular imaging agents in living mice. Nat. Nanotechnology 3 (9), 2008, pp. 557–562.
- [11] Telenkov, S.A., Mandeli, A.: Fourier-domain biophotoacoustic subsurface depth selective amplitude and phase imaging of turbid phantoms and biological tissue. Journal of Biomedical Optics 11(4), 2006, 044006.
- [12] Cook, J.R., Bouchard, R.R., Emelianov, S.Y.: Tissue-mimicking phantoms for photoacoustic and ultrasonic imaging. Biomed. Opt. Express 2 (11), 2011, pp. 3193–3206.
- [13] Gamelin, J., Mauridis, A., Aguirre, A., Huang, F., Guo, P., Wang, L.V.: A real-time photoacoustic tomography system for small animals. Opt. Express 17 (13), 2009, pp. 10489–10498.
- [14] De la Zerda, A., Paulu, Y.M., Teed, R. et al. Photoacoustic ocular imaging. Opt. Lett., 35 (3), 2010, pp 270–272.
- [15] Ermilov, S.A., Khamapirad, T., Conjusteau, A., Leonard, M.H., Lacewell, R., Mehta, K., Miller, T., Oraevsky, A.A.: Laser optoacoustic imaging for detection of breast cancer. J. Biomed. Opt. 14 (2), 2009, pp.
- [16] Oraevsky, A.A., Ermilov, S.A., Conjusteau, A., Miller, T., Ghariieb, R.R., Lacewell, R., Mehta, K., Radulescu, E.G., Herzog, D., Thompson, S., Stein, A., McCorvey, M., Otto, P., Khamapirad, T.: Initial clinical evaluation of laser optoacoustic imaging system for diagnostic imaging of breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment 106, 2007, S47.

Prof. MUDr. Ivo Hrazdira, DrSc.
Biofyzikální ústav LF MU
Kamenice 3, 625 00 Brno
ihrazdira@seznam.cz