

Jerzy Litniewski

**WYKORZYSTANIE FAL ULTRADŹWIĘKOWYCH
DO OCENY ZMIAN STRUKTURY
KOŚCI GĄBCZASTEJ**



INSTYTUT PODSTAWOWYCH PROBLEMÓW TECHNIKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

WARSZAWA 2006

Redaktor Naczelny:

doc. dr hab. Zbigniew Kotulski

Recenzent:

prof. dr hab. Julian Deputat

Praca wpłynęła do Redakcji 10 stycznia 2006 r.

Praca habilitacyjna

Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN

Nakład: 100 egz., Ark. druk.: 11,6

Oddano do druku w kwietniu 2006 roku

Druk i oprawa: Drukarnia Braci Grodzickich, Piaseczno, ul. Geodetów 47a

Wykorzystanie fal ultradźwiękowych do oceny zmian struktury kości gąbczastej.

Streszczenie

Celem badań ultradźwiękowych kości jest chęć lepszego poznania ich budowy oraz poszukiwanie bardziej doskonałych sposobów oceny stanu ich struktury. W szczególności dotyczy to struktury kości gąbczastej, od której w głównej mierze zależy wytrzymałość całego układu szkieletowego. W przedstawianej pracy, kość gąbczasta badana była zarówno metodami mikroskopowymi, opartymi na technikach mikroskopii akustycznej jak i za pomocą niskoczęstotliwościowych metod makroskopowych, bazujących głównie na wstecznie rozproszonych impulsach fal ultradźwiękowych.

Założono, że stosując metodę makroskopową, jaką jest sondowanie kości beleczkowej za pomocą ultradźwięków niskiej częstotliwości, do zbierania informacji mikroskopowej, to znaczy informacji o strukturze wewnętrznej kości, trzeba posłużyć się metodami analizy statystyki rozproszenia. Za cel postawiono sobie poznanie i oszacowanie wpływu parametrów struktury kości gąbczastej, takich jak gęstość przestrzenna beleczek, grubość beleczek czy też własności mechaniczne tkanki kostnej, z której zbudowane są beleczki a także wpływu rozrzutu wartości tych parametrów na własności statystyczne rozproszonego sygnału ultradźwiękowego.

Założono również, że znajomość zakresu zmian własności statystycznych sygnału rozproszonego w zależności od wielkości zmian struktury, pozwoli na wybór optymalnych parametrów wiązki akustycznej i częstotliwości fali ze względu na detekcję takich zmian. Umożliwi również poznanie parametrów struktury kości, które wpływają w istotny sposób na charakter sygnału rozproszonego a co za tym idzie mogą być użyte do interpretacji wyników pomiarów doświadczalnych.

W oparciu o model struktury kości gąbczastej przeprowadzono symulację sygnału rozproszonego. Model struktury kości beleczkowej odzwierciedla fizyczny układ tkanki kostnej w tkance szpiku i krwi, składający się na obraz kości gąbczastej. Wymiary beleczek, ich rozkład i własności

mechaniczne zostały tak dobrane, aby w sposób optymalny opisywały rzeczywistą strukturę kości beleczkowej. Dane wejściowe modelu uzyskano za pomocą pomiarów własności pojedynczych beleczek kości gąbczastej, stosując techniki mikroskopii akustycznej.

W pracy przedstawiono metodę transformacji obrazu mikroskopowego w obraz parametryczny, opisujący rozkład impedancji w badanej próbce. Metodę tą zastosowano do wyznaczania impedancji beleczek kostnych.

Pomiar prędkości fali podłużnej dla próbek tak małych jak beleczki kości gąbczastej i tak silnie tłumiących fale jak tkanka kostna wymagał opracowania nowej metody pomiaru prędkości, metody wykorzystującej podłużną falę boczną. Metoda ta, zastosowana do pomiaru prędkości fali w beleczkach kostnych, korzysta ze związku pomiędzy prędkością podłużnej fali bocznej i odległością pomiędzy ogniskiem a położeniem pierwszego minimum czy też maksimum krzywej pomiarowej $V(z)$.

Zastosowanie obu technik pomiarowych, techniki obrazowania parametrycznego impedancji i techniki pomiaru prędkości podłużnej fali bocznej, pozwoliło na niezależny pomiar impedancji i prędkości fali podłużnej propagującej się w tkance kostnej pojedynczych beleczek kości gąbczastej. Pomiary wykonano za pomocą zbudowanego przez autora, skanującego mikroskopu akustycznego.

Wyniki pomiarów pozwoliły na oszacowanie wartości średnich i zakresów zmienności parametrów, opisujących tkankę kostną beleczek. Było to podstawowym celem badań mikroskopowych. Znalezione wartości prędkości fali i obliczone wartości gęstości tkanki oraz zakresy rozrzutu tych parametrów, zostały następnie użyte przy symulacji sygnału rozproszonego.

Wiarygodność symulacji przebiegów rozproszonych potwierdzono przez porównanie ich z wynikami pomiarów przeprowadzanych *in vitro* i *in vivo*. W tym celu użyty został, zbudowany przez autora, układ pomiarowy, umożliwiający rejestrację fal rozproszonych i fal przechodzących przez kość piętową. W efekcie stwierdzono, że symulowane i uzyskiwane doświadczalnie sygnały rozproszone w kości gąbczastej pięty, w podobny sposób

reagują na zmiany objętości pomiarowej, na zmiany porowatości kości, zmiany średniej grubości beleczek i na rozrzut wartości tej grubości.

Stosując symulację sygnału rozproszonego rozważany był wpływ porowatości kości, wpływ zmiany parametrów opisujących pojedynczą beleczkę oraz wpływ rozrzutu tych parametrów na odstępstwa rozkładu amplitudy sygnału rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a. Stwierdzono, że interpretacja zmian w rozkładzie amplitudy sygnału rozproszonego w kości gąbczastej jako związanych ze stopniem zróżnicowania grubości beleczek wydaje się być w pełni uzasadniona. Takie podejście prowadzi do nowego spojrzenia na możliwości detekcji własności struktury kości beleczkowej za pomocą metod ultradźwiękowych. Nowa, prezentowana w pracy metoda badania ultradźwiękowego kości gąbczastej jest obecnie jedyną metodą w pełni wykorzystującą informację o własnościach strukturalnych kości.

Spis treści

1. Wstęp	9
1.1 Zakres i znaczenie badań ultradźwiękowych kości gąbczastej ..	9
1.2 Cel, zakres i układ pracy	18
2. Analiza mikroskopowa beleczek kości gąbczastej	23
2.1 Wstęp	23
2.2 Układ do pomiarów własności mechanicznych tkanki kostnej	
- Skanujący Mikroskop Akustyczny	25
2.2.1 Budowa i działanie mikroskopu akustycznego	25
2.2.2 Czynniki wpływające na wartość sygnału wyjściowego	
mikroskopu - jasność obrazu i przebieg krzywej pomiarowej. .	28
2.3 Obrazowanie ilościowe kości beleczkowej – interpretacja	
obrazów mikroskopu akustycznego	35
2.3.1 Obrazowanie powierzchniowe beleczek kości gąbczastej. . . .	35
2.3.2 Obrazowanie podpowierzchniowe	39
2.3.3 Obrazowanie za pomocą fal powierzchniowych	40
2.4 Obrazowanie parametryczne – obrazowanie rozkładów	
impedancji i współczynnika tłumienia.	43
2.4.1 Pomiar impedancji za pomocą mikroskopu akustycznego. . .	43
2.4.2 Wyznaczanie stałej V_0 i dokładność metody pomiaru impedancji	46
2.4.3 Obrazowanie rozkładu współczynnika tłumienia	48
2.5 Zastosowanie techniki $V(z)$ do wyznaczania prędkości fali	
akustycznej w tkance kostnej	50
2.6 Wyznaczanie prędkości fali powierzchniowej z odległości	
między pierwszym minimum lub maksimum interferencyjnym	
krzywej $V(z)$ a ogniskiem	55
2.7 Eksperymentalna weryfikacja modelu powstawania oscylacji	
krzywej $V(z)$	62
2.7.1 Wstęp	62
2.7.2 Pomiary z zastosowaniem długich impulsów	64
2.7.3 Pomiary z zastosowaniem krótkich impulsów	72
2.7.4 Weryfikacja metody opartej na pomiarze położenia	
pierwszego maksimum interferencyjnego.	76

2.8 Pomiar własności mechanicznych beleczek kości gąbczastej. . .	77
2.9 Wnioski	81
3. Analiza makroskopowa kości gąbczastej	
za pomocą rozproszenia fali ultradźwiękowej	85
3.1 Wstęp.	85
3.2 Model struktury kości gąbczastej i powstawania sygnału rozproszonego - metoda symulacji sygnału.	92
3.3 Przygotowanie sygnałów rozproszonych w kości gąbczastej do wyznaczania ich własności statystycznych	106
3.3.1 Wstęp	106
3.3.2 Wyznaczanie grubości kości	107
3.3.3 Pomiar prędkości fali w kości	108
3.3.4 Wyznaczanie współczynnika tłumienia metodą transmisji . .	111
3.3.5 Wyznaczanie współczynnika tłumienia z sygnału rozproszonego	113
3.3.6 Kompensacja tłumienia	116
3.4 Układ pomiarowy	120
3.4.1 Budowa przetworników i głowic ultradźwiękowych dla potrzeb pomiarów ultradźwiękowych kości	120
3.4.2 Układ nadawczo-odbiorczy	123
3.4.3 Układy mechaniczne do pozycjonowania i skaningu	124
3.5 Własności statystycznych sygnałów rozproszonych w kości gąbczastej – wyniki	127
3.6 Symulacja numeryczna sygnału rozproszonego – wyniki	136
3.6.1 Wstęp	136
3.6.2 Wpływ ilości beleczek – porowatości struktury kości gąbczastej	141
3.6.3. Badanie „wrażliwości” statystycznej rozproszonych sygnałów.	146
3.6.4 Rozrzut wartości opisujących parametry beleczki	151
4. Dyskusja i wnioski	161
5. Bibliografia	173
6. Spis oznaczeń	185

1. Wstęp

1.1 Zakres i znaczenie badań ultradźwiękowych kości gąbczastej

Zastosowanie fal ultradźwiękowych do badań kości nie jest pomysłem nowym. Już ponad 50 lat temu Heuter (1952) badał własności kości czaszki po kątem możliwości stosowania ultradźwiękowej diagnostyki śródczaszkowej. W kilka lat później po raz pierwszy zastosowano już bezpośrednio ultradźwięki jako narzędzie do oceny stanu kości (Siegel i wsp. 1958). Mierząc prędkość propagacji fali w kościach długich wykazano, że wartość tej prędkości zależy od stopnia zrostu złamania. Pierwsze badania pokazujące związek między gęstością kości gąbczastej a czasem propagacji fali ultradźwiękowej przeprowadzono w 1966 roku (Rich i wsp.). Kilkanaście lat temu wprowadzone zostały ilościowe metody ultradźwiękowe, jako metody alternatywne do szeroko dotychczas stosowanych w diagnostyce kości metod radiacyjnych, (Langton, 1994; Laugier, 1994). Metody ultradźwiękowe niosą ze sobą potencjalne możliwości wszechstronnej charakterystyki tkanki kostnej, włączając w to między innymi ocenę jej elastyczność oraz pomiar gęstości kości jak i wyznaczenie parametrów opisujących jej mikroarchitekturę. Jednocześnie są to metody względnie tanie i całkowicie bezpieczne, dlatego też mogą być stosowane w badaniach przesiewowych.

Rozwój w ostatnich latach metod diagnostyki układu kostnego, zarówno metod radiacyjnych jak i ultradźwiękowych, spowodowany był gwałtownym wzrostem ilości zachorowań na osteoporozę. Choroba ta stała się bodźcem do szerszego zainteresowania się budową kości gąbczastej i jej rolą w układzie szkieletowym oraz do poszukiwań metod oceny in vivo stanu tej kości.

Osteoporoza jest najczęściej spotykaną chorobą kości. Jest to metaboliczna choroba układu kostnego charakteryzująca się zmniejszoną masą kostną i upośledzeniem mikroarchitektury kości, co prowadzi do zmniejszenia wytrzymałości i w konsekwencji do występowania złamań kości.

Osteoporoza dotyczy dużej grupy ludzi. Uważa się, że na świecie cierpi na nią ponad 25% kobiet i 10% mężczyzn po 60 roku życia. W Polsce

wskaźnik ten jest jeszcze wyższy. Około 40% kobiet po menopauzie ulega złamaniom osteoporotycznym a 20 % kobiet umiera po złamaniu kości biodrowej.

U dorosłych można wyodrębnić dwa rodzaje tkanki kostnej, kość korową zwaną też kością zbitą i kość gąbczastą zwaną kością beleczkową. Większość kości posiada zewnętrzną warstwę kości zbitej, która otacza kość gąbczastą i obszary wypełnione szpikiem. U osób dorosłych, których szkielet zawiera ok. 1kg wapnia, 80% wagi kości stanowi kość zbita. Pozostała kość, kość gąbczasta, zbudowana jest z beleczek kostnych o kształcie walcowym i płytkowym, tworzących strukturę siatkową, połączoną z warstwą wewnętrzną kości zbitej. Sposób rozmieszczenia i uporządkowania beleczek w kości beleczkowej zapewnia dużą sztywność otaczającej ją kości korowej i znacznie zwiększa odporność całej kości na działanie sił ściskających i sił skręcających. Położenie beleczek w siatce kości gąbczastej odzwierciedla rozkład obszarów przenoszących największe obciążenia. Charakterystyczne struktury beleczkowe można znaleźć w wielu kościach, włączając w to kręgosłup, kość biodrową i piętową.

Wagowo, kość gąbczasta stanowi jedynie 20% masy całej kości w organizmie człowieka. Powierzchnia jej jest jednak aż trzykrotnie większa od powierzchni kości zbitej. Proces przebudowy kości ma charakter powierzchniowy. Dlatego też rola kości gąbczastej jest szczególnie istotna dla tego procesu. Jest to również jednym z powodów tłumaczących, dlaczego procesy chorobowe kości związane z zaburzeniami przebudowy kości (takie jak osteoporoza) są znacznie wcześniej widoczne w kości gąbczastej niż w kości zbitej (Kanis, 1994).

Nie tylko metaboliczne choroby kości są powodem zainteresowania kością gąbczastą. Mało kto zdaje sobie na przykład sprawę, że przyszłość długotrwałych, załogowych lotów kosmicznych zależy od rozwiązania problemu wczesnego wykrywania degradacji struktury kości gąbczastej w wyniku braku ciążenia (Saparin i Gowin, 2004).

Choroby metaboliczne kości w tym osteoporoza, stanowią jednak obecnie tak duży problem społeczny (ze względu na częstość występowania, konieczność długotrwałego leczenia, często nieskutecznego i bardzo

kosztownego), że większość badań poświęcona jest metodom wykrywania zmian w kości gąbczastej związanych z procesem chorobowym.

Wczesna diagnoza osteoporozy umożliwia zmniejszenie ryzyka złamań osteoporotycznych poprzez terapię i działania zapobiegawcze. Wielkość zagrożenia chorobą, jej śmiertelność oraz koszty leczenia i rehabilitacji w przypadku złamań kości, w pełni uzasadniają prowadzenie szeroko zakrojonych działań prewencyjnych. Z tego powodu koniecznym jest oszacowanie ryzyka złamania, który zależy od wytrzymałości kości. Gęstość kości jest jednym z głównych czynników odpowiedzialnych za wytrzymałość kości i jej odporność na obciążenie. Zależność pomiędzy masą kości a ryzykiem przyszłych złamań ma charakter wykładniczy. Stosowane obecnie metody oceny stanu układu kostnego opierają się głównie na technikach pomiaru pochłaniania promieniowania Roentgena i wyznaczaniu w ten sposób gęstości mineralnej kości BMD (Bone Mineral Density).

Gęstość kości nie wystarcza jednak do wytłumaczenia jej wytrzymałości. Naturalny spadek masy kostnej wraz z wiekiem niesie ze sobą wzrost zagrożenia złamaniami kości, ale bardzo często gęstość kości osób, które uległy złamaniom pokrywa się z gęstością kości osób zdrowych (Hans i wsp., 1995). Szereg innych własności kości takich jak jej architektura czy też elastyczność tkanki mają niezależnie od masy wpływ na wytrzymałość kości. Architektura kości można określić jako kombinację porowatości (procentową objętość tkanki kostnej w całej strukturze), złożoności struktury (ilości połączeń beleczek) i anizotropii (kierunkowości połączeń międzybeleczkowych). Zarówno porowatość jak i ilość połączeń beleczek powiązane są z masą kości. Można jednak w ramach tej samej masy kości rozpatrywać struktury o różnej złożoności, różnej lokalnej porowatości czy też anizotropii. Własności te nie są detekowane przez popularne metody densytometrii Rentgenowskiej (DEXA - Dual-Energy X-ray Absorptiometry).

Jak dotychczas jedyną metodą ultradźwiękową służącą do oceny kości gąbczastej jest metoda transmisyjna. Pozwala ona na pomiar nachylenia krzywej zależności pomiędzy tłumieniem fali a częstotliwością - współczynnik BUA (ang. Broadband Ultrasonic Attenuation, dB/MHz) oraz na pomiar prędkości dźwięku - SOS (ang. Speed Of Sound, m/s) w kościach łatwo

dostępnych z zewnątrz. W wieloletnich badaniach, użyteczność pomiaru tych parametrów do przewidywań ryzyka złamań osteoporotycznych kości została w pełni potwierdzona (Hans i wsp., 1999; Thomson i wsp., 1998). Bardzo istotnym ograniczeniem techniki transmisyjnej jest fakt, że wymaga ona dostępu do badanej kości z dwóch stron, co w praktyce sprowadza się głównie do badań kości piętowej i kości palców. Stosowane obecnie ilościowe metody ultradźwiękowe nie wykorzystują w pełni informacji o oddziaływaniu fali ultradźwiękowej z mikroarchitekturą kości. Wyniki wielu badań pokazują, że parametry kości gąbczastej mierzone metodami transmisyjnymi są głównie powiązane z gęstością kości i dobrze korelują z wartościami BMD - wynikami densytometrii Rentgenowskiej.

Ocena wytrzymałości kości wymaga jednak nie tylko wiedzy o jej gęstości, ale również o jej strukturze mikroskopowej. Zastosowanie metod obrazowania ultradźwiękowego o dużej rozdzielczości (tak jak w ultrasonografii tkanki miękkiej) nie jest możliwe ze względu na bardzo duże tłumienie ultradźwięków w tkance kości gąbczastej. Ultradźwiękowa charakterystyka tkanki miękkiej, oparta na analizie rozproszonego sygnału ultradźwiękowego w pełni pokazała potencjalne możliwości wykorzystania informacji o mikrostrukturze tkanki zawartej w powracającym sygnale (Bamber i wsp., 1981; Insana i wsp., 1990; Shung i Thieme, 1993). Analogicznie, sygnał rozproszony w strukturze kości gąbczastej zawiera informację o własnościach tej struktury. Dlatego ultradźwiękowe metody rozproszeniowe, zastosowane do badań kości, potencjalnie umożliwiają ocenę mikrostruktury a nie tylko jej gęstości. Dodatkowo, bardzo ważne obszary szkieletu (ze względu na zagrożenie osteoporozą) takie na przykład jak szyjka kości udowej, niedostępne dla badań transmisyjnych, mogą być badane za pomocą technik opartych na sygnale rozproszonym.

Prowadzone do tej pory prace koncentrowały się głównie na wyznaczeniu (*in vitro*) wartości współczynnika rozproszenia wstecznego kości gąbczastej i jego zależności od częstotliwości (Laugier i wsp., 1997; Wear i Garra, 1998; Wear, 1999).

Wysoka złożoność struktury kości gąbczastej stwarza duże trudności przy modelowaniu oddziaływania fali ultradźwiękowej z tkanką kostną.

Kość gąbczasta jest wysoce porowatym, anizotropowym i niejednorodnym ośrodkiem, składającym się z wypełnionej szpikiem i krwią, siatki (zmineralizowany kolagen) połączonych elementów walcowych i płytkowych. Elementy beleczek o wymiarach poprzecznych 0,05mm – 0,2mm i podłużnych 2mm-4mm oddzielone są od siebie średnio o 0,5mm-2mm. Te charakterystyczne wymiary nie mogą być uważane za bardzo małe w stosunku do długości fali a ośrodek za jednorodny dla częstotliwości ultradźwięków stosowanych zazwyczaj do badań kości (0,3MHz – 1MHz).

Teoria Biota opisująca propagację fali w nasyconym cieczą porowatym, sprężystym ośrodku (Biot, 1956) była stosowana do opisu propagacji fali w kości gąbczastej. Biot zdefiniował charakterystyczne zakresy niskiej i wysokiej częstotliwości w zależności od stosunku częstotliwości ultradźwięków do charakterystycznych częstotliwości porowatego materiału. Częstotliwości te dla wypełnionej szpikiem kości gąbczastej są rzędu dziesiątych części Hertza (Teriierooiterai i wsp., 1997). Dlatego też, częstotliwości fal używanych do badań kości gąbczastej odpowiadają zakresom bardzo wysokich częstotliwości w teorii Biota. Dla zakresu wysokich częstotliwości, teoria ta przewiduje istnienie dwóch fal podłużnych określanych jako fala szybka i fala wolna, odpowiadających względnemu ruchowi cieczy i fazy stałej kości gąbczastej, ruchowi w fazie dla fali szybkiej i w przeciwfazie dla fali wolnej. Obie takie fale (szybka i wolna) zostały znalezione doświadczalnie w próbkach wołowej kości gąbczastej przy propagacji fali równoległej do głównego kierunku ułożenia beleczek (Hosokawa i Otani, 1997; Kaczmarek i wsp., 2002). Kość gąbczasta jest jednak strukturą wysoce anizotropową ze względu na mechaniczne i ultradźwiękowe własności. Wynika to z jej budowy - dużej kierunkowości struktur beleczkowych w obszarach przenoszących największe obciążenia. Propagacja fali wolnej zależy od wzajemnej orientacji osi wiązki fali i kierunku ułożenia beleczek. Dla kierunków propagacji odbiegających od równoległych do ułożenia beleczek, obserwowana jest jedynie fala szybka (Hosokawa i Otani, 1998). Podobne zachowanie fali szybkiej i wolnej przewiduje alternatywna do teorii Biota teoria zaproponowana przez Hugesa i wsp. (1999), opisująca strukturę kości gąbczastej jako szereg naprzemiennych warstw ciała stałego i cieczy. Zaletą takiego modelu

jest jego prostota pozwalająca opisać strukturę kości za pomocą jedynie dwóch parametrów, porowatości i średniej grubości beleczek. Analogicznie, teoria Biota wymaga podania całego szeregu trudnych do określenia dla kości gąbczastej parametrów często niemożliwych do oszacowania *in vivo*.

W badaniach *in vivo* istnienie fali wolnej w kości gąbczastej nigdy nie zostało potwierdzone. Powodem może być specyficzne ułożenie beleczek w kości gąbczastej pięty w stosunku do kierunku propagacji sondującej fali, kierunku wymuszanego stosowaniem techniki transmisyjnej i geometrią kości piętowej. Wpływ może też mieć otaczająca kość gąbczastą warstwa kości zbitej, która w sposób ciągły przechodzi w strukturę gąbczastą. Są to warunki diametralnie różniące się od warunków przy pomiarach próbek kości gąbczastej zanurzonych w wodzie. Również wartości mierzonego tłumienia w kości gąbczastej są znacznie wyższe od wartości tłumienia przewidywanego przez teorię Biota (Hosokawa i Otani, 1997) a teoretyczna zależność tłumienia od częstotliwości jest proporcjonalna do $f^{1/2}$, podczas gdy mierzona doświadczalnie jest zależnością praktycznie liniową (Langton, 1994; Laugier i wsp., 1994; McCloskey i wsp., 1989; Strelitzki i wsp., 1999; Litniewski i wsp., 2000). Prawdopodobnie inne mechanizmy tłumienia niż przewidywane w teorii (lepkie tarcie na styku cieczy i fazy stałej kości gąbczastej) takie na przykład jak rozproszenie fali są odpowiedzialne za rozbieżności pomiędzy teorią a doświadczeniem.

Kość gąbczasta może być uważana za wysoce niejednorodny ośrodek rozpraszający to znaczy za ośrodek ciekły (szpik) zawierający zbiór wyizolowanych, małych elementów rozpraszających (beleczek). Model takiego ośrodka, w którym fala ultradźwiękowa rozpraszana jest na beleczkach został zaproponowany przez Wear'a w 1999 roku. W modelu tym struktura beleczkowa kości przybliżona jest przypadkowym rozkładem długich walców o średnicy znacznie mniejszej od długości fali, ustawionych prostopadłe do kierunku padania fali. Współczynnik rozproszenia obliczony dla sprężystego walca zanurzonego w wodzie porównywany był ze współczynnikiem rozproszenia zmierzonym dla próbek kości gąbczastej. Własności mechaniczne walca odpowiadały własnościom hydroxyapatytu, głównego składnika mineralnego beleczek kostnych, zaś jego średnica odpowiadała średniej

średnicy beleczek w zdrowej kości gąbczastej. Zależności współczynnika rozproszenia od częstotliwości, otrzymane doświadczalnie i obliczone dla rozproszenia na walcu były bardzo zbliżone. Porównanie zmian współczynnika rozproszenia wraz ze zmianą częstotliwości dla dwóch grup próbek kości gąbczastej, o dużej i o małej gęstości wykazało, że charakter tych zmian jest niezależny od gęstości kości, która ma wpływ jedynie na bezwzględną wartość tego współczynnika. Wyniki te potwierdzone zostały w późniejszych badaniach *in vitro*. Pokazano, że współczynnik rozproszenia w kości gąbczastej zależy od trzeciej potęgi częstotliwości (Chaffai i wsp., 2000; Wear, 2001; Wear, 2003, Jenson i wsp., 2003, Wear, 2004) tak jak wynika to z teorii rozproszenia na walcu przy długości fali znacznie większej od średnicy walca (Morse i Ingard, 1968). Udowodniono również, że współczynnik rozproszenia mierzony przy częstotliwości 0,5MHz w próbkach kości gąbczastej o znanej średniej grubości beleczek (wyznaczonej metodą mikro tomografii komputerowej) jest, zgodnie z teorią, zależny od wartości tej średniej (Wear i Laib, 2003). Pomiar dotyczył sytuacji, gdy średni kierunek beleczek kości gąbczastej był prostopadły do osi wiązki ultradźwięków, czyli zgodnie z warunkami przy pomiarach *in vivo*.

Próby stosowania *in vivo* współczynnika rozproszenia jako alternatywy dla współczynnika BUA w praktyce nie powiodły się. Stosując uśredniony w zakresie częstotliwości 0,2MHz – 0,6MHz współczynnik rozproszenia (BUB-Broadband Ultrasonic Backscatter) udało się stwierdzić związek tego współczynnika z ryzykiem wystąpienia złamań osteoporotycznych (Roux i wsp., 2001). Niestety, okazało się, że kombinacja tego współczynnika z parametrami otrzymywanymi przy równoczesnym pomiarze transmisyjnym (BUA i SOS) nie prowadzi do zwiększenia przewidywania prawdopodobieństwa złamań. Uśredniony po częstotliwości współczynnik rozproszenia (BUB) zależy głównie od gęstości i ilości beleczek, co sprowadza się do jego zależności od gęstości kości gąbczastej a więc tego samego parametru, od którego zależy wyznaczany w pomiarze transmisyjnym współczynnik BUA.

Obok rozkładu przestrzennego beleczek kości gąbczastej istotne znaczenie dla wytrzymałości całego układu szkieletowego mają również

własności materiałowe tkanki kostnej, tworzącej sieć beleczek. Dlatego też, równoległe do badań kości wykorzystujących fale ultradźwiękowe o częstotliwości do 1MHz i traktujących makroskopowo jej strukturę wewnętrzną, prowadzone były również badania przy znacznie wyższych częstotliwościach. Badania pozwalały śledzić, w skali mikroskopowej zmiany zachodzące w tkance kostnej. Własności materiałowe tkanki kostnej wyznaczone były w oparciu o metody mikroskopii akustycznej. Skanujący mikroskop akustyczny - SAM (ang. Scanning Acoustic Microscope) umożliwia wykonywanie pomiarów i obrazowanie własności mechanicznych małych próbek. Metody mikroskopii akustycznej z powodzeniem mogą być zastosowane do pomiaru własności tkanki kostnej.

Większość publikowanych wyników pomiarów ultradźwiękowych kości dotyczy kości zbitej. Pomiar ultradźwiękowy tkanki kostnej wymaga dostosowania częstotliwości a tym samym długości fali do stopnia zróżnicowania badanej struktury. W mikroskopii ultradźwiękowej zakres stosowanych częstotliwości jest bardzo szeroki (30MHz – 2GHz). Ultradźwiękowy pomiar stałych materiałowych może być wiarygodny tylko dla obszarów próbki, w których parametry strukturalne są znacznie mniejsze od długości fali. Przy wyższych częstotliwościach fale ultradźwiękowe rozpraszane są na licznych nieciągłościach struktury tkanki kostnej i fizycznie mierzone mikroskopem parametry takie jak amplituda i faza fal ultradźwiękowych są związane z wewnętrzną mikro-architekturą tkanki a nie z jej własnościami mechanicznymi. Takie pomiary, przy częstotliwości 900MHz (długość fali ok. 1.6 μ m), prowadzone były do określania anizotropii struktur blaszkowych osteonu ludzkiej kości zbitej (Smitmans i wsp., 2000). Obrazowanie przy maksymalnych częstotliwościach pracy mikroskopu (1-2GHz) umożliwia śledzenie eksperymentalnych hodowli komórek kości – osteoblastów i procesu tworzenia przez nie macierzy – struktury będącej podstawowym elementem procesu przebudowy tkanki kostnej (Briggs, 1992).

Zazwyczaj jednak do badań własności tkanki kostnej stosowane są częstotliwości do 100MHz. Przy rozdzielczości kilkudziesięciu mikrometrów płasko-równoległe płytki kości zbitej (grubości 300 μ m – 1000 μ m) badane były z wykorzystaniem fali bezpośrednio odbitej od powierzchni i fali

odbitej od dna płytki. Znaleziono (Hasegawa i wsp., 1995) znaczące różnice w wartościach prędkości fali podłużnej dla próbek kości od dawców z osteoporozą i przed menopauzą w porównaniu do prędkości w próbkach kości dawców po menopauzie (prędkości mniejsze odpowiednio o 6,2% i 9,5%).

Również dla płasko-równoległych próbek kości zbitej wyznaczano impedancję i wartości prędkości fali podłużnej i poprzecznej, co pozwalało na obliczanie stałych materiałowych tkanki kostnej (Raum i Brandt, 2003). Prowadzone też były pomiary bazujące na korelacji między skalą szarości obrazu mikroskopowego kości a wartością modułu elastyczności z krzywych kalibracji zmierzonych dla znanych materiałów (Bumererraj i Katz, 2001). W efekcie podejście takie umożliwiło wyznaczanie wartości modułu elastyczności dla wybranego obszaru próbki z jasności jej mikroskopowego obrazu.

Podobna technika była też stosowana w stosunku do kości beleczkowej (Leguerney, 2003; Litniewski i Sawicki, 1997). W tym przypadku znajdowano średnią impedancję tkanki tworzącej beleczki. Wyznaczana tą techniką impedancja przedstawiana była w postaci obrazu parametrycznego (rozkładu impedancji) i badane były własności histogramu obrazu beleczek dla różnych chorób metabolicznych kości (Litniewski i Sawicki, 1997). W pracy tej prezentowane były również parametryczne obrazy pojedynczych beleczek otrzymane z wyliczanych rozkładów tłumienia w tkance.

Bardzo małe wymiary beleczek kości gąbczastej powodują, że tradycyjna metoda pomiarowa stosowana w mikroskopii akustycznej (technika krzywych $V(z)$) zawodzi przy wyznaczaniu ich własności mechanicznych. Przedstawiona w niniejszej pracy nowa technika pomiarowa jest jedyną znaną autorowi metodą niezależnego wyznaczania wartości gęstości i prędkości fali podłużnej w beleczkach kości gąbczastej (Litniewski, 2005).

1.2 Cel, zakres i układ pracy

Analizując dotychczasowe osiągnięcia ultradźwiękowych badań kości gąbczastej można zauważyć, że jedynie techniki transmisyjne znalazły zastosowanie w diagnostyce medycznej. Wadą metod transmisyjnych jest możliwość ich stosowania jedynie do badań kości piętowej i kości palców. Użytkowana tą techniką informacja o stanie kości gąbczastej sprowadza się do informacji o jej gęstości. Gęstość kości nie odzwierciedla jednak w pełni stanu kości. Z drugiej strony rozwój technik opartych na pomiarze sygnału rozproszonego, obiecujących ze względu na potencjalnie szeroki zakres zastosowań w badaniach *in vivo*, sprowadził się do pomiaru współczynnika rozproszenia. Współczynnik rozproszenia zależy głównie od gęstości kości gąbczastej i nie pozwala na ocenę jej struktury. Z kolei metody mikroskopowe, które umożliwiają poznanie własności materiałowych pojedynczych beleczek, z natury swej ograniczają się do badań jedynie małych próbek. Wyklucza to możliwość poznania własności struktury całej kości i ogranicza zakres badań do pomiarów *in vitro*.

W przedstawianej pracy stosowane były zarówno metody mikroskopowe badania beleczek kości gąbczastej, oparte na technikach mikroskopii akustycznej jak i niskoczęstotliwościowe metody makroskopowe, bazujące głównie na wstecznie rozproszonych impulsach fal ultradźwiękowych. Celem nadrzędnym zarówno badań mikroskopowych jak i makroskopowych była chęć lepszego poznania tkanki gąbczastej oraz poszukiwanie bardziej doskonałych sposobów oceny stanu kości.

W prezentowanej pracy zaproponowano nowe podejście do ultradźwiękowych badań kości gąbczastej.

Założono, że stosując metodę makroskopową, jaką jest sondowanie kości beleczkowej za pomocą ultradźwięków niskiej częstotliwości, do zbierania informacji mikroskopowej, to znaczy informacji o strukturze wewnętrznej kości, trzeba posłużyć się metodami analizy statystyki rozproszenia.

Za cel postawiono sobie poznanie i oszacowanie wpływu parametrów struktury kości gąbczastej, takich jak gęstość przestrzenna beleczek, grubość

beleczek, własności mechaniczne tkanki kostnej, z której zbudowane są belecзки a także wpływu rozrzutu wartości tych parametrów na własności statystyczne rozproszonego sygnału ultradźwiękowego.

Założono, że znajomość zakresu zmian własności statystycznych sygnału rozproszonego w zależności od wielkości zmian struktury, pozwoli na wybór optymalnych parametrów wiązki akustycznej i częstotliwości fali ze względu na detekcję takich zmian i w końcu pozwoli na poznanie parametrów struktury kości, które są głównym źródłem takich zmian a co za tym idzie mogą być użyte do interpretacji wyników pomiarów doświadczalnych.

Jak już wspomniano wcześniej, informacje na temat własności mechanicznych tkanki kostnej tworzącej belecзки są bardzo ograniczone i dlatego też, kolejnym celem prezentowanej pracy było doświadczalne wyznaczenie parametrów takich jak gęstość i prędkość propagacji podłużnej fali ultradźwiękowej dla zmienionych chorobowo beleczek kości gąbczastej oraz oszacowanie rozrzutu wartości tych parametrów. Zadanie to wymagało zbudowania odpowiedniej aparatury ultradźwiękowej oraz opracowania nowych metod pomiarowych i w końcu wykonania szeregu pomiarów próbek kości gąbczastej pobranych od pacjentów cierpiących na metaboliczne choroby kości w tym osteoporozę.

Naturalnie narzucającą się aparaturą do takich pomiarów jest mikroskop akustyczny. Budowa skanującego mikroskopu akustycznego z rozszerzoną opcją trybu pomiarowego była istotnym celem prezentowanej pracy.

Ze względu na fakt, że dostęp do próbek beleczek kości gąbczastej jest możliwy tylko z jednej strony, pomiar prędkości fali podłużnej może odbywać się tylko za pomocą podłużnej fali powierzchniowej. Doświadczalne wyjaśnienie roli podłużnej fali powierzchniowej w powstawaniu sygnału z mikroskopu a w szczególności w tworzeniu krzywej pomiarowej $V(z)$, dla materiału o własnościach tkanki kostnej, było kolejnym celem prezentowanej pracy.

Brak techniki umożliwiającej pomiar prędkości fali podłużnej dla próbek tak małych jak belecзки kości gąbczastej i tak silnie tłumiących fale jak

tkanka kostna był bodźcem do poszukiwań nowej metody pomiaru prędkości, metody wykorzystującej podłużną falę boczną.

Zmierzone średnie wartości parametrów beleczek (gęstości i prędkości fali podłużnej) i wyznaczone wartości odchylenia standardowego tych parametrów od wartości średniej, posłużyły jako dane wejściowe dla ultradźwiękowego modelu struktury kości. Model ten posłużył do opracowania metody symulacji sygnału ultradźwiękowego rozproszonego w kości gąbczastej, co było jednym z głównych zadań pracy. Sygnały otrzymywane za pomocą symulacji miały być wykorzystane do badań wpływu parametrów beleczek tworzących kość gąbczastą, opisaną modelem kości, na własności statystyczne tych sygnałów.

Wiarygodność opracowanej metody symulacji wymagała weryfikacji doświadczalnej. W szczególności istotnym jest, aby dla przypadków struktury kości uznanych w symulacji i w doświadczeniu za przypadki kości zdrowej, własności statystyczne sygnałów symulowanych i sygnałów mierzonych były takie same. W takim samym stopniu powinny się też wraz ze zmianami objętości pomiarowej zmieniać statystyki tych sygnałów. Dlatego też, następnym celem pracy była budowa aparatury ultradźwiękowej, umożliwiającej wykonywanie pomiarów sygnałów rozproszonych i sygnałów przechodzących zarówno *in vivo*, dla kości piętowej jak i *in vitro*, dla próbek kości gąbczastej.

Kolejnym zadaniem było wykonanie szeregu pomiarów sygnału rozproszonego w próbkach kości piętowej i wykonanie pomiarów na pacjentach Warszawskiego Centrum Osteoporozy. Pomiarom ultradźwiękowym, *in vivo*, miały towarzyszyć pomiary gęstości kości biodrowej i kręgosłupa wykonywane za pomocą aparatury rentgenowskiej. Celem ich miała być niezależna ocenę stanu kości gąbczastej pacjenta.

Doświadczalnie zebrane sygnały rozproszone wymagają przygotowania przed wyznaczeniem ich własności statystycznych. Szczególnie ważna jest kompensacja tłumienia. Stosowane obecnie metody wyznaczania wartości współczynnika tłumienia fali ultradźwiękowej w kości gąbczastej opierają się na analizie sygnału przechodzącego. Opracowanie metody wyznaczania

tłumienia z sygnału rozproszonego i metody kompensacji tego tłumienia było dodatkowym zadaniem niezbędnym do wykonania prezentowanej pracy.

Cała praca podzielona została na dwie części. Pierwsza dotyczy mikroanalizy ultradźwiękowej.

Zagadnienie ultradźwiękowej analizy mikroskopowej kości beleczkowej przedstawione jest w następujący sposób: Po wstępie, w rozdziale 2.2 omówiona jest budowa układu mikroskopu akustycznego oraz zasada jego pracy w czasie obrazowania i w czasie powstawania krzywej pomiarowej. Przedstawiona jest również zależność pomiędzy amplitudą sygnału z mikroskopu a położeniem powierzchni próbki względem ogniska. Rozdział 2.3 poświęcony jest jakościowemu obrazowaniu kości beleczkowej. Rozpatrywane są trzy rodzaje obrazowania: obrazowanie powierzchniowe, podpowierzchniowe i obrazowanie wykorzystujące fale powierzchniowe. Dla każdego z nich inne własności materiału mają główny wpływ na jasność obrazu. W rozdziale 2.4 przedstawione są możliwości ilościowego obrazowania parametrycznego. Szczególnie dokładnie opisana jest metoda obrazowania rozkładów impedancji przy stosowaniu do obrazowania soczewki o małej aperturze. W takim przypadku metoda ta pozwala wyznaczać wartości impedancji z dokładnością ok. 1%. Rozdział 2.5 poświęcony jest technice krzywych $V(z)$ i jej ograniczeniom przy stosowaniu do małych próbek. W rozdziale 2.6 omówiona została nowa metoda pomiarowa prędkości fali powierzchniowej – PMM (Pomiar Minima Maksima). Metoda została poddana sprawdzeniu poprzez porównanie otrzymywanych przez nią wyników z wynikami otrzymanymi klasyczną techniką $V(z)$ wykorzystującą oscylacje amplitudy sygnału z mikroskopu wraz ze zmianami odległości soczewka-próbka. Oszacowana została również dokładność wyznaczania tą metodą wartości prędkości. W rozdziale 2.7 przedstawione są wyniki doświadczalnej weryfikacji metody PMM, weryfikacji polegającej na pomiarze różnicy fazy i różnicy w czasie przelotu dla fal składowych krzywej pomiarowej. Ostatni rozdział (2.8) przedstawia metodę pomiaru prędkości fali powierzchniowej i pomiaru impedancji metodą parametrycznego obrazowania, w zastosowaniu do wyznaczania własności mechanicznych próbek kości beleczkowej.

Na zakończenie, we wnioskach (rozdział 2.9) przedstawiono między innymi możliwości rozszerzenia zastosowań nowej techniki pomiarowej do pracy z próbkami anizotropowymi oraz interpretację wyników pomiarów próbek kości.

Druga część pracy (rozdział 3) poświęcona jest makroskopowej, ultradźwiękowej analizie kości gąbczastej za pomocą rozproszonych fal ultradźwiękowych. We wstępie (rozdział 3.1) omówiony jest związek pomiędzy statystyką rozproszenia fali ultradźwiękowej a wielkością objętości pomiarowej i gęstością elementów rozpraszających. W rozdziale 3.2 przedstawiony jest model kości gąbczastej i metoda symulacji sygnału rozproszonego. Przygotowanie zarejestrowanych doświadczalnie sygnałów rozproszonych do wyznaczania ich własności statystycznych jest tematem następnego rozdziału (3.3). Omawiane są w nim sposoby wyznaczania grubości badanej kości i prędkości propagującej się w niej fali, pomiaru współczynnika tłumienia i metoda kompensacji zmian obwiedni sygnału powstałych na skutek tłumienia. Następnie (rozdział 3.4) prezentowane są trzy układy pomiarowe, służące do wyznaczania parametrów kości *in vitro* i *in vivo*. W rozdziale 3.5 przedstawione są rezultaty pomiarów w kości gąbczastej pięty wykonanych na pacjentach Warszawskiego Centrum Osteoporozy i na próbkach kości gąbczastej pięty. Rozdział następny (3.6) poświęcony jest wynikom symulacji sygnału rozproszonego i wyznaczonym parametrom statystycznym amplitudy tego sygnału. Rozważany jest wpływ porowatości kości, wpływ zmiany parametrów opisujących pojedynczą beleczkę oraz wpływ rozrzutu tych parametrów na odstępstwa rozkładu amplitudy sygnału rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a. Na zakończenie (rozdział 4) przedstawiono wnioski dotyczące ultradźwiękowej analizy mikroskopowej i makroskopowej kości gąbczastej, ze szczególnym uwzględnieniem możliwości wykorzystania sygnałów rozproszonych do badań struktury kości gąbczastej *in vivo*.

2. Analiza mikroskopowa beleczek kości gąbczastej.

2.1 Wstęp

Masa, struktura i właściwości materiałowe tkanki kostnej w różnym stopniu wpływają na wytrzymałość kości i jej podatność na złamania. Z badań densytometrycznych w tym również ultradźwiękowych wynika, że jedna z głównych chorób metabolicznych kości - osteoporoza jest ściśle powiązana ze znacznym spadkiem masy kości, który może być połączony ze zmianami strukturalnymi kości zbitej i kości gąbczastej (Kanis, 1994). Rozkład przestrzenny beleczek kości gąbczastej jak i własności materiałowe tkanki kostnej tworzącej sieć beleczek mają podstawowe znaczenie dla wytrzymałości całego układu szkieletowego. Informacje o materiałowych właściwościach tkanki kostnej w tym w szczególności tkanki kości beleczkowej są bardzo ograniczone.

Parametry mechaniczne opisujące tkankę kostną tworzącą belecзки są bardzo rzadko publikowane, przy czym ich wartości wyznaczone są głównie metodami mechanicznymi. W efekcie jest to zazwyczaj wartość modułu Young'a a do opisu belecзки potrzebne są oddzielnie wartości gęstości i prędkości. Dodatkowo, prawdopodobnie ze względu na bardzo małe wymiary beleczek i związany z tym błąd pomiaru, bywa, że publikowane wartości modułu Young'a różnią się aż o rząd wielkości (Turner i wsp., 1999).

Skanujący Mikroskop Akustyczny – SAM (ang. Scanning Acoustic Microscope) pozwala na pomiar takich własności materiałowych tkanki kostnej jak jej gęstość, prędkość propagacji i tłumienie fal ultradźwiękowych a przy zastosowaniu wyższych częstotliwości również rejestrację rozkładu tych parametrów. Możliwe jest również obrazowanie struktury pojedynczej belecзки.

Walcowate w kształcie belecзки kości gąbczastej są strukturami małymi o średniej grubości ok. 0,1mm – 0,2mm (Hausler i wsp., 1999, Wear i Laib, 2003). Dodatkowo, standardowe próbki kości gąbczastej umożliwiają dostęp do belecзки tylko z jednej strony a choroby metaboliczne kości

takie jak osteoporoza, osteomalacja czy też osteoidoza w sposób znaczący wpływają na wielkość i kształt beleczek. Dlatego też ultradźwiękowe pomiary własności mechanicznych beleczek kości gąbczastej są trudne i często obarczone dużym błędem.

Bardzo małe wymiary beleczek oraz duże tłumienie uniemożliwiły zastosowanie tradycyjnej techniki krzywych $V(z)$ do pomiaru prędkości propagacji fali w tkance kostnej pojedynczej beleczki. Dlatego też poważna część tego rozdziału poświęcona została nowej metodzie pomiaru prędkości fali podłużnej w beleczkach kości gąbczastej za pomocą mikroskopu akustycznego (Litniewski, 2005). Metoda ta, oparta jest na zależności położenia pierwszego minimum lub maksimum krzywej $V(z)$ względem ogniska od prędkości podłużnej, bocznej fali powierzchniowej lub fali Rayleigh'a, propagującej się w próbce (PMM - położenie maksimum i minimum). Opracowanie metody wymagało doświadczalnego dowodu propagacji podłużnej, bocznej fali powierzchniowej w beleczce kości gąbczastej i określenia wpływu tej fali na sygnał odbierany przez przetwornik mikroskopu.

Przedstawione w niniejszym rozdziale wyniki pomiarowe dotyczą tylko tkanki kostnej tworzącej beleczki kości gąbczastej. Badania wykonywane były z użyciem zbudowanego przez autora, skanującego mikroskopu akustycznego pracującego przy częstotliwości 100MHz. Mierzona była impedancja tkanki oraz prędkość fali podłużnej a następnie wyznaczano gęstość i współczynnik elastyczności tkanki kostnej definiowany jako iloczyn gęstości i kwadratu prędkości fali podłużnej. Impedancja znajdowana była za pomocą metody odniesienia z użyciem soczewki o małej aperturze. Prędkość mierzona była za pomocą metody PMM.

2.2 Układ do pomiarów własności mechanicznych tkanki kostnej - Skanujący Mikroskop Akustyczny

2.2.1 Budowa i działanie mikroskopu akustycznego

Mikroskop akustyczny został zbudowany przy założeniu, że przyrząd ma służyć zarówno do obrazowania jak i do pomiarów własności mechanicznych materiałów (Litniewski, 2001). Tkanka kostna przypomina swymi własnościami materiał stały i dlatego mikroskopowe techniki pomiarowe mogą być tutaj z powodzeniem stosowane.

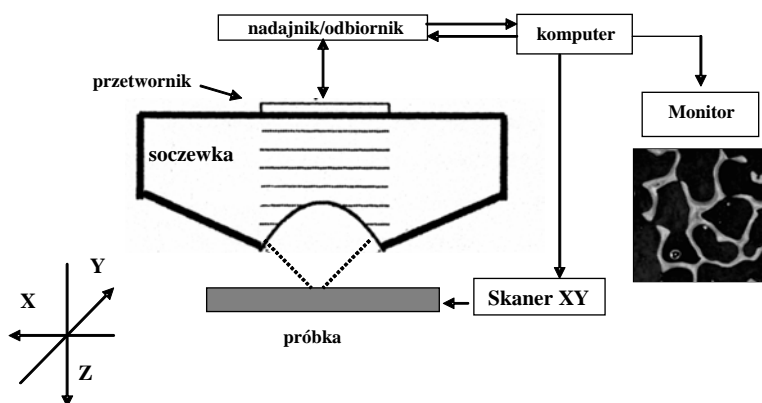


Rys.2.2.1 Skanujący Mikroskop Akustyczny – Układ zbudowany i wykorzystywany przez autora do pomiarów własności beleczek kości gąbczastej

W skład mikroskopu przedstawionego na rys. 2.2.1 wchodzi kilku podstawowych bloków:

- Układ skaningu XYZ wraz z układem do poziomowania. Zakres skaningu to 50mmx50mmx50mm, krok w osiach X i Y - 2 μ m, w osi Z - 0,625 μ m.
- Układ nadawczo-odbiorczy umożliwiający pracę w zakresie 35-200 MHz przy zmiennej długości impulsu i trzech rodzajach detekcji - detekcji amplitudowej, detekcji fazowej i sumie detekcji fazowej i amplitudowej. Pomiar amplitudy odbywa się za pomocą detektora szczytowego (peak detector) lub układu sample and hold.

- 12 bitowa karta próbkująca sygnał m.cz. umożliwiającą akwizycję mierzonej amplitudy lub fazy sygnału.
- Zestaw głowic mikroskopowych, projektowanych każdorazowo z uwzględnieniem trybu pracy mikroskopu i zastosowania, częstotliwości, wielkości apertury, minimalizacji aberracji sferycznej, położenia soczewki w polu przetwornika nadawczego i eliminacji wewnętrznych odbić.
- Komputer z oprogramowaniem i kartą przetworników A/C, którego zadaniem jest zarządzanie pracą skanera, układu nadawczo-odbiorczego, akwizycja danych pomiarowych i prezentacja ich w postaci obrazu lub krzywej pomiarowej



Rys.2.2.2 Schemat mikroskopu akustycznego

Opisując działanie skanującego mikroskopu akustycznego trzeba rozróżnić dwa podstawowe tryby pracy: tryb obrazowania i tryb pomiarowy. W czasie obrazowania zogniskowana wiązka ultradźwięków skanuje badaną próbkę w płaszczyźnie horyzontalnej (skaning XY) a parametry fali odbitej służą do sterowania jasnością obrazu. Odległość między soczewką a próbką (oś Z) jest stała a współrzędne opisujące położenie ogniska względem próbki są skorelowane z punktami obrazu.

W trybie pomiarowym wyłączony jest skaning XY. Krzywa pomiarowa powstaje poprzez rejestracje amplitudy napięcia (V) generowanego na przetworniku w funkcji malejącej odległości między próbką, wstępnie umieszczoną w ognisku a soczewką mikroskopu (ruch w osi Z). Otrzymywane w ten sposób krzywe nazywane są krzywymi $V(z)$ lub akustycznym podpisem materiału (ang. Acoustic Material Signature), gdyż w sposób jednoznaczny opisują badany materiał. Umożliwiają one wyznaczanie parametrów mechanicznych próbek oraz służą do prawidłowej interpretacji obrazów mikroskopowych.

Zbudowany układ mikroskopu umożliwia otrzymywanie wysokiej jakości obrazów amplitudowych lub fazowych z rozdzielczością poprzeczną $30\mu\text{m}$, $10\mu\text{m}$ i $5\mu\text{m}$ przy częstotliwości odpowiednio 35MHz, 100MHz i 200MHz. Układ może pracować w prezentacji C i B. Prezentacja C umożliwia otrzymywanie obrazów powierzchniowych i podpowierzchniowych w płaszczyźnie równoległej do płaszczyzny skaningu. Prezentacja B jest klasycznym modem pracy ultrasonografów i polega na obrazowaniu podpowierzchniowym w płaszczyźnie prostopadłej do płaszczyzny skaningu.

Praca mikroskopu w czasie tworzenia obrazu bądź krzywej pomiarowej sterowana jest za pomocą komputera. Sygnał z układu nadawczo-odbiorczego detekowany jest za pomocą 12 bitowego przetwornika A/C i przetwarzany na jasność plamki na monitorze. Użytkownik może wybrać kształt i wielkość obszaru do obrazowania oraz gęstość próbkowania. Otrzymywane obrazy są zapisywane w pamięci komputera i następnie odtwarzane na ekranie lub rejestrowane na papierze termo czułym.

Układ charakteryzuje się cechami szczególnie przydatnymi przy pracy w trybie pomiarowym.

1. Elektroniczne układy odbiorcze zapewniają liniową zależność między amplitudą fali ultradźwiękowej, mierzoną przez przetwornik a sygnałem wyjściowym z mikroskopu.
2. Mikroskop zapewnia automatyczne śledzenie i pomiar sygnału przesuwanego się na osi czasu w trakcie powstawaniu krzywej pomiarowej, z możliwością dostosowania prędkości śledzenia do własności ośrodka sprzęgającego i temperatury.

2.2.2 Czynniki wpływające na wartość sygnału wyjściowego mikroskopu - jasność obrazu i przebieg krzywej pomiarowej.

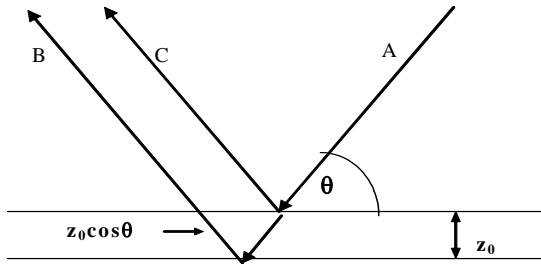
Obrazy otrzymywane za pomocą mikroskopu jak i krzywe pomiarowe zależą od napięcia generowanego na piezoelektrycznym przetworniku będącym jednocześnie źródłem i odbiornikiem fali badającej próbkę. Oddziaływanie zogniskowanej fali ultradźwiękowej z próbką zależy od parametrów geometrycznych soczewki i układu soczewka-próbka. Interpretacja powstających obrazów i krzywych pomiarowych jest możliwa jedynie wtedy, gdy znana jest krzywa $V(z)$ mikroskopu. Krzywa ta opisuje amplitudę napięcia generowanego przez mikroskop w funkcji uogólnionej apertury soczewki opisującej układ przetwornik- soczewka, współczynnika odbicia określającego własności próbki oraz położenia ogniska soczewki względem próbki opisywanego przez odległość z . Wartości $z = 0$ odpowiada położenie próbki w ognisku.

Poniżej przedstawiony zostanie prosty opis powstawania krzywych $V(z)$, oparty na optyce geometrycznej, pozwalający na bardzo dobre przybliżenie mierzonego sygnału. W szczególności tłumaczący jakościowe i ilościowe związki między parametrami próbki a zachowaniem krzywej $V(z)$. Opis ten pozwala na numeryczną symulację krzywych oraz tworzy podstawy do powiązania mierzonych eksperymentalnie parametrów krzywej takich jak okres oscylacji, położenie maksimum i minimum interferencyjnych względem ogniska czy wartość amplituda sygnału w ognisku z parametrami próbki takimi jak prędkość fali powierzchniowej czy impedancja akustyczna. Jednocześnie symulacja umożliwia badanie wpływu geometrii układu przetwornik-soczewka-próbka na zależność jasności plamki obrazu od parametrów akustycznych próbki (impedancja, prędkość fali), co prowadzi do ilościowej interpretacji obrazów mikroskopowych.

Założmy, że odpowiedź przetwornika piezoelektrycznego na przyłożone napięcie jest taka sama w każdym obszarze jego powierzchni. Taki przetwornik emituje falę płaską w kierunku soczewki. Soczewka transformuje falę płaską w fale sferyczną, która odbija się na granicy ośrodka sprzęgającego i próbki i przez soczewkę wraca do przetwornika.

Przyjmijmy początkowo również, że próbka jest doskonałym zwierciadłem. Przetwornik przetwarza rozkład ciśnienia na swojej powierzchni w napięcie wyjściowe, czyli parametr mierzony w eksperymencie. Napięcia wejściowe i wyjściowe są całkiem separowane gdyż w praktyce używane są krótkie impulsy nadawcze, znacznie krótsze od czasu przelotu przez soczewkę i ciecz sprzęgającą.

Przetwornik jest czuły na fazę padającej fali, co musi być uwzględniane przy całkowaniu rozkładu ciśnienia na jego powierzchni w celu znalezienia chwilowej amplitudy sygnału wyjściowego. Faza jest określana przez czas potrzebny fali na przebycie odpowiedniej drogi w ośrodku. Jeżeli próbka umieszczona jest w płaszczyźnie ogniskowej to wszystkie promienie emitowane przez przetwornik wracają do niego w tej samej fazie. Sygnał wyjściowy z przetwornika można zapisać jako $V = 1/\pi R_0^2 \int ds$, gdzie R_0 to promień przetwornika a $ds=2\pi r dr$ jest elementem powierzchni. Jeżeli przesuniemy próbkę z płaszczyzny ogniskowej o odległość z_0 (rys.2.2.3) to spowoduje to dodatkowe przesunięcie fazy promieni, zależne od kąta padania (θ) promienia na płaszczyznę próbki.



Rys.2.2.3 Schemat obrazujący zmianę drogi promieni w wyniku przeogniskowania mikroskopu, A – promień padający, B – promień odbity w ognisku ($z = 0$), C – promień odbity przy $z = -z_0$ (przeogniskowanie).

Drogi promieni przedstawionych na rys.2.2.3 są teraz różne i promienie te padają na przetwornik z różną fazą. Zmiany fazy promieni podczas przesuwania próbki mają podstawowe znaczenie dla sygnału wyjściowego

powstającego na przetworniku, który całkuje chwilowe wartości rozkładu ciśnienia na swojej powierzchni. Dodatkowa droga spowodowana przesunięciem próbki o odległość z_0 jest równa $2z_0 \cos\theta$ (rys.2.2.3), co odpowiada zmianie fazy równej $-i2kz_0 \cos\theta$.

Dla rzeczywistych materiałów w przeciwieństwie do rozpatrywanego do tej pory zwierciadła doskonałego, odbicie zależy od kąta padania fali. Wielkość sygnału odbitego opisywana jest wartością współczynnika odbicia $R(\theta)$. Tak więc napięcie cząstkowe (dV) na przetworniku, wywołane jednym promieniem może być zapisane jako:

$$dV = \frac{1}{R_0^2} e^{-ik2z \cos\theta} R(\theta) 2r dr. \quad (2.2.1)$$

Sygnal wyjściowy z przetwornika powstaje poprzez zsumowanie sygnałów cząstkowych od wszystkich promieni, co odpowiada całkowaniu po powierzchni przetwornika. Jako że soczewka, przez którą promienie przechodzą dwukrotnie modyfikują fazę i amplitudę, do całkowania wprowadza się dodatkowo funkcję $P^2(\theta)$ opisującą wpływ soczewki o kącie połówkowym θ_{\max} . W efekcie otrzymujemy następujące wyrażenie na sygnał wyjściowy z przetwornika mikroskopu:

$$V(z) = A_0 \int_0^{\theta_{\max}} P^2(\theta) e^{-ik2z \cos\theta} R(\theta) \sin(\theta) \cos(\theta) d\theta \quad (2.2.2)$$

gdzie A_0 jest stałą zależną od parametrów soczewki.

Wyrażenie to umożliwia prawidłowe przewidywanie okresu oscylacji krzywych $V(z)$ nawet wtedy, gdy założymy jednostkową funkcję transmisji dla apertury $P(\theta)$.

Poniżej przedstawione zostały wyniki symulacji krzywej $V(z)$ dla próbki kwarcu topionego otrzymane przy zastosowaniu wzoru (2.2.2) oraz krzywa otrzymana eksperymentalnie. Zastosowano soczewkę szklaną o kącie połówkowym równym 50° . Do wyznaczania współczynnika odbicia przyjęto następujące wartości parametrów próbki. Prędkość fali

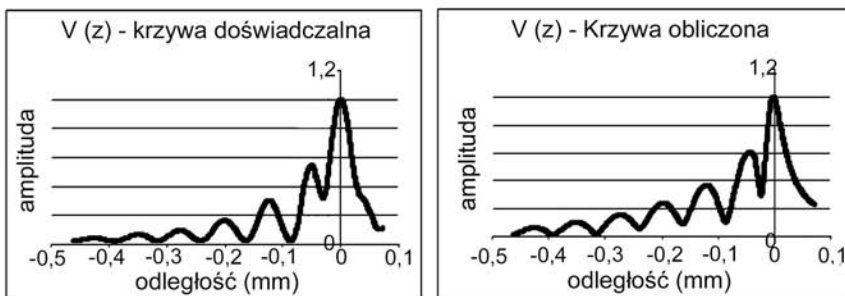
podłużnej – 5970 m/s, fali poprzecznej – 3750m/s, gęstość kwarcu = 2200 kg/m³, współczynnik tłumienia fali podłużnej i poprzecznej – 0 dB/mm.

Dla ośrodka sprzęgającego przyjęto parametry wody równe: prędkość – 1500m/s i współczynnik tłumienia $\alpha/F^2 = 0,029\text{dB/mm}$ oraz częstotliwość pracy mikroskopu równą 100 MHz. Przy symulacji krzywej $V(z)$ współczynnik odbicia $R(\theta)$ obliczany był według wzoru (2.4.1) a w funkcję apertury włączono czynniki amplitudowe i fazowe opisujące:

- a/ rozkład ciśnienia w fali padającej na powierzchnię soczewki
- b/ apodyzacje amplitudy opisaną współczynnikiem transmisji fali przez soczewkę
- c/ aberrację sferyczną soczewki
- d/ tłumienie w ośrodku sprzęgającym

Krzywe $V(z)$ (Rys.2.2.4) opisujące zależność między napięciem a odległością powierzchni próbki-ognisko są ściśle powiązane za współczynnikiem odbicia.

Soczewki używane w mikroskopii akustycznej posiadają względnie duży połówkowy kąt rozwarcia. Na powierzchni materiałów, dla których prędkość fali powierzchniowej jest większa od prędkości fali podłużnej w ośrodku sprzęgającym, przy padaniu fali pod kątem krytycznym, następuje generacja fali powierzchniowej.



Rys.2.2.4 Krzywe opisujące amplitudę sygnału z mikroskopu w zależności od odległości próbka-soczewka. Próbka kwarcu topionego przesuwana była z ogniska ($z=0$) w kierunku soczewki (ujemne wartości z). Krzywa doświadczalna i krzywa obliczona.

Dla kąta krytycznego $\theta = \arcsin(v_0/v_R)$ gdzie v_R jest prędkością fali Rayleigh'a generowana jest powierzchniowa fala Rayleigh'a (Dransfeld, 1970; Brekhovskikh i Godin, 1992; Atalar 1995). Fala ta, propagując się po powierzchni próbki wypromieniowuje część swojej energii w postaci fali podłużnej, w ciecz obciążającą i dlatego nazywana jest często "Wyciekającą" – (ang. Leaky Rayleigh Wave – LRW). Odpromieniowanie fali w ciecz zachodzi również pod kątem krytycznym.

Jeżeli na powierzchnię próbki obciążonej wodą pada fala podłużna pod kątem krytycznym dla fali podłużnej to w wyniku załamania, w próbce, równoległe do jej powierzchni, propaguje się fala podłużna zwana podłużną falą boczną lub powierzchniową falą podłużną. W literaturze fala ta występuje pod nazwą Leaky Longitudinal Lateral Wave – LLLW lub Surface Skimming Compression Wave- SSCW (Tamir 1972; Brekhovskikh i Godin, 1992; Briggs 1992; Tsukahara i wsp. 1994; Tsukahara 1996; Razygraev 2004). Fala LLLW generuje w cieczy falę podłużną propagującą się pod kątem krytycznym od powierzchni próbki.

Jak pokazano powyżej, krzywe $V(z)$ zarówno otrzymane eksperymentalnie jak i w przypadku symulacji, jeżeli tylko kąt połówkowy soczewki jest odpowiednio duży, charakteryzują się oscylacjami amplitudy dla $z < 0$ to znaczy dla obszaru, w którym powierzchnia próbki przesuwana się między ogniskiem a soczewką. Oscylacje tego sygnału związane są z faktem generacji fal powierzchniowych w badanym materiale przez padającą na próbkę sferycznie ogniskowaną falę ultradźwiękową.

Ponieważ oscylacje obserwowane w mikroskopii akustycznej podczas rejestracji krzywej $V(z)$ mogą być zazwyczaj wyjaśnione tylko w oparciu o fale Rayleigh'a – LRW, zakłada się, że amplitudy związane z generacją fali LLLW są małe. W przypadku materiałów o prędkości fali LRW – v_R , mniejszej od $v_0/\sin(\theta_{\max})$, takich jak organiczne materiały stałe (np: pleksyglas, polistyren, nylon), fale LRW nie są wytwarzane metodą wykorzystującą padanie pod kątem krytycznym. Pomimo to, eksperymentalne krzywe $V(z)$ charakteryzują się dalej minimami i maksimami interferencyjnymi a okres oscylacji związany jest z wartością prędkości podłużnej fali ultradźwiękowej propagującej się po powierzchni próbki. Generowane w takich

materiałach fale LLLW spełniają taką samą rolę przy tworzeniu krzywych $V(z)$ jak fale Rayleigh'a.

Przedstawione poniżej zależności między okresem oscylacji krzywej $V(z)$ a prędkością fali powierzchniowej są prawdziwe zarówno dla fali LRW jak i dla fali LLLW.

Prosta interpretacja fizyczna powstawania oscylacji krzywej $V(z)$ pozwala na znalezienie zależności między okresem oscylacji a prędkością generowanej fali powierzchniowej. Gdy powierzchnia odbijająca umieszczona jest poza ogniskiem, jedynie część fali odbitej, biegnąca blisko osi układu dociera do przetwornika. W przypadku, gdy próbka znajduje się w odległości od soczewki mniejszej od ogniskowej, do przetwornika dociera również część fali podłużnej, wypromieniowanej poprzez falę powierzchniową. Obie fale docierają do przetwornika prawie w tym samym czasie i biorąc pod uwagę czas trwania impulsów stosowanych w mikroskopii akustycznej można założyć, że nakładają się one na siebie całkowicie. Zmiany odległości między próbką a soczewką (przeogniskowanie) powodują nierówne zmiany fazy fal docierających do przetwornika. Odbierany sygnał zależy od względnej różnicy faz tych fal. Prędkość zmian fazy fali powierzchniowej zależy od jej prędkości i dlatego okres oscylacji krzywej $V(Z)$ jest ściśle zależny od wartości tej prędkości a pomiar okresu oscylacji (Δz) umożliwia wyliczanie wartości prędkości fali powierzchniowej (Briggs, 1992; Litniewski, 1986; Weglein, 1979).

Zależność ta przedstawia się następującym wyrażeniem:

$$\Delta z = \frac{\lambda_0}{2(1 - \cos(\theta_R))} \quad (2.2.3)$$

gdzie λ_0 to długość fali w ośrodku sprzęgającym a kąt θ_R jest kątem krytycznym spełniającym warunek $\sin(\theta_R) = v_0/v_R$ czyli równy stosunkowi prędkości fali w ośrodku sprzęgającym i prędkości fali powierzchniowej.

Równoważne wyrażenie na prędkość v_R wygląda następująco:

$$v_R = \frac{v_0}{\left(1 - \left(1 - \frac{v_0}{2f \cdot \Delta z}\right)^2\right)^{1/2}} \quad (2.2.4)$$

gdzie f to częstotliwość fali.

Główną zaletą pomiarów prędkości wykonywanych za pomocą mikroskopu ultradźwiękowego jest otrzymywanie wyników uśrednionych na drodze zaledwie kilkunastu długości fali.

2.3 Obrazowanie ilościowe kości beleczkowej – interpretacja obrazów z mikroskopu akustycznego

Podstawowym trybem pracy mikroskopu akustycznego jest obrazowanie. W klasycznym trybie obrazowania odległość między soczewką a próbką jest stała. (Skaner osi Z jest wyłączony). Nadawany sygnał akustyczny odbija się od próbki i jest detekowany przez przetwornik. Następnie, w odbiorniku, mierzona jest wartość amplitudy lub fazy sygnału i wartość ta służy do sterowania jasnością punktu obrazu na ekranie monitora. Współrzędne położenia punktu w obrazie są skorelowane z obszarem odbicia fali od próbki. Skaner XY zmienia położenie obszaru odbicia fali od próbki pozwalając na otrzymanie kolejnego punktu obrazu. W efekcie obraz tworzony jest punkt po punkcie, zgodnie z ruchem skanera XY.

Pracując w trybie amplitudowym SAM umożliwia otrzymywanie obrazów powierzchniowych, podpowierzchniowych i obrazów warstwy wierzchniej. W każdej z tych metod obrazowania inne własności badanego materiału są głównym źródłem kontrasty. W trybie fazowym otrzymywany obraz jest odwzorowaniem profilu powierzchni. Do obrazowania własności mechanicznych stosowane są głównie techniki obrazowania amplitudowego. Powierzchnie badanych w ten sposób próbek powinny być maksymalnie gładkie (gładkość rzędu $1/10$ długości stosowanej fali), aby efekty zmiany amplitudy w wyniku zmian położenia powierzchni próbki względem ogniska były do pominięcia. Wszystkie próbki kości beleczkowej, których obrazy mikroskopowe są prezentowane poniżej były przygotowane w Instytucie Żywności i Żywienia w sposób opisany w rozdziale 2.8.

2.3.1 Obrazowanie powierzchniowe beleczek kości gąbczastej.

Obrazowanie powierzchniowe jest najbardziej popularną metodą obrazowania za pomocą SAM. W tym wypadku badana powierzchnia próbki umieszczana jest w ognisku soczewki. Rozdzielczość obrazu zależy od zastosowanej częstotliwości i stopnia ogniskowania soczewki (wzór 2.3.1) a tym samym od rozkładu ciśnienia akustycznego w ognisku soczewki. Rozkład ten opisywany jest zależnością $J_1(r)/r$ gdzie r to odległość od osi układu

a J_1 jest funkcja Bessel'a pierwszego rodzaju i pierwszego rzędu. Pierwsze zero tej funkcji wypada w odległości

$$r_0 = \frac{0.61 \cdot \lambda \cdot f_0}{d_0}, \quad (2.3.1)$$

gdzie f_0 to ogniskowa, λ długość fali w ośrodku sprzęgającym a d_0 to promień apertury soczewki. Odległość tę przyjmuje się za równą rozdzielczości mikroskopu przy założeniu kryterium rozdzielczości Rayleigh'a.

Jak to zostanie pokazane dla przypadku próbki umieszczonej w ognisku, amplituda napięcia wytwarzanego na przetworniku mikroskopu a służąca do sterowania jasnością punktu obrazu jest zależna od wartości współczynnika odbicia materiału. W zależności od stopnia zogniskowania soczewki jasność obrazu może być mniej lub bardziej liniowo zależna od impedancji próbki.

Z wyrażenia (2.2.2) wynika, że dla $z = 0$ (ognisko) amplituda napięcia (V) z mikroskopu może być opisana jako

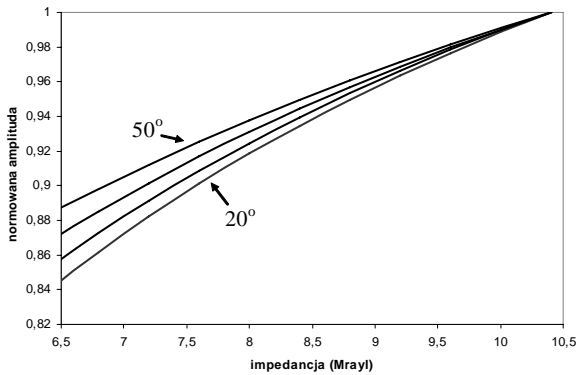
$$V(z = 0) = A_0 \int_0^{\theta_{\max}} P^2(\theta) R(\theta) \sin(\theta) \cos(\theta) d\theta \quad (2.3.2)$$

Dla określonej geometrii układu soczewka-przetwornik napięcie to jest zależne jedynie od współczynnika odbicia – $R(\theta)$. Współczynnik odbicia fali ultradźwiękowej na granicy ośrodków jest zależny od właściwości sprężystych tych ośrodków i od kąta padania fali (wzór 2.4.1).

Własności ośrodka są opisywane przez jego impedancję charakterystyczną Z . Impedancja ta wyznaczana jest przez stosunek ciśnienia akustycznego do prędkości cząstki i dla fali płaskiej jest wielkością rzeczywistą i równą iloczynowi gęstości i prędkości propagującej się w nim fali ($Z = \rho \cdot v$). W pracy przyjęto, że przez wyrażenie impedancja i oznaczenie (Z) rozumie się impedancję ośrodka dla propagującej się fali podłużnej. Jednostką impedancji jest Rayl ($\text{kgm}^{-2}\text{s}^{-1}$) lub MRayl = 10^6 Rayl.

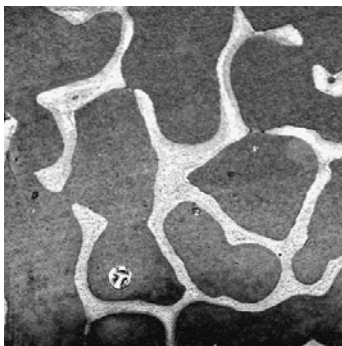
Symulacja sygnału z mikroskopu umożliwi wyznaczenie zależności między jasnością obrazu mikroskopowego (proporcjonalną do amplitudy

sygnału z mikroskopu) a impedancją próbki i kątem połówkowym soczewki (wzór 2.3.2).

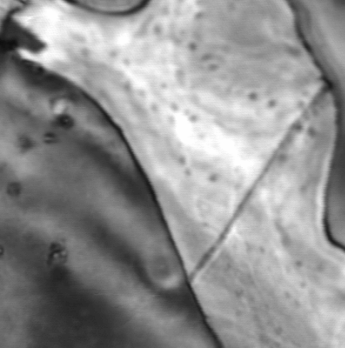


Rys.2.3.1 Unormowane krzywe amplitudy napięcia z mikroskopu (przypadek odbicia na granicy woda-kość) w zależności od impedancji próbki. Krzywe obliczone dla różnych wartości kąta połówkowego soczewki - kolejno od dołu kąt połówkowy równy 20° , 30° , 40° i 50° . Założono, że powierzchnia próbki umieszczona jest w ognisku.

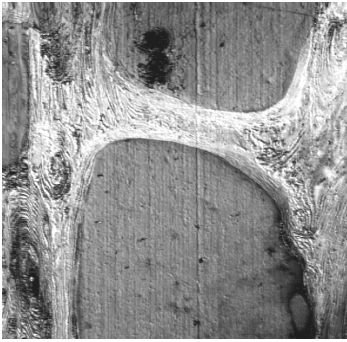
Krzywe (rys.2.3.1) wyznaczone zostały dla parametrów próbki zbliżonych do parametrów tkanki kostnej. Zmiany impedancji symulowane były przez zmianę prędkości fali podłużnej. Jasność punktu obrazu jest liniowo zależna od amplitudy napięcia wyjściowego. Ponieważ otrzymane krzywe w niewielkim stopniu odbiegają od zależności liniowej obrazu mikroskopowe próbek kości, spełniających w przybliżeniu założenia symulacji, mogą być interpretowane jako obrazy rozkładów impedancji.



Rys.2.3.2 Obraz mikroskopowy próbki beleczek kości gąbczastej otrzymany przy częstotliwości 100 MHz. Powierzchnia obrazu równa 3,2mm x 3,2mm. W obrazie beleczek występują obszary o znacznie zwiększonej jasności. Mogą one być interpretowane jako obszary o większej impedancji a tym samym o większej sprężystości. Zazwyczaj związane jest to ze zwiększonym stopniem mineralizacji tkanki kostnej.



Rys.2.3.3 Obraz pojedynczej beleczki. Częstotliwość 100MHz. Obszar obrazowany – 0,2mm x 0,2mm. Zastosowano głowicę o kącie półkowym rozwarcia soczewki równym 30° . Jasność w obrazie jest związana z uśrednionymi parametrami tkanki kostnej tworzącej beleczkę. W takim przypadku wartość jasności w danym punkcie obrazu może być odniesiona do wartości impedancji próbki stosując krzywą z rys.2.3.1.



Rys.2.3.4 Stosując częstotliwość 200MHz możliwe jest obrazowanie wewnętrznej struktury kości w obszarze przejściowym między kością zbitą i kością gąbczastą. Trzeba pamiętać, że obrazowana próbka jest przekrojem kości. Dlatego też wewnętrzna blaszkowa struktura kości widoczna jest jako szereg cienkich, podłużnych obszarów o zmiennej jasności. Duże zmiany jasności w obrazie przekrojów blaszek związane są zazwyczaj z różnym stopniem mineralizacji blaszki i co za tym idzie z różną wartością impedancji.

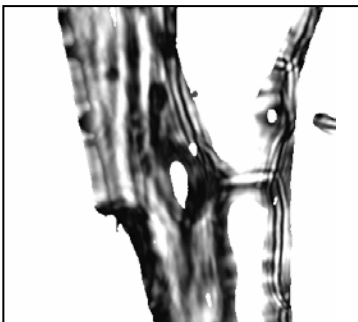
Stosując znacznie niższe częstotliwości (35MHz) cała struktura kości beleczkowej może być obrazowana. Takie obrazy mogą służyć do oceny struktury układu beleczek oraz pomiaru parametrów histomorfometrycznych struktury takich jak średnia grubość i długość beleczek, ilość rozgałęzień czy też średnia gęstość beleczek w strukturze (Hans i wsp., 1995). Pomiaru takie są szczególnie istotne przy połączeniu ich z pomiarami uśrednionych własności akustycznych kości gąbczastej wykonywanymi in vivo przy niskich częstotliwościach ok. 1MHz. Tego rodzaju porównania umożliwiają prowadzenie badań nad ultradźwiękowymi metodami diagnostycznymi opartymi na badaniu stanu struktury kości beleczkowej.



Rys. 2.3.5 Obraz struktury beleczkowej wraz z częścią kości zbitej otrzymany przy częstotliwości 35MHz. Obszar obrazowania 6,4mm x 6,4mm.

2.3.2 Obrazowanie podpowierzchniowe

Aby sygnał z mikroskopu zawierał informację o tłumieniach właściwościach próbki soczewka mikroskopu powinna być zogniskowana na dnie próbki. Fala padająca na powierzchnię próbki jest częściowo odbijana i częściowo przepuszczana w głąb próbki. Fala przepuszczona ulega odbiciu od dna próbki, następnie ulega ponownemu podziałowi na granicy próbka – ośrodek sprzęgający i przez soczewkę dociera do przetwornika. W czasie propagacji w próbce fala ulega tłumieniu. W przypadku obrazowania tkanki kostnej tłumienie to jest wielokrotnie większe od tłumienia w ośrodku sprzęgającym (wodzie). W efekcie amplituda fali docierającej do przetwornika zależy głównie od miejscowych wartości współczynnika tłumienia tkanki kostnej i miejscowych wartości impedancji, która określa wartości współczynników transmisji na granicy ośrodków.

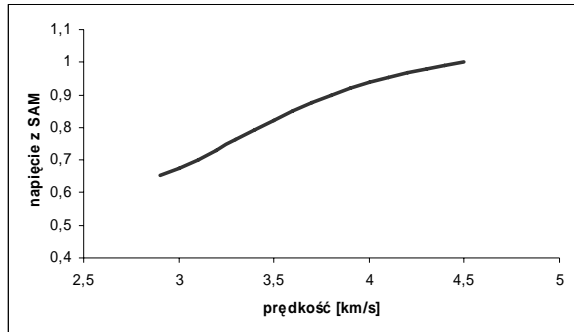


Rys.2.3.6 Obraz próbki kości zbitej i beleczkowej otrzymany przy zogniskowaniu soczewki na dolnej powierzchni próbki. Częstotliwość 100MHz. Obszar obrazowania 3,2mm x 3,2mm. Grubość próbki równa 0,2mm. Obszary o dużej jasności odpowiadają małemu tłumieniu.

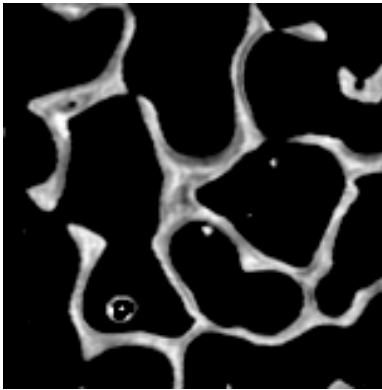
2.3.3 Obrazowanie za pomocą fal powierzchniowych.

Trzeci rodzaj obrazowania dotyczy warstwy wierzchniej materiału i związany jest z faktem generacji fali powierzchniowej przez falę padającą na próbkę pod kątem krytycznym, analogicznie jak przy powstawaniu krzywych $V(z)$. Fala taka propaguje się w warstwie wierzchniej materiału i emituje do ośrodka sprzęgającego falę podłużną, detekowaną przez przetwornik mikroskopu. Jeżeli powierzchnia badanej próbki znajduje się w obszarze między ogniskiem a soczewką, tam gdzie występują maksima i minima krzywej $V(z)$ to powstające na przetworniku napięcie jest spowodowane odbieraniem przez przetwornik fali bezpośrednio odbitej od powierzchni próbki i fali odpromieniowanej przez fale powierzchniową. Obrazowanie odbywa się tradycyjnie poprzez wykonywanie skaningu XY. Przy zachowaniu stałej odległości między soczewką a próbką ($z = \text{const}$) zdecydowanie największy wpływ na jasność punktów obrazu mają zmiany fazy sygnału pochodzącego od fali powierzchniowej. Zmiany te związane są z lokalnymi różnicami prędkości fali powierzchniowej. Różnice w wartości impedancji próbki powodujące zmiany współczynnika odbicia i tym samym amplitudy sygnału bezpośrednio odbitego, w znacznie mniejszym stopniu zmieniają wartość sumarycznego sygnału z mikroskopu, między innymi z powodu pracy poza ogniskiem. Zmiana fazy powoduje zmianę okresu oscylacji krzywej $V(z)$ a co za tym idzie zmianę położenia maksimumów i minimumów interferencyjnych. W efekcie, mimo że odległość między próbką a soczewką nie ulega zmianie to zmienia się lokalnie względne położenie punktu odpowiadającego położeniu powierzchni próbki i krzywej $V(z)$ (Litniewski, 1989; Litniewski i Bereiter-Hahn 1992). Następuje zmiana amplitudy sygnału z mikroskopu. Otrzymywane w ten sposób obrazy mogą być interpretowane jako obrazy rozkładów prędkości fal powierzchniowych.

Korzystając z symulacji numerycznej sygnału otrzymywanego z mikroskopu można obliczyć wpływ zmian prędkości fali podłużnej w badanej próbce na amplitudę tego sygnału a tym samym na jasność powstającego obrazu.



Rys.2.3.7 Obliczona, przykładowa zależność między amplitudą (jednostki względne) napięcia z mikroskopu a prędkością podłużnej fali powierzchniowej (LLW) w próbce kości przy obrazowaniu warstwy wierzchniej.

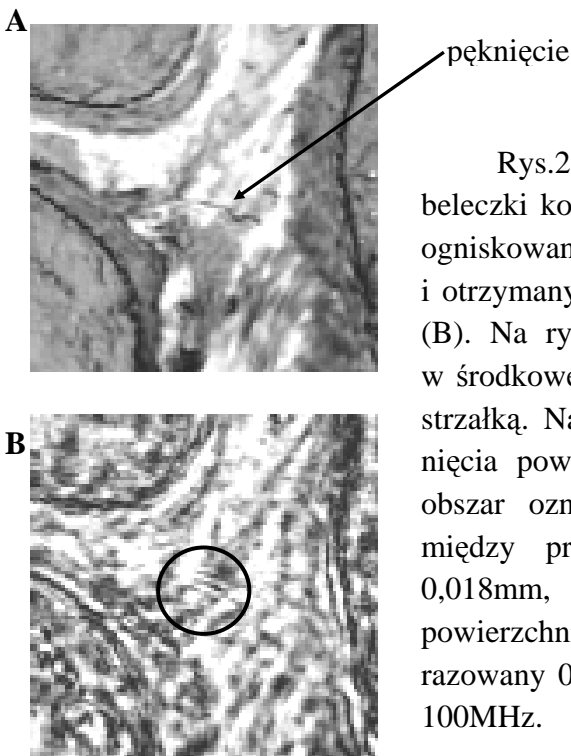


Rys.2.3.8 Obraz mikroskopowy próbki beleczek kości gąbczastej otrzymany przy częstotliwości 100 MHz. Obszar obrazu równy 3,2mm x 3,2mm. Odległość soczewka-próbka $z = -100\mu\text{m}$, co odpowiadało położeniu powierzchni próbki w obszarze opadającego zbocza pierwszej oscylacji krzywej $V(z)$. Analogiczne warunki założono przy obliczeniach zależności z rys.2.3.7. W obrazie beleczek występują obszary o znacznie zwiększonej jasności związane ze zmianami prędkości fali LLW.

Porównując obrazy z rys.2.3.2 i rys. 2.3.8 można zauważyć, że obszary o zwiększonej impedancji pokrywają się z obszarami o zwiększonej prędkości. Jednocześnie w obrazie otrzymanym przy przeogniskowaniu ($z = -100\mu\text{m}$) występują dodatkowe obszary o zwiększonej jasności. Może to wynikać z powodu znacznie większej czułości metody obrazowania za pomocą fali powierzchniowej od metody obrazowania rozkładów impedancji. W tkance kostnej mogą również występować obszary o względnie

dużych różnicach prędkości przy niewielkich różnicach impedancji. W metodzie obrazowania za pomocą fali powierzchniowej bardzo istotne jest wstępne przeogniskowanie. W zależności od wartości tego przeogniskowania przebieg krzywej opisującej wpływ prędkości fali na jasność punktów obrazu może zmieniać się od prawie liniowego do przebiegów o skomplikowanej i niejednoznacznej zależności.

Na granicy dwóch ośrodków może dojść do odbicia fali powierzchniowej. W szczególnych przypadkach fala odbita może również dodawać się do fal docierających do przetwornika. Faza tego trzeciego członu zależy od odległości między punktem generacji a przeszkodą odbijającą. W obrazie mikroskopowym można w takim przypadku obserwować prążki powstające w wyniku dodawania się fali odbitej do fali generowanej bezpośrednio. Odległość między takimi prążkami jest równa połowie długości fali powierzchniowej.



Rys.2.3.9 Obraz amplitudowy jednej beleczki kości gąbczastej otrzymany przy ogniskowaniu na powierzchni (A) i otrzymany metodą fali powierzchniowej (B). Na rysunku A widoczne pęknięcie w środkowej części beleczki – oznaczone strzałką. Na rysunku B w obszarze pęknięcia powstają prążki interferencyjne - obszar oznaczony okręgiem. Odległość między prążkami wynosi ok. 0,017-0,018mm, co odpowiada prędkości fali powierzchniowej ok. 3500m/s. Obszar obrazowany 0,8mm x 0,8mm, częstotliwość 100MHz.

2.4 Obrazowanie parametryczne – obrazowanie rozkładów impedancji i współczynnika tłumienia

2.4.1 Pomiar impedancji za pomocą mikroskopu akustycznego

Jasność w obrazach płaskich próbek otrzymanych za pomocą skanującego mikroskopu akustycznego pracującego w odbiciu, przy ogniskowaniu mikroskopu na obrazowanej powierzchni, zależy głównie od współczynnika odbicia na granicy ośrodka sprzęgającego i próbki. Amplituda napięcia mierzonego na przetworniku może być opisana jako wartość krzywej $V(z)$ dla $z = 0$.

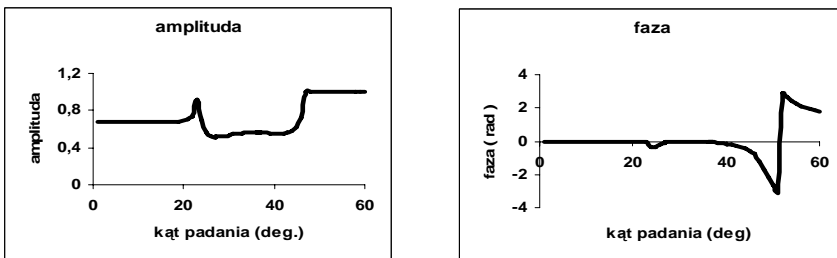
Dla określonej soczewki i częstotliwości funkcja apertury jest stała i o zachowaniu krzywej $V(z)$ decyduje funkcja odbicia fali od próbki, która jest zależna od własności elastycznych próbki.

Amplitudowy współczynnik odbicia fali akustycznej padającej z wody na powierzchnię tkanki kostnej przedstawiono na rys.2.4.1

Obliczono go korzystając ze wzoru (2.4.1) (Brekhovskikh, 1960).

$$R(\theta) = \frac{Z_2 \cdot \cos(2\theta_3)^2 + Z_3 \cdot \sin(2\theta_3)^2 - Z_1}{Z_2 \cdot \cos(2\theta_3)^2 + Z_3 \cdot \sin(2\theta_3)^2 + Z_1} \quad (2.4.1)$$

gdzie $Z_i = \rho_i v_i / \cos(\theta_i)$, ρ_i – gęstość ośrodka, v_i – prędkość fali indeksy $i=1,2,3$ odnoszą się kolejno do fali podłużnej w cieczy oraz fali podłużnej i fali poprzecznej w próbce.



Rys.2.4.1 Zależność amplitudy i fazy współczynnika odbicia od kąta padania fali ultradźwiękowej na granicy woda-kость.

Dla małych wartości kąta padania θ amplituda współczynnika $R(\theta)$ jest prawie stała i dopiero w okolicach kąta padania odpowiadającemu kątowni granicznemu dla generacji fali podłużnej ulega pierwszej większej fluktuacji. Dla kątów powyżej kąta granicznego dla fali poprzecznej fala nie wnika do próbki i amplituda współczynnika odbicia jest równa jedności. Również faza współczynnika odbicia ulega niewielkiej fluktuacji dla kątów bliskich kąta granicznego dla fali podłużnej. Gwałtowna zmiana fazy zachodzi dopiero w okolicach kąta odpowiadającego kątowni granicznemu dla generacji fali Rayleigh'a.

Tkanka kostna charakteryzuje się względnie niskimi wartościami prędkości fali podłużnej i poprzecznej. Dlatego też, w zakresie małych kątów padania (do 20°) zarówno amplituda jak i faza współczynnika odbicia nie zmieniają się. W tym zakresie kątów współczynnik może być przybliżony stałą wartością, równą wartości współczynnika odbicia dla fali padającej pod kątem 90° .

Wtedy, jak wynika ze wzoru (2.3.2), sygnał z mikroskopu (V) dla próbki umieszczonej w ognisku soczewki jest wprost proporcjonalny do wartości współczynnika odbicia (R) co można zapisać jako

$$V(0) = A_0 \cdot R \int_0^{\theta_{\max}} P^2(\theta) \sin(\theta) \cos(\theta) d\theta = V_0 \cdot R. \quad (2.4.2)$$

Stała V_0 opisuje układ pomiarowy. W przypadku próbki kości i soczewki o połówkowym kącie apertury 20° , współczynnik odbicia R można wyrazić jako

$$R = \frac{Z_b - Z_w}{Z_b + Z_w}, \quad (2.4.3)$$

gdzie Z_b to impedancja próbki (kość) a Z_w impedancja ośrodka sprzęgającego (woda).

Jeżeli znana jest impedancja cieczy sprzęgającej to stała V_0 może być w prosty sposób znaleziona poprzez pomiar napięcia $V(z=0)$ dla materiału o znanej impedancji (materiału referencyjnego) a tym samym i znanym współczynnikiem odbicia oznaczonym jako R_r . Załóżmy, że dla materiału odniesienia o

impedancji Z_r i ośrodka sprzęgającego o impedancji Z_w zmierzone napięcie wynosi $V_r(0)$.

Można wtedy wyznaczyć stałą V_0 jako

$$V_0 = \frac{V_r(0)}{R_r} = \frac{V_r(0) \cdot (Z_r + Z_w)}{Z_r - Z_w} \quad (2.4.5)$$

i następnie wyznaczyć impedancję Z_b badanej próbki kości ze zmierzonego napięcia $V_b(0)$ jako

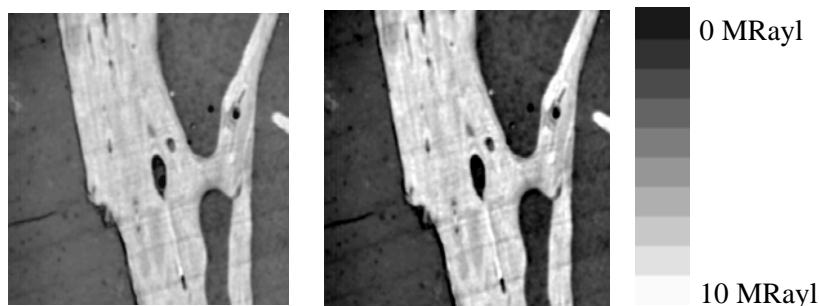
$$Z_b = \frac{Z_w \cdot (V_b + V_0)}{V_0 - V_b} \quad (2.4.6)$$

W ten sam sposób impedancja może być wyznaczona dla każdego punktu obrazu próbki (kości). Mierzona w ten sposób wartość impedancji uśredniana jest po powierzchni odpowiadającej rozmiarom ogniska. W mikroskopii akustycznej odpowiada to promieniowi równemu

$$r = \frac{0.61 \cdot \lambda \cdot f_0}{d_0} \quad (2.4.7)$$

gdzie f_0 to ogniskowa, λ długość fali w ośrodku sprzęgającym a d_0 to promień apertury soczewki. Przy stosowanej częstotliwości 100MHz i soczewce o aperturze 20^0 promień ten wynosi ok. $40\mu\text{m}$.

Każdy punkt obrazu całej próbki może być przetworzony za pomocą wyrażenia (2.4.6) i przedstawiony jako punkt obrazu parametrycznego, czyli rozkładu impedancji. Jest to metoda szczególnie użyteczna przy poszukiwaniu parametrów uśrednionych przestrzennie lub analizie próbek poprzez badanie histogramów rozkładów impedancji lub współczynnika tłumienia (Litniewski i Sawicki, 1997).



Rys.2.4.2 Obraz mikroskopowy próbki kości zbitiej i beleczki kostnej otrzymany tradycyjnie przy ogniskowaniu powierzchniowym (lewy) i wyliczony, parametryczny obraz rozkładu impedancji (prawy) wraz ze skalą szarości skalowaną wartościami impedancji. Częstotliwość 100 MHz. Pole obrazowania 3,2mm x 3,2mm .

2.4.2 Wyznaczanie stałej V_0 i dokładność metody pomiaru impedancji

Stała V_0 we wzorze (2.4.5) opisuje zależność między amplitudą sygnału elektrycznego na wyjściu mikroskopu a proporcjonalną do współczynnika odbicia, amplitudą sygnału akustycznego odbieranego przez mikroskop. Jej wartość zależy od geometrii i parametrów materiałowych układu akustycznego, sprawności przetwarzania sygnału przez przetwornik oraz parametrów elektrycznych układu odbiornika. Przy stałej amplitudzie sygnału nadawczego oraz próbce umieszczonej w ognisku soczewki, amplituda sygnału z mikroskopu jest liniowo zależna od współczynnika odbicia. Dlatego też, stała V_0 wyznaczana była przez pomiar wartości sygnału wyjściowego mikroskopu, generowanego dla próbki o znanym współczynniku odbicia, umieszczonej w ognisku. Pomiar amplitudy odbywał się poprzez rejestrację krzywej $V(z)$ i następnie odczyt wartości amplitudy dla $z=0$. Do pomiaru wybrana została próbka wykonana z teflonu, dla którego to materiału w zakresie kątów apertury soczewki nie występują kąty graniczne, analogicznie jak dla próbek kości (rys.2.4.1). Wartości współczynnika odbicia obliczono według wzoru (2.9) korzystając z danych materiałowych dla

teflonu (impedancja = 2,97MRayl, Briggs, 1992) oraz zakładając, że fala płaska pada na próbkę z wody ($Z_w = 1.5$ MRayl). Jako wartość współczynnika V_0 przyjęta została wartość średnia wyznaczona z wartości współczynników obliczonych w pięciu różnych obszarach próbki.

Z analizy wzoru (2.4.6) opisującego wyznaczaną impedancje próbki wynika, że na błąd pomiaru impedancji wpływa głównie dokładność pomiaru amplitudy sygnału. Od tego zależy dokładność wyznaczenia stałej V_0 oraz dokładność pomiaru napięcia V_b . W pracy przyjęto, że błędy związane z dokładnością użytych w obliczeniach danych materiałowych są do pominięcia w porównaniu z błędami związanymi z pomiarem amplitudy. Pomiar prędkości fali w ośrodku sprężającym (woda) konieczny do wyznaczenia jego impedancji odbywał się przez pomiar temperatury z dokładnością $0,1^{\circ}\text{C}$. Przy takiej dokładności pomiaru temperatury w okolicach 20°C prędkość w wodzie może być obliczona z dokładnością $0,02\%$ (Briggs, 1992) co zapewnia, że błąd obliczonej impedancji wody nie ma praktycznie wpływu na dokładność wyznaczanej impedancji kości.

Amplituda mierzonego sygnału jest próbkowana za pomocą 12 bitowej karty przetwornika A/C. Błąd odczytu jest więc również mały i wynosi $0,02\%$. Znacznie większy błąd jest powodowany przez skończony krok skanera osi Z, który pozwala na wyznaczenie ogniska z dokładnością ok. $0,001\text{mm}$, błędy poziomowania próbki oraz błędy stabilności układu nadawczo-odbiorczego mikroskopu. Wielokrotne rejestracje krzywej $V(z)$ dla tej samej próbki kwarcu topionego wykazały maksymalne różnice wartości amplitudy w ognisku ($z = 0$) równe ok. $0,1\%$.

Błąd ten przekłada się na błąd średni wyznaczania stałej V_0 i wynosi ok. $0,3\%$. W obliczeniach błędu V_0 przyjęto, że jest on równy błędowi popełnianemu przy wyznaczaniu wartości V_0 dla próbki z teflonu.

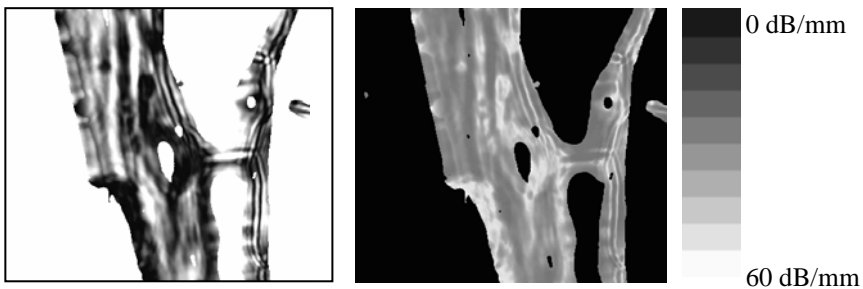
Analiza wpływu poszczególnych błędów cząstkowych na wartość mierzonej impedancji opisanej wyrażeniem (2.4.6) prowadzi do wyznaczenia wielkości błędu średniego popełnianego przy stosowaniu przedstawionej metody porównawczej, który wynosi ok. $0,9\%$.

2.4.3 Obrazowanie rozkładu współczynnika tłumienia

Stosując metodę obrazowania parametrycznego rozkładów impedancji przedstawioną powyżej można określić wartość impedancji dla każdego punktu obrazu próbki. W efekcie umożliwia to kompensację zmian amplitudy, w sygnale tworzącym obraz powstający przy ogniskowaniu na dnie próbki, w wyniku zmian wartości współczynnika odbicia (Litniewski i Sawicki, 1997). Znając grubość próbki można więc otrzymać z obrazu powstałego poprzez ogniskowanie na jej dnie oraz obrazu rozkładu impedancji, obraz parametryczny opisujący rozkład wartości współczynnika tłumienia - $\alpha(x,y)$. Zależność umożliwiającą takie przetworzenie obrazu mikroskopowego opisana jest poniżej:

$$\alpha(x,y) = -\frac{1}{2L} \ln \frac{V_t(x,y) \cdot (Z_b(x,y) + Z_w)^2 \cdot (Z_r - Z_w)}{V_r \cdot 4 \cdot Z_b(x,y) \cdot Z_w \cdot (Z_r + Z_w)} \quad (2.4.7)$$

gdzie L – grubość próbki, Z_w to impedancja wody a Z_r i V_r to kolejno impedancja i amplituda sygnału dla materiału odniesienia. $Z_b(x,y)$ to obraz parametryczny impedancji próbki (rys.2.4.2 prawy) $V_t(x,y)$ to obraz próbki otrzymany przy ogniskowaniu na dnie próbki (rys.2.4.3)



Rys.2.4.3 Obraz własności tłumieniowych próbki (lewy-powtórzonego rys.2.10) oraz obliczony z niego obraz parametryczny - rozkład współczynnika tłumienia (prawy). Częstotliwość 100MHz. Skala szarości kodowana wartościami współczynnika tłumienia.

Aby taka interpretacja obliczonego obrazu była prawdziwa, próbki kości wymagają specjalnego przygotowania. Model zakłada, że mamy do czynienia z materiałem w kształcie płasko-równoległej płytki. Dlatego też próbki kości gąbczastej muszą być bardzo cienkie (ok. 0,05mm). Mierzone belecзки kości gąbczastej są strukturami walcowatymi o średnicy ok. 0,1mm-0,2mm. Tylko w przypadku bardzo cienkich próbek można w nich znaleźć przekroje beleczek spełniające założenia modelu. Analogiczne obrazowanie znacznie łatwiej jest zastosować dla próbek kości zbitej.

2.5 Zastosowanie techniki $V(z)$ do wyznaczania prędkości fali akustycznej w tkance kostnej.

Mikroskopia akustyczna poza obrazowaniem pozwala również na pomiar prędkości i tłumienia fal powierzchniowych. Wykorzystuje się w tym celu sygnał z przetwornika mikroskopu otrzymywany przy zatrzymanym skaningu XY i nagrywany w czasie, gdy próbka przesuwana jest z płaszczyzny ogniskowej, wzdłuż osi skupiającej się wiązki ultradźwięków, w kierunku soczewki.

Prędkość fal Rayleigh'a dla tkanki kostnej wynosi ok. $1,8\text{mm}/\mu\text{s}$ a odpowiadający jej kąt krytyczny jest równy 56° . Taki kąt padania nie jest praktycznie do osiągnięcia za pomocą soczewki mikroskopu i fale Rayleigh'a w próbkach kości nie są generowane. Kąt krytyczny dla fali podłużnej w kości (prędkość $3,2\text{mm}/\mu\text{s}$ – $4,2\text{mm}/\mu\text{s}$) wynosi ok. 24° . Dla większości soczewek mikroskopowych ich połówkowy kąt rozwarcia jest większy od tego kąta. Dlatego w przypadku próbki kości obciążonej wodą, na jej powierzchni generowana jest podłużna fala boczna – LLLW (opisana w rozdziale 2.2.2). Fala LLLW promieniuje do wody, pod kątem krytycznym względem granicy ośrodków, falę podłużną, która może być odebrana przez soczewkę. Prędkość powierzchniowej fali podłużnej (LLLW) w kości jest równa prędkości fali podłużnej w kości.

W przypadku mikroskopii akustycznej i technik $V(z)$ podłużna fala boczna pełni rolę analogiczną do występującej znacznie częściej fali Rayleigh'a pomimo, że fizyka obu tych fal jest całkiem różna. Podłużną falę boczną można uważać za powierzchniowy efekt fali objętościowej, podczas gdy fala Rayleigh'a jest ściśle powiązana z powierzchnią. Z tego też powodu obciążenie powierzchni cieczą w nieznacznym stopniu podwyższa prędkość fali Rayleigh'a a nie ma wpływu na prędkość fali bocznej (Briggs 1992). Fale Rayleigh'a są tłumione wykładniczo w wyniku wypromieniowywania energii w ciecz. Współczynnik tłumienia (α) związany z generacją fali można w przybliżeniu opisać (Dransfeld, 1970) jako:

$$\alpha = \frac{\rho_w \cdot \sin(\theta_r)^2}{\rho_b \cdot \lambda_w} \quad (2.5.1)$$

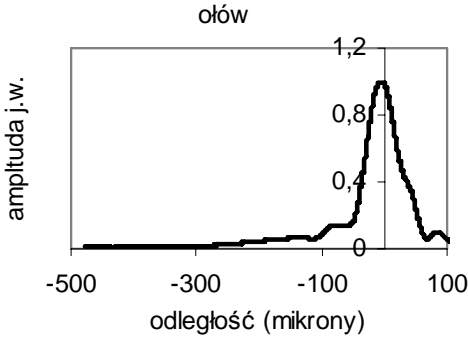
Jak widać współczynnik ten silnie zależy od stosunku gęstości ośrodka sprzęgającego (ρ_w - wody) i badanego materiału (ρ_b - kości).

Amplituda fali bocznej dla propagacji w dwóch wymiarach (powierzchnia materiału badanego mikroskopem) maleje z odległością r jak $r^{-3/2}$ (Chan i Bertoni, 1991; Briggs, 1992). Dlatego też dla dużych przeogniskowań mikroskopu fale boczne mogą mieć znacznie większy wpływ na oscylacje krzywej $V(z)$ niż generowane z większą amplitudą, ale prędkiej tłumione fale Rayleigh'a.

Krzywa $V(z)$ powstała z wykorzystaniem podłużnej fali bocznej pozwala na wyznaczenie prędkości fal podłużnych w próbkach kości.

Może istnieć druga fala boczna propagująca się równoległe do granicy ośrodków w postaci fali poprzecznej. Dla kości kąt krytyczny dla poprzecznej fali bocznej jest, tak jak i dla fali Rayleigh'a, większy od połówkowego kąta rozwarcia soczewki mikroskopu i fala taka nie jest generowana.

Dokładność wyznaczania prędkości z krzywej pomiarowej $V(z)$ zależy od dokładności wyznaczenia okresu oscylacji (wzór (2.2.3)). Dokładność taką można znacznie poprawić poprzez odpowiednie przygotowanie krzywej, przed zastosowaniem analizy Fourierowskiej, prowadzącej do określenia częstotliwości odpowiadających oscylacjom. Przygotowanie polega na wzmocnieniu amplitudy oscylacji poprzez odjęcie od krzywej $V(z)$ krzywej referencyjnej, opisującej wpływ parametrów soczewki i odbicia bezpośredniego. Taką krzywą referencyjną można otrzymać nagrywając sygnał $V(z)$ (nazywany dalej $V_r(z)$) dla materiału, w którym nie można wygenerować fali powierzchniowej. Dobrym przykładem jest ołów. Dla tego materiału prędkości fali podłużnej (2160 m/s) jest na tyle mała, że odpowiadający jej kąt krytyczny jest większy od kątów padania fal skupianych przez soczewkę mikroskopu a prędkości fali poprzecznej (700m/s) i Rayleigh'a (663m/s) są mniejsze od prędkości fali w ośrodku sprzęgającym (woda – 1500m/s). W efekcie generacja fali powierzchniowej dla próbki z ołowiu, metodą kąta krytycznego, nie jest możliwa.



Rys.2.5.1 Unormowana krzywa $V(z)$ dla próbki ołowiu.

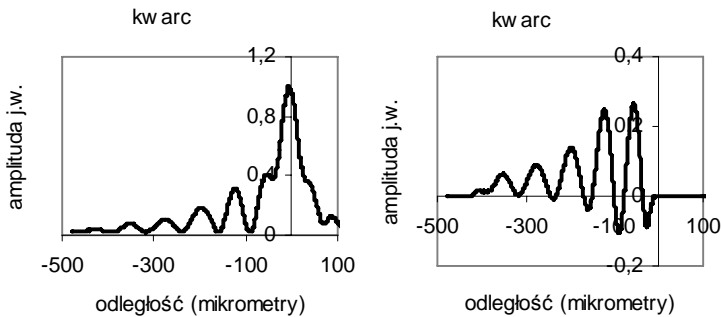
Przy wysokiej stabilności częstotliwościowej układu mikroskopu i dużej dokładności przyjętej w obliczeniach prędkości fali w wodzie, prędkość fali powierzchniowej może być wyznaczona z dokładnością bliską 0,1% (Briggs, 1992). Układ zbudowany przez autora pozwala przy optymalnych warunkach na pomiary z dokładnością ± 3 m/s.

Aby otrzymywać opisane dokładności, rejestrowana krzywa $V(z)$ musi zawierać przynajmniej kilka widocznych oscylacji. Wtedy dopiero dokładność pomiaru okresu oscylacji jest wystarczająca. Aby otrzymać kilka okresów oscylacji $V(z)$ przy częstotliwości 100MHz potrzebny jest obszar pomiarowy o promieniu ok. 0,2mm. Jest to obszar większy od rozmiarów pojedynczej beleczki. Dlatego też, w przypadku pomiarów w pojedynczych beleczkach kości gąbczastej w krzywej $V(z)$ występują maksymalnie dwie oscylacje. Zwiększenie częstotliwości pomiaru umożliwia zmniejszenie wymaganego obszaru pomiarowego, ale jednocześnie zwiększa tłumienie fali powierzchniowej, co w efekcie prowadzi również do zmniejszenia ilości oscylacji.

Przy stosowanych częstotliwościach rzędu 100MHz długość fali jest porównywalna z wewnętrznymi strukturami tkanki, co sprawia, że współczynnik tłumienia jest wysoki. Stanowi to poważne ograniczenie dla techniki $V(z)$ przy pracy z tkanką kostną. Dla dużych powierzchni kości istnieje możliwość obniżenia częstotliwości stosowanych fal i zmniejszenia w ten sposób tłumienia. Fale boczne o częstotliwości 1MHz stosowane są do pomiarów *in vivo* prędkości fali podłużnej w kości zbitnej (Lowet i Van der Perre, 1996; Foldes i wsp., 1995; Asai i wsp., 1996). W badaniach

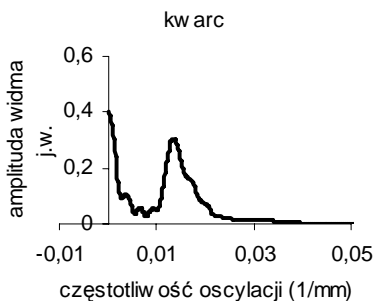
kości gąbczastej, częstotliwości niższe nie mogą być stosowane ze względu na małe wymiary próbek.

Poniżej przedstawiono porównanie metody wyznaczania prędkości fali powierzchniowej metodą $V(z)$ w zastosowaniu do próbki z kwarcu topionego i do próbki kości gąbczastej. Tłumienie fal ultradźwiękowych w kwarcu dla częstotliwości 100MHz jest bardzo małe. Próbka kwarcu była na tyle duża, aby jej wymiary nie ograniczały ilości oscylacji krzywej $V(z)$.

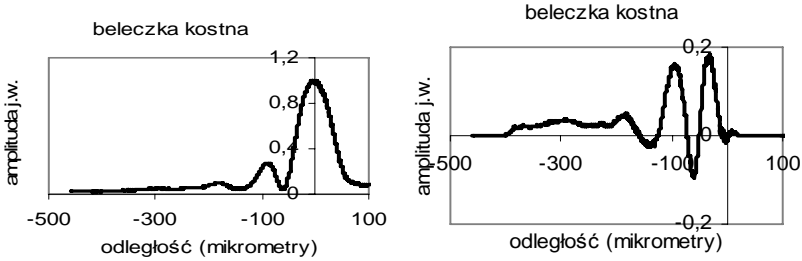


Rys.2.5.2 Krzywa $V(z)$ dla próbki kwarcu topionego (lewa) i przygotowana do wyznaczania okresu oscylacji krzywa $V(z)$ kwarcu po odjęciu krzywej otrzymanej dla próbki ołowiu.

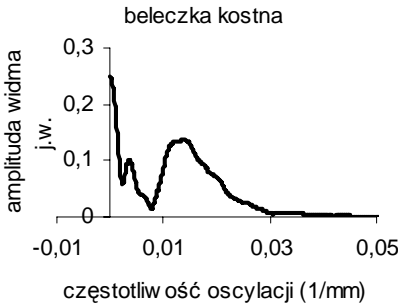
Analogiczna procedura zastosowana dla krzywej otrzymanej dla próbki kości beleczkowej daje znacznie gorsze rezultaty. Pierwsza oscylacja krzywej $V(z)$ dla próbek kości jest dobrze widoczna, następne zanikają tak szybko, że wyznaczenie wartości ich okresu nie jest możliwe lub jest obarczone dużym błędem.



Rys.2.5.3 Amplituda widma krzywej $V(z)$ próbki kwarcowej z dobrze widocznym prążkiem odpowiadającym częstotliwości oscylacji.



Rys.2.5.4 Krzywa $V(z)$ dla pojedynczej beleczki (lewa) i (po prawej) przygotowana do wyznaczania okresu oscylacji krzywa $V(z)$ po odjęciu krzywej otrzymanej dla próbki ołowiu.



Rys.2.5.6 Amplituda widma krzywej $V(z)$ beleczki kostnej. Z powodu małej ilości oscylacji krzywej $V(z)$, prążek odpowiadający częstotliwości oscylacji jest rozmyty i dokładność pomiaru mała.

Problemy pomiarowe spowodowane małymi rozmiarami próbek kości beleczkowej i dużym tłumieniem fal w tkance kostnej zmusiły do poszukiwań innych, nowych metod pomiaru prędkości. Poniżej przedstawiona jest technika pomiaru opierająca się na związku między położeniem pierwszego minimum lub maksimum interferencyjnego krzywej $V(z)$ a prędkością fali powierzchniowej. Dokładność tej metody jest mniejsza od dokładności uzyskiwanych przy wykorzystywaniu wielu okresów oscylacji krzywej $V(z)$, ale promień obszaru pomiarowego niezbędny do prawidłowego pomiaru wynosi przy częstotliwości 100MHz tylko ok. 0,05mm. Nowa, zaproponowana przez autora metoda pomiarowa (PMM) pozwala na wyznaczanie własności pojedynczych beleczek kości gąbczastej.

2.6 Wyznaczanie prędkości fali powierzchniowej na podstawie zmierzonej odległości między pierwszym minimum lub maksimum interferencyjnym krzywej $V(z)$ a ogniskiem.

Dokładna analiza sygnału z mikroskopu w obszarze niewielkich przeogniskowań pozwala na znalezienie zależności między prędkością fali powierzchniowej a położeniem pierwszego minimum lub maksimum oscylacji względem ogniska. W przypadku materiałów silnie tłumiących falę powierzchniową, metoda ta jest często dokładniejsza od opartej na wyznaczeniu okresu oscylacji krzywej $V(z)$ (rozdział 2.2.2). Jednocześnie metoda ta umożliwia znajdowanie wartości prędkości uśrednianej na bardzo małych obszarach (rzędu kilku długości fali), co jest szczególnie istotne przy pomiarach bardzo małych obiektów takich jak pojedyncze beleczki kości gąbczastej.

Zjawisko powstawania krzywej $V(z)$ opisywane było przez wielu autorów. Bardzo dokładny model fizyczny zjawisk towarzyszących powstawaniu krzywej $V(z)$ oraz opis matematyczny oparty na optyce geometrycznej przedstawiony został w 1984 roku przez H. Bertoniego. Model ten wykorzystywany jest w prezentowanej poniżej metodzie pomiaru prędkości fali powierzchniowej.

Aby wyznaczyć odległości między ogniskiem i pierwszym minimum lub maksimum interferencyjnym korzysta się z zaproponowanego modelu i odbywa się to na drodze dokładnej analizy metodami akustyki geometrycznej tworzenia się krzywej $V(z)$ w obszarze małych odległości przeogniskowania. Model opisujący powstawanie krzywej $V(z)$, a w szczególności tworzenia się oscylacji krzywej zakłada, że są one wynikiem padania na przetwornik mikroskopu fali bezpośrednio odbitej od próbki i fali odpromieniowanej przez falę powierzchniową. Minima powstają, gdy fale te mają przeciwne fazy a maksima, gdy są w fazie, czyli gdy różnica ich faz jest odpowiednio nieparzystą bądź parzystą wielokrotnością π . Dlatego też oddzielnie rozważana jest i obliczana faza fali bezpośrednio odbitej od próbki i fali wypromieniowanej przez falę powierzchniową. W przypadku

materiałów, dla których nie można wygenerować fali powierzchniowej, o sygnale z mikroskopu decyduje jedynie fala odbita geometrycznie.

Opis matematyczny modelu opisującego powstawanie krzywej $V(z)$ pozwala na obliczanie amplitudy i fazy napięcia (u) powstającego na przetworniku mikroskopu w wyniku padania na niego fali odbitej geometrycznie (u_G) i fali odpromieniowanej przez generowaną fale powierzchniową (u_L).

$$u = u_G + u_L = U_G \cdot e^{i\varphi_G} + U_L \cdot e^{i\varphi_L} \quad (2.6.1)$$

Wielkości tych składowych (amplitudy – U_G i U_L oraz fazy φ_G i φ_L) zależą od wielkości przeogniskowania - δz , geometrii układu przetwornik – soczewka, prędkości fali w materiale soczewki i ośrodka sprzęgającym oraz od prędkości fali powierzchniowej. Dokładność tych geometrycznych i materiałowych parametrów określa dokładność obliczania różnicy faz ($\varphi_G - \varphi_L$) i w efekcie dokładność wyznaczania prędkości fali powierzchniowej.

Zakłada się, że przetwornik promieniuje falę płaską w postaci równoległych promieni, które propagują się w materiale soczewki w kierunku wklęsłej, sferycznej powierzchni ogniskującej. W wyniku refrakcji na granicy soczewki i ośrodka sprzęgającego promienie skupiane są w obszarze ogniska. Powierzchnia badanej próbki znajduje się w niewielkiej odległości δz powyżej ogniska.

Promienie odbite od powierzchni skupiają się na osi soczewki w odległości od powierzchni równej wielkości przeogniskowania. Po refrakcji na powierzchni soczewki promienie propagują się w kierunku przetwornika w postaci rozbieżnej fali sferycznej, której wirtualne ognisko znajduje się w ośrodku sprzęgającym w odległości u_0 od powierzchni soczewki.

$$u_0 = \frac{f_0 \cdot (f_0 + 2\delta z)}{2n\delta z} \quad (2.6.2)$$

gdzie: f_0 – ogniskowa równa $nR_s/(n-1)$, R_s – promień krzywizny soczewki i n – współczynnik refrakcji równy stosunkowi prędkości podłużnej fali akustycznej w materiale soczewki i ośrodka sprzęgającym.

W zależności od geometrii soczewki, to znaczy parametrów takich jak wielkość apertury soczewki ($2d_0$), promienia przetwornika (R_0), odległości

powierzchnia soczewki – przetwornik (D) oraz wielkości przeogniskowania (δz) promienie padające na płaszczyznę przetwornika oświetlają całą jego powierzchnię lub ograniczony obszar kołowy wokół osi układu.

W obliczeniach fazy fali padającej na przetwornik w wyniku geometrycznego odbicia od próbki odległej o δz od ogniska soczewki trzeba brać pod uwagę korekcie wynikające z aberracji sferycznej i padania na przetwornik fali sferycznej, zmiany o $-\pi$ fazy fali z powodu przejścia przez ognisko oraz wpływu współczynnika odbicia.

Faza napięcia na przetworniku dla przypadku powierzchni odbijającej umieszczonej w odległości większej od pewnej odległości minimalnej z_{\min} od ogniska może być opisana wzorem (Bertoni, 1984; Bertoni, 1985)

$$\phi_G = 2\delta z k_w + \frac{\pi \cdot \delta z}{2F(\delta z - z_0)} + 2k_w \left(\frac{D}{n} + f_0 \right) \quad (2.6.3)$$

gdzie: k_w to wektor falowy w ośrodku sprężającym,

$$F = n(D - f_0/n)(\lambda_w/R_0^2) \quad \text{a} \quad z_0 = f_0^2/(2n(D - f_0/n)).$$

Wartość z_{\min} jest zazwyczaj mniejsza od długości fali. Położenie maksimum czy minimum krzywej znajduje się w odległości od ogniska większej od z_{\min} co pozwala na stosowanie wzoru (2.6.3) przy znajdowaniu fazy.

Fala powierzchniowa powstaje w wyniku padania fali podłużnej na powierzchnię próbki pod kątem krytycznym θ_R , $\sin(\theta_R) = 1/n$. Podczas propagacji po powierzchni wypromieniowuje ona energię w postaci fali podłużnej również pod kątem krytycznym. Generacja fali powierzchniowej zachodzi w obszarze okręgu o promieniu $\rho = \delta z \sin(\theta_R)$ i środka w miejscu przecięcia osi układu i powierzchni próbki. Fala ta ogniskuje się w środku okręgu i propagując się dalej dociera do obszaru gdzie była wytworzona. Fale wypromieniowane do cieczy w okolicy obszaru generacji fali powierzchniowej po refrakcji na granicy ciecz/soczewka skupiane są w materiale soczewki w obszarze w kształcie pierścienia o promieniu $\rho_R \sim f_0 \sin(\theta_R)$ w odległości równej $(f_0/n)\cos(\theta_R)^2$ od powierzchni soczewki. Promienie wypromieniowane z takiego pierścieniowego ogniska „oświetlają” powierzchnię przetwornika. Faza napięcia generowanego przez przetwornik

w wyniku padania na niego fali wypromieniowanej przez powierzchnię fale Rayleigh'a może być zapisana (Bertoni, 1984) w postaci:

$$\phi_L = -2k_w |\delta z| \cos(\theta_R) + 2k_w \left(\frac{D}{n} + f_0 \right) + \angle K, \quad (2.6.4)$$

gdzie

$$K = e^{-i\frac{\pi}{4}} \frac{2}{\eta_T^2} \int_0^{\eta_T} [e^{i(\eta-\eta_R)^2} + e^{-i\frac{\pi}{2}} e^{i(\eta+\eta_R)^2}] \sqrt{\eta} d\eta$$

$$\eta_T = \sqrt{\frac{k_w}{2nD}} R_0 \quad \eta_R = \sqrt{\frac{k_w}{2nD}} \rho_R$$

Funkcja K , tak jak i jej faza $\angle K$, jest wolnozmienną funkcją kąta krytycznego θ_R i była obliczona numerycznie.

Położenie maksimum lub minimum oscylacji zależy od chwilowej wartości różnicy faz ($\phi_G - \phi_L$) między składowymi napięcia generowanego na przetworniku, u_G i u_L . W przypadku, gdy miejsce fali Rayleigh'a zajmują fala boczna - LLLW wyrażenie na różnicę faz (Chan i Bertoni, 1991) wygląda następująco.

$$\phi_G - \phi_L = 2k_w (1 - \cos(\theta_L)) \cdot |\delta z| + \frac{5 \cdot \pi}{4} + \angle K - \frac{\pi \delta z}{2F(\delta z - z_0)} \quad (2.6.5)$$

Opis powstawania krzywej $V(z)$ z udziałem fali bocznej (oparty na optyce geometrycznej) jest prawdziwy jedynie dla odległości między próbką a ogniskiem większych od pewnej odległości minimalnej z_{\min} , zależnej od własności materiału próbki. Odległość ta musi spełniać warunek:

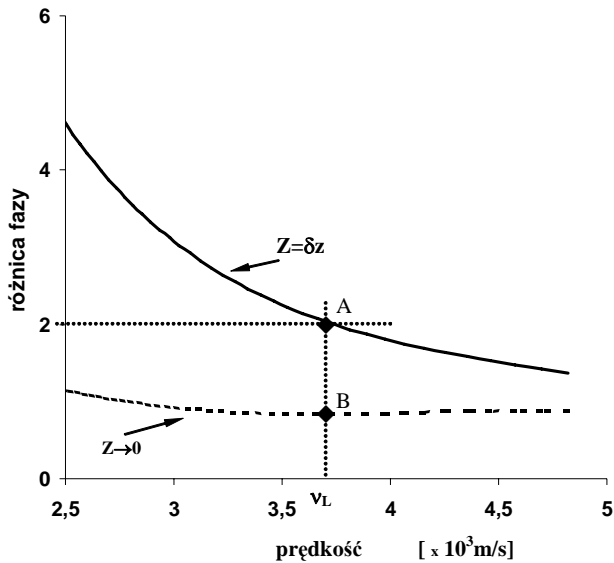
$$|z_{\min}| > \frac{\lambda_w 2 \left(1 + \frac{2\mu}{\lambda}\right)^4 \left(\frac{\rho_w}{\rho_s}\right)^2}{\cos(\theta_L)} \quad (2.6.6)$$

gdzie μ i λ to stałe Lamego dla materiału próbki.

Dla kości z_{\min} jest mniejsze od $2\lambda_w$. Rozważając jedynie zależności fazowe pomiędzy falami składowymi krzywej $V(z)$ ograniczenie to jest znacznie słabsze i wyrażenie (2.6.5) może być stosowane do opisu różnicy faz dla $\delta z \ll \lambda_w$, a więc praktycznie w całym zakresie oscylacji krzywej $V(z)$ (Chan i Bertoni, 1991).

Wartość prędkości generowanej fali powierzchniowej znajdująca się jest numerycznie. Metoda opiera się na dwóch założeniach: różnica faz składowych napięcia w maksimach lub minimach krzywej $V(z)$ jest odpowiednio równa parzystej lub nieparzystej wielokrotności π oraz odległość δz mierzona jest między ogniskiem i pierwszym maksimum lub minimum interferencyjnym. Procedura znajdowania wartości prędkości wygląda następująco: z eksperymentalnej krzywej $V(z)$ znajduje się odległość δz między ogniskiem i najbliższym minimum lub maksimum. Następnie korzystając z (2.6.5) dla eksperymentalnie wyznaczonej wartości δz oraz wyznaczonych wcześniej parametrów geometrycznych i materiałowych mikroskopu liczona jest różnica faz ($\varphi_G - \varphi_L$) w funkcji prędkości podłużnej fali powierzchniowej (v_L). Następnie analogiczne obliczenia wykonywane są dla próbki umieszczonej w okolicy ogniska ($\delta z \rightarrow 0$). Obie krzywe przedstawiono na rys.2.6.1.

Różnica faz zależna od prędkości fali powierzchniowej propagującej się w belecze kości gąbczastej musi spełniać dwa warunki. Załóżmy, że δz oznacza odległość między ogniskiem a pierwszym maksimum krzywej $V(z)$, tak jak ma to zazwyczaj miejsce podczas pomiarów. W takim przypadku po pierwsze różnica faz obliczona dla zmierzonej odległości δz , a związana z poszukiwaną prędkością fali powierzchniowej musi być równa parzystej wielokrotności π , ponieważ odpowiada ona maksimum interferencji. Po drugie, wartość tej różnicy musi być mniejsza od 2π w stosunku do wartości obliczonej dla odległości $\delta z \rightarrow 0$ i odpowiadającej tej samej prędkości fali powierzchniowej. Drugi warunek oznacza, że pomiary są wykonywane dla pierwszego maksimum interferencyjnego.



Rys.2.6.1 Wartości różnicy fazy (w jednostkach π) obliczone w funkcji prędkości fali LLW dla przypadku $Z=\delta z$ (krzywa ciągła) i $Z\rightarrow 0$ (przerywana). Dla prawidłowo znalezionej wartości prędkości odpowiadająca jej na krzywej ciągłej wartość różnicy faz powinna być równa parzystej wielokrotności π (A) i jednocześnie analogicznie znalezionej wartości dla krzywej przerywanej (B) nie może różnić się od (A) więcej niż 2π .

Wartości numeryczne otrzymane poprzez symulację są prawdziwe tylko dla przypadku ściśle określonej soczewki i warunków pracy mikroskopu. Wymagana jest znajomość następujących parametrów soczewki:

parametry geometryczne:

promień krzywizny i apertura soczewki
promień aktywnego obszaru przetwornika i odległość przetwornika od soczewki

parametry materiałowe:

prędkości fali podłużnej w materiale soczewki i w ośrodku sprzęgającym

Dokładność metody wyznaczona została poprzez analizę wpływu poszczególnych parametrów występujących we wzorze (2.6.5) na

dokładność obliczania różnicy faz i tym samym na dokładność wyznaczania prędkości. Stwierdzono, że na wartość końcową błędu obliczanej fazy największy wpływ mają błędy cząstkowe związane z wyznaczaniem następujących parametrów: prędkość fali w wodzie, promień krzywizny soczewki, promień aktywnej części przetwornika, częstotliwość fali oraz odległość (δz) o jaką trzeba przesunąć próbkę z ogniska aby znalazła się ona w pierwszym maksimum krzywej $V(z)$.

Prędkość w ośrodku sprzęgającym analogicznie jak przy pomiarach impedancji może być wyznaczona z dużą dokładnością. Również geometryczne i materiałowe parametry soczewki mikroskopu i przetwornika są ściśle określone w czasie procesu ich wytwarzania. W efekcie wpływ błędów cząstkowych tych parametrów na błąd fazy jest niewielki. W technice pomiarowej $V(z)$ nadawany impuls akustyczny jest relatywnie długi i wynosi kilkanaście okresów wysokiej częstotliwości (w.cz.). Pozwala to na dokładne wyznaczenie częstotliwości pracy mikroskopu. Analiza błędu pokazała w efekcie, że największy wpływ na dokładność pomiaru prędkości ma dokładność wyznaczenia odległości δz . Średnia długość kroku skanera osi Z wynosi $0,625\mu\text{m}$. Jeżeli położenie maksimum wyznacza się z dokładnością jednego kroku to powoduje to 1,5% błąd wyznaczania prędkości. Po uwzględnieniu dodatkowych błędów wynikających z niedokładności wykonania soczewki, błędu wyznaczania częstotliwości pracy mikroskopu oraz błędu wyznaczania prędkości fali w wodzie, całkowity średni błąd pomiaru prędkości v_L wynosi 2%. Błąd ten może być znacznie większy w przypadku, gdy maksima oscylacyjne krzywej $V(z)$ nie są wyraźnie określone.

2.7 Eksperymentalna weryfikacja modelu powstawania oscylacji krzywej $V(z)$

2.7.1 Wstęp

Model powstawania oscylacji krzywej $V(z)$ zakłada sumowanie przez przetwornik odbiorczy napięcia generowanego przez dwie fale propagujące się z powierzchni próbki, falę odbitą geometrycznie i falę odpromieniowaną przez falę powierzchniową. W przypadku materiałów, dla których nie można metodami mikroskopii akustycznej wygenerować fali powierzchniowej do przetwornika dociera jedynie fala odbita geometrycznie. Można założyć, że zmiany amplitudy sygnału z przetwornika wraz ze zmianami odległości ognisko-próbka w przypadku odbicia geometrycznego związane są jedynie z geometrią układu próbka-soczewka-przetwornik. Dlatego zmiany amplitudy i fazy sygnału tworzącego krzywą $V(z)$ dla próbki, dla której zachodzi jedynie odbicie geometryczne powinny być takie same jak dla sygnałów pochodzących od odbicia geometrycznego dla próbki z propagującą się falą powierzchniową. Przy założeniu liniowego sumowania przez przetwornik, amplitudowo-fazowych sygnałów składowych krzywej $V(z)$, można zmierzyć względną różnicę faz dla fali odbitej geometrycznie i dla fali pochodzącej od fali powierzchniowej w wybranych punktach krzywej $V(z)$ a w szczególności w maksimach i minimach interferencyjnych. Amplitudę i fazę fali powierzchniowej można znaleźć jako różnicę między nagraniem z mikroskopu, dla określonego położenia badanej próbki względem ogniska, sygnałem wielkiej częstotliwości i analogicznym sygnałem pochodzącym od próbki z ołowiu lub teflonu, a więc materiału, dla którego zachodzi jedynie odbicie geometryczne. Pomiar taki może być wykonany zarówno dla materiałów, dla których główną falą powierzchniową jest fala Rayleigh'a jak i dla materiałów z propagującą się jedynie podłużną falą boczną. Analogicznie, jak w przypadku rejestracji amplitudowych krzywych $V(z)$ powierzchnia próbki powinna być płaska i maksymalnie gładka. Przebiegi amplitudowo-fazowe stosowane do obliczania sygnału pochodzącego od fali powierzchniowej są

tak normowane, aby ich amplitudy dla $z = 0$ (ognisko) były równe. Pozwala to wyeliminować wpływ układów nadawczo-odbiorczych oraz wpływ współczynnika odbicia badanego materiału i materiału odniesienia (teflonu) na mierzone sygnały. Zgodnie z modelem, przebiegi związane z falą odbitą geometrycznie i falą odpromieniowaną przez falę powierzchniową powinny różnić się fazą odpowiednio o parzystą lub nieparzystą wielokrotność π w zależności od miejsca pomiaru, maksimum lub minimum krzywej $V(z)$.

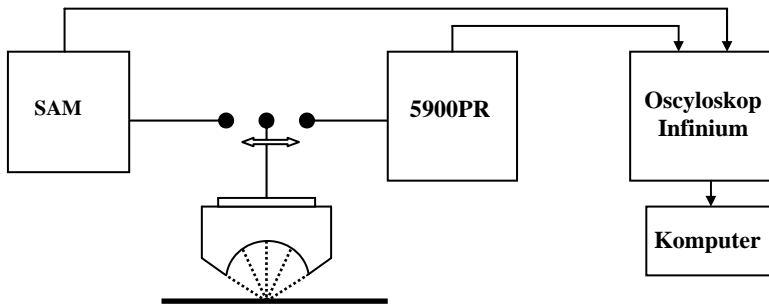
Jednocześnie, można znaleźć teoretycznie, w oparciu o przedstawiony powyżej model powstawania krzywej $V(z)$ i geometrię układu przetwornik-soczewka-próbka, różnicę czasu przelotu (Δt) między falą odbitą geometrycznie a falą wygenerowaną przez falę powierzchniową. Różnica ta opisywana jest następującym wyrażeniem:

$$\Delta t = 2\delta z \left(\frac{1}{v_w \cos(\theta_L)} - \frac{\text{tg}(\theta_L)}{v_L} - \frac{1}{v_w} \right) \quad (2.7.1)$$

gdzie v_L , v_w to prędkości fali powierzchniowej i fali podłużnej w wodzie, θ_L – kąt krytyczny, a δz to wielkość przeogniskowania.

Stosując bardzo krótkie sygnały nadawcze oraz duże wartości przeogniskowania (δz) można eksperymentalnie rozdzielić impulsy pochodzące od odbicia geometrycznego i od fali powierzchniowej i zmierzyć ich względne przesunięcie. Wielkość tego przesunięcia jest ściśle związana z prędkością fali powierzchniowej i może posłużyć do wyznaczenia wartości tej prędkości.

Pomiary przeprowadzono na dwa sposoby: stosując długie impulsy nadawcze (kilkanaście okresów przebiegu sinusoidalnego 96MHz) z nadajnika/odbiornika mikroskopu akustycznego i stosując bardzo krótkie impulsy z nadajnika/odbiornika Panametrics 5900PR (amplituda 100V, nachylenie zbocza 2ns). Sygnały rejestrowane były za pomocą oscyloskopu cyfrowego Agilent Infinium (częstotliwość próbkowania 4GHz).



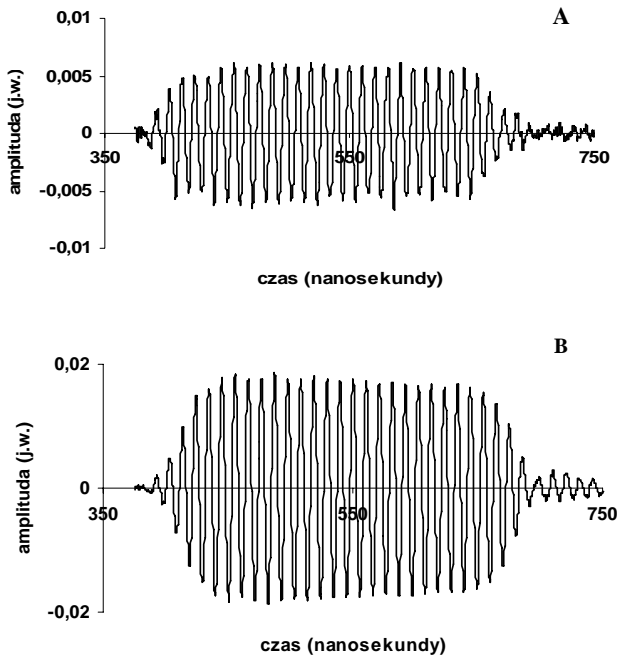
Rys.2.7.1 Schemat układu pomiarowego. Jako nadajnik/odbiorca używany był układ wytwarzający bardzo krótkie impulsy (Panametrics 5900PR) lub układ nadawczo-odbiorczy mikroskopu akustycznego (impulsy długie).

2.7.2 Pomiary z zastosowaniem długich impulsów

Pomiary z zastosowaniem długich impulsów miały na celu wyznaczenia różnicy faz między odbiciem geometrycznym a falą pochodząca od fali powierzchniowej. Do pomiarów zastosowano 100MHz-ową głowicę mikroskopową o kącie półkowym rozwarcia soczewki równym 50° . Stosując długie impulsy rejestrowano przebiegi w ognisku, pierwszym minimum, pierwszym maksimum i drugim minimum krzywej $V(z)$ dla próbek z kwarcu topionego, pleksiglasu i wybranym obszarze beleczki kości gąbczastej oraz w analogicznych położeniach dla teflonu. Następnie przebiegi te posłużyły do obliczenia przebiegu odpowiadającego fali odpromieniowanej przez falę powierzchniową i do znalezienia względnej różnicy faz (dla częstotliwości środkowej widma) między tą falą i odbiciem geometrycznym.

Pomiar fazy przy częstotliwości 100MHz wymagał bardzo dokładnej stabilizacji temperaturowej całej aparatury elektronicznej i układu akustycznego wraz z ośrodkiem sprzęgającym próbkę z soczewką. Błąd próbkowania równy jednej próbce odpowiadał błędowi fazy równemu $0,05\pi$ a błąd kroku skanera (krok= $0,625\mu\text{m}$) powodował błąd pomiaru fazy równy $0,15\pi$. Dlatego też pomiary rozpoczynały się wiele godzin po włączeniu całego systemu pomiarowego, dopiero wtedy, gdy w ciągu 15 minut położenie czasowe sygnału odbitego od próbki zmieniało się nie więcej niż o $0,25\text{ns}$ (rejestracja odbitych sygnałów dla kilku próbek i dla czterech położenia próbki względem soczewki

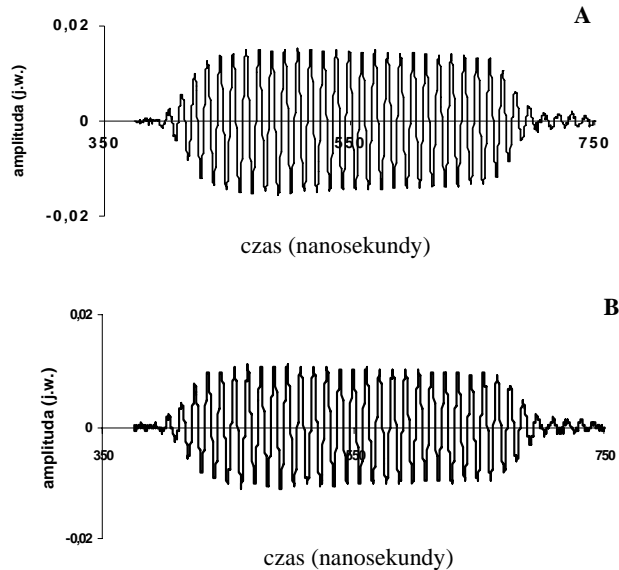
trwa kilkanaście minut). Przesuw skanera w osi Z odbywał się zawsze w tym samym kierunku, aby zlikwidować ewentualne luzy układu mechanicznego.



Rys.2.7.2 Sygnały z mikroskopu otrzymane dla próbki kwarcu przy zastosowaniu długich impulsów. A – sygnał w minimum krzywej $V(z)$, B – w maksimum krzywej $V(z)$.

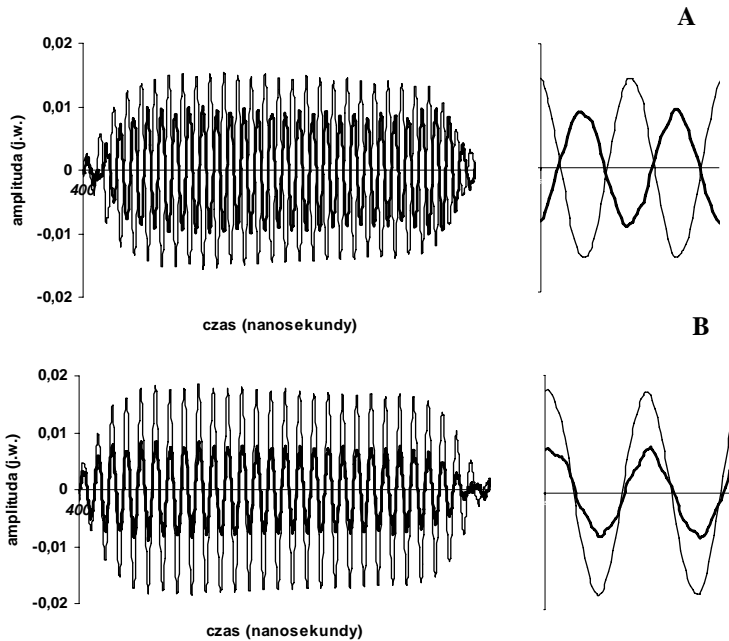
Oscylacje krzywej $V(z)$ dla próbki kwarcu topionego są bardzo dobrze widoczne (rys.2.5.2). Amplituda sygnału w pierwszym maksimum jest prawie czterokrotnie większa od amplitudy sygnału w pierwszym minimum. Oznacza to, że amplituda generowanej fali powierzchniowej powinna być porównywalna z amplitudą fali odbitej geometrycznie. W celu wyznaczenia sygnału pochodzącego od fali powierzchniowej, dla kwarcu jest to fala Rayleigh'a, nagrane zostały następnie sygnały w.cz. dla próbki teflonu. Ponieważ na powierzchni próbki z teflonu nie można wygenerować za pomocą mikroskopu fali powierzchniowej to cały sygnał

odbierany z przetwornika można uważać za pochodzący od odbicia geometrycznego.



Rys.2.7.3 Sygnały zarejestrowane dla próbki z teflonu dla odległości próbka – ognisko takiej samej jak dla minimum (A) i maksimum (B) dla próbki kwarcu (analogicznie do A i B rys.2.7.2).

Jeżeli tylko amplitudy sygnałów odbitych od próbki kwarcu i teflonu były równe w ognisku to można założyć, że sygnał pochodzący od próbki teflonu równy jest sygnałowi odbitemu geometrycznie od próbki kwarcu dla wszystkich odległości próbka-ognisko. Z przyjętego modelu wynika, że sygnał pochodzący od fali powierzchniowej może być obliczony jako różnica między sygnałem z mikroskopu (sygnał dla kwarcu rys.2.7.2A lub B) i sygnałem pochodzącym od odbicia geometrycznego to znaczy sygnałem równym sygnałowi odbitemu od teflonu (rys.2.7.3 odpowiednio A lub B). Model zakłada również, że oba składowe sygnały (sygnał od fali powierzchniowej i sygnał od odbicia geometrycznego) różnią się o parzystą lub nieparzystą wielokrotność π , odpowiednio maksimum i minimum krzywej.

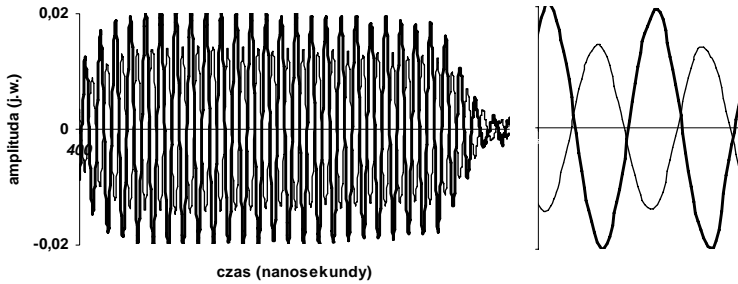


Rys. 2.7.4 Obliczone sygnały odpowiadające fali odpromieniowanej przez falę powierzchniową Rayleigh’a (LRW)-linia gruba oraz sygnały odpowiadające odbiciu geometrycznemu – linia cienka. Wykresy całego przebiegu (po lewej) i wycinek sygnału o długości 20ns (po prawej). A/ pierwsze minimum krzywej $V(z)$, B/ pierwsze maksimum.

Na rys.2.7.4A wyraźnie widoczne jest przesunięcie fazy między sygnałem pochodzącym od LRW i sygnałem od fali odbitej geometrycznie. Oba przebiegi mają praktycznie przeciwną fazę. Ich suma wyznaczy minimum krzywej $V(z)$. Odwrotna sytuacja ma miejsce w przypadku przedstawionym na rys.2.7.4B. Między odbiciem geometrycznym a falą pochodząca od LRW nie ma praktycznie przesunięcia fazy. Suma obu przebiegów wyznaczy maksimum krzywej $V(z)$.

Analogiczne pomiary przeprowadzono dla próbki z pleksiglasu. Prędkość fali Rayleigh’a jak i fali poprzecznej dla pleksiglasu jest mniejsza od prędkości fali w wodzie (odpowiednio równa ok. 1030 m/s i 1100m/s). Jedyną falą powierzchniową, jaka może być wygenerowana w pleksiglasie w wyniku padania na jego powierzchnie fali pod kątem krytycznym jest podłużna fala boczna (prędkość równa 2700 m/s, kąt krytyczny dla padania

z wody równy ok. 34°). Przy powstawaniu krzywej $V(z)$ fala ta pełni rolę analogiczną do fali Rayleigh'a.

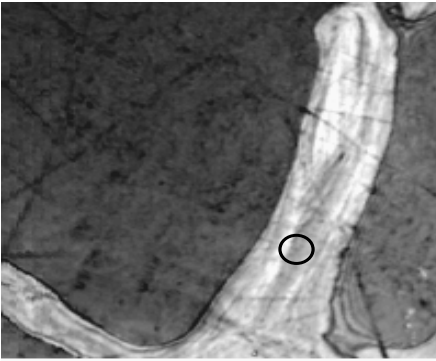


Rys.2.7.5 Obliczone sygnały odpowiadające fali odpromieniowanej przez podłużną falę powierzchniową - linia gruba oraz sygnały odpowiadające odbiciu geometrycznemu – linia cienka dla próbki pleksiglasu. Wykresy całego przebiegu (po lewej) i wycinek sygnału o długości 20ns (po prawej). Pierwsze minimum krzywej $V(z)$.

Analogicznie jak dla próbki kwarcu, również dla pleksiglasu składowe krzywej $V(z)$ mają zgodne fazy w maksimach i przeciwne w minimach krzywej. Dokładne pomiary różnicy fazy przedstawiono w Tab.2.7.1.

Następnie przeprowadzono analogiczne pomiary dla pojedynczej beleczki próbki kości gąbczastej. Na powierzchni kości, tak jak dla pleksiglasu za pomocą mikroskopu akustycznego można wygenerować jedynie podłużną falę powierzchniową. Prędkość fali podłużnej w kości zawiera się w zakresie od 3200m/s do 4200m/s. Prędkości fali poprzecznej i fali Rayleigh'a wynoszą odpowiednio ok. 1900m/s i ok. 1800m/s. Odpowiadające im kąty krytyczne są większe od kątów padania występujących w fali ogniskowanej przez soczewkę mikroskopu.

Próbka kości gąbczastej przygotowana była analogicznie do próbek wykorzystywanych podczas pomiaru impedancji i prędkości fali podłużnej w tkance kości beleczkowej (rozdział 2.8).

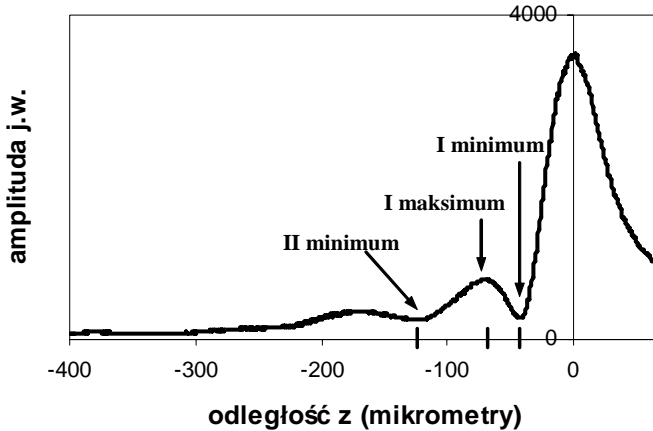


Rys.2.7.6 Obraz mikroskopowy beleczki kości gąbczastej, dla której wykonano pomiary fal tworzących krzywą $V(z)$. Częstotliwość obrazowania = 96 MHz. Obszar obrazowania 1,6mm x 1,6mm. Okręgiem o średnicy ok. 120 μ m oznaczono obszar odpowiadający pomiarowi i jednocześnie wyznaczający maksymalny obszar padania fali ultradźwiękowej przy ogniskowaniu soczewki w drugim minimum krzywej $V(z)$.

Beleczka kości gąbczastej, której przekrój przedstawiono na rys.2.7.6 jest szczególnie duża. Jej średnica wynosi ok. 300 μ m przy średniej wartości średnicy dla beleczek kości gąbczastej równej 100 μ m-200 μ m. Beleczka ta zapewniała wystarczająco duży obszar pomiarowy dla nagrania krzywej $V(z)$, przedstawionej poniżej. Amplituda oscylacji krzywej $V(z)$ jest mała i praktycznie oscylacje zanikają już przy przeogniskowaniu ok. 300 μ m. Na rys.2.7.6 widać wewnętrzną strukturę beleczki. Fala powierzchniowa o częstotliwości 96MHz ($\lambda \approx 37\mu$ m) jest silnie rozpraszana na elementach struktury. Jednocześnie przy przeogniskowaniu ok. 300 μ m część fali wypromieniowywanej przez soczewkę pada już poza obszarem beleczki.

Analogicznie jak dla próbek kwarcu i pleksiglasu zmierzone zostały i następnie obliczone sygnały tworzące krzywą $V(z)$ beleczki kości gąbczastej w pierwszym i drugim minimum oraz pierwszym maksimum krzywej $V(z)$. Wyniki otrzymane dla tkanki kości beleczkowej pokazują, że również w tym przypadku oscylacje krzywej $V(z)$ związane są ze zmianami względnej fazy między falą odbitą geometrycznie i odpromieniowaną przez podłużną falę boczną. Fala boczna jest bardzo silnie tłumiona. Już przy niewielkich odległościach δz jej amplituda jest znacznie mniejsza od amplitudy fali odbitej geometrycznie. W krzywej $V(z)$ praktycznie wyznaczone może być jedynie położenie pierwszego minimum i maksimum. Pomimo to pomiary fazy dla sygnałów otrzymanych z próbki kości beleczkowej w sposób

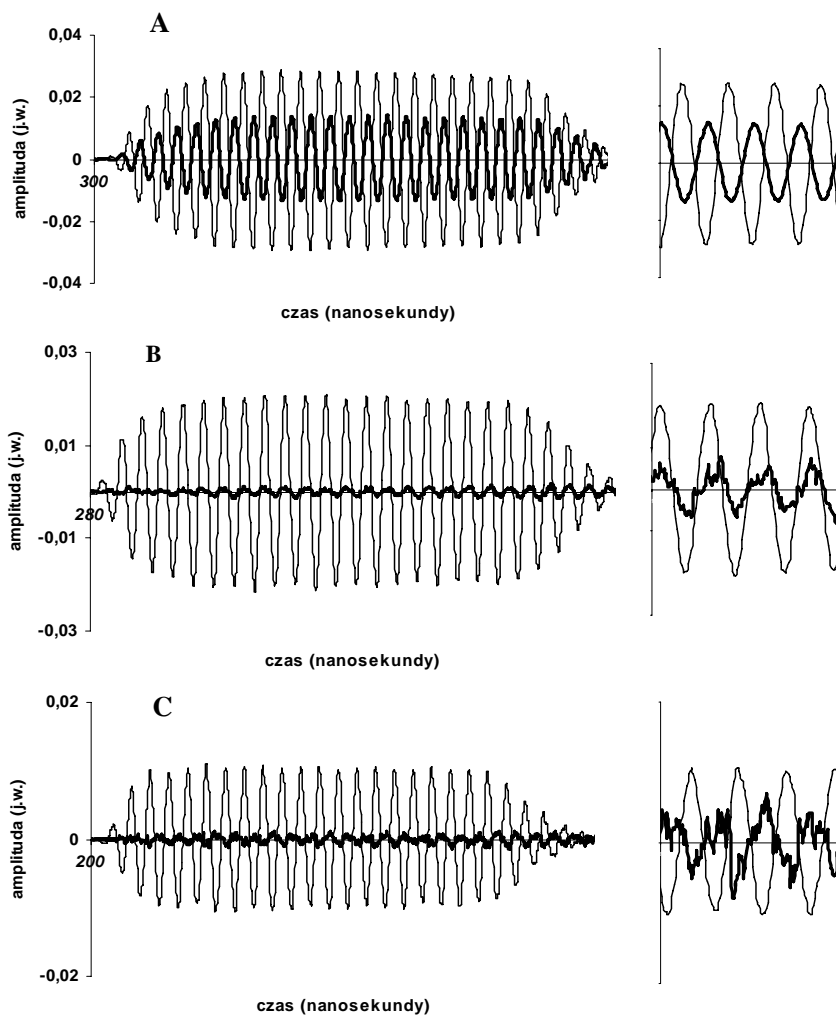
jednoznaczny wskazują na wpływ podłużnej fali bocznej na proces tworzenia krzywej $V(z)$.



Rys. 2.7.7 Krzywa $V(z)$ beleczki kości gąbczastej. Na osi opisującej odległość z oznaczono trzy położenia odpowiadające kolejnym minimum i maksimum krzywej i jednocześnie określające położenie soczewki i próbki przy rejestracji sygnałów w.cz.

Nagrane przebiegi dla trzech materiałów (kwarc, pleksiglas i kość beleczkowa) zostały użyte do obliczenia różnicy fazy między odbiciem geometrycznym i sygnałem pochodzącym od fali powierzchniowej dla trzech położenia soczewki względem próbki, w pierwszym i drugim minimum krzywej $V(z)$ oraz w jej pierwszym maksimum. Pomiaru dokonano dla częstotliwości 95,7MHz, odpowiadającej maksimum widma sygnału. Wyniki przedstawiono w tabeli 2.7.1.

Zmierzone przebiegi a następnie obliczone wartości przesunięcia fazy między składowymi krzywej $V(z)$ pokazują, że również dla tkanki kostnej i propagującej się po jej powierzchni podłużnej fali bocznej, model powstawania krzywej $V(z)$ jest taki sam jak dla materiałów z propagującą się falą Rayleigh'a. W szczególności, w przypadku tkanki kostnej, może on być stosowany dla małych wartości przeogniskowania, co ma podstawowe znaczenie dla metody pomiarowej (PMM) opisanej w rozdz. 2.6.



Rys.2.7.8 Sygnały składowe krzywej $V(z)$ dla beleczki kości gąbczastej, dla trzech odległości między próbką a soczewką: A/ - pierwsze minimum krzywej $V(z)$, B/ - maksimum krzywej i C/ - drugie minimum. Obliczone sygnały odpowiadające fali odpromieniowanej przez podłużną falę powierzchniową - linia gruba oraz sygnały odpowiadające odbiciu geometrycznemu - linia cienka. Wykresy całego przebiegu (po lewej) i powiększony wycinek sygnału o długości 40ns (po prawej). Na wycinkach sygnału B i C amplituda sygnału od podłużnej fali bocznej zwiększona została pięciokrotnie.

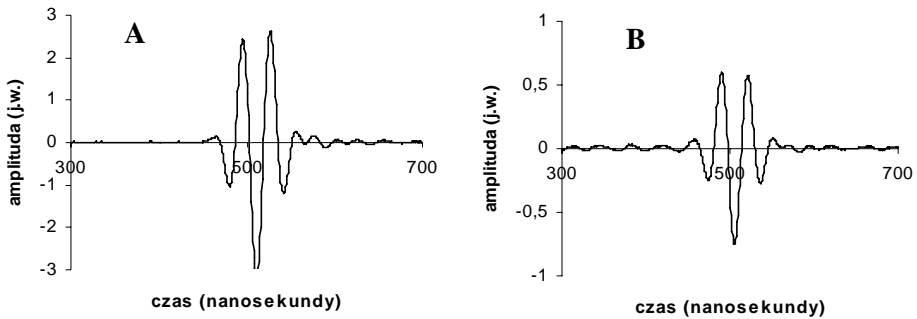
Tab.2.7.1

Zmierzone różnice fazy ($\varphi_G - \varphi_L$) między odbiciem geometrycznym i falą odpromieniowaną przez falę powierzchniową			
próbka	Pierwsze minimum $V(z)$	Pierwsze maksimum $V(z)$	Drugie minimum $V(z)$
Kwarc topiony	1,00 π	0,08 π	0,95 π
Pleksiglas	1,06 π	0,12 π	1,10 π
Belecza kości gąbczastej	1,03 π	0,10 π	1,06 π

2.7.3 Pomiary z zastosowaniem krótkich impulsów

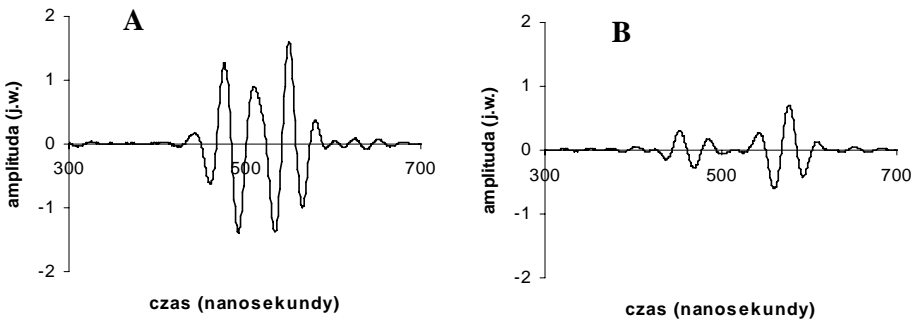
Układ pomiarowy (rys. 2.7.1) pracujący z nadajnikiem-odbiornikiem 5900PR pozwala na generację bardzo krótkich impulsów akustycznych. W takim wypadku niewielka różnica w czasie docierania do przetwornika sygnałów pochodzących od bezpośredniego odbicia i od fali powierzchniowej (opisana wzorem 2.7.1) pozwala na czasowe rozdzielanie tych sygnałów. Ponieważ, odstęp czasowy sygnałów zależy wprost proporcjonalnie od wielkości przeogniskowania (δz), pomiary musiały być wykonywane dla dużych wartości δz . Aby zmniejszyć wpływ tłumienia fali powierzchniowej w tkance kostnej, częstotliwość fali zmniejszona została do 32 MHz. Do pomiarów zastosowana została głowica 32MHz z soczewką o kącie połówkowym rozwarcia równym 50° .

Dla czterech próbek (teflon, kwarc topiony, pleksiglas i kość świnińska) zarejestrowano przebiegi wygenerowane przy zastosowaniu bardzo krótkich impulsów dla położenia próbki w ognisku ($z = 0$) i daleko od ogniska ($z = -500\mu\text{m}$, dodatkowo dla kwarcu $900\mu\text{m}$). Następnie obliczono wielkość przesunięcia między przebiegami składowymi krzywej $V(z)$ i porównano je z wartościami znalezionymi za pomocą wzoru (2.7.1).



Rys. 2.7.9 Przebieg czasowy sygnału z mikroskopu dla próbki teflonu. A-sygnał przy ogniskowaniu układu na powierzchni próbki. B- sygnał dla odległości ognisko- próbka równej $500\mu\text{m}$.

Na powierzchni teflonu nie jest generowana fala powierzchniowa. Sygnał docierający do przetwornika mikroskopu pochodzi jedynie od odbicia geometrycznego. Kształt sygnału jest praktycznie taki sam dla odbicia w ognisku i dla odbicia przy odległości próbka-soczewka mniejszej o $500\mu\text{m}$ od ogniskowej soczewki.

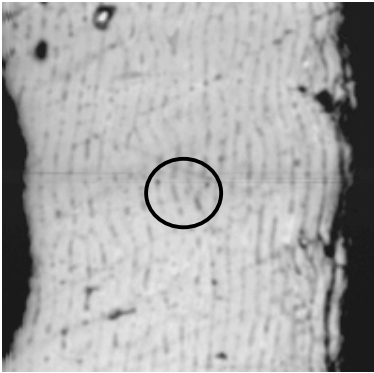


Rys. 2.7.10 Przebieg czasowy sygnału z mikroskopu dla próbki kwarcu topionego. A- sygnał dla odległości ognisko - próbka równej $500\mu\text{m}$ i B- dla odległości $900\mu\text{m}$.

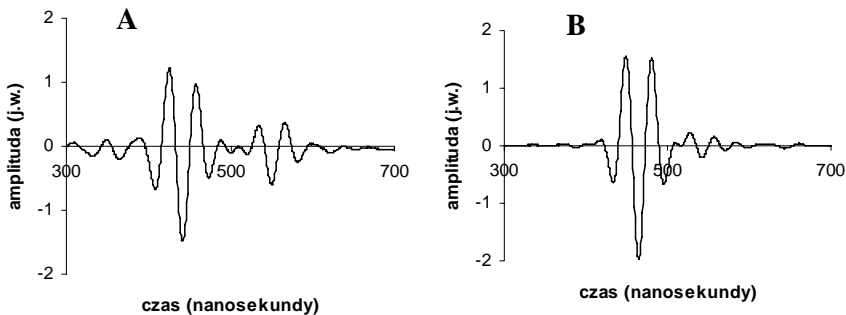
Dla próbki kwarcu topionego przy przeogniskowaniu równym $500\mu\text{m}$ trudno jest dokładnie rozdzielić w czasie odbicie geometryczne i sygnał pochodzący od fali Rayleigh'a. Oba sygnały mają porównywalną amplitudę, co jest powodem bardzo wyraźnych oscylacji krzywej $V(z)$. Przy odległości próbka-ognisko mniejszej od ogniskowej o $900\mu\text{m}$, oba

sygnały można już wyraźnie rozdzielić. Fala odbita geometrycznie zawsze wyprzedza falę pochodzącą od fali powierzchniowej. Wielkość przesunięcia wynosi ok. 120 ns, co odpowiada prędkości fali Rayleigh'a ok. 3400m/s.

Generacja podłużnej fali bocznej obserwowana była na próbkach z pleksiglasu i na próbce kostnej.



Rys.2.7.11 Obraz mikroskopowy próbki świńskiej kości udowej otrzymany przy częstotliwości 32 MHz. Obszar obrazowania = 3,2mmx3,2mm. Okręgiem o średnicy ok. 600 μ m oznaczono obszar odpowiadający miejscu rejestracji sygnałów przy przeogniskowaniu mikroskopu o 500 μ m.



Rys.2.7.12 Przebieg czasowy sygnału z mikroskopu dla próbki pleksiglasu – A i dla próbki kości świńskiej – B. Oba przebiegi dla odległości ognisko-próbka mniejszej o 500 μ m od ogniskowej soczewki.

Dla obu materiałów (pleksiglas i kość) przy przeogniskowaniu mikroskopu o 500 μ m można rozdzielić sygnał pochodzący od odbicia

geometrycznego i od podłużnej fali bocznej. Dla pleksiglasu przesunięcie czasowe między sygnałami wynosi ok. 110 ns, co odpowiada prędkości podłużnej fali bocznej w pleksi równej 2700 m/s. Dla kości przesunięcie to jest znacznie mniejsze i wynosi ok. 65ns. Odpowiada to prędkości w tkance kostnej równej 3400 m/s.

Otrzymane wyniki, zarówno te z zastosowaniem długich impulsów jak i te z zastosowaniem bardzo krótkich impulsów, w pełni potwierdzają słuszność modelu opisującego powstawanie krzywej $V(z)$ dla próbek z propagującą się podłużną falą boczną, w szczególności dla tkanki kostnej. Stwierdzono, że w tkance kostnej generowana jest fala powierzchniowa, której prędkość jest porównywalna z prędkością fali podłużnej wyznaczonej w kości metodami opartymi na pomiarze czasu transmisji (Raum i Brandt 2003, Briggs 1992). Jest to podłużna fala boczna. Fala ta pełni tę samą rolę w powstawaniu oscylacji krzywej $V(z)$ co fala Rayleigh'a dla próbek o większej sztywności. Przesunięcie czasowe między falą odbitą geometrycznie a pochodzącą od fali bocznej zgodne jest z przesunięciem wynikającym z modelu, który opisuje powstawanie krzywych $V(z)$. Również eksperymentalnie stwierdzono, że zgodnie z modelem, różnica względna fazy między falą odbitą geometrycznie i falą odpromieniowaną jest równa w minimach i maksimach krzywej $V(z)$ odpowiednio nieparzystej i parzystej wielokrotności π . Wyniki eksperymentalne w pełni uzasadniają wykorzystanie modelu powstawania krzywych $V(z)$ stosowanego przy generacji fali powierzchniowej typu Rayleigh'a do przypadku generacji podłużnej fali bocznej. Model ten obowiązuje również przy małych przeogniskowaniach (w pierwszym minimum krzywej), co umożliwiłoby stosowanie proponowanej w pracy metody pomiarowej (PMM) do bardzo małych próbek, w szczególności pojedynczych beleczek kości gąbczastej.

2.7.4 Weryfikacja metody opartej na pomiarze położenia pierwszego maksimum interferencyjnego.

Poprawność metody sprawdzona została przez wyznaczanie wartości prędkości fali powierzchniowej zmierzonych za pomocą techniki $V(z)$ i metody opisanej powyżej. Rezultaty otrzymane dla próbek różnych materiałów przedstawione są w Tab.2.7.2. Powierzchnie próbek metalowych były szlifowane aż do osiągnięcia gładkości optycznej. Obszar pomiarowy był wystarczająco duży, aby pomiary techniką $V(z)$ mogły być poprawnie wykonane. Przedstawione wyniki są wynikami średnimi z trzech pomiarów wykonanych w trzech różnych obszarach próbki.

Tab.2.7.2 Wartości prędkości fali Rayleigh'a i podłużnej fali powierzchniowej (pleksiglas) otrzymane za pomocą pomiaru techniką $V(z)$ i nową metodą

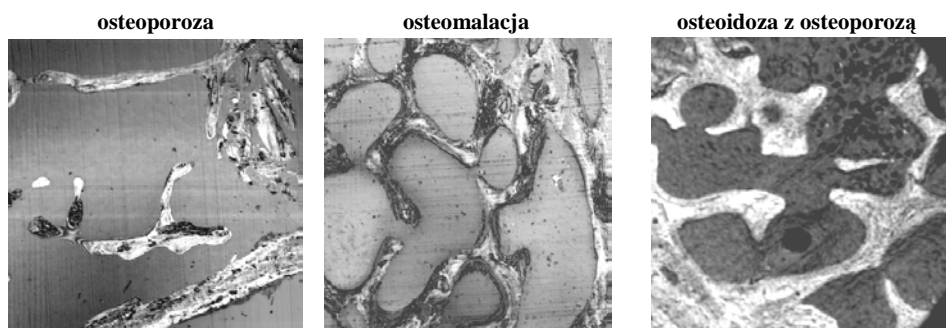
materiał	Metoda oscylacji $V(z)$ [m/s]	Metoda minima- maksima [m/s]
Kwarc topiony	3430 ± 20	3420 ± 60
Al_2O_3	5650 ± 40	5430 ± 150
Duraluminium	3020 ± 20	3040 ± 60
Stal	2910 ± 20	2910 ± 60
Pleksiglas	2770 ± 30	2700 ± 60
Szkło BK7	3430 ± 30	3400 ± 60

Otrzymane wyniki wartości prędkości mierzonych obydwoma metodami są zgodne w ramach dokładności pomiaru. Nowa technika pomiarowa może być stosowana do wyznaczania prędkości podłużnej fali powierzchniowej w pojedynczych beleczkach kości gąbczastej.

2.8 Pomiar własności mechanicznych beleczek kości gąbczastej.

Próbki kości przygotowane zostały w Instytucie Żywności i Żywnienia przez grupę dr A.Sawickiego. Były to preparaty kości gąbczastej miednicy pobrane metodą biopsji od pacjentów chorych na osteoporozę, osteomalację i osteoporozę z osteoidozą. Niestety, nie powiodły się próby uzyskania analogicznych próbek kości zdrowej. Próbki kości zatopione zostały wstępnie w metylometakrylanie. Płasko-równoległe próbki o grubości 0,5 mm zostały odcięte za pomocą piły drutowej. W celu maksymalnego wygładzenia powierzchni przeznaczanej do badania mikroskopowego została z niej wstępnie za pomocą mikrotomu usunięta warstwa wierzchnia. Tak przygotowane próbki umieszczone zostały w specjalnych uchwytach. Zapewniały one wygodny dostęp głowicy i ośrodka sprzęgającego (woda destylowana) do badanej powierzchni.

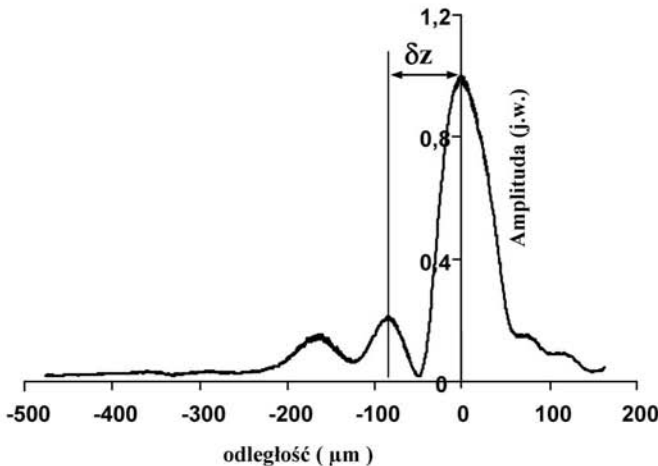
Pomiary przeprowadzone zostały na 30 próbkach kości (12 przypadków osteoporozy, 10 przypadków osteomalacji i 8 przypadków osteoporozy z osteoidozą). Na każdej próbce wybrane zostały trzy obszary kości beleczkowej, dla których opisanymi powyżej metodami mikroskopii akustycznej mierzono impedancję i prędkość fali podłużnej.



Rys. 2.8.1 Obrazy mikroskopowe przekrojów kości gąbczastej reprezentujących trzy grupy struktur beleczek odpowiadających trzem rodzajom chorób metabolicznych kości.

Do wyznaczania średniej impedancji wybranych obszarów próbek zastosowano metodę obrazowania parametrycznego. Najpierw dla materiału o znanej impedancji i spełniającego założenia modelu to znaczy, że w zakresie kątów padania do 20° współczynnik odbicia jest stały (teflon) zmierzono przy stałej wartości wzmocnienia mikroskopu, wartość amplitudy sygnału w ognisku i opisaną poprzednio metodą wyznaczono V_0 – stałą proporcjonalności między współczynnikiem odbicia i amplitudą sygnału z mikroskopu. Następnie przy zachowaniu wszelkich parametrów nadajnika i odbiornika mikroskopu takich jak przy obliczaniu stałej V_0 obrazowane były wybrane obszary wszystkich badanych próbki kości. Jasność w każdym punkcie obrazu przeliczana była według wzoru (2.4.6) na wartość impedancji. Z wybranych obszarów 50×50 punktów, co odpowiadało powierzchni $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ obliczana była średnia wartość impedancji.

Dokładnie w tych samych obszarach próbek mierzona była prędkość fali LLLW poprzez nagranie krzywej $V(z)$ i pomiar wielkości przeogniskowania między ogniskiem a pierwszym maksimum. Pomiar odbywał się z zastosowaniem soczewki o dużej aperturze (50°). Obszar pomiarowy, a więc i obszar uśredniania prędkości równy był w tym przypadku powierzchni koła o promieniu $50 \mu\text{m}$.



Rys.2.8.2 Krzywa $V(z)$ beleczki kości gąbczastej. Na krzywej oznaczono odległość δz – odległość między ogniskiem i pierwszym maksimum krzywej – służącą do wyznaczania prędkości podłużnej fali powierzchniowej.

Wszystkie wyniki podzielone zostały na trzy grupy zgodnie z rodzajem próbki (schorzeniem) i dla każdej grupy obliczona została uśredniona wartość impedancji i prędkości. Następnie obliczono wartość gęstości ($\rho = Z/v$) i współczynnik elastyczności ($c_{11} = \rho v^2$). Mierząc wartości prędkości i impedancji tkanki kostnej tworzącej beleczki prezentowanymi tutaj metodami ultradźwiękowymi czy też wyznaczając gęstość i współczynnik elastyczności tej tkanki zakłada się, że jest ona jednorodna i izotropowa. W rzeczywistości tak nie jest. Stosując jednak do pomiarów soczewkę sferyczną otrzymywane wyniki prędkości są uśredniane po wszystkich kierunkach propagacji w płaszczyźnie pomiaru (płaszczyźnie cięcia beleczki). Jednocześnie wyniki pomiaru prędkości i pomiaru impedancji uśredniane są przestrzennie po obszarze wyznaczanym przez obszar przecięcia powierzchni badanej z wiązką ultradźwięków. W efekcie, obliczane wartości gęstości i współczynnika elastyczności są wielkościami uśrednionymi po badanym obszarze a w przypadku współczynnika elastyczności również po wszystkich kierunkach w płaszczyźnie pomiaru.

Tab.2.8.1 Wartości średnie zmierzonych parametrów beleczek kości gąbczastej (impedancji i prędkości) oraz wyznaczone z nich wartości gęstości i wsp. sprężystości

Kategoria próbki	Impedancja $Z=\rho v$ [MRayl]	Prędkość -v [m/s]	Gęstość- ρ [kg/m ³]	Sprężystość $c_{11} = \rho v^2$ [GPa]
Osteoporoza	7.21 ± 0.03	3760 ± 60	1920 ± 40	26.8 ± 1.0
Osteomalacja	4.44 ± 0.03	3450 ± 60	1290 ± 25	15.0 ± 0.7
osteoidoza z osteoporozą	4.93 ± 0.03	3260 ± 60	1510 ± 25	$15.4 \pm 0,7$

Wartości parametrów przedstawionych w tab.2.8.1 obarczone są błędami, które wyznaczone zostały z wybranych w danej grupie, największych błędów pomiarowych. Dodatkowo, w tab.2.8.2 umieszczone są parametry staty-

styczne odnoszące się do wyników pomiarów prędkości w tkance kostnej beleczek i gęstości tej tkanki w danej grupie próbek, które to parametry zastosowane były w modelowaniu struktury kości gąbczastej (rozdział 3.6).

Tab.2.8.2 Wartości odchylenia standardowego (σ) i rozrzut (wartość minimalna i maksymalna) parametrów beleczek kości gąbczastej przeznaczone do użycia jako dane wejściowe w symulacji sygnału rozproszonego

Kategoria próbki	Prędkość - v [m/s]		Gęstość - ρ [kg/m ³]	
	σ [m/s]	min -max [m/s]	σ [kg/m ³]	min -max [kg/m ³]
osteoporoza	110	3650 – 4100	220	1430 - 2340
osteomalacja	150	3050 – 3700	150	1010 - 1650
osteoidoza z osteoporozą	230	2650 – 3450	180	1130 - 1940

Wartość obliczonego współczynnika elastyczności dla próbek beleczek pochodzących od pacjentów chorych na osteoporozę ($c_{11}=26,8$ GPa) jest zbliżona do wyników otrzymanych przez Turner'a (1999) przy zastosowaniu techniki transmisji. Przy założeniu izotropii beleczki i dla współczynnika Poissona dla tkanki kostnej równego 0,34 (Briggs 1992) możliwe jest obliczenie numerycznej wartości modułu Young'a (E) jako $E=0,65 \cdot c_{11}$. W takim wypadku wartość moduły Young'a dla badanych próbek kości gąbczastej zmienionych osteoporotycznie wynosi $E= 17,4$ GPa. Jest to wartość bardzo zbliżona do wartości współczynnika Young'a zmierzonego dla próbki zdrowej kości gąbczastej przy użyciu techniki nano-indentacji ($E=18,1$ GPa, Turner i wsp. 1999). Otrzymane wyniki sugerują, że elastyczność tkanki beleczek kości zmienionej osteoporotycznie jest podobna do elastyczności tkanki kości zdrowej.

2.9 Wnioski

Przeprowadzona analiza powstawania obrazu w mikroskopie akustycznym i analiza wpływu na jasność tego obrazu takich własności próbki jak wartość impedancji, prędkość fali powierzchniowej i tłumienie fali podłużnej pozwoliły na przeprowadzenie jakościowej i ilościowej interpretacji akustycznych obrazów kości beleczkowej.

W oparciu o zbudowany układ mikroskopu akustycznego przedstawiono techniki obrazowania różniące się częstotliwością, stopniem ogniskowania fali oraz położeniem ogniska względem powierzchni próbki. W każdym z tych rodzajów obrazowania inne własności próbki mają decydujący wpływ na jasność tworzonego obrazu.

Stosując do obrazowania soczewkę o małej aperturze przedstawiono metodę transformacji obrazu w obraz parametryczny, opisujący rozkład impedancji czy też rozkład współczynnika tłumienia w badanej próbce. Przeprowadzona analiza błędu wyznaczania wartości impedancji wykazała, że błąd ten wynosi ok. 1%.

W pracy omówiona została mikroskopowa technika pomiaru prędkości fali powierzchniowej za pomocą krzywych $V(z)$ i przedstawiono jej ograniczenie przy pracy z bardzo małymi próbkami. Przeprowadzone pomiary sygnałów tworzących krzywą $V(z)$ i ich analiza pokazały, że generowana w tkance kostnej podłużna fala boczna ma wystarczająco dużą amplitudę, aby w powstawaniu oscylacji krzywej $V(z)$ pełnić te same role, co fala Rayleigh'a w materiałach o większej sztywności. Wykazano również, że model tłumący powstawanie minimów i maksimów krzywej $V(z)$ może być stosowany również w przypadku propagacji podłużnej fali bocznej, a w szczególności, że minima i maksima związane są ze względną różnicą faz podłużnej fali bocznej i fali odbitej geometrycznie, odpowiednio równej nieparzystej i parzystej wielokrotności π .

Ograniczenia tradycyjnej techniki krzywych $V(z)$ do pracy z małymi próbkami rozwiązane zostały przez zastosowanie nowej metody pomiarowej, w której korzysta się ze związku między prędkością fali powierzchniowej Rayleigh'a lub podłużnej fali bocznej i odległością między

ogniskiem a położeniem pierwszego minimum czy też maksimum krzywej pomiarowej. Metoda została zweryfikowana poprzez porównanie otrzymanych wyników z wynikami pomiarów wykonanych metodą tradycyjną. Przeprowadzono również analizę błędu pomiaru prędkości, która wykazała, że dla materiałów izotropowych błąd średni wyznaczania prędkości nie powinien przekraczać 2%.

Zaproponowana w pracy metoda wyznaczania prędkości fali powierzchniowej umożliwia prowadzenie pomiarów dla bardzo małych próbek (średnica ok. $100\mu\text{m}$ – $150\mu\text{m}$). Dodatkowo próbka może być dostępna tylko z jednej strony. Autor jest świadom faktu, że proponowana metoda uśrednia mierzoną wartość prędkości po wszystkich kierunkach propagacji fali. Kość, również pojedyncza beleczka kostna jest strukturą anizotropową. W badanych próbkach stopień anizotropii był przypadkowy gdyż zależy on od relacji przestrzennych między powierzchnią przekroju próbki i osią beleczki. Anizotropia struktury wewnętrznej beleczki pociąga za sobą anizotropię prędkości propagacji podłużnej fali powierzchniowej co powodując, że faza początkowa odpromieniowanej w wodę fali podłużnej, również odzwierciedla anizotropię beleczki. W efekcie, w procesie tworzenia krzywej $V(z)$, fala odbita geometrycznie sumowana jest z falą odpromieniowaną, która charakteryzuje się pewnym przestrzennym rozkładem fazy początkowej. Może to prowadzić do poszerzenia maksimum interferencyjnego krzywej $V(z)$ i w konsekwencji do wzrostu błędu wyznaczenia położenia maksimum a tym samym błędu pomiaru prędkości. Do wyznaczania kierunkowej zależności prędkości w anizotropowych ośrodkach można zastosować techniki znane z pomiarów metodą $V(z)$. W miejsce klasycznej sferycznej soczewki i kołowego przetwornika można użyć soczewki kierunkowej (Hildebrand, 1982), przetwornika w kształcie muszki (ang. bow tie transducer - Davids, 1986) lub przetwornika fali poprzecznej (Chuo, 1987).

Zastosowanie obu technik pomiarowych, techniki obrazowania parametrycznego impedancji i techniki pomiaru prędkości podłużnej fali bocznej pozwoliło na pomiar impedancji i prędkości fali podłużnej propagującej się w tkance kostnej pojedynczej beleczki kości gąbczastej. Umożliwiło to następnie obliczenie gęstości i współczynnika elastyczności tkanki.

W ramach badań przeprowadzono pomiary na próbkach kości gąbczastej pochodzących od pacjentów cierpiących na choroby metaboliczne kości. Stwierdzono, że w przypadku beleczek osteoporotycznych znaleziona dla nich gęstość i prędkość rozchodzenia się fali podłużnej zbliżona jest do wartości otrzymywanych dla kości zbitej. Znacznie niższe wartości gęstości i prędkości otrzymuje się dla beleczek pobranych od pacjentów chorych na osteomalację i osteoidozę z osteoporozą. Powyższe rezultaty mają swoje wytłumaczenie medyczne. Osteoporoza uważana jest za chorobę związaną głównie z zanikiem masy kostnej kości gąbczastej. Pozostałe dwie choroby łączą się z upośledzeniem procesu mineralizacji beleczek kości gąbczastej. Zmniejszenie lub całkowity brak fazy mineralnej w strukturze kolagenowej beleczeni pociąga za sobą spadek gęstości i prędkości propagacji fali ultradźwiękowej a co za tym idzie również współczynnika elastyczności.

Przeprowadzone pomiary prędkości propagacji fali w tkance kostnej beleczek i pomiary gęstości tej tkanki pozwoliły na oszacowanie zakresu zmienności tych parametrów. Było to głównym celem badań opisywanych w tym rozdziale pracy. Znalezione wartości prędkości fali i gęstości tkanki użyte zostały następnie w badaniach sygnału rozproszonego. Parametry opisujące własności mechaniczne struktur walcowych w modelu kości beleczeni odpowiadały parametrom zmierzonym dla rzeczywistych beleczek. W efekcie, umożliwiło to przeprowadzenie modelowania sygnału rozproszonego w strukturze kości gąbczastej i badanie wpływu własności tkanki kości beleczeni na parametry sygnału.

3. Analiza makroskopowa kości gąbczastej za pomocą rozproszenia fali ultradźwiękowej.

3.1 Wstęp

Własności statystyczne sygnałów akustycznych rozproszonych wstecznie w tkankach miękkich, w materiałach ziarnistych lub ławicach ryb pozwalają na charakterystykę struktury wewnętrznej ośrodka rozpraszającego gdyż zależą one od ilości, położenia i wielkości przekroju czynnego centrów rozpraszających, będących wtórnym źródłem sygnału (Bamber i wsp., 1981, Wilhelmij i Denbigh, 1984; Lizzi i wsp., 1986; Sanie i Bilgutay, 1986; Wagner i wsp., 1987; Thomson i Margen, 2001). Znajomość tych parametrów umożliwi przeprowadzenie klasyfikacji tkanek obrazowanych przy pomocy techniki B-scan, ocenę wielkości ziarna np. metali w badaniach nieniszczących (NDT) czy też szacowanie gęstości i rozpoznawanie rodzaju ławicy ryb.

Sygnały pochodzące z rozproszenia we wnętrzu materiału zazwyczaj charakteryzują się przypadkowymi modulacjami sygnału zwanymi „specckle” w obrazowaniu medycznym czy też „grain noise” w badaniach materiałowych. Modulacje te powstają w wyniku sumowania rozproszeń o przypadkowej amplitudzie i fazie. Duża koherencja padającej fali ultradźwiękowej wraz z dużą ilością centrów rozpraszających prowadzi do generacji sygnału o charakterze modulowanego szumu.

Ilość elementów rozpraszających odnosi się do elementów zawartych w objętości pomiarowej. Za objętość pomiarową uważa się obszar generowania rozproszonego sygnału ultradźwiękowego, który za pomocą przetwornika piezoelektrycznego zamieniany jest na sygnał elektryczny wielkiej częstotliwości (w.cz.) a następnie w procesie detekcji amplitudy sygnału tworzy jeden punkt obwiedni sygnału. W praktyce wielkość tej objętości zależy od przestrzennej geometrii i długości czasowej impulsów sondującej oraz parametrów odbiorczych układów elektronicznych.

Proponowane były różne modele tłumaczące zachowanie sygnału rozproszonego (Wagner i wsp., 1987; Thijssen 1996; Shankar 2000). Najczęściej używany model zakłada istnienie bardzo dużej ilości przypadkowo

rozłożonych centrów rozpraszania, generujących składowe rozproszenia, które dodają się ze zmieniającą się fazą, co prowadzi do przypadkowej sumy w przestrzeni zespolonej – (ang. random walk).

Założmy, że w rozważanej objętości pomiarowej znajduje się N elementów rozpraszających. Sygnał rozproszony, powstały w wyniku oddziaływania fali z objętością pomiarową można zapisać jako

$$s(t) = \operatorname{Re}[\underline{A} \exp(i2 \cdot \pi \cdot t)], \quad (3.1.1)$$

gdzie $\operatorname{Re}[\]$ oznacza część rzeczywistą wyrażenia, f jest częstotliwością fali, t oznacza czas a \underline{A} jest zespoloną amplitudą sygnału, którą można zapisać jako

$$\underline{A} = A_{\operatorname{re}} + i \cdot A_{\operatorname{im}} = A \exp(i\Phi). \quad (3.1.2)$$

A_{re} i A_{im} oznaczają odpowiednio część rzeczywistą i urojoną zespolonej amplitudy \underline{A} , A jest jej amplitudą a Φ fazą.

Wyrażenie \underline{A} jest sumą wszystkich ech rozproszonych od elementów znajdujących się w objętości pomiarowej.

$$\underline{A} = \sum_{j=1}^N \underline{a}_j \quad (3.1.3)$$

gdzie \underline{a}_j jest zespoloną amplitudą pojedynczego rozproszenia, którą można zapisać analogicznie do \underline{A} jako

$$\underline{a}_j = a_{j\operatorname{re}} + i \cdot a_{j\operatorname{im}} = a_j \exp(i\Phi_j). \quad (3.1.4)$$

Jeżeli ilość centrów rozpraszających jest bardzo duża ($N \rightarrow \infty$) to na mocy Centralnego Twierdzenia Granicznego – CTG (Brandt 1970, Papoulis 1972) prowadzi to do Gaussowskiego modelu rozproszenia - opisu wartości chwilowej amplitudy rozproszonego sygnału krzywą Gaussa ze średnią równą zero i obwiedni tego sygnału rozkładem Rayleigh'a (Goodman, 1975, Narayanan i wsp., 1984). Tak więc, amplituda \underline{A} opisana jako

$$A = \sqrt{(A_{re}^2 + A_{im}^2)} \quad (3.1.5)$$

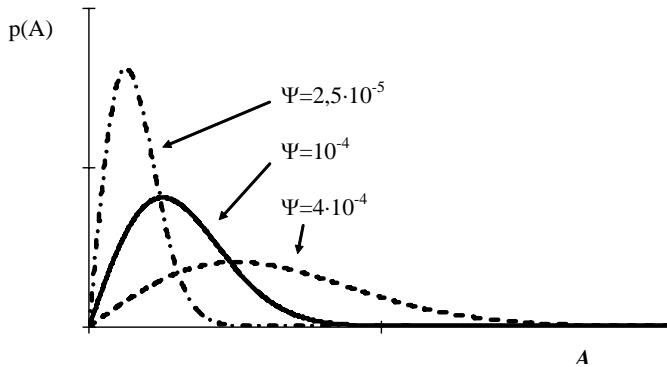
podlega rozkładowi Rayleigh'a z funkcją rozkładu prawdopodobieństwa daną wzorem

$$p(A) = \frac{A}{\Psi} \exp\left(-\frac{A^2}{2\Psi}\right). \quad (3.1.6)$$

Parametr Ψ zależny jest od ilości i wielkości przekroju czynnego na rozpraszanie elementów znajdujących się w objętości pomiarowej. Najbardziej prawdopodobnym estymatorem Ψ jest (Abramowitz i Stegun, 1964)

$$\Psi \approx \frac{1}{2N} \sum_{i=0}^N A_j^2 \quad (3.1.7)$$

gdzie A_j jest znalezioną doświadczalnie amplitudą (kolejnymi punktami obwiedni sygnału) sygnału rozproszonego a N to ilość punktów.



Rys. 3.1.1 Funkcja rozkładu prawdopodobieństwa dla rozkładu Rayleigh'a dla różnych wartości parametru Ψ .

Funkcja rozkładu prawdopodobieństwa fazy Φ jest opisana rozkładem jednorodnym

$$p(\Phi) = \frac{1}{2 \cdot \pi}, \quad 0 < \Phi \leq 2\pi. \quad (3.1.8)$$

Rozkład Rayleigh'a prowadzi do wartości stosunku sygnału do szumu (SNR), definiowanego jako stosunek średniej do odchylenia standardowego, równej 1,913.

Istnienie w badanym obszarze dużych izolowanych centrów rozpraszających może powodować zmiany w rozkładzie Rayleigh'a i prowadzić do rozkładu Rician'a obwiedni sygnału (Goodman 1993; Molthen i wsp., 1995). Model Gaussa nie sprawdzi się również, jeżeli ilość centrów rozproszenia jest mała gdyż wtedy niespełnione są założenia centralnego twierdzenia granicznego. Jest również możliwe, że nawet, gdy ilość elementów rozpraszających jest duża to rozkład statystyczny obwiedni sygnału jest różny od rozkładu Rayleigh'a. Może tak się zdarzyć, gdy przekrój czynny pojedynczych elementów rozpraszających ulega fluktuacjom w badanym obszarze. Fluktuacje takie mają często charakter przypadkowy. W efekcie sprawiają one, że średnie echo odbieranego sygnału staje się zmienną przypadkową. W rezultacie rzeczywista ilość elementów rozpraszających w objętości pomiarowej powinna być zastąpiona ilością efektywną. Jeżeli zmiany przekroju czynnego na rozpraszanie stają się coraz bardziej przypadkowe (rośnie ich wariancja) efektywna liczba elementów rozpraszających maleje i może osiągnąć wartość znacząco mniejszą od rzeczywistej liczby elementów. Wtedy założenia CTG nie są spełnione i odstępstwa rozkładu obwiedni sygnału od rozkładu Rayleigh'a będą widoczne.

W zakresie częstotliwości używanych do badania kości gąbczastej, rozproszony wstecznie sygnał ultradźwiękowy, może być uważany za wynik sumowania przez przetwornik pewnej ilości pojedynczych sygnałów o przypadkowej amplitudzie i fazie, rozproszonych od pojedynczych beleczek, tworzących wewnętrzną strukturę kości. Faza tych pojedynczych sygnałów zależy od odległości pomiędzy beleczką a przetwornikiem i od impedancji tkanki tworzącej beleczkę oraz lokalnej impedancji tkanki miękkiej (szpik, krew) otaczającej beleczkę. Amplituda tych rozproszeń jest funkcją rozmiaru i kształtu beleczek, ich orientacji przestrzennej i właściwości elastycznych tkanki kostnej. Sygnały o przypadkowej amplitudzie i fazie są sumowane przez przetwornik piezoelektryczny. Jeżeli tylko ilość rozpraszających beleczek

w objętości pomiarowej jest odpowiednio duża i nie ma fluktuacji własności rozproszonych beleczek to chwilowa wartość rozproszonego, sumarycznego sygnału (szum w.cz.) podlega rozkładowi normalnemu ze średnią równą zero.

Beleczi kości gąbczastej są najczęściej strukturami walcowymi lub strukturami w kształcie płytek. Wraz ze zwiększającą się porowatością kości beleczi przyjmują kształty bardziej walcowe (Kothari i wsp., 1999). W zależności od porowatości kości można przyjąć, że w jednym mm³ znajduje się od 6 beleczek (porowatość 70%) do 1 beleczi (porowatość 95%). Można oszacować, że w typowych, stosowanych obecnie badaniach ultradźwiękowych kości gąbczastej, ilość beleczek w objętości pomiarowej waha się od kilkuset przy małej porowatości kości gąbczastej i częstotliwości ultradźwięków 0.5 MHz (duża objętość pomiarowa) do kilkunastu beleczek dla kości o dużej porowatości i częstotliwości ultradźwięków 1 MHz (mała objętość pomiarowa).

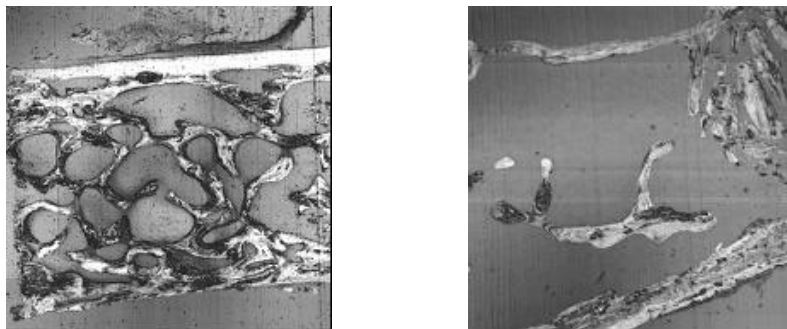
Jedynie przy bardzo niskiej wartości gęstości kości można spodziewać się, że ilość beleczek w objętości pomiarowej będzie na tyle mała, aby rejestrowane obwiednie sygnału rozproszonego wykazywały odstępstwa od rozkładu Rayleigh'a. W rzeczywistości jednak o tym, jaki rozkład opisuje obwiednię sygnału decyduje nie rzeczywista ilość elementów (N) w objętości pomiarowej a efektywna ilość elementów (M). Zależność pomiędzy rzeczywistą a efektywną ilością elementów można opisać jako (Narayanan i wsp., 1994)

$$M = N \cdot (v + 1) \quad 0 > v > -1 \quad (3.1.9)$$

gdzie v opisuje stopień niejednorodności elementów rozpraszających.

Wiadomo, że choroby metaboliczne kości mają wpływ na strukturę kości gąbczastej (Kanis, 1994). Mogą one powodować zmiany średniej gęstości przestrzennej beleczek jak i generować lokalne fluktuacje gęstości. Mają wpływ na wymiary beleczek i na własności elastyczne tkanki kostnej tworzącej beleczi. Tego rodzaju zmiany w rozpraszającej tkance powinny prowadzić do odstępstw od rozkładu Rayleigh'a dla rozkładów obwiedni sygnału rozproszonego. Tak, więc informacja o charakterze rozkładu sygnału mogłaby służyć do monitorowania zmian zachodzących w strukturze

kości gąbczastej o ile tylko efektywna ilość beleczek w objętości pomiarowej będzie wystarczająco mała.



Rys. 3.1.2 Obrazy mikroskopowe (skanujący mikroskop akustyczny) struktury beleczkowej kości gąbczastej (kość biodrowa) w przypadku kości o mało zdegradowanej strukturze (lewa) i kości znacznie zmienionej w wyniku osteoporozy (prawa).

Odpowiedź na pytanie na ile zmiany struktury beleczkowej kości gąbczastej zachodzące w wyniku chorób kości mogą zmienić efektywną liczbę beleczek w objętości pomiarowej oraz czy spowoduje to istotne, mierzalne odstępstwa rozkładu obwiedni sygnału rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a, może być znaleziona za pomocą symulacji przebiegów sygnału rozproszonego w strukturze kości gąbczastej.

Modelowa kość gąbczasta musi uwzględniać takie elementy struktury kości jak gęstość przestrzenna beleczek, grubość beleczek i własności mechaniczne tkanki kostnej tworzącej beleczkę. Przy założeniu parametrów takiej kości, odpowiadających parametrom kości zdrowej czy też zmienionej w wyniku procesu choroby, własności statystyczne symulowanego sygnału powinny odpowiadać analogicznym własnościom zmierzonym z przebiegów rejestrowanych doświadczalnie. Odstępstwa rozkładów obwiedni takiego sygnału od rozkładu Rayleigh'a świadczyć będą o zmianach w strukturze kości gąbczastej. Symulacja sygnału ze struktur o zmienionych świadomie parametrach pozwoli na określenie zakresu zmian własności statystycznych sygnału rozproszonego w zależności od wielkości zmian struktury, pozwoli na wybór optymalnych parametrów wiązki akustycznej i częstotliwości fali

ze względu na detekcję takich zmian i w końcu pozwoli na poznanie parametrów struktury kości, które są głównym źródłem takich zmian a co za tym idzie mogą być użyte do interpretacji wyników pomiarów doświadczalnych.

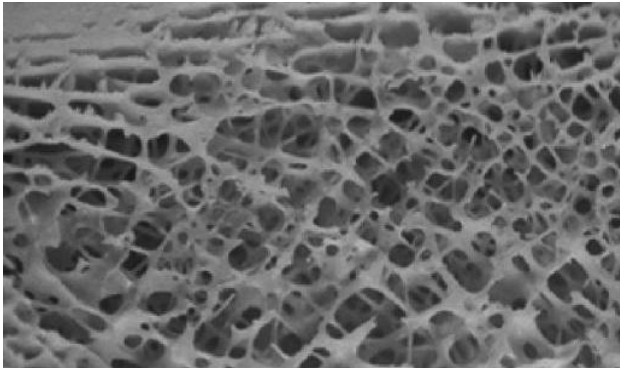
W niniejszej pracy otrzymywane rozkłady statystyczne amplitudy sygnału rozproszonego w strukturze kości gąbczastej były porównywane z rozkładem Rayleigh'a na dwa sposoby. Po pierwsze liczony był histogram wartości obwiedni zmierzonego czy też symulowanego sygnału i porównywany z rozkładem Rayleigh'a obliczonym dla wyznaczonego z danych pomiarowych estymatora Ψ (wzór 3.1.7). Jednocześnie, zarówno dla sygnałów symulowanych jak i mierzonych, liczony był stosunek sygnału do szumu (SNR) definiowany jako stosunek średniej wartości obwiedni sygnału ($\langle A \rangle$) do obliczonego dla obwiedni odchylenia standardowego (σ)

$$\text{SNR} = \frac{\langle A \rangle}{\sigma} = \frac{\langle A \rangle}{\left[\langle A^2 \rangle - \langle A \rangle^2 \right]^{1/2}}. \quad (3.1.10)$$

Tak definiowana wartość średniej w jednostkach odchylenia standardowego nazywana też jest stosunkiem sygnału do szumu w punkcie SNR_0 (Wagner i wsp., 1983; Smith i wsp. 1983; Wear i wsp. 1997) a jej odwrotność nosi nazwę kontrastu speckle (ang. speckle contrast). Teoretyczna wartość SNR (SNR_0) dla rozkłady Rayleigh'a wynosi $(\pi/(4-\pi))^{1/2} \approx 1.913$. Odstępstwa SNR obwiedni sygnału od tej wartości mogą być uważane za odstępstwa od statystyki Rayleigh'a.

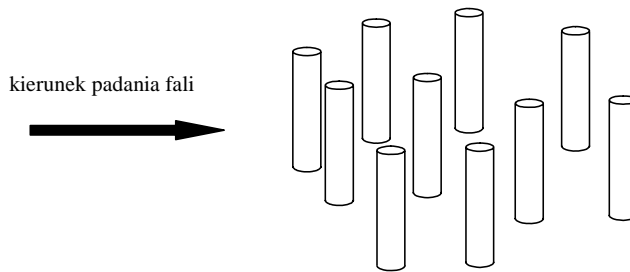
3.2 Model struktury kości gąbczastej i symulacja sygnału rozproszonego

Struktura zdrowej kości gąbczastej dopasowuje się w trakcie procesów przebudowy tak, aby optymalnie przenosić obciążenia kości. Tak zachowuje się również kość piętowa, która jest najczęściej wykorzystywaną kością zarówno w rutynowych pomiarach gęstości metodami densytometrii ultradźwiękowej jak i w badaniach naukowych poszukujących nowych ultradźwiękowych technik diagnostycznych. W kości gąbczastej pięty można wyróżnić średni kierunek ułożenia beleczek leżący w płaszczyźnie prostopadłej do kierunku padania wiązki ultradźwięków, zarówno dla pomiarów w transmisji jak i w rozproszeniu. Usytuowanie głowicy czy też dwóch głowic w przypadku pomiarów w transmisji, wymusza geometria kości piętowej.



Rys. 3.2.1 Struktura beleczek kości gąbczastej

Dlatego też w prezentowanym w tej pracy modelu kości gąbczastej przyjęto, że struktura kości może być opisana jako układ równoległych beleczek, z których każda uformowana jest w postaci walca z materiału o właściwościach elastycznych odpowiadających tkance kostnej i umieszczona w wodzie, prostopadle do kierunku padającej fali.



Rys.3.2.2 Model kości beleczkowej. Fala ultradźwiękowa pada na przypadkowo rozmieszczone sprężyste walce prostopadle do kierunku ich osi.

Kluczowym zagadnieniem dla obliczeń sygnału rozproszonego w kości gąbczastej jest wyznaczenie rozproszenia od beleczki (walca) w funkcji częstotliwości padającej fali, średnicy walca, własności materiałowych walca i cieczy, w której jest zanurzony.

W zakresie niskich częstotliwości ($kd \ll 1$, $k=2\pi/\lambda$) można pokazać, że natężenie fali rozproszonej (I_s) na sztywnym walcu o promieniu $d/2$ można zapisać jako (Morse i Ingard, 1968):

$$I_s \cong \frac{\pi \cdot k^3 \cdot \left(\frac{d}{2}\right)^4}{8 \cdot r} \cdot I \cdot (1 - 2 \cos(\phi)) \quad (3.2.1)$$

gdzie I – natężenie fali padającej, r – odległość pomiędzy walcem a punktem obserwacji, ϕ - kąt pomiędzy kierunkiem padania fali i kierunkiem obserwacji.

Tak, więc w zakresie niskich częstotliwości, niesprężyste rozproszenie na walcu (natężenie fali) jest proporcjonalne do trzeciej potęgi częstotliwości. Podobne zależności współczynnika rozproszenia od częstotliwości obserwowane były w pomiarach doświadczalnych prowadzonych na strukturze beleczkowej próbek kości piętowej (ustawienie beleczek prostopadle do padającej fali – ustawienie odzwierciedlające geometrię pomiarów in vivo) przy częstotliwościach poniżej 1MHz (Wear, 1999; Chaffai i wsp., 2000).

Opis rozproszenia fali na pojedynczej beleczce jako rozproszenia na walcu sprężystym zaproponowany został po raz pierwszy przez Wear'a (1999). W pracy tej porównywana była obliczona zależność współczynnika rozproszenia od częstotliwości fali dla rozproszenia na walcu sprężystym o własnościach elastycznych hydroxyapatytu, z danymi otrzymanymi doświadczalnie, mierzonymi na próbkach kości. Otrzymano dużą zgodność pomiędzy wynikami pomiarów i obliczeniami teoretycznymi w zakresie częstotliwości 0,5MHz– 1MHz.

Przy opisywanym tutaj modelowaniu sygnału rozproszonego w kości beleczkowej stosowano współczynnik rozproszenia na beleczce znaleziony w oparciu o teorie rozpraszania fali na sprężystym walcu (Flax i Neubauer, 1977; Flax i wsp., 1981; Wear, 1999). Wyznaczany na jej podstawie współczynnik rozproszenia zależy jest od własności mechanicznych walca, co umożliwia śledzenie wpływu tych własności na rozproszony sygnał. Do obliczeń przyjęto założenie pola dalekiego to znaczy, że odległość, w jakiej obliczane jest rozproszenie, jest znacznie większa od rozmiarów elementu rozpraszającego ($r \gg d$, gdzie d jest średnicą walca). Założenie to odpowiada sytuacji pomiarowej gdyż głowica nadawczo-odbiorcza umieszczona jest w odległości ok. 80mm od badanej kości. Rozważany był tylko sygnał rozproszony pod kątem równym $\phi = 180^\circ$ w stosunku do fali padającej. Wtedy ciśnienie fali rozproszonej (p) można opisać jako (Flax i wsp., 1981)

$$p(\phi = 180^\circ) = p_0 e^{ikr} \left(\frac{2}{i\pi kr} \right)^{1/2} \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon_n (-1)^n R_n(x), \quad (3.2.2)$$

gdzie p_0 to ciśnienie fali padającej, ε_n to współczynnik Neumann'a ($\varepsilon_n=2$ dla $n=0$ i $\varepsilon_n=1$ dla $n>0$). Funkcja R_n dana jest wzorem

$$R_n(x) = - \frac{J_n(x)F_n - xJ_n'(x)}{H_n^{(1)}(x)F_n - xH_n^{(1)'}(x)} \quad (3.2.3)$$

gdzie J_n i J_n' oraz $H_n^{(1)}$ i $H_n^{(1)'}$ to odpowiednio funkcja Bessel'a i funkcja Hankel'a pierwszego rodzaju oraz ich pochodne zaś F_n to

$$F_n(x) = \frac{\rho_w}{\rho_b} x_T^2 \frac{D_n^{(1)}(x)}{D_n^{(2)}(x)}, \quad (3.2.4)$$

ρ_w i ρ_b to gęstość cieczy i walca. $D_n^{(1)}$ i $D_n^{(2)}$ są wyznacznikami macierzy o współczynnikach opisanych poniżej.

$$D_n^{(1)} = \begin{vmatrix} a_{22} & a_{23} \\ a_{32} & a_{33} \end{vmatrix} \quad D_n^{(2)} = \begin{vmatrix} a_{12} & a_{13} \\ a_{32} & a_{33} \end{vmatrix} \quad (3.2.5)$$

$$a_{12} = (x_T^2 - 2n^2)J_n(x_L) + 2x_L J_n'(x_L)$$

$$a_{22} = x_L J_n'(x_L)$$

$$a_{32} = 2n[J_n(x_L) + x_L J_n'(x_L)]$$

$$a_{13} = 2n[J_n(x_T) + x_T J_n'(x_T)]$$

$$a_{23} = nJ_n(x_T)$$

$$a_{33} = (x_T^2 - 2n^2)J_n(x_T) + 2x_T J_n'(x_T)$$

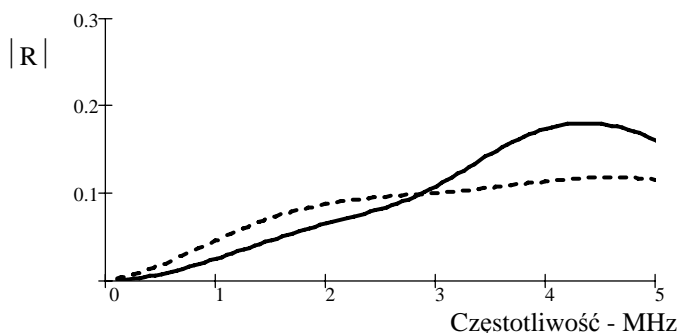
Argumentem funkcji Bessel'a i Hankel'a w (3.2.3) jest $x = kd = 2\pi f \cdot d/v_w$, gdzie v_w jest prędkością fali w cieczy. W (3.2.5) $x_L = 2\pi f \cdot d/v_L$ i $x_T = 2\pi f \cdot d/v_T$ gdzie v_L i v_T to prędkość fali podłużnej i fali poprzecznej w walcu.

Przy wyznaczaniu sygnału rozproszonego od pojedynczej beleczki zakłada się, że płaska fala pada na nieskończonej długości walec. W rzeczywistości ograniczona przestrzennie wiązka ultradźwiękowa pada na beleczkę o skończonej długości. Wydaje się, że powyższe przybliżenie może być zastosowane z kilku powodów. Po pierwsze, interesuje nas kość o zmniejszonej gęstości a dla takiej kości beleczki mają kształt zbliżony do walca. Długość takiej walcowatej beleczki jest zawsze wielokrotnie (ok.40 razy) większa od jej grubości. Analogicznie, przestrzenne rozmiary wiązki są również znacznie większe od średnicy beleczki. W kości gąbczastej beleczki nie występują nigdy jako wyizolowane struktury, ale

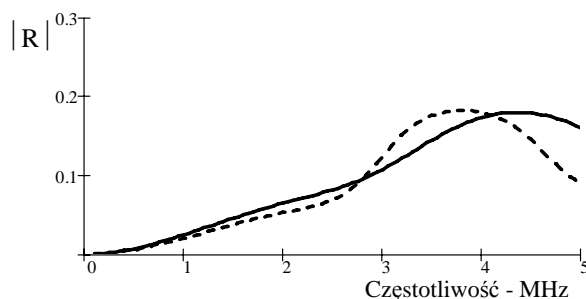
łączą się w całą siatkę, której elementy są znacznie dłuższe od wymiaru, jaki przyjmuje się za długość beleczki. W końcu jak to już wspomniano, wyniki doświadczalne usprawiedliwiają stosowanie takiego założenia.

Poniżej przedstawiono obliczone wartości amplitudy współczynnika rozproszenia w funkcji częstotliwości (3.2.2), pokazujące wpływ parametrów beleczki (walca) na zachowanie amplitudy współczynnika rozproszenia (R).

Wykresy zależności wartości współczynnika rozproszenia (rys.3.2.3) od częstotliwości obliczone zostały dla walca o średnicy 0,12mm zanurzonego w wodzie. Przyjęto do obliczeń następujące parametry tkanki kostnej: gęstość = 1900kg/m^3 , prędkość fali podłużnej = 3700m/s , prędkość fali poprzecznej = 1900m/s . Są to wartości zbliżone do wartości parametrów tkanki zdrowej. Poniżej wyniki analogicznych obliczeń dla beleczki tkanki zdrowej i beleczki tkanki chorej o tej samej średnicy. Dla tkanki chorej przyjęto gęstość = 1300kg/m^3 , prędkość fali podłużnej = 3200m/s , prędkość fali poprzecznej = 1600m/s .

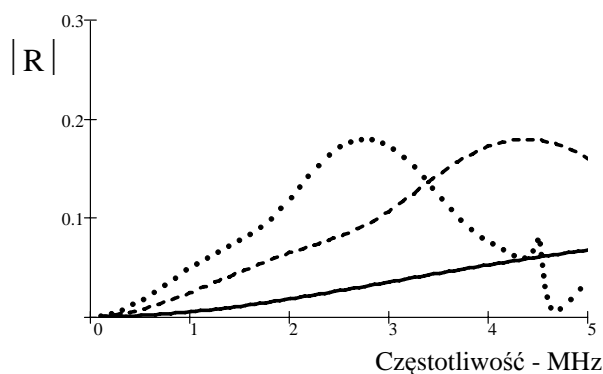


Rys.3.2.3 Wartość ciśnienia fali wstecznie rozproszonej (p) w stosunku do ciśnienia fali padającej (p_0) w funkcji częstotliwości ($R=p/p_0$). Krzywa ciągła dla walca o własnościach materiałowych odpowiadających własnościom tkanki kostnej, krzywa przerywana dla przypadku walca sztywnego.



Rys.3.2.4 Wartość ciśnienia fali wstecznie rozproszonej w stosunku do fali padającej w funkcji częstotliwości. Krzywa ciągła dla walca o własnościach materiałowych odpowiadających własnościom zdrowej tkanki kostnej, krzywa przerywana dla przypadku kości chorej.

Współczynnik rozproszenia zależy też w sposób istotny od grubości beleczki. Poniżej na wykresie wartości sygnału rozproszonego w funkcji częstotliwości obliczone dla trzech grubości beleczki o parametrach kości zdrowej.



Rys.3.2.5 Wartość ciśnienia fali wstecznie rozproszonej w stosunku do fali padającej w funkcji częstotliwości. Krzywa ciągła dla walca o średnicy 0,05mm, krzywa przerywana – 0,12mm, krzywa kropkowana – 0,22mm.

Wykresy przedstawiona na rys.3.2.5 pokazują jak duży wpływ na sygnał rozproszony ma grubość beleczek. Dla niskich częstotliwości, takich jak stosowane w badaniach kości in vivo (do 1MHz), amplituda rozproszonego wstecznie sygnału (współczynnik rozproszenia) gwałtownie rośnie wraz

z grubością beleczek. Takie zachowanie współczynnika rozproszenia potwierdzone zostało doświadczalnie w badaniach próbek kości gąbczastej (Wear, 2003). Dla przypadku walca o największej średnicy, dla częstotliwości 4,5 MHz widoczny jest pik związany z rezonansowym rozpraszaniem dla częstotliwości własnych układu (Flax i wsp., 1981).

Drugim elementem symulacji, w istotny sposób wpływającym na charakter sygnału rozproszonego jest ilość beleczek – N , z których pojedyncze rozproszenia sumują się w danej chwili czasu, tworząc symulowany wypadkowy sygnał rozproszony z kości gąbczastej. Ustalając zakres zmian porowatości kości beleczkowej a więc i gęstość przestrzenną beleczek korzystano z danych literaturowych (Kothari i wsp., 1999; Hans i wsp., 1995).

Beleczki umieszczone są przypadkowo w przestrzeni a wielkość ich średnicy podlega rozkładowi normalnemu lub rozkładowi Gamma o wartości średniej odpowiadającej wartościom występującym w kości gąbczastej. W modelowej strukturze kości, własności elastyczne beleczek są takie jak własności rzeczywistych beleczek kości gąbczastej. Jak już wspomniano wcześniej, zakres zmian parametrów mechanicznych tkanki kostnej (gęstości, prędkości fali podłużnej) wyznaczono w oparciu o metody mikroskopii akustycznej (rozdział 2). Prędkość fali poprzecznej przyjmowana była w obliczeniach za równą 0,53 wartości prędkości fali podłużnej, co odpowiada wsp. Poisson'a = 0,3 (wartość wsp. Poisson'a dla tkanki kostnej waha się w granicach od 0,23 do 0,44, Reilly i Burstein, 1975; Hosakawa i Otani, 1998; Williams i Johnson, 1989; Raum i Brandt, 2003).

W modelu zakłada się, że do generacji i odbioru fali ultradźwiękowej używany jest kołowy płaski lub słabo ogniskujący przetwornik. Fale rozproszone przez beleczki docierają bezpośrednio do przetwornika a ich faza zależy od odległości pomiędzy elementem rozpraszającym a przetwornikiem i od fazy współczynnika rozproszenia pojedynczej beleczki. Model oddziaływania fali ze strukturą kości gąbczastej zakłada, że rejestrowany rozproszony wstecznie sygnał ultradźwiękowy, pochodzi jedynie od rozproszenia w objętości pomiarowej i że nie jest on zakłócany

przez jakiegokolwiek kolejne czy też wielokrotne rozproszenia na drodze pomiędzy przetwornikiem a objętością pomiarową. Istnienie wielokrotnych odbić powoduje, że charakter odbieranego sygnału odpowiada większej ilości elementów rozpraszających niż ilość zawarta w objętości pomiarowej. Prawdopodobieństwo wystąpienia wielokrotnych odbić rośnie wraz ze wzrostem gęstości przestrzennej beleczek, ze wzrostem przekroju czynnego na rozproszenie beleczek oraz z głębokością w strukturze kości, z jakiej odbierany jest sygnał rozproszony. Dla zdrowej kości gąbczastej, co jednocześnie oznacza dla kości o względnie małej porowatości i grubych beleczkach, wielokrotne rozproszenia niewątpliwie są znaczącym przyczynkiem we wstecznie rozproszonym sygnale. Pamiętać jednak należy, że interesuje nas kość chora, w której gęstość przestrzenna beleczek jak i ich wymiary a co za tym idzie i wielkość przekroju czynnego są znacznie zmniejszone. Można, więc przyjąć, że w przypadku kości zdrowej, wielokrotne odbicia będą zwiększać pozornie gęstość przestrzenną beleczek, podczas gdy w przypadku kości chorej wpływ wielokrotnych odbić będzie znacznie ograniczony.

Przy założeniu braku wielokrotnych rozproszeń, płaskim lub słabo ogniskującym przetworniku odbiorczym i rozpatrywaniu jedynie dokładnie wstecznych rozproszeń cząstkowych, powyższy model kości może być sprowadzony do modelu liniowego. W modelu takim, N rozpraszających struktur walcowych rozmieszczonych jest z jednakowym prawdopodobieństwem na odległości równej L , odpowiadającej zakresowi penetracji fali ultradźwiękowej w strukturze kości gąbczastej.

Jako ultradźwiękowy impuls sondujący zastosowany został zarejestrowany sygnał ultradźwiękowy używany do pomiarów sygnału rozproszonego. Sygnał rejestrowany był w odległości od przetwornika odpowiadającej położeniu kości w czasie pomiarów. Kształt sygnału był narysowany za pomocą szerokopasmowego hydrofonu, wiernie przenoszącego wyższe częstotliwości widma sygnału, powstające w wyniku propagacji impulsu w wodzie.

Symulacja sygnału rozproszonego odbywa się w następujący sposób:

Każda beleczka (walec) uważana jest za wtórne źródło fali ultradźwiękowej. Każdemu walcowi odpowiada zespolony współczynnik rozproszenia wstecznego. Jego wartość zależy od średnicy walca (d), właściwości mechanicznych materiału, z którego jest wykonany, właściwości mechanicznych cieczy, w której jest zanurzony i od składu częstotliwościowego nadawanego impulsu. Efekt działania przetwornika symulowany jest poprzez sumowanie przyczynków od każdego walca, z uwzględnieniem różnic w czasie ich dotarcia do przetwornika, wynikających z różnic w położeniu. Każdy impuls pochodzący od pojedynczej beleczki jest zmodyfikowanym impulsem sygnału nadawczego. Widmo takiego impulsu powstaje w wyniku przemnożenia widma impulsu nadawczego przez zależny od częstotliwości i od parametrów walca współczynnik rozproszenia. Jeżeli uwzględniane jest tłumienie w materiale to dodatkowo widmo impulsu nadawczego modyfikowane jest przez zależny od częstotliwości współczynnik tłumienia i drogę przebytą przez impuls. Faza każdego z sumowanych przyczynków zależy od odległości przebytej przez impuls, prędkości fali w ośrodku, fazy początkowej odpowiedniego prążka widma i zmiany fazy wprowadzanej przez współczynnik rozproszenia.

Aby zmniejszyć ilość obliczeń i czas potrzebny na symulację przebiegu rozproszonego, generowane dla danej realizacji przebiegu wartości grubości beleczek podzielone zostały liniowo na 100 zakresów (d_n). Widmo impulsu nadawczego obliczane było za pomocą szybkiej transformaty Fouriera (FFT) tak, że odległość pomiędzy prążkami widma (f_k) była równa 10kHz. Przy takiej dyskretyzacji rozkładu grubości beleczek i widma sygnału nadawczego możliwym było wstępne, jednorazowe obliczanie macierzy współczynników rozproszenia X , w której wartość elementu $X_{n,k}$ odpowiadała wartości współczynnika rozproszenia znalezionej dla walca o grubości d_n i dla fali o częstotliwości f_k .

Symulacja sygnału rozproszonego (S^{sym}) odbywa się poprzez przedstawione poniżej sumowanie. Przebiegom rejestrowanym doświadczalnie odpowiada część rzeczywista funkcji S^{sym} . W obliczeniach stosuje się założenie pola dalekiego dla rozpraszanych sygnałów cząstkowych. Symulowana

funkcja opisująca sygnał rozproszony przez kość gąbczastą opisana jest następująco:

(3.2.6)

$$S_j^{\text{sym}} = \sum_n \sum_k X_{n,k} \cdot \sqrt{\frac{-i \cdot v_w}{f_k \cdot (L_n + d_0)}} \cdot \text{Amp}_k \cdot \exp(i \cdot \Phi_k) \cdot \exp(i \cdot 2 \cdot \pi \cdot f_k \cdot \frac{2 \cdot L_n}{v}) \cdot$$

$$\exp(2 \cdot \pi \cdot f_k \cdot j \cdot \delta t) \cdot \exp(-\alpha_0 \cdot 2 \cdot L_n \cdot f_k)$$

gdzie:

X – macierz współczynnika rozproszenia (wartość elementów zależy od grubości walca i częstotliwości fali), v_w , v – kolejno prędkość fali w wodzie i w próbce, f – częstotliwość, L – odległość pomiędzy walcem a granicą woda-próbka, d_0 – odległość przetwornik -próbka, Amp i Φ – amplituda i faza widma impulsu padającego na próbkę, δt – krok próbkowania (w czasie), α_0 – współczynnik tłumienia fali w próbce.

Indeksy oznaczają kolejno: n – numer walca, k – numer prążka widma sygnału, j – krok bieżącej współrzędnej z spełniający warunek $z_j = j \cdot \delta t \cdot v$. Sumowanie odbywa się po wszystkich walcach (n) i całym zakresie widma impulsu padającego na próbkę (k).

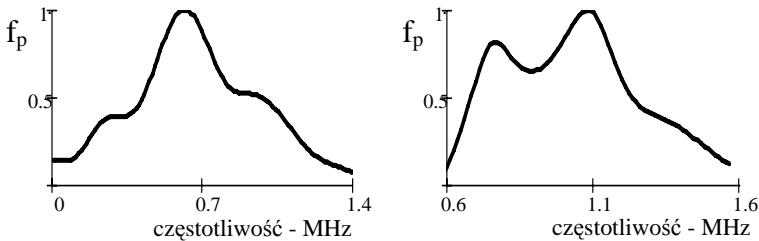
Przy pomiarze rzeczywistym, sygnał rozproszony w próbce kości przebywa drogę ok. 80mm w wodzie i następnie jest zamieniany na sygnał elektryczny przez przetwornik nadawczo-odbiorczy. Wpływ nieliniowości wody na kształt sygnału jest w tym wypadku do pominięcia, bo amplituda sygnału rozproszonego jest bardzo mała (w przeciwieństwie do sygnału padającego na kość). Istotny wpływ na kształt sygnału ma za to charakterystyka przenoszenia częstotliwości przetwornika. Charakterystyki rzeczywistych przetworników stosowanych przy doświadczalnym wyznaczaniu sygnału rozproszonego uwzględnione zostały przy symulacji rozproszenia.

Charakterystyki przenoszenia częstotliwości przez przetwornik wyznaczone zostały za pomocą pomiaru hydrofonem, w odległości 5mm od powierzchni przetwornika (krawędzi czaszy przetwornika w przypadku

przetwornika ogniskowanego) sygnału wygenerowanego przez przetwornik (S_0), przy pobudzeniu elektrycznym za pomocą krótkiego impulsu (2ns, generator firmy Panametrics, model 5900PR) oraz rejestrację samego sygnału pobudzającego (S_N). Stosunek amplitudy widma tych sygnałów wyznaczał charakterystykę częstotliwościową (f_p) równą

$$f_p = \frac{|F(S_0)|}{|F(S_N)|}, \quad (3.2.7)$$

gdzie $F()$ oznacza transformatę Fouriera.



Rys. 3.2.6 Charakterystyki częstotliwościowe (funkcja przenoszenia częstotliwości) dla głowicy płaskiej (po lewej) i dla głowicy ogniskującej (po prawej).

Widmo sygnałów rzeczywistych ulega modyfikacji w wyniku przetwarzania sygnału na przebieg elektryczny przez przetwornik o określonej charakterystyce. Dlatego też, aby wiernie symulować mierzone sygnały rozproszone (S), widmo sygnałów symulowanych ($F(S^{sym})$) powinno zostać pomnożone przez wyznaczoną doświadczalnie charakterystykę przetwornika. W przedstawianej pracy wszystkie symulowane sygnały poddawane były następującemu przetwarzaniu:

$$S = S^{\text{sym}} \otimes F^{-1}(f_p), \quad (3.2.8)$$

gdzie S^{sym} – symulowany sygnał bez uwzględniania wpływu przetwornika, f_p – funkcja przenoszenia częstotliwości przez przetwornik, \otimes jest oznaczeniem operatora splotu a $F^{-1}(\)$ oznacza odwrotną transformację Fouriera.

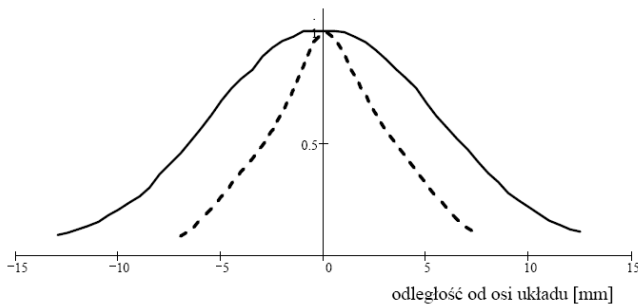
O ilości elementów w objętości pomiarowej decyduje gęstość przestrzenna elementów (beleczek) i wielkość objętości pomiarowej. Przy porównywaniu sygnałów symulowanych i sygnałów nagrywanych doświadczalnie, oba te parametry powinny odzwierciedlać rzeczywistą sytuację pomiarową.

Objętość pomiarową można wyznaczyć z kształtu nadawanych impulsów i przestrzennego rozkładu pola ciśnień w obszarze pomiaru. Zakładając, że detekcja amplitudy (znajdowanie obwiedni sygnału) odbywa się w sposób numeryczny, wielkość objętości pomiarowej V_p może być opisana jako:

$$V_p = S \cdot v_b \cdot \frac{\Delta t}{2}, \quad (3.2.9)$$

gdzie S to efektywny przekrój wiązki sondującej w obszarze pomiaru, v_b – prędkość fali w badanym materiale (kości) a Δt to czas trwania impulsu.

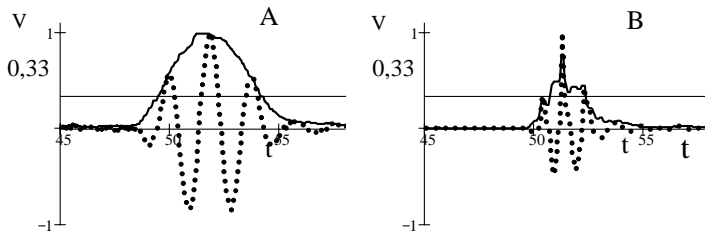
W opisywanych badaniach używane były dwa przetworniki nadawczo-odbiorcze. Przetwornik płaski, kompozytowy pracował na częstotliwości środkowej 0,58MHz i przetwornik sferyczny o częstotliwości rezonansowej 1MHz, wykonany z ceramiki PZT. Budowa głowic stosowanych do nagrywania sygnałów rozproszonych opisana została w rozdziale (3.4), poświęconym opisowi aparatury pomiarowej. Dla obu przetworników zmierzony został rozkład poprzeczny ciśnienia w odległości od przetwornika odpowiadającej położeniu próbki kości czy też pięty w czasie nagrywania sygnału rozproszonego. Pomiar ciśnienia wykonywany był za pomocą hydrofonu (Sonora Medical Systems model Sonic 804-201, Longmont, USA).



Rys.3.2.7 Poprzeczne, unormowane rozkłady ciśnienia dla głowicy płaskiej 0,58MHz (krzywa ciągła) i głowicy ogniskującej 1MHz (krzywa przerywana) zmierzone w odległości odpowiadającej położeniu obszaru pomiarowego, to znaczy w odległości 84mm od powierzchni głowicy.

Za obszar S przyjęto wielkość obszaru, w której skupia się 90% energii emitowanej wiązki. Dla głowicy płaskiej było to pole koła o średnicy ok. 11mm a dla głowicy ogniskowanej pole koła o średnicy ok. 5mm.

Analogicznie można wyznaczyć czas trwania impulsu - Δt . Za pomocą hydrofonu nagrane zostały przebiegi czasowe impulsów generowanych przez oba przetworniki. Hydrofon umieszczony był w wodzie w odległości od przetwornika odpowiadającej położeniu kości podczas pomiarów. Za czas trwania impulsu przyjęto czas, w którym wartość amplitudy jest większa od 0,33 amplitudy maksymalnej.



Rys.3.2.8 Sygnały nadawcze (krzywa kropkowana) dla częstotliwości 0,58MHz – A i 1MHz – B. Krzywa ciągła to amplituda znaleziona dla tych przebiegów. Miejsca przecięcia amplitudy z prostą na poziomie 0,33 wartości maksymalnej wyznaczają czas trwania impulsu.

W efekcie otrzymano czasy trwania impulsów równe odpowiednio 4,2 μs i 2,0 μs dla impulsów o częstotliwości 0,58MHz i 1MHz. Szacowanie czasu trwania impulsów i obliczanie objętości pomiarowej ma jedynie charakter orientacyjny i ewentualne błędy nie wpływają na wynik symulacji sygnału rozproszonego, gdzie jako dane wejściowe do obliczeń stosowane były rzeczywiste przebiegi sygnałów nadawczych. Przy założeniu wartości prędkości w kości gąbczastej równej 1540 mm/s otrzymano objętości pomiarowe $V_{P1} = 300 \text{ mm}^3$ i $V_{P2} = 30 \text{ mm}^3$. Wartość prędkości zbliżona do prędkości fali w wodzie jest charakterystyczna dla kości gąbczastej o małej gęstości to znaczy dużej porowatości (Hans i wsp., 1999; Wear, 2000).

Można założyć korzystając z danych anatomicznych kości piętowej, że obszar (zasięg) kości gąbczastej nie przekracza 40mm. Dlatego też, przeprowadzono również pomiary poprzecznego rozkładu pola i kształtu impulsu w dwóch krańcowych położeniach obszaru pomiarowego czyli w odległości $84\text{mm} \pm 20\text{mm}$ od przetwornika. Stwierdzono, że różnice w porównaniu do wyników otrzymanych dla odległości odpowiadającej środkowi obszaru pomiarowego są na tyle małe, że nie zmieniają w istotny sposób objętości pomiarowej.

Gęstość przestrzenną beleczek wyznaczono obliczając średnią objętość beleczki i procentowy udział tkanki kostnej w kości gąbczastej. Dla zdrowej kości gąbczastej średnia długości beleczki wynosi ok. 4mm a jej wymiar poprzeczny (średnica) jest równy ok. 0,1mm-0,2mm (Hans i wsp. 1995, Wear i Laib, 2003). Przy porowatości tkanki kości gąbczastej ok. 90% oznacza to, że w jednym mm^3 znajduje się ok. 2,2 beleczek (dla średnicy = 0,12mm). Tak więc, w objętości pomiarowej V_{P1} znajduje się ok. 660 beleczek a w objętości pomiarowej V_{P2} ok. 66.

Dla modelu liniowego oznacza to, że gęstość liniowa elementów rozpraszających przy symulacji dla kości gąbczastej o porowatości 90% wynosi ok. 200/mm i 43/mm, odpowiednio dla głowicy płaskiej i głowicy ogniskowanej.

Gęstości te zmieniają się wraz ze zmianą porowatością symulowanej kości i ze zmianą wymiarów symulowanych beleczek.

3.3 Przygotowanie sygnałów rozproszonych w kości gąbczastej do wyznaczenia ich własności statystycznych.

3.3.1 Wstęp

W kości gąbczastej fale ultradźwiękowe są silnie tłumione. Aby wyznaczać własności sygnału związane tylko z rozproszeniem tłumienie to musi być skompensowane. Dlatego, dla każdego rejestrowanego doświadczalnie sygnału rozproszonego, wyznaczany był zależny od częstotliwości współczynnik tłumienia (BUA). Stosowane były dwie metody pomiaru współczynnika tłumienia. Tradycyjna metoda transmisyjna, polegająca na porównaniu amplitudy widm sygnałów przepuszczonych przez próbkę i przepuszczonych przez samą wodę, używana była przy pomiarach *in vitro*. Dla próbek można z dużą dokładnością wyznaczyć grubość mierzonego materiału i prędkość propagacji fali. Oba te parametry mają istotny wpływ na dokładność wyznaczenia współczynnika tłumienia i na dokładność kompensacji tłumienia amplitudy rozproszonego sygnału. Przy wyznaczaniu współczynnika tłumienia dla kości piętowej *in vivo* posłużono się metodą polegającą na porównywaniu amplitudy widm sygnału rozproszonego na różnych głębokościach w kości gąbczastej (Litniewski i wsp., 2003). Tak wyznaczone tłumienie, w przypadku pomiarów *in vivo*, lepiej nadaje się do kompensacji sygnału rozproszonego od tłumienia wyznaczanego metodą transmisji, która uśrednia pomiar po całej grubości pięty i nie pozwala na wyznaczenie tłumienia tylko w obszarze kości gąbczastej. Dla kości dostępnych tylko z jednej strony jest to jedyna możliwość znalezienia współczynnika tłumienia. W metodzie tej porównywane sygnały przebywają tą samą drogą pomiędzy przetwornikiem a obszarem kości gąbczastej. Są w takim samym stopniu zniekształcane w wyniku odbić na granicy tkanek czy też w wyniku tłumienia poza obszarem kości gąbczastej. Jednocześnie nie ma potrzeby uwzględniania mierzonej grubości kości, której wartość w przypadku pomiarów *in vivo* jest obciążona dużym błędem. Wadą tej metody jest konieczność stosowania technik eliminujących występujące w widmie sygnału rozproszonego, gwałtowne zmiany (skoki) amplitudy, które uniemożliwiają bezpośrednie porównywanie przebiegów.

Kolejne kroki przygotowywania sygnału do wyznaczenia rozkładu jego obwiedni były następujące. W przypadku każdego pomiaru (próbki kości czy też pięty *in vivo*) rejestrowany był sygnał rozproszony, sygnał przepuszczony, sygnały odbite z obu stron kości i sygnał referencyjny, czyli przepuszczony przez samą wodę. Sygnały odbite służyły do wyznaczania grubości kości. Sygnał przepuszczony przez kość i sygnał referencyjny służyły do wyznaczenia prędkości w kości i wartości współczynnika tłumienia w przypadku próbek kości. Przy pomiarach *in vivo* dla sygnału rozproszonego wyznaczany był obszar rozproszenia w kości gąbczastej i w tym obszarze obliczany był współczynnik tłumienia. W następnym kroku kompensowane było słumienie sygnału rozproszonego z uwzględnieniem zmierzonego współczynnika tłumienia i wartości prędkości. Na koniec, korzystając z transformacji Hilberta sygnału rozproszonego, obliczana była obwiednia sygnału i liczone parametry statystyczne.

W przedstawianych pomiarach rozważane były kości dostępne z dwóch stron (kość piętowa i próbki kości). W przypadku kości dostępnych tylko z jednej strony nie można zmierzyć ich grubości i wyznaczyć prędkości fali w kości gąbczastej. W takim przypadku można posłużyć się średnią prędkością fali w kości gąbczastej.

3.3.2 Wyznaczanie grubości kości

Grubość kości wyznaczana była za pomocą pomiaru czasów przelotu t_1 i t_2 pomiędzy pierwszym przetwornikiem a kością i analogicznie dla drugiego przetwornika i drugiej strony kości. Mierzony też był czas przelotu t pomiędzy samymi przetwornikami (bez kości). Pomiar czasu odbywał się w maksimum rejestrowanego impulsu w.cz..W efekcie grubość kości L była obliczana jako

$$L = (t - t_1 - t_2) \cdot v_w, \quad (3.3.1)$$

gdzie v_w to prędkość fali w wodzie.

Wyznaczana w ten sposób grubość kości, w przypadku pomiarów *in vivo*, obarczona jest dużym błędem, który zależy od zmiennej anatomicznie geometrii kości piętowej i miejsca pomiaru. Jednocześnie,

wyznaczana grubość jest sumą grubości obszaru kości gąbczastej, otaczającej go kości zbitiej i tkanki miękkiej. Rozróżnienie tych warstw jest praktycznie nie możliwe w zakresie częstotliwości stosowanych w badaniach kości.

W czasie pomiarów mierzona była temperatura (T mierzona w $^{\circ}\text{C}$) wody, co pozwoliło na dokładne obliczenie prędkości v_w (prędkość w m/s) jako (Wear, 2000):

$$v_w = 1402,9 + 4,835 \cdot T + 0,047016 \cdot T^2 + 0,000127257 \cdot T^3 \quad (3.3.2)$$

3.3.3 Pomiar prędkości fali w kości

Pomiar prędkości fali w kości metodą pomiaru czasu przelotu fali pomiędzy przetwornikami dla dwóch przypadków, z kością umieszczoną pomiędzy nimi i dla samej wody, obarczony jest dużym błędem. Wynika to z faktu, że kość jako ośrodek silnie tłumiący jest również ośrodkiem dyspersyjnym, w którym i tłumienie i prędkość fazowa silnie zależą od częstotliwości. W wyniku dyspersji impuls ultradźwiękowy po przejściu przez kość zmienia swój skład częstotliwościowy i tym samym kształt. W efekcie, znalezienie dokładnej różnicy czasu przelotu pomiędzy sygnałem przepuszczonym przez kość i przez samą wodę jest niemożliwe bez kompensacji efektów dyspersji.

W niniejszej pracy do wyznaczania prędkości w kości zastosowano metodę pozwalającą na pomiar krzywej dyspersji prędkości. Dla płaskiej harmonicznej fali propagującej się przez wodę pomiędzy przetwornikami można znaleźć jej fazę φ_w jako

$$\varphi_w = \varphi_0 - 2\pi \cdot f \cdot \frac{D}{v_w} \quad (3.3.3)$$

gdzie φ_0 – faza początkowa, f - częstotliwość fali, D - odległość pomiędzy przetwornikami

Dla przypadku umieszczenia pomiędzy przetwornikami próbki kości o grubości L , faza fali przepuszczonej φ_b może być opisana jako

$$\varphi_b = \varphi_0 - 2\pi \cdot f \cdot \left(\frac{D-L}{v_w} + \frac{L}{v_b(f)} \right) \quad (3.3.4)$$

gdzie $v_b(f)$ to zależna od częstotliwości, poszukiwana prędkość w kości.

Znajomość różnicy faz dla obu tych przebiegów

$$\varphi_b - \varphi_w = -2\pi \cdot f \cdot L \left(\frac{1}{v_b(f)} - \frac{1}{v_w} \right) \quad (3.3.5)$$

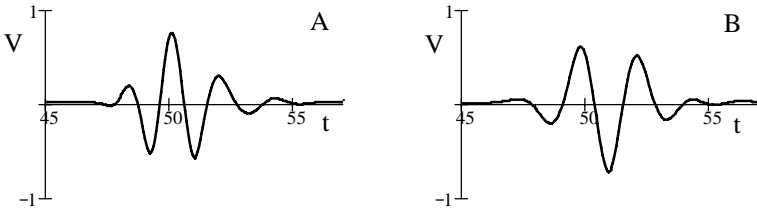
pozwała w prosty sposób na wyznaczenie wartości prędkości v_b dla częstotliwości f .

$$v_b(f) = \frac{1}{\frac{1}{v_w} - \frac{\varphi_b - \varphi_w}{2\pi f L}} \quad (3.3.6)$$

Aby wyznaczyć prędkość w całym zakresie widma wysyłanych impulsów wystarczy obliczyć różnicę fazy $\Delta\varphi$ dla wszystkich prążków widma korzystając z następującego wzoru:

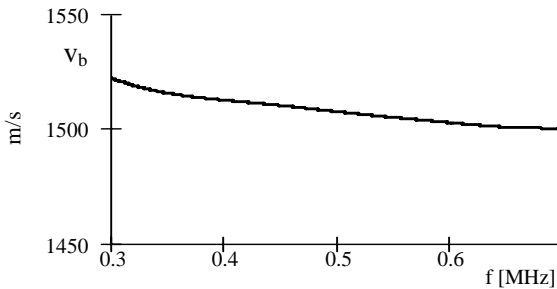
$$\Delta\varphi(f) = \arctan \left[\frac{\operatorname{Im} \left(\frac{F(A_b(t))}{F(A_w(t))} \right)}{\operatorname{Re} \left(\frac{F(A_b(t))}{F(A_w(t))} \right)} \right] \quad (3.3.7)$$

W liczniku funkcji arcustangens znajduje się część urojona stosunku transformat Fouriera (oznaczenie $F(\)$) obliczonych dla sygnału odebranego po umieszczeniu w układzie kości – A_b i sygnału po przejściu tylko przez wodę – A_w . W mianowniku znajduje się część rzeczywista analogicznego stosunku.



Rys.3.3.1 Przykładowe sygnały nagrane po przejściu przez wodę – A i przez kość piętową umieszczoną w wodzie – B przy zastosowaniu głowic płaskich pracujących przy częstotliwości środkowej ok. 0,58MHz. Pomiar *in vivo*. Sygnał B wzmacniony o 24dB w stosunku do sygnału A.

Po zastosowaniu wzoru (3.3.6) obliczona zostaje różnica faz w funkcji częstotliwości dla przebiegów przedstawionych na Rys.3.3.1.



Rys.3.3.2 Obliczona z różnicy faz - $\Delta\varphi(f)$ krzywa dyspersji prędkości - $v_b(f)$ w kości piętowej, dla której zarejestrowano impulsy przedstawione na Rys.3.3.1.

Znaleziona różnica fazy po podstawieniu do wzoru (3.3.5) pozwala na obliczenie prędkości fali w kości (v_b) dla każdego prążka widma sygnału przepuszczonego. Przy pomiarze prędkości korzysta się z wyznaczonej wcześniej grubości kości. Błąd popełniany przy wyznaczaniu grubości ma wpływ na wartości wyznaczonej prędkości.

3.3.4 Wyznaczanie współczynnika tłumienia metodą transmisji

Zależność tłumienia od częstotliwości dla fali propagującej się w kości gąbczastej jest powszechnie używanym parametrem pomiarowym w ultradźwiękowej densytometrii kości. Zależność ta wyznaczana jest poprzez porównanie amplitudy widma sygnału w.cz. zarejestrowanego po przejściu przez badaną kość, najczęściej umieszczoną w wodzie i amplitudy widma sygnału odniesienia, którym jest sygnał odebrany po usunięciu kości z obszaru pomiarowego. W zakresie częstotliwości stosowanych w densytometrii ultradźwiękowej (0,2MHz-1MHz) tłumienie jest praktycznie liniową funkcją częstotliwości ($\alpha(f)=\alpha_0f$). W takim przypadku można pokazać, że w wyniku propagacji impulsu w ośrodku, widmo impulsu ulega pozornemu przesunięciu w kierunku niższych częstotliwości a wielkość tego przesunięcia jest proporcjonalna do wartości współczynnika tłumienia. Taka zmiana widma impulsu a co za tym idzie i jego kształtu w istotny sposób komplikuje pomiary prędkości w kości gąbczastej (Wear, 2000). Wpływ próbki na propagującą się falę można opisać jako:

$$y(t) = h(t) \otimes x(t), \quad (3.3.8)$$

gdzie $y(t)$ – impuls po przejściu przez kość, $x(t)$ – impuls odniesienia, $h(t)$ jest odpowiedzią impulsową ośrodka, której transformata Fouriera wyznacza funkcję przenoszenia ośrodka $-H(f)$.

$$H(f) = \exp(-\alpha_0 fL) \cdot \exp(-i2\pi f\Delta t(f)), \quad (3.3.9)$$

gdzie f to częstotliwość, α_0 - współczynnik tłumienia, L – grubość kości a $\Delta t(f)$ jest opóźnieniem sygnału po przejściu przez kość względem sygnału odniesienia.

Opóźnienie $\Delta t(f)$ jest zależne od częstotliwości, ponieważ kość gąbczasta jest materiałem charakteryzującym się znaczną dyspersją prędkości (Rys.3.3.2).

Jeżeli założyć, że sygnał odniesienia ($x(t)$) jest sygnałem sinusoidalnym o obwiedni opisanej krzywą Gaussa (obwiednię rzeczywistych sygnałów można z dobrym przybliżeniem uznać za krzywą Gaussa –rys.3.3.3)

$$x(t) = A \exp\left(\frac{-t^2}{2\sigma_t^2}\right) \cdot \exp(i2\pi f_0 t) \cdot \exp(i\phi_0), \quad (3.3.10)$$

gdzie A to amplituda, σ_t jest miarą trwania impulsu a f_0 jego częstotliwością środkową to jego transformatę Fouriera $-X(f)$ można zapisać jako

$$X(f) = A\sigma_t \sqrt{2\pi} \exp\left(\frac{-(f-f_0)^2}{2\sigma_f^2}\right) \cdot \exp(i\phi_0), \quad (3.3.11)$$

gdzie $\sigma_f=1/(2\pi\sigma_t)$ jest miarą szerokości pasma sygnału.

Tak więc widmo sygnału po przejściu przez kość $-Y(f)$ można przedstawić jako

$$Y(f) = H(f) \cdot X(f) = A\sigma_t \sqrt{2\pi} \exp\left(\frac{-(f-f_0)^2}{2\sigma_f^2}\right) \exp(-\alpha_0 fL) \cdot \exp(-i2\pi f\Delta t(f)) \cdot \exp(i\phi_0) \quad (3.3.12)$$

Pierwsze dwa człony wykładnicze tego wyrażenia można tak przekształcić, że widmo $Y(f)$ będzie funkcją w sposób analogiczny zależną od częstotliwości, co $X(f)$, ale z nową częstotliwością środkową (f_1) równą

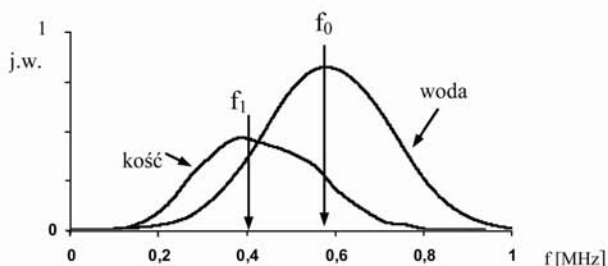
$$f_1 = f_0 - \sigma_f^2 \cdot \alpha_0 \cdot L \quad (3.3.13)$$

$$Y(f) = A\sigma_t \sqrt{2\pi} \exp\left(\frac{-(f_1^2 - f_0^2)}{2\sigma_f^2}\right) \exp\left(\frac{-(f-f_1)^2}{2\sigma_f^2}\right) \cdot \exp(-i2\pi f\Delta t(f)) \cdot \exp(i\phi_0)$$

Zmianę częstotliwości środkowej widma sygnału po przejściu przez kość obserwuje się doświadczalnie (rys.3.3.3).

Porównanie amplitudy widm ($Y(f)$ i $X(f)$) znalezionych w eksperymencie umożliwia wyznaczenie zależnego od częstotliwości współczynnika tłumienia jako:

$$\alpha(f) = \frac{-1}{L} \ln \left(\frac{|Y(f)|}{|X(f)|} \right). \quad (3.3.14)$$



Rys.3.3.3 Widma amplitudowe (jednostki względne) doświadczalnie zarejestrowanych impulsów z rys.3.3.1.

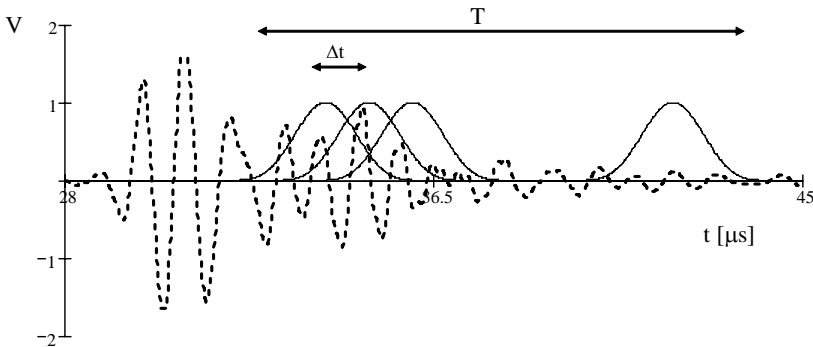
Zarówno nachylenie (α_0) zlinearyzowanej krzywej $\alpha(f)$ jak i wyznaczony bezpośrednio z wartości przesunięcia częstotliwości środkowych współczynnik $\alpha_0 = (f_0 - f_1) / \sigma_f^2 L$ są silnie skorelowane z gęstością kości - BMD (Bone Mineral Density), co zostało wykazane w całym szeregu prac eksperymentalnych (Langton, 1994; Laugier i wsp., 1994; Litniewski i wsp., 2000). W niniejszej pracy w celu wyznaczenia współczynnika tłumienia w próbkach ludzkich kości gąbczastych pięty stosowana była metoda porównywania widm. Dla znalezionej w ten sposób krzywej $\alpha(f)$, metodą regresji liniowej obliczana była prosta, której współczynnik nachylenia wyznaczał wartość współczynnika tłumienia - α_0 .

3.3.5 Wyznaczanie współczynnika tłumienia z sygnału rozproszonego

Przy wyznaczaniu współczynnika tłumienia za pomocą sygnału rozproszonego duże znaczenie ma właściwy wybór obszaru rozpraszania w kości gąbczastej. Nie może być to wykonane automatycznie, ze względu na zmienną anatomie pięty i różne usytuowanie głowicy względem pięty. Położenie początku obszaru rozpraszania w kości gąbczastej względem pierwszego odebranego sygnału zmienia się wraz z kształtem pięty, grubością tkanki miękkiej i kości zbitiej.

Wybrany obszar sygnału (A) o długości T jest dzielony na N krótkich sygnałów A_i . Sygnały A_i są wydzielone z A za pomocą okna w postaci funkcji Blackman'a, którego środek przesuwany jest sukcesywnie wraz ze wzrostem indeksu (i) o czas Δt . Długość stosowanego okna (t_0) dobrana została doświadczalnie (optymalna ze względu na wyznaczanie wartości współczynnika tłumienia dla sygnałów symulowanych o znanym tłumieniu) i była równa półtoej długości wysłanego impulsu.

Spełniony był warunek $\Delta t = \frac{T - t_0}{N}$

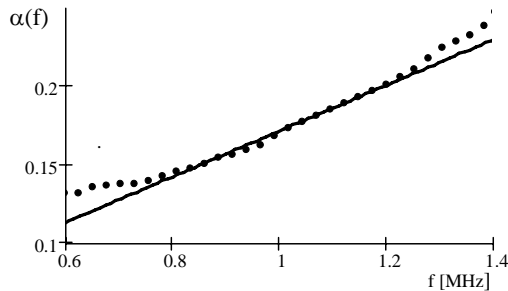


Rys.3.3.4 Sygnał rozproszony w próbce kości gąbczastej (1MHz) – krzywa przerywana wraz z funkcjami okna – krzywa ciągła.

W następnym kroku analogicznie do wyznaczania współczynnika BUA metodami transmisji, za pomocą algorytmu szybkiej transformaty Fouriera (FFT), obliczane było amplitudowe widmo każdego z sygnałów A_i ($|F(A_i)|$). Otrzymane widma poddawane były opisanemu poniżej przetwarzaniu w celu usunięcia składowej rozproszenia. Następnie liczone było cząstkowe tłumienie w funkcji częstotliwości $\alpha_i(f)$ jako

$$\alpha_i(f) = \frac{-\ln\left(\frac{|F(A_{i+1})|}{|F(A_i)|}\right)}{\Delta t \cdot v_b} \quad (3.3.14)$$

Na koniec obliczany był średni współczynnik tłumienia $\alpha = \frac{1}{N} \sum_N \alpha_i$ i metodą regresji liniowej wyznaczana była prosta przybliżająca liniowo zależność tłumienia od częstotliwości. Współczynnik nachylenia tej prostej opisujący współczynnik tłumienia (α_0) używany był następnie do kompensacji tłumienia sygnału rozproszonego.



Rys.3.3.5 Średnie tłumienie w funkcji częstotliwości – krzywa kropkowana wraz z prostą znaną metodą regresji liniowej dla zakresu częstotliwości 0,8MHz-1,2MHz, krzywa ciągła. Kąt nachylenia prostej wyznacza współczynnik tłumienia – α_0 .

Widmo sygnału rozproszonego nie nadaje się do bezpośredniego wyznaczania współczynnika tłumienia. Sygnał rozproszony ($r(t)$) może być opisany jako splot sygnału nadanego ($u(t)$) i odpowiedzi impulsowej ośrodka ($g(t)$ -funkcji charakteryzującej strukturę kości beleczkowej).

$$r(t) = u(t) \otimes g(t) . \quad (3.3.15)$$

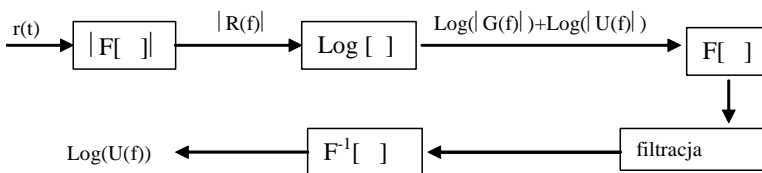
Widmo takiej funkcji charakteryzuje się przypadkowymi, gwałtownymi zmianami amplitudy. Maskują one praktycznie całkowicie informację o zmianie amplitudy sygnału wraz ze zmianą drogi penetracji fali w kości. W niniejszej pracy, aby wyznaczyć widmo Fourierskie sygnału rozproszonego na różnych głębokościach w kości, stosowano przetwarzanie homomorficzne sygnału (Saniie i Bilgutay, 1986; Jensen i Leeman, 1994;

Litniewski i wsp., 1994). W pierwszym kroku przetwarzania obliczany jest logarytm sygnału zapisanego w przestrzeni częstotliwości, aby (korzystając z własności funkcji logarytm) rozdzielić widmo impulsu i widmo związane z rozproszeniem.

Następnie liczone jest cepstrum sygnału, czyli transformata Fouriera funkcji otrzymanej w pierwszym kroku przetwarzania.

Cepstrum sygnału jest następnie filtrowane tak, aby wydzielić z niego prążki związane głównie z cepstrum samego impulsu. Częstotliwość odcięcia filtru wyznaczana jest z obliczonego wcześniej cepstrum samego impulsu (sygnału nadawanego).

Na koniec za pomocą odwrotnej transformacji Fouriera znajdujemy logarytm widma impulsu pochodzącego z określonej głębokości w badanej tkance kości gąbczastej.



Rys.3.3.6 Schematyczny diagram operacji przy cepstralnej filtracji sygnału rozproszonego. Funkcje R, G i U oznaczają kolejno widma sygnału rozproszonego, sygnału odpowiedzi impulsowej ośrodka i sygnału sondującego.

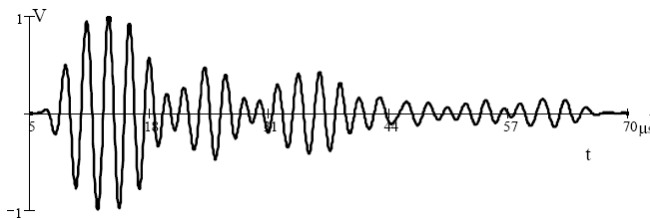
3.3.6 Kompensacja tłumienia

Kompensacja tłumienia w sygnale rozproszonym (A) polegała na znalezieniu widma tego sygnału (FA) i następnie syntezy tego sygnału z harmonicznymi fal płaskimi, których amplituda poddana jest procesowi odwrotnemu do tłumienia. Proces ten można zapisać w następujący sposób:

$$F(t_i) = \sum_{k=0}^M FA_k \cdot \exp(\alpha_0 \cdot f_k \cdot t_i \cdot v_b) \cdot \exp(-i \cdot 2 \cdot \pi \cdot f_k \cdot t_i) \quad (3.3.16)$$

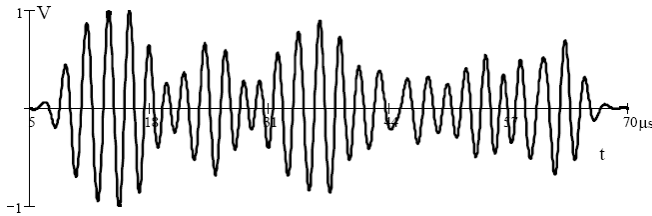
Część rzeczywista funkcji F jest szukanym sygnałem rozproszonym, w którym skompensowany został wpływ tłumienia. k – oznacza numer prążka widma nagranych sygnału, FA_k to amplituda i faza k -tego prążka widma, f_k to częstotliwość odpowiadająca k -temu prążkowi a $t_i = i \cdot \delta t$, gdzie δt oznacza krok o długości wynikającej z częstotliwość próbkowania sygnału.

W efekcie takiego sumowania, nowy sygnał budowany jest z harmonicznymi fal płaskich, których amplituda zależy od częstotliwości fali i rośnie wraz ze wzrostem współrzędnej odpowiadającej głębokości penetracji.

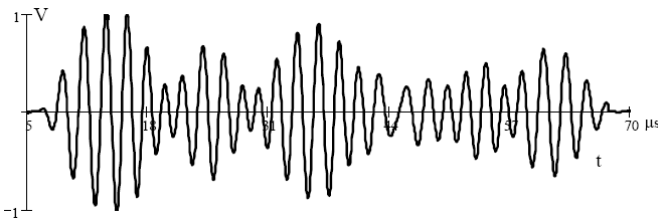


Rys.3.3.7 Symulacja sygnału (V-napięcie) o częstotliwości 0,5MHz i długości ok. 65 μ s rozproszonego w kości gąbczastej, dla której współczynnik tłumienia wynosił $\alpha_0 = 0,05/\text{mm}$.

Działanie metody kompensacji tłumienia zależnego od częstotliwości zostało sprawdzone na sygnale symulowanym, rozproszonym w ośrodku przy założonej wartości współczynnika tłumienia. Równocześnie dla tego samego rozkładu punktów rozpraszających symulowany był sygnał przy założeniu braku tłumienia. Po zastosowaniu metody kompensacji dla sygnału tłumionego jego przebieg porównywany był z przebiegiem symulacji bez tłumienia.



Rys.3.3.8 Symulacja sygnału rozproszonego analogiczna do symulacji z rys.3.3.7, ale dla $\alpha_0 = 0,0/\text{mm}$.



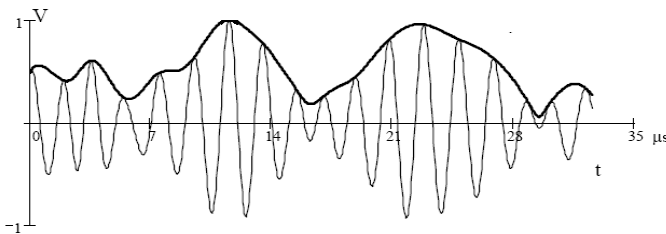
Rys.3.3.9 Symulowany sygnał z rys.3.3.7 po zastosowaniu metody kompensacji.

Stwierdzono, że stosowana metoda kompensacji tłumienia w bardzo niewielkim stopniu zniekształca kompensowany sygnał w stosunku do sygnału nie tłumionego. Przykładowo obliczone współczynniki wartości średniej i odchylenia standardowego dla obwiedni przedstawionych powyżej sygnałów wynosiły odpowiednio 0,524 i 0,241 dla sygnału symulowanego bez tłumienia oraz 0,526 i 0,239 dla sygnału po zastosowaniu kompensacji tłumienia. Przy kompensacji przyjęto wartość prędkości równą prędkości użytej w czasie symulacji sygnału (1540m/s). Jeżeli przy kompensacji tłumienia założyć, że prędkość w kości jest wyższa o 4% (1600m/s) to analogiczne do przedstawionego powyżej przykładu, parametry statystyczne tak otrzymanego sygnału wynoszą odpowiednio 0,529 i 0,224. Jak widać wpływ wartości prędkości przy kompensacji sygnału jest niewielki i dlatego w przypadku gdy jej wyznaczenie nie jest możliwe można przyjąć, że jest ona równa wartości średniej prędkości w kości beleczkowej (dla częstotliwości 0,5MHz) równej 1550m/s (Wear, 2000). Dla innych częstotliwości średnia wartość prędkości powinna być wyznaczona osobno.

Poniżej przedstawiony został wynik zastosowania kompensacji tłumienia dla sygnału nagranych z kości piętowej in vivo.



Rys.3.3.10 Sygnał o częstotliwości środkowej 0,58MHz rozproszony w kości gąbczastej. Przedstawiony został tylko wybrany obszar pomiarowy.

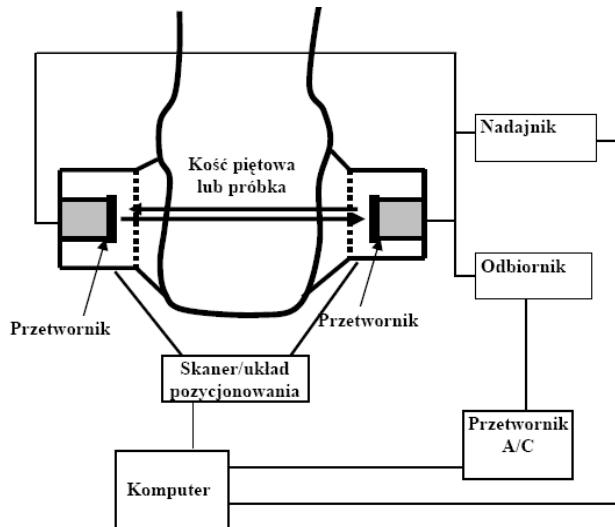


Rys.3.3.11 Sygnał z rys.3.3.10 wraz z obwiednią po zastosowaniu kompensacji tłumienia.

W ten sam sposób przygotowywane były wszystkie sygnały rozproszone, zarówno pochodzące z próbek kości jak i nagrane z kości piętowej in vivo, sygnały, dla których obwiedni wyznaczane były histogramy i liczone wartości SNR.

3.4 Układ pomiarowy- budowa i tryby pracy

Układ pomiarowy został tak zbudowany, aby jego część nadawczo-odbiorcza (nadajnik, odbiornik, układ akwizycji i transmisji danych oraz przetworniki ultradźwiękowe) mogła być wykorzystywana zarówno do pomiarów próbek kości z użyciem wanny pomiarowej i ręcznym przesuwem próbki, do badań kości piętowej in vivo za pomocą półautomatycznego systemu pozycjonowania oraz do sterowanego komputerem i automatycznie zbierającego dane skanera kości piętowej.

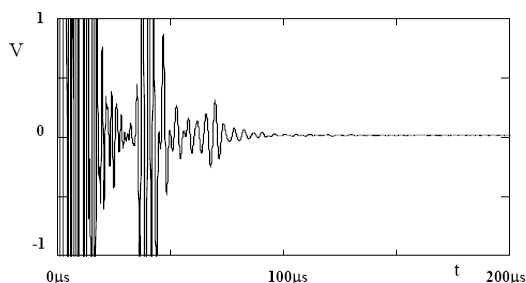


Rys.3.4.1 Schemat zbudowanego przez autora układu pomiarowego do pomiarów ultradźwiękowych kości gąbczastej.

3.4.1 Budowa przetworników i głowic ultradźwiękowych dla potrzeb pomiarów ultradźwiękowych kości.

W opisywanych pomiarach stosowane były dwa rodzaje głowic nadawczo-odbiorczych. Zbudowane one zostały specjalnie z przeznaczeniem do badania sygnałów rozproszonych. Były to głowice płaskie, pracujące na częstotliwości ok. 0,58 MHz (średnica przetwornika – 20mm) i głowice słabo ogniskujące o częstotliwości rezonansowej równej 1 MHz (średnica przetwornika- 15mm, ogniskowa-84mm).

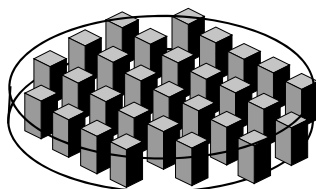
Badane sygnały rozproszone charakteryzują się zazwyczaj małą amplitudą i dlatego w czasie pomiaru w obszarze odpowiadającym sygnałowi rozproszonemu nie może być innych nawet bardzo małych sygnałów zakłócających. Szczególnie dotyczy to sygnałów pochodzących od sygnału nadawanego przez przetwornik, takich jak wielokrotne odbicia akustyczne w naczyniu pomiarowym lub rozproszenia w obciążeniu przetwornika. Te ostatnie są szczególnie trudne do wyeliminowania w zakresie niskich częstotliwości ultradźwięków (do 1MHz). Przy budowie przetworników zastosowano specjalnie wytworzony i przebadany materiał obciążający zbudowany na bazie żywicy epoksydowej, proszku wolframowego i pyłu korkowego, który przy względnie dużej impedancji (7 MRayl) zapewniał przy częstotliwości 0,5MHz tłumienie rzędu 10dB/cm. W efekcie już po ok. 100 μ s od nadania sygnału możliwa była rejestracja ech z wnętrza kości (rys.3.4.2). Czas ten odpowiada drodze ok. 7,5 cm w wodzie dla sygnałów odbitych i w nie mniejszej odległości od przetwornika powinna znajdować się pięta pacjenta czy też próbka przy badaniu ultradźwiękowym. Jakość obciążenia przetwornika określa w ten sposób wymiary układu pomiarowego.



Rys.3.4.2 Sygnał zmierzony na głowicy promieniującej do wody przy pracy układu w modzie nadawczo-odbiorczym i przy maksymalnym wzmocnieniu odbiornika. Po czasie ok. 100 μ s amplituda odbić wewnętrznych w materiale obciążającym jest do zaniedbania i jest to koniec strefy martwej dla pomiarów rozproszenia w kości gąbczastej.

Płaskie przetworniki zbudowane zostały z materiału kompozytowego typu 1-3. Niestety nie udało się wykonać kompozytowych przetworników w kształcie wycinka czaszy i w głowicach ogniskujących zastosowano przetworniki sferyczne wykonane z szerokopasmowej ceramiki monolitycznej PZT.

W przypadku kompozytu, strukturę wewnętrzną przetworników stanowiła periodyczna sieć prostopadłościanów o przekroju kwadratowym o boku $200\ \mu\text{m}$, zalana masą żywicy epoksydowej. Taka sama ($200\ \mu\text{m}$) jest odległość pomiędzy dwoma sąsiednimi prostopadłościanami, co w efekcie daje 25 % zawartości piezo-ceramiki w kompozycie.



Rys.3.4.3 Bryła przetwornika kompozytowego – prostopadłościany z piezo-ceramiki w żywicy epoksydowej.

Przetworniki kompozytowe charakteryzują się szerokim pasmem przenoszenia i niską impedancją. Mogą więc być dobrze dopasowane do ośrodka, do którego promieniują (woda) jak i do obciążenia. Umożliwia to wytłumienie oscylacji własnych przetwornika, co ogranicza zasięg strefy martwej ze względu na rejestrację sygnałów rozproszonych w badanej próbce. Zbudowane przetworniki generowały impulsy, których amplituda widma zbliżona była kształtem do krzywej Gaussa, bez wartości bliskich zera w całym zakresie rozważanych częstotliwości (rys.3.3.3). Jest to szczególnie istotne przy pomiarach współczynnika tłumienia gdyż metoda ta polega na dzieleniu amplitudy widm. W przypadku występowania w widmie bardzo małych wartości amplitudy otrzymywane tą metodą wyniki obarczone są bardzo dużym błędem.

3.4.2 Układ nadawczo-odbiorczy

Układ nadawczo-odbiorczy został tak zbudowany, aby można było wykonywać przy jego pomocy zarówno pomiary w transmisji jak i w rozproszeniu oraz wykorzystywać go do rejestracji ręcznej sygnałów oraz do pracy automatycznej przy obrazowaniu parametrycznym.

Część nadawcza tego układu umożliwia pobudzanie głowicy sygnałem sinusoidalnym o regulowanej amplitudzie, regulowanym czasie trwania i częstotliwości 500KHz lub 1MHz. Część odbiorcza wyposażona została na wejściu w regulowany 27 dB tłumik i 60dB-owy szerokopasmowy (200KHz-1,8MHz, 3dB) wzmacniacz. Wartości wzmocnienia i tłumienia ustalane są komputerowo lub ręcznie. Odebrane i wzmocnione sygnały w.c.z. próbkowane są przez kartę A/C (20MHz, 12 bit) i zapamiętywane w komputerze.

W zależności od konfiguracji układu, odbierany jest sygnał odbity z wnętrza kości (nasłuchuje przetwornik nadawczy) lub sygnał przechodzący przez kość (nasłuchuje drugi przetwornik umieszczony po przeciwnej stronie kości). Możliwe, więc jest znajdowanie zarówno współczynnika BUA jak i parametrów rozproszeniowych

W przypadku, gdy układ sterowany jest przez program komputerowy odbywa się to w następujący sposób: Bezpośrednio po starcie programu do karty wysyłane są komendy ustalające jej wstępne nastawy takie jak typ i kanał sprzężenia, rodzaj i kształt impulsu startu podstawy czasu, opóźnienie startu podstawy czasu, parametry transmisji oraz informacje do układu nadawczo odbiorczego o zakresie napięć i czasów przebiegu dla poszczególnych kanałów. Są one wstępnie dobrane tak, aby uwidocznić cały cykl repetycji na ekranie komputera. Celem zsynchronizowania pracy systemu, jednocześnie z sygnałem elektrycznym pobudzającym głowicę, nadajnik wytwarza impuls wykorzystywany do pobudzenia startu karty próbkującej.

Na podstawie oceny wizualnej, operator dokonuje takich zmian zakresu napięcia, zakresu podstawy czasu oraz opóźnienia jej startu, aby interesujący go fragment przebiegu sygnału wypełnił cały ekran oscyloskopu. Po każdej zmianie któregośkolwiek z parametrów oscyloskopu, program trans-

mituje przebieg do pamięci komputera, przedstawiając jednocześnie na monitorze obraz transmitowanego przebiegu. Przebiegi w.cz zapamiętywane są w komputerze i mogą być użyte do dalszego przetwarzania.

Każda z dwóch głowic może niezależnie pracować jako nadawcza lub odbiorcza. W czasie pracy układu mogą być rejestrowane następujące sygnały ultradźwiękowe:

1. Sygnał przechodzący przez samą wodę, używany jako sygnał odniesienia przy pomiarach tłumienia.
2. Sygnał przechodzący przez próbkę (piętę). Sygnał ten służy do obliczania zależności tłumienia od częstotliwości.
3. Sygnały odbite od lewej i prawej strony próbki (pięty). Sygnały te służą do pomiaru grubości próbki. Pozwalają również wyznaczyć położenie obszaru środkowego próbki, co jest bardzo istotne przy rejestracji sygnału rozproszonego.
4. Sygnały rozproszone wstecznie w badanej próbce przy padaniu fali ultradźwiękowej z lewej lub prawej strony próbki. Sygnał ten jest podstawą wyznaczania funkcji rozproszenia

Oprogramowanie umożliwia również automatyczną, wielokrotną rejestrację sygnału, co w połączeniu ze skanowaniem badanej próbki umożliwia zebranie danych do obrazowania parametrycznego.

3.4.3 Układy mechaniczne do pozycjonowania i skaningu.

W przedstawianych badaniach używane były trzy układy mechaniczne służące do pozycjonowania próbek w badaniach *in vitro* i głowic w badaniach *in vivo*.

Do badań *in vitro* zbudowano wannę pomiarową, wyposażoną w układ przesuwów umożliwiający pozycjonowanie próbki w osiach XYZ z minimalnym krokiem równym 0,1mm, w zakresie 50mm oraz uchwyt zapewniający obroty próbki. Wanna posiada również otwory niezbędne do montażu głowic nadawczo-odbiorczych o zmiennej średnicy.



Rys.3.4.4 Wanna pomiarowa z przetwornikami, pozycjonerem próbki, komputerem sterującym i układem nadawczo-odbiorczym

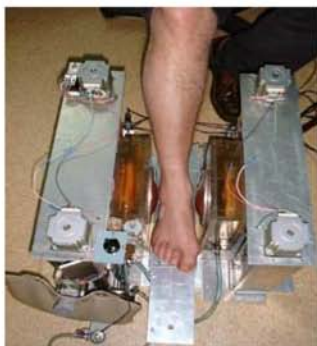
W obu systemach do pomiarów *in vivo*, pięta pacjenta umieszczana jest pomiędzy dwiema głowicami piezoelektrycznymi. Skanowanie pięty wiązką fal ultradźwiękowych wymaga dobrego sprzężenia akustycznego pomiędzy przetwornikiem a piętą. Jednocześnie, ze względów higienicznych, założeniem było nie stosowanie kąpieli wodnej. Zastosowano metodę, w której przetworniki piezoelektryczne poruszają się w zbiornikach wypełnionych wodą, oddzielonych od pięty przegrodą z cienkiej gumy silikonowej. Zwiększając ciśnienie w zbiorniku można doprowadzić do dobrego kontaktu z badaną piętą, co umożliwia transmisję energii akustycznej do badanej struktury kostnej (Litniewski i wsp., 2000).

W pierwszym systemie do pomiarów *in vivo* sygnały rejestrowane są w ściśle określonym, wstępnie wybranym obszarze pięty. Do określenia wybranego miejsca pomiaru służy wbudowany w układ wskaźnik laserowy. Układ umożliwia automatyczny najazd głowic sprzężonych ze wskaźnikiem na wybrany obszar pomiaru.



Rys.3.4.5 Układ do pomiarów *in vivo*- układ do pozycjonowania wraz ze znacznikiem laserowym.

Drugi układ pomiarowy zbudowany został w oparciu o skaner, który umożliwia za pomocą silników krokowych i sterowników firmy Escap, harmoniczny ruch głowic względem mierzonej pięty z krokiem 1 mm w zakresie 40mm x 60mm. W takt kroków skanera nadawane i odbierane są impulsy ultradźwiękowe tak, że po skończonym skaningu cały zestaw nagranych przebiegów (maksymalnie 2400) może być użyty do wyznaczania uśrednionych parametrów badanej kości pięty.



Rys.3.4.6 Skaner układu do wyznaczania uśrednionych parametrów kości beleczkowej lub do obrazowania parametrycznego – widok z góry.

Zarejestrowane przebiegi mogą również posłużyć do tworzenia obrazów parametrycznych kości piętowej (rys.3.4.7), w których jasność obrazu zależy od wybranego parametru (BUA, współczynnik rozproszenia lub SOS) obliczonego w obszarze penetracji wiązki ultradźwięków.



Rys.3.4.7 Obraz parametryczny (rozkład wartości BUA) kości piętowej otrzymany in vivo za pomocą drugiego układu pomiarowego. W środkowym obszarze kości piętowej widoczny obszar o zmniejszonej jasności – zmniejszonej wartości BUA.

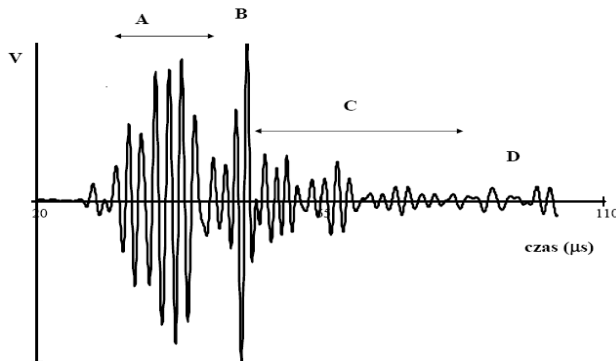
3.5 Własności statystycznych sygnałów rozproszonych w kości gąbczastej – wyniki

Pomiary doświadczalne sygnału rozproszonego w kości beleczkowej przeprowadzone zostały z użyciem płaskiej głowicy ultradźwiękowej (średnica 20mm) pracującej przy częstotliwości ok. 0,58 MHz i słabo ogniskującej głowicy (średnica 15mm, ogniskowa 86mm) pracującej przy częstotliwości 1 MHz. Celem pomiarów było poznanie własności statystycznych obwiedni sygnału rozproszonego i porównanie ich z własnościami sygnału otrzymywanego przy modelowaniu numerycznym. Jak przedstawiono to w rozdziale 3.2, objętości pomiarowe w przypadku zastosowanych głowic powinny różnić się znacznie (300mm^3 i 30mm^3), co w przypadku struktur beleczkowych o małych efektywnych gęstościach beleczek powinno prowadzić do widocznych różnic w parametrach statystycznych mierzonego sygnału.

Pomiary przy częstotliwości 0,58MHz przeprowadzone zostały na pacjentach (76 osób) Warszawskiego Centrum Osteoporozy. Badania te wymagały uzyskania zgody Komisji Etyki. Pomiary przeprowadzono za pomocą opisanego wcześniej układu nadawczo-odbiorczego i układu do pozycjonowania z wbudowanym laserowym znacznikiem położenia. Przebiegi czasowe sygnału próbkowane były z częstotliwością 20MHz i rozdzielczością 12 bit. Częstotliwość ok. 0,5 MHz jest powszechnie stosowaną częstotliwością w ultradźwiękowych densytometrach a kość piętowa jest praktycznie jedyną kością dostępną dla pomiarów transmisyjnych, wykonywanych *in vivo*. W czasie pomiaru rejestrowane były zarówno sygnały rozproszone jak i sygnały przechodzące przez piętę pacjenta. Do dalszej analizy wybrane zostały te sygnały rozproszone w kości, dla których rejestrowane w tym samym obszarze kości, sygnały przepuszczone, charakteryzowały się gładkim widmem amplitudowym, o kształcie zbliżonym do widma sygnału nadawanego (65 wyników). Niezniekształcone widmo sygnału transmitowanego świadczy o właściwym usytuowaniu głowicy względem kości piętowej. W szczególności zapewnia, że obszar penetrowany przez fale jest obszarem względnie

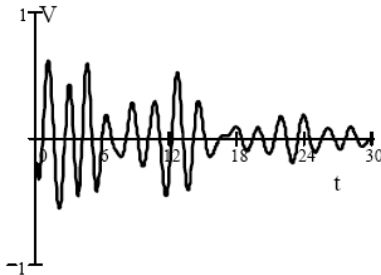
jednorodnym (w skali makro) w płaszczyźnie przekroju wiązki. Dla wszystkich pacjentów wyznaczany był jednocześnie współczynnik BUA oraz mierzona była gęstość kości gąbczastej w kości biodrowej (BMD-bone mineral density) metodą absorpcjometrii wiązek promieniowania rentgenowskiego za pomocą aparatu DEXA.

Sygnaly rozproszone poddawane były następnie przygotowaniom (opisanym w rozdziale 3.3) niezbędnym do wyznaczania ich własności statystycznych. Pierwszą z czynności był wybór obszaru sygnału pochodzącego od rozproszenia w kości gąbczastej. Sygnaly rozproszone pochodzące od różnych pacjentów traktowane były jako niezależne sygnaly z jednej struktury kości beleczkowej. Wartości współczynnika odbicia na granicach tkanki miękkiej i kości zbitiej oraz współczynnika tłumienia w tkance miękkiej są małe i w niewielkim stopniu wpływają na ilość energii wprowadzanej do struktury kości gąbczastej. Mimo to, aby zapewnić powtarzalność pomiaru własności samej kości gąbczastej, amplituda zarejestrowanych sygnałów była tak korygowana, aby otrzymać równe wartości amplitudy sygnału na wejściu w obszar kości gąbczastej.

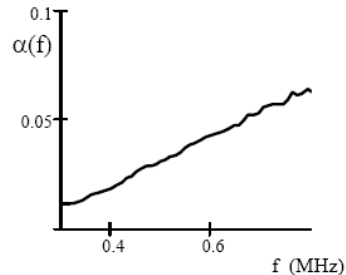


Rys.3.5.1 Sygnał rozproszony z kości piętowej, A-obszar odbicia na granicy woda-tkanka miękka i rozproszenia w tkance miękkiej, B – odbicie od kości zbitiej, C – obszar rozproszenia w strukturze kości beleczkowej, D – odbicie od kości zbitiej.

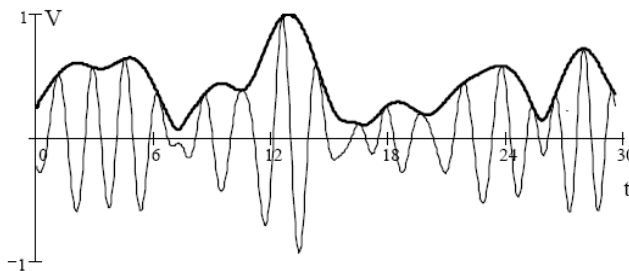
Następnie wyznaczany był współczynnik tłumienia, przeprowadzana kompensacja wpływu tłumienia i na koniec obliczana była obwiednia sygnału. Wpływ zjawiska dyfrakcji został pominięty ze względu na niewielkie różnice w prędkości propagacji fali w wodzie i w kości gąbczastej (Wear i Armstrong, 2000).



Rys. 3.5.2 Unormowany sygnał rozproszony ze struktury beczkowej



Rys.3.5.3 Zależność współczynnika tłumienia od częstotliwości (f) w obszarze kości gąbczastej

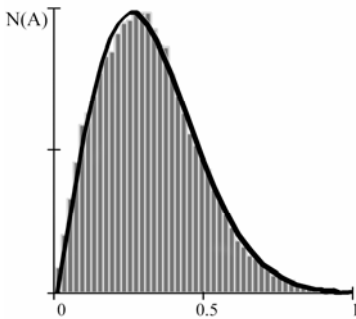


Rys.3.5.4 Sygnał rozproszony (z rys.3.5.2) po zastosowaniu kompensacji tłumienia wraz z krzywą obwiedni amplitudy.

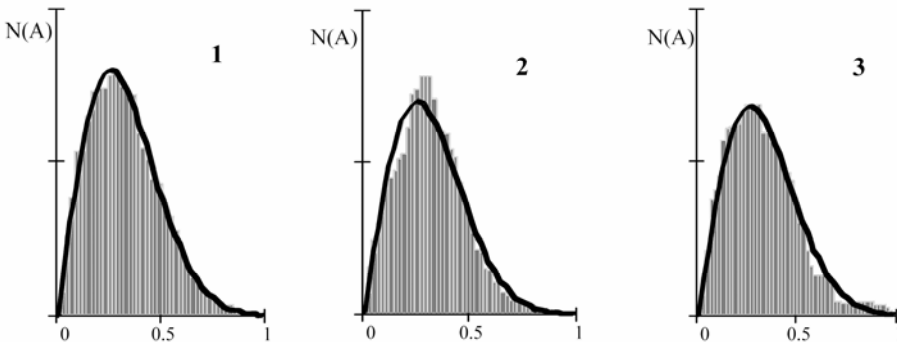
Dla wartości amplitudy z obwiedni tych sygnałów obliczany był stosunek sygnału do szumu (SNR) oraz wyznaczany histogram. Poniżej przedstawiono wyniki otrzymane dla wszystkich zmierzonych przebiegów rozproszonych oraz dla trzech wybranych grup pacjentów.

W pierwszej grupie (1 – 10 osób) znajdowali się pacjenci ze szczególnie wysokim współczynnikiem BUA i mieszczącymi się w normie

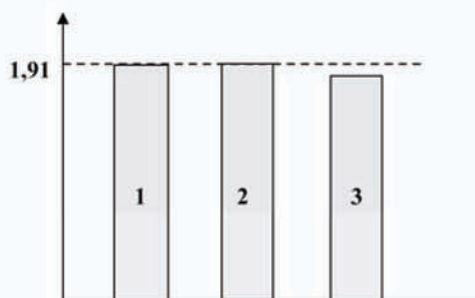
wartościami BMD. Grupę trzecia (3 – 19 osób) stanowili pacjenci, dla których zmierzony współczynnik BUA przyjmował szczególnie niską wartość i jednocześnie wartość BMD była poniżej normy dla odpowiedniej grupy wiekowej. Do drugiej grupy (2 – 36 osób) zaliczeni zostali pozostali pacjenci.



Rys.3.5.5 Histogram wartości unormowanej amplitudy sygnałów rozproszonych w kości piętowej dla wszystkich (65) pacjentów wraz z teoretyczną funkcją gęstości prawdopodobieństwa (krzywa ciągła) opisywaną krzywą Rayleigh'a. Współczynnik $SNR=1,91$. $N(A)$ – częstość występowania amplitudy o wartości A .



Rys.3.5.6 Wyniki - histogramy unormowanych wartości amplitudy i teoretyczne funkcje gęstości prawdopodobieństwa Rayleigh'a (krzywe ciągłe) - znalezione dla trzech grup pacjentów różniących się wartościami współczynnika BUA i BMD.



Rys.3.5.7 Wartości współczynnika SNR obliczonego dla opisanych powyżej trzech grup pacjentów w porównaniu do wartości $SNR=1,91$ odpowiadającej rozkładowi Rayleigh'a.

Obliczone wartości współczynnika SNR dla poszczególnych grup pacjentów (1- $SNR=1,90$, 2 – $SNR=1,89$ i 3 – $SNR=1,80$) są praktycznie równe wartości współczynnika obliczonemu dla wszystkich pacjentów a równemu 1,91. Amplituda sygnału rozproszonego w kości beleczkowej, mierzona płaskim przetwornikiem 0,58 MHz podlega więc rozkładowi Rayleigh'a. Niewielkie odchylenie wartości współczynnika SNR otrzymane dla trzeciej grupy (ok. 6%) mogą świadczyć o zmniejszonej efektywnej ilości elementów rozpraszających w objętości pomiarowej.

Pomiary przy częstotliwości 1MHz, dla których objętość pomiarowa może być znacznie mniejsza, przeprowadzono na próbkach ludzkiej kości piętowej. Ze względu na wysokie tłumienie fal ultradźwiękowych w kości gąbczastej, częstotliwości powyżej 0,5MHz nie są stosowane w transmisyjnych badaniach kości piętowej in vivo. Takie badania wymagałyby zwiększenia amplitudy nadawanego sygnału ultradźwiękowego, do wartości przekraczających ograniczenia nakładane na sygnały nadawcze w ultradźwiękach medycznych (przekroczenie wartości indeksu mechanicznego – MI, NEMA and AIUM, 1993), co mogło by być źródłem niepożądanych efektów biologicznych. Przy badaniu próbek można stosować znacznie większe amplitudy sygnały nadawczego. Praca z próbkami ma również tę zaletę w stosunku do pomiarów in vivo, że można badać dokładnie wybrane obszary samej kości gąbczastej oraz, że takie parametry jak grubość kości, prędkość fali czy współczynnik tłumienia mogą być znalezione ze

znacznie większą dokładnością niż w badaniach *in vivo*. W opisywanych pomiarach obszar pomiarowy był tak wybrany, aby zarówno ze względu na położenie przestrzenne jak i średni kierunek ułożenia beleczek, odpowiadał sytuacji w pomiarach *in vivo*. Badając próbki kości nie uwzględnia się wpływu na sygnał ultradźwiękowy tkanki szpiku wypełniającej w warunkach naturalnych przestrzenie pomiędzy beleczkami kości gąbczastej. Wydaje się, że zastąpienia szpiku wodą w próbkach kości gąbczastej ma niewielki wpływ na sygnał rozproszony ze względu na duże różnice własności mechanicznych beleczek kostnych w porównaniu zarówno z własnościami wody jak i szpiku. Wpływ szpiku jest znacznie większy przy wyznaczaniu własności tłumieniowych kości w badaniach transmisyjnych (Nicholson i Bouxsein, 2002).

Za zgodą komisji Etyczno Deontologicznej, trzy kości piętowe pobrane zostały denatom (znacznie różniących się wiekiem – 34lat, 40lat i 80lat) w zakładzie Medycyny Sądowej AM w Warszawie. W obszarze przeznaczonym do pomiarów, kości te pozbawione zostały części korowej w celu odsłonięcia struktur beleczkowych. Następnie poprzez odsysanie, usunięta została tkanka szpiku i krwi. Na koniec kości poddane zostały procesowi liofilizacji aż do całkowitego odwodnienia struktury beleczkowej. Tak przygotowane próbki mogą być przechowywane przez dłuższy czas nie zmieniając swoich własności fizycznych, jeżeli tylko po każdym badaniu zostaną dokładnie wysuszone.

Następnie wyznaczona została średnia gęstość próbek (Tab. 3.1) jako stosunek wagi kości do jej objętości. Objętość wody wypartej przez próbkę (zabezpieczoną folią przed chłonięciem wody) przyjęto za równą objętości próbki.

Każdorazowo, do badań za pomocą ultradźwięków, próbki zanurzone były w wodzie i umieszczane w próżni tak, aby przestrzenie pomiędzy beleczkami próbek napełnione zostały wodą. W obszarze przeznaczonym do pomiarów rozproszenia wyznaczone zostały uśrednione wartości (średnia z wyników zmierzonych dla 20 niezależnych położań głowicy w obszarze pomiarowym) współczynnika BUA i prędkości grupowej. Wyniki przedstawiono w Tab.3.1.

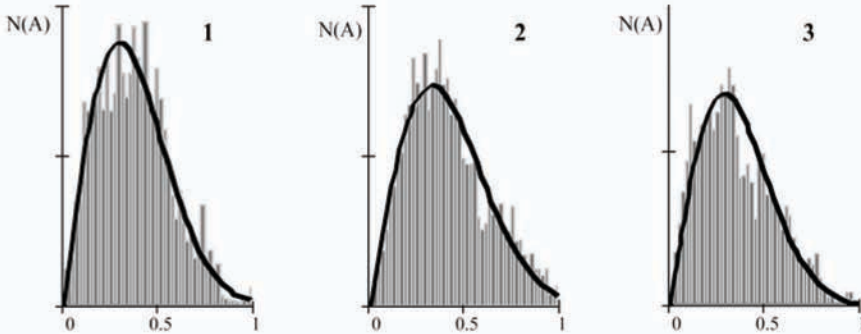
Tab.3.1

próbka	Gęstość (gcm^{-3})	BUA ($\text{MHz}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	Prędkość (ms^{-1})
1	0,58±0,08	16 ±2dB	1560±30
2	0,73±0,06	21±2dB	1560±30
3	0.55±0,06	12± 2dB	1550±30

Jak pokazują otrzymane wyniki, próbki różniły się znacznie gęstością i skorelowanym z nią współczynnikiem BUA. Przedstawione w tabeli wartości gęstości odnoszą się do całej kości. Rzeczywiste gęstości próbek w obszarze przeznaczonym do pomiarów rozproszenia są niewątpliwie znacznie niższe od przedstawionych w tabeli wartości średnich zmierzonych dla całej kości (znacznie wyższa porowatość). Mimo to można założyć, że różnice gęstości (porowatości) występujące pomiędzy próbkami dobrze charakteryzują różnice w gęstości przestrzennej beleczek lub grubości beleczek (lub obu parametrów jednocześnie). Parametr BUA mierzony był dokładnie w tym samym obszarze, w którym rejestrowano sygnały rozproszone. Różnice w wartości parametru BUA potwierdzają istnienie znacznych różnic gęstości struktur kości gąbczastej. Zmierzone, niskie wartości prędkości w obszarze pomiarowym pozwalają wnioskować, że wszystkie próbki w obszarze pomiarowym charakteryzują się względnie dużą porowatością (Hans i wsp., 1999).

Pomiar i rejestracja sygnałów rozproszonych wykonana została za pomocą układu nadawczo-odbiorczego i wanny z układem pozycjonowania opisanych w rozdziale 3.4. Mierzona próbka kości gąbczastej przesuwana była względem głowicy nadawczo-odbiorczej. Ognisko głowicy znajdowało się w środku mierzonego obszaru kości. W odstępach 2 mm rejestrowane były sygnały rozproszone (próbkiowanie 20MHz, 12bit). Zarejestrowano po 20 przebiegów dla każdej z próbek. Przebiegi rejestrowano z obu stron próbek. Sygnały rozproszone w strukturze beleczkowej próbek kości gąbczastej, przetwarzane były analogicznie do sygnałów mierzonych *in vivo*.

Sygnały z danej próbki traktowane były jako niezależne sygnały pochodzące z tej samej struktury. Parametry statystyczne, takie jak histogramy amplitudowe i wartość współczynnika SNR, obliczano dla sumarycznych wartości amplitudy przebiegów pochodzących z tej samej próbki.



Rys.3.5.8 Wyniki - histogramy wartości amplitudy i teoretyczne rozkłady Rayleigh'a gęstości prawdopodobieństwa - znalezione dla trzech próbek kości różniących się wartościami współczynnika BUA i gęstości. Numeracja próbek analogiczna do numeracji w Tab.3.1.



Rys.3.5.9 Wartości współczynnika SNR obliczonego dla opisanych powyżej trzech próbek kości piętowej w porównaniu do wartości $SNR=1,91$ odpowiadającej rozkładowi Rayleigh'a.

Obliczone wartości współczynnika SNR dla poszczególnych próbek (1-SNR=1,92, 2 - SNR=1,93 i 3 - SNR=1,70) są analogicznie jak w pomiarach in vivo. Jednocześnie są bardzo zbliżone do wartości współczynnika

SNR dla rozkładu Rayleigh'a. W przypadku próbki kości o najmniejszej wartości współczynnika BUA można zauważyć odstępstwa rozkładu statystycznego amplitudy sygnału od rozkładu Rayleigh'a (różnica 11%). Wartość wsp. BUA próbki trzeciej (12dB/cmMHz) nie jest wartością bardzo małą. Przykładowo średnia wartość tego współczynnika dla pomiarów in vivo w grupie pacjentów o szczególnie niskiej wartości BUA (grupa 3) wynosiła 7,7dB/cmMHz. Dlatego odstępstwa w rozkładach amplitudy sygnału rozproszonego w próbce nr 3 od rozkładu Rayleigh'a można tłumaczyć jako z jednej strony związane z niewielką gęstością przestrzenną beleczek, z drugiej zaś wynikające z zastosowania do pomiarów małej objętości pomiarowej.

3.6 Symulacja numeryczna sygnału rozproszonego - wyniki

3.6.1 Wstęp

Obliczenia sygnału rozproszonego w strukturze kości beleczkowej przeprowadzono korzystając z modelu kości gąbczastej i modelu oddziaływania fali ze strukturą beleczkową opisanych w rozdziale 3.2. Same obliczenia wykonywane były w środowisku Mathcad 2001i w oparciu o programy własne powstałe z wykorzystaniem gotowych procedur tego środowiska. Celem przeprowadzonych symulacji sygnału było poszukiwanie takich parametrów struktury, których zmiany powodowałyby istotne odstępstwa rozkładu obwiedni sygnały rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a. Starano się, aby dobór parametrów symulacji uwzględniał w pełni, o ile to możliwe, rzeczywiste warunki pomiarowe. Jako sygnał nadawczy zastosowano więc, nagrane w czasie pomiarów doświadczalnych rzeczywiste, emitowane przez przetwornik impulsy w.cz.. Widmo sygnału odbiorczego ograniczane było zgodnie z funkcją przenoszenia przetwornika odbiorczego. Wartości średnie i wartości odchylenia standardowego parametrów mechanicznych tkanki kostnej tworzącej beleczki jak i zakładanej grubości beleczek pochodziły z pomiarów mikroskopowych, własnych i opisywanych w publikacjach. Gęstość liniowa beleczek uwzględniała przekrój wiązki sondującej (wielkość objętości pomiarowej) i zakładaną porowatość kości.

Wartości współrzędnych opisujących położenie beleczek losowane była z rozkładu równomiernego. Założono, że wartości rozważanych parametrów mechanicznych beleczek (prędkość fali podłużnej w materiale beleczki, gęstość tkanki kostnej beleczki) podlegają rozkładowi normalnemu. Dla symulacji prowadzonych dla zmiennej grubości beleczek rozważano dwa rozkłady wartości grubości, rozkład normalny i rozkład gamma. Rozrzut wartości grubości beleczek w kości gąbczastej może być bardzo duży. Dotyczy to szczególnie przypadków kości zmienionych chorobowo. Grubość beleczki jest oczywiście wartością dodatnią i w symulacji przyjmowano ją za równą modułowi wartości wygenerowanej z danego rozkładu. Dla dużych wartości odchylenia standardowego w stosunku do wartości średniej w przypadku rozkładu normalnego, z dużym prawdopodobieństwem

losowane są wartości ujemne. Belecзки, dla których wylosowana zostaje ujemna wartość grubości są przez program zamieniane na belecзки o dodatniej grubości. W efekcie zmieniająca się w niekontrolowany sposób, wraz ze wzrostem wartości odchylenia standardowego rozkładu, grubość beleczek (zwiększająca się ilość beleczek o grubości powyżej zakładanej średniej) powodują zmianę zakładanego rozkładu, najczęściej w kierunku rozkładu o większym stosunku średniej do odchylenia standardowego. Prowadzi to do niekontrolowanych zmian statystyki symulowanego sygnału rozproszonego. Stosując rozkład Gamma generowana wartość grubości beleczuki jest zawsze dodatnia (rys.3.6.14). Rozkładem tym w prosty sposób można przybliżać rozkład K, który jest często używany do opisu statystyki rozproszenia sygnałów (Weng i wsp., 1991; Narayanan i wsp., 1994; Molthen i wsp., 1995), gdyż rozkłady takie jak rozkład Rayleigh'a, Rician'a czy też Gaussa są jego granicznymi przypadkami.

Dla każdej symulacji rozpatrywany był element struktury o długości 150mm. Dla jednej realizacji rozkładu beleczek obliczane było 1024 punkty (dla sygnału nadawczego o częstotliwości 0,58MHz) lub 2048 punktów pomiarowych (dla sygnału nadawczego 1MHz) z krokiem odpowiednio 0,2 μ s i 0,1 μ s, co odpowiadało próbkowaniu sygnału z częstotliwością 5MHz i 10MHz. Własności statystyczne sygnału wyznaczane były każdorazowo z 8 niezależnych realizacji rozkładu przestrzennego beleczek przy zachowaniu stałych własności geometrycznych i mechanicznych beleczek jako parametrów wejściowych symulacji.

Porowatość kości gąbczastej definiowana jest jako stosunek objętości zajmowanej przez przestrzenie pomiędzy tkanką kostną (beleczkami) i objętości całej struktury kości gąbczastej. Przyjmowana do obliczeń wartość porowatości struktury i rozmiary pojedynczej beleczuki ściśle wyznaczają ilość elementów rozpraszających (walców) w rozważanej objętości kości gąbczastej i pozwalają obliczyć ich przestrzenną gęstość. Przeliczając tę gęstość na gęstość liniową, co wynika z liniowego charakteru przyjętego modelu kości gąbczastej, trzeba uwzględnić przekrój sondującej wiązki ultradźwiękowej. Poniżej (tab.3.6.1) przedstawiono ilości beleczek w rozważanej objętości kości (przekrój wiązki pomnożony przez rozważany zasięg równy 150mm)

i odpowiadające im wartości porowatości struktury, przy założeniu parametrów geometrycznych beleczek odpowiadających kości zdrowej (Hausler i wsp. 1999, $d = 0,12\text{mm}$, długość = 4mm) oraz wartość średnią ilości elementów ($\langle n \rangle$) w objętości pomiarowej (dużej i małej). Występująca tu porowatość, z powodu przyjęcia w obliczeniach stałej wielkości beleczek, jest wielkością odzwierciedlającą dokładnie ilość beleczek w obszarze sondowania. Dla beleczek o innych wymiarach czy też o wymiarach opisywanych pewnym rozkładem prawdopodobieństwa, rzeczywista porowatość różni się od parametru nazywanego porowatością w przedstawianych tutaj wynikach symulacji.

Tab.3.6.1

Porowatość [%]	Głowica 0,58MHz- ilość beleczek	$\langle n \rangle$ duża objętość	Głowica 1MHz – ilość beleczek	$\langle n \rangle$ mała objętość
99,5	1500	32	330	3,2
99,0	3500	77	650	7,7
97,5	7900	170	1640	17
95,0	15800	340	3270	33
90,0	31600	680	6550	67

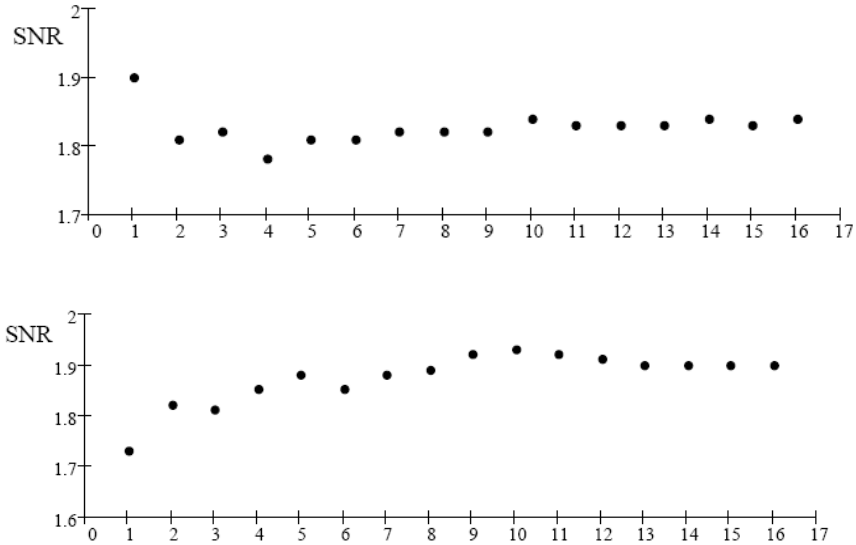
Symulacje wykonywano dla dwóch rodzajów impulsów nadawczych (częstotliwości 0,58MHz i 1MHz) odpowiadających dwóm głowicom nadawczo-odbiorczym zastosowanym w badaniach doświadczalnych. Jak oszacowano to w rozdziale 3.2, oba te przypadki różniły się znacznie (ok. 10 razy) wielkością objętości pomiarowej. Jak było do przewidzenia, odstępstwa od rozkładu Rayleigh'a były znacznie lepiej widoczne dla obwiedni rozproszenia symulowanego w przypadku mniejszej objętości pomiarowej. Dlatego też większość przedstawianych poniżej wyników symulacji wykonano dla impulsów nadawanych przez ogniskowaną głowicę 1 MHz.

Badany był wpływ trzech parametrów opisujących własności struktury kości beleczkowej. Były to:

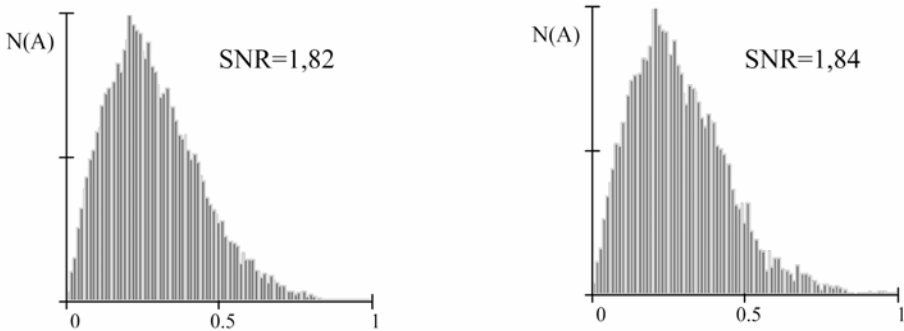
1. Przestrzenna gęstość beleczek, co w modelu liniowym przekładało się na gęstość liniową.
2. Skok wartości jednego z parametrów fizycznych beleczki takiego jak gęstość, prędkość fali podłużnej i poprzecznej oraz grubość beleczek.
3. Rozrzut wartości parametrów fizycznych beleczek opisywany wartością odchylenia standardowego od wartości średniej.

Wybór do rozważań statystycznych 8 przebiegów symulacji z obszaru o długości 150mm nie był przypadkowy. Wielkość ta wyznaczona została doświadczalnie jako kompromis pomiędzy minimalizacją czasu potrzebnego do obliczenia symulacji a ilością punktów obwiedni (długości przedziału próbkowania) zapewniających z zadaną dokładnością wyznaczanie parametrów opisujących rozkład. Poniżej, przedstawiono wyniki doświadczenia numerycznego, w którym współczynnik SNR obliczany był dla różnych ilości niezależnych przebiegów sygnału rozproszonego z obszaru ok. 200 μ s (przy prędkości fali 1540 m/s odpowiadało to odległości ok. 2x150mm) każdy, symulowanych dla takich samych parametrów wejściowych opisujących strukturę kości (przykład pierwszy - częstotliwość 1MHz, porowatość kości = 99%, grubość beleczek $d = 0,05\text{mm}$, prędkość fali podłużnej w beleczce - v opisana rozkładem Gaussa o średniej 3500m/s i odchyleniem standardowym = 500m/s, gęstość tkanki kości $\rho = 1920\text{kg/m}^3$ i przykład drugi - 1 MHz, porowatość = 81%, grubość beleczek opisana rozkładem Gamma wokół wartości średniej $d = 0,1\text{mm}$ i odchyleniu standardowym = 0,01mm, $v = 3700\text{m/s}$, $\rho = 1920\text{kg/m}^3$).

Fluktuacje wartości współczynnika SNR przy rozważaniu obszaru powyżej ośmiu przebiegów wynoszą ok. 1% wartości współczynnika (rys.3.6.1). Histogramy wartości amplitudy obliczone dla 8 i 16 przebiegów są praktycznie takie same (rys.3.6.2). W pracy przyjęto, że 5% zmiana współczynnika SNR (mierzonego z 8 przebiegów) może być uważana za istotną ze względu na opis struktury kości beleczkowej i wpływ parametrów tej struktury na sygnał rozproszony.



Rys.3.6.1 Współczynnik SNR w funkcji sumarycznej długości obszaru rozpraszania dla dwóch, bardzo różnych struktur kości beczkowej. Kolejne wartości na osi X odpowiadają ilości przebiegów użytych do wyznaczenia wartości współczynnika.



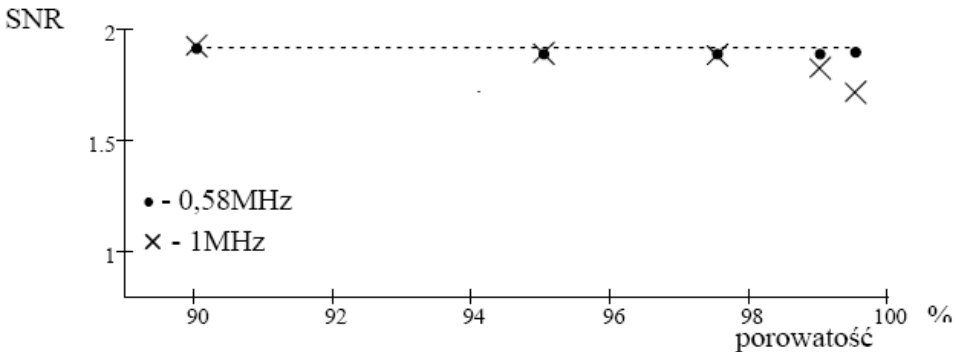
Rys.3.6.2 Histogramy amplitudy sygnału rozproszonego (przykład pierwszy) dla (po lewej) symulacji 8 przebiegów ($1600\mu s$) i (po prawej) symulacji 16 przebiegów ($3200\mu s$).

3.6.2 Wpływ ilości beleczek – porowatości struktury kości gąbczastej.

Efektywna ilość obiektów rozpraszających w objętości pomiarowej, jak omawiano to już wcześniej, wpływa w zasadniczy sposób na charakter sygnału rozproszonego. Mimo, że efektywna gęstość elementów rozpraszających może różnić się od gęstości rzeczywistej to właśnie gęstość rzeczywista tych elementów ma decydujące znaczenie przy określaniu wielkości gęstości efektywnej (wzór 3.1.9).

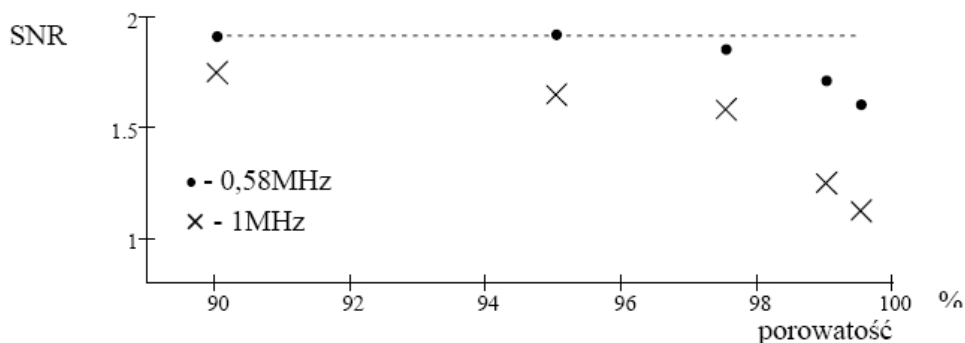
Symulacje wpływu gęstości beleczek na rozkład amplitudy sygnału rozproszonego przeprowadzono dla dwóch przypadków pozorujących pomiary doświadczalne. Porowatość kości (gęstość beleczek) zmieniana była w zakresie 90% - 99,5%. Rozpatrywane były dwie wartości średnie grubości beleczek (0,12mm – grubość normalna i 0,05mm – grubość beleczek kości o małej gęstości). Rozkłady grubości beleczek normalnych opisywane były za pomocą rozkładu Gaussa z założonym odchyleniem standardowym równym $\sigma = 0,01\text{mm}$. Dla struktur cienkich beleczek charakteryzujących się dużym rozrzutem ($\sigma = 0,05\text{mm}$) grubości, do opisu rozkładu tej grubości, stosowano rozkład Gamma. Położenie beleczek opisywane było rozkładem równomiernym. Dla symulowanych sygnałów obliczano histogram amplitudy sygnału, wartość współczynnika SNR oraz wartość średnią obwiedni sygnału - $\langle A \rangle$. Otrzymane wyniki umieszczone są w tab.3.6.2 i tab.3.6.3. Jednostką wartości średniej amplitudy sygnału jest volt (V) gdyż w symulacji jako sygnał sondujący używane były zarejestrowane wcześniej, rzeczywiste, mierzone w voltach impulsy generowane przez przetwornik.

Wyniki symulacji pokazują bardzo istotny wpływ wielkości objętości pomiarowej na rozkład statystyczny amplitudy sygnału rozpraszanego przez strukturę kości beleczkowej. W przypadku dużej objętości pomiarowej i struktury o dobrze określonej grubości beleczek wokół wartości średniej, przyjmowanej za odpowiadającą beleczkom zdrowym, porowatość struktury ma niezauważalny wpływ na wartość SNR. Stosując małą objętość pomiarową, dla analogicznej struktury kości beleczkowej, przy bardzo dużej porowatości (99%) obserwujemy gwałtowny spadek wartości SNR świadczący o zmianach statystyki sygnału rozproszonego (rys.3.6.3).



Rys.3.6.3 Zależność pomiędzy współczynnikiem SNR a porowatością struktury przy sondowaniu za pomocą dwóch różnych objętości pomiarowych. Przypadek beleczek zdrowych ($d=0,12\text{mm}$, $\sigma=0,01\text{mm}$). Krzywa kropkowana odpowiada wartości $\text{SNR}=1,91$.

Tab.3.6.2	Parametry statystyczne symulacji rozproszenia dla dużej objętości pomiarowej – 0,58MHz			
	grubość-rozkład Gaussa, $d=0,12\text{mm}$, $\sigma=0,01\text{mm}$		grubość-rozkład Gamma, $d=0,05\text{mm}$, $\sigma=0,05\text{mm}$	
Porowatość	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$ [V]	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$ [V]
99,5%	1,90	1,1	1,60	0,7
99,0%	1,89	1,4	1,71	0,9
97,5%	1,89	2,1	1,85	1,5
95,0%	1,89	2,9	1,92	1,6
90,0%	1,91	3,9	1,91	2,9



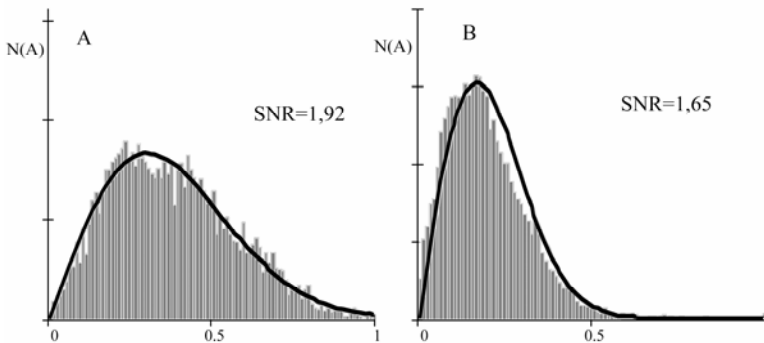
Rys.3.6.4 Zależność pomiędzy współczynnikiem SNR a porowatością struktury przy sondowaniu za pomocą dwóch różnych objętości pomiarowych. Przypadek beleczek o grubości średniej $d=0,05\text{mm}$, charakteryzujących się dużym rozrzutem grubości $\sigma=0,05\text{mm}$, opisywanym rozkładem Gamma (przybliżenie struktury kości chorej).

Tab.3.6.3	Parametry statystyczne symulacji rozproszenia dla małej objętości pomiarowej – 1MHz			
	grubość-rozkład Gaussa, $d=0,12\text{mm}$, $\sigma=0,01\text{mm}$		grubość-rozkład Gamma, $d=0,05\text{mm}$, $\sigma=0,05\text{mm}$	
Porowatość	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$ [V]	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$ [V]
99,5%	1,71	3,0	1,12	1,5
99,0%	1,82	4,2	1,25	2,2
97,5%	1,88	5,8	1,58	3,3
95,0%	1,89	7,7	1,65	4,8
90,0%	1,92	12,0	1,76	7,3

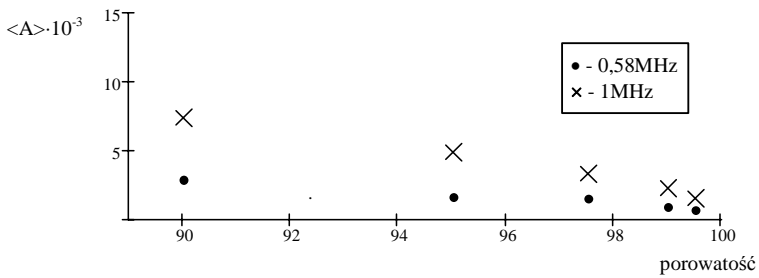
Wpływ wielkości objętości pomiarowej na odstępstwa rozkładów amplitudy sygnału rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a ($\text{SNR} \neq 1,91$) są znacznie lepiej widoczne dla przypadku struktury beleczek zbliżonej do struktury wysoce zdegradowanej kości gąbczastej (rys.3.6.4). Dla symulacji przeprowadzonej z założeniem dużej objętości pomiarowej, znaczący

spadek wartości SNR ma miejsce dopiero przy porowatości 99%, podczas gdy stosując małą objętość pomiarową spadek ten zaczyna się już przy porowatości poniżej 95%. Jednocześnie, dla tego przypadku, wartość SNR różni się znacznie od wartości odpowiadającej rozkładowi Rayleigh'a, w całym badanym zakresie porowatości. Kilku procentowe różnice w porowatości struktury, w zakresie dużych porowatości, są bardzo istotne ze względu na wartości występujące w kości gąbczastej. Przypadek, aby struktura beleczkowa zajmowała jedynie 1% objętości kości gąbczastej (porowatość 99%) praktycznie nie występuje. Z pomiarów próbek kości gąbczastej wynika, że tkanka kostna stanowi od 3% do 20% objętości kości (Kothari i wsp., 1999; Hans i wsp., 1995) przy czym w przypadku chorób kości zazwyczaj nie przekracza 10%.

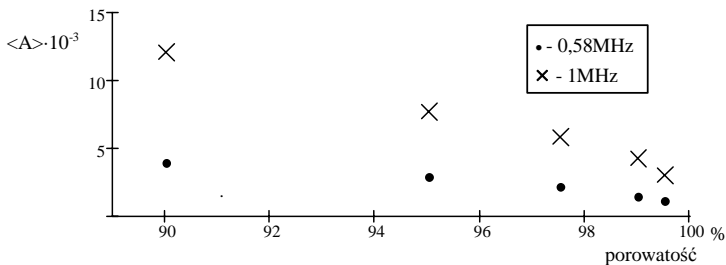
Wpływ ilości beleczek (mierzony porowatością struktury) i wpływ sposobu pomiaru (mała i duża objętość pomiarowa) na rozkład amplitudy sygnału rozproszonego jest dobrze widoczny na histogramach wartości amplitudy symulowanego rozproszenia (rys.3.6.5).



Rys.3.6.5 Histogramy unormowanej amplitudy symulacji sygnału rozproszonego obliczanej dla różnej objętości pomiarowej (A-dużej, B-małej). Przypadek cienkich beleczek o dużym rozrzucie grubości. Linia ciągła odpowiada rozkładowi Rayleigh'a dla parametrów rozkładu znalezionych z symulacji. Symulacja dla porowatości równej 95%.



Rys.3.6.6 Zależność średniej wartości amplitudy od porowatości struktury przy sondowaniu za pomocą dwóch różnych objętości pomiarowych. Przypadek beleczek zdrowych ($d=0,12\text{mm}$, $\sigma=0,01\text{mm}$).



Rys.3.6.7 Zależność średniej wartości amplitudy od porowatości struktury przy sondowaniu za pomocą dwóch różnych objętości pomiarowych. Przybliżenie struktury kości chorej, analogicznie do rys.3.6.4.

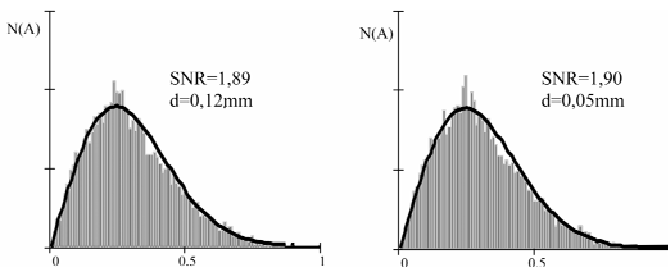
Zmianom porowatości towarzyszą też zmiany średniej wartości amplitudy (obwiedni) sygnału (rys.3.6.6 i 3.6.7). Charakterystyczny jest wzrost średniej dla częstotliwości 1MHz, co ściśle łączy się ze wzrostem współczynnika rozproszenia wraz ze wzrostem częstotliwości w zakresie $kd \ll 1$ (wzór 3.2.1). Zależność taka obserwowana była przy doświadczalnym wyznaczaniu współczynnika rozproszenia dla próbek kości gąbczastej o różnej gęstości (Wear, 1999). W badaniach *in vivo* na wielkość amplitudy sygnału rozproszonego ma poważny wpływ wiele czynników dodatkowych, takich jak tłumienie w tkance miękkiej, w kości zbitej i w kości gąbczastej oraz straty na granicach tkanek. Dlatego też sama amplituda sygnału rozproszonego nie może być wykorzystana do oceny porowatości kości gąbczastej *in vivo*.

3.6.3 Badanie „wrażliwości” statystycznej rozproszonych sygnałów

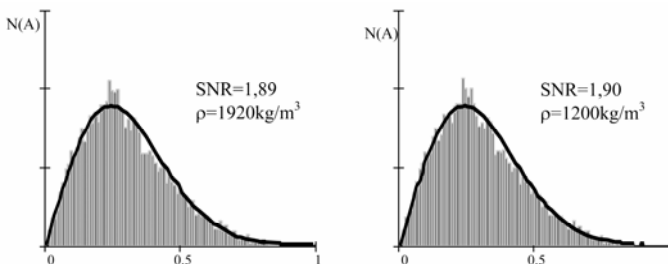
Druga część symulacji przeprowadzona była w celu określenia wpływu wartości własności mechanicznych tkanki kostnej tworzącej beleczki i grubości beleczek na własności statystyczne rozproszonych sygnałów. Sygnały rozproszone w kości beleczkowej obliczane były dla krańcowych wartości gęstości tkanki beleczki ($\rho=1920\text{kg/m}^3$ i $\rho=1200\text{kg/m}^3$), prędkości fali podłużnej ($v=3200\text{m/s}$ i $v=3800\text{m/s}$) oraz dla dwóch średnich grubości beleczek ($d=0,12\text{mm}$ i $d=0,05\text{mm}$) o takim samym Gaussowskim rozkładzie wartości charakteryzującym się wysokim stosunkiem średniej do odchylenia standardowego ($\text{SNR}=12$). Zmiana prędkości fali podłużnej pociągała za sobą zmianę prędkości fali poprzecznej. Dla każdej symulacji zmieniano tylko jeden parametr. Pozostałe parametry przyjmowano za równe parametrom tkanki zdrowej. Symulacje przeprowadzono dla przypadku małej objętości pomiarowej (1MHz). Porowatość kości zmieniana była w zakresie 97,5% - 95%. Zastosowano dwie metody badania wpływu zmiany parametrów beleczek. W pierwszej, symulacja sygnału rozproszonego obliczana była przy zachowaniu przestrzennego rozkładu beleczek. W drugiej, wraz ze zmianą własności beleczek zmieniano również ich rozkład przestrzenny. Poniżej, w tabeli przedstawiono wyniki obliczonych wartości SNR i średniej ($\langle A \rangle$) dla amplitudy sygnału rozproszonego dla dwóch wartości porowatości i zmiennych parametrów beleczek tworzących strukturę kości gąbczastej. Symulację przeprowadzono dla takiego samego rozkładu położenia beleczek.

Otrzymane wyniki (tab.3.6.4) pokazują, że własności materiałowe tkanki kostnej, z której wykonane są beleczki kości gąbczastej, nie mają praktycznie wpływu na własności statystyczne rozproszonego sygnału. Również zmiana średniej grubości beleczek nie zmienia charakteru rozproszenia fali. Brak wpływu zmiany wartości gęstości beleczki, prędkości fali w beleczce czy też grubości beleczki na rozkład statystyczny opisujący wartości amplitudy widoczna jest również dla histogramów amplitudy rozproszenia (rys.3.6.8). Zjawisko to nie zależy od stopnia porowatości kości.

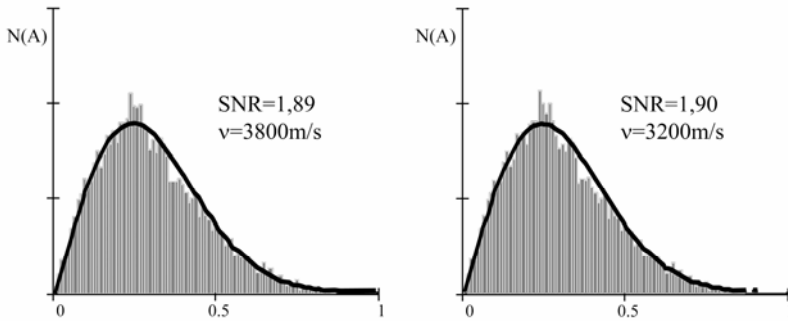
Tab.3.6.4	Porowatość 97,5%		Porowatość 95%	
	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$ [V]	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$ [V]
D=0,12mm	1,89	5,9	1,89	7,7
D=0,05mm	1,90	1,2	1,90	1,7
$\rho=1920\text{kg/m}^3$	1,89	5,9	1,89	7,7
$\rho=1200\text{kg/m}^3$	1,90	5,3	1,90	7,1
$v=3800\text{m/s}$	1,89	5,9	1,89	7,7
$v=3200\text{m/s}$	1,90	5,2	1,90	7,1



Rys.3.6.8 Histogramy normowanej amplitudy symulacji sygnału rozproszonego dla dwóch znacznie różniących się wartości średnich grubości beleczek. Linia ciągła odpowiada rozkładowi Rayleigh'a dla parametrów rozkładu znalezionych z symulacji. Symulacja dla porowatości równej 95%.



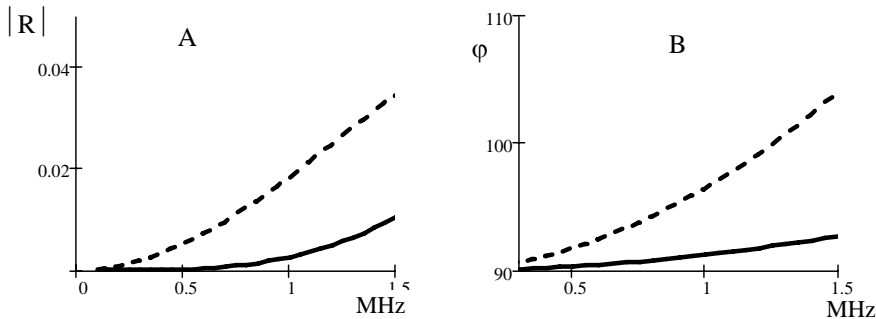
Rys.3.6.9 Histogramy symulacji otrzymanych analogicznie do rys.3.6.8, ale dla dwóch krańcowych wartości gęstości tkanki kostnej tworzącej beleczki. Porowatość 97,5%.



Rys.3.6.10 Histogramy amplitudy sygnału rozproszonego dla tej samej struktury kości beleczkowej, ale znacznie różnicach się własnościami (prędkości fali podłużnej i poprzecznej) materiału, z którego zbudowane są beleczki. Porowatość 97,5%.

Porównując przebiegi czasowe sygnału rozproszonego dla różnych wartości parametru opisującego własności beleczki, ale dla takiego samego przestrzennego położenia beleczek stwierdzono, że przebiegi te są praktycznie identyczne i różnią się tylko amplitudą sygnału. Wynika to bezpośrednio z własności współczynnika rozproszenia na beleczce, którego faza prawie nie zależy od własności beleczki. Przykładowo (rys.3.6.11), przy skoku grubości z 0,05mm do 0,12mm zmiana fazy współczynnika rozproszenia dla częstotliwości 1MHz wynosi tylko 5° . Analogiczne zmiany fazy przy zmianach wartości gęstości i prędkości są jeszcze mniejsze. Współczynnik SNR jest niezależny od wzmocnienia sygnału. Tłumaczy to występowanie takich samych wartości (różnice poniżej 0,5%) tego współczynnika w przedstawionych powyżej wynikach symulacji.

Spadkowi średniej grubości beleczek towarzyszy duży spadek średniej amplitudy rozproszonego sygnału. Związane jest to z silną zależnością współczynnika rozproszenia na walcu od średnicy walca (rys.3.6.11). Wynik ten jest zgodny z przewidywaniami teoretycznymi i wynikami doświadczalnymi otrzymanymi przez Wear'a (2003) w pracy poświęconej badaniom współczynnika rozproszenia w kości gąbczastej przy częstotliwości 0,5MHz.



Rys.3.6.11 Współczynnik rozproszenia na beleczce w funkcji częstotliwości dla dwóch grubości beleczki, 0,05mm – krzywa ciągła i 0,12mm – krzywa przerywana. A/ amplituda- $|R|$ (jednostki względne) i B/ faza- φ (w stopniach)

W drugiej części symulacji zmianom parametrów beleczki (grubości, prędkości fali czy też gęstości tkanki beleczki) towarzyszyły zmiany rozkładu przestrzennego beleczek. Dla każdego zestawu parametrów przedstawionego w tab.3.6.4, dla porowatości kości równej 97,5%, symulowano sygnał rozproszony i obliczano współczynnik SNR dla pięciu niezależnych, równomiernych rozkładów położenia beleczek. Przypadek względnie dużej porowatości wybrany został z dwóch powodów. Po pierwsze odpowiadał on porowatości kości gąbczastej występującej w przypadkach zaawansowanych chorób kości. Po drugie, z powodu małej średniej ilości elementów rozpraszających w objętości pomiarowej, ewentualny wpływ parametrów beleczek na efektywną ilość elementów rozpraszających a co za tym idzie na zmiany charakteru rozproszenia sygnału, powinien być najlepiej widoczny.

W tabeli (tab.3.6.5) przedstawiono wartości średnie współczynnika SNR obliczone dla pięciu realizacji rozkładu przestrzennego beleczek dla czterech grup parametrów beleczek:

grupy 1 - odpowiadającej kości zdrowej ($d=0,12\text{mm}$, $\sigma=0,01\text{mm}$,
 $\rho=1920\text{kg/m}^3$ i $v=3800\text{m/s}$)

grupy 2 - o zmienionej grubości beleczek ($d=0,05\text{mm}$, $\sigma=0,00417\text{mm}$), ale analogicznym, małym rozrzucie grubości

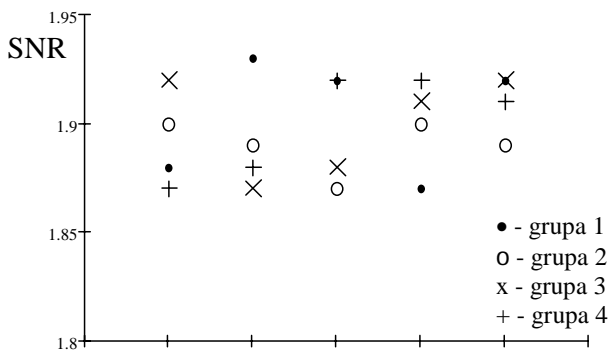
grupy 3 - o mniejszej prędkości fali podłużnej (i poprzecznej) w tkance beleczki ($v=3200\text{m/s}$)

grupy 4 - o mniejszej gęstości tkanki beleczki ($\rho=1200\text{kg/m}^3$)

Tab.3.6.5

Numer grupy	$\langle\text{SNR}\rangle$
1	1,90
2	1,89
3	1,90
4	1,90

Poniżej przedstawiono wszystkie obliczone wartości współczynnika SNR otrzymane w kolejnych, różnych realizacjach rozkładu przestrzennego beleczek dla czterech grup parametrów.



Rys.3.6.12 Rozrzut wartości wsp. SNR dla kolejnych, niezależnych realizacji rozkładu położenia beleczek i wartości parametrów opisujących beleczki. Położenia punktów na osi X zostały tak dobrane, aby o ile to było możliwe, punkty nie pokrywały się.

Zarówno wartości średnie jak i wielkość rozrzutu wartości wokół średniej (mniej niż $\pm 1,5\%$) pokazują, że nawet przy maksymalnym skoku wartości parametrów beleczek, własności statystyczne amplitudy sygnału rozproszonego nie zmieniają się.

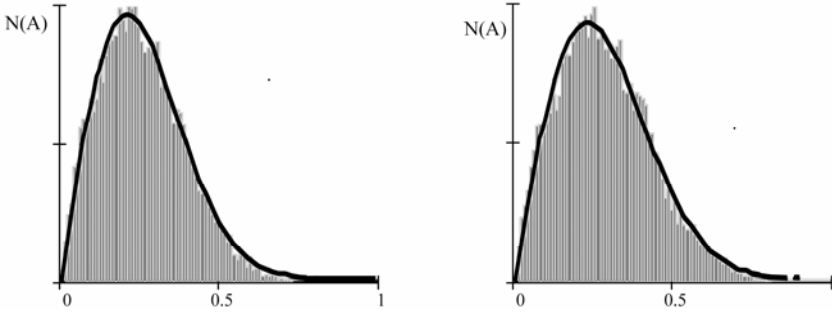
3.6.4 Rozrzut wartości opisujących parametry beleczki

W trzeciej części symulacji badano wpływ rozrzutu wartości opisujących beleczkę na rozproszenie fali ultradźwiękowej i w efekcie na własności statystyczne amplitudy tego sygnału. Pomiarzy za pomocą mikroskopu akustycznego pozwoliły na oszacowanie rozrzutu wartości gęstości i prędkości fali podłużnej w tkance ludzkiej kości beleczkowej dla różnych schorzeń układu kostnego. Do symulacji założono, że zmienność gęstości można opisać rozkładem Gaussa wokół wartości średniej równej 1500 kg/m^3 i maksymalnym odchyleniem standardowym σ równym 400 kg/m^3 . Rozrzut wartości prędkości fali podłużnej (v) w beleczce opisywany był również krzywą Gaussa o wartości średniej 3500 m/s i maksymalnym odchyleniu standardowym $\sigma=500 \text{ m/s}$. Wartość prędkości fali poprzecznej przyjmowana była zawsze jako równa $0,53 \cdot v$, co wynikało z przyjętej wartości współczynnika Poissona dla tkanki kostnej równej $0,3$. Jako wartości standardowe (o małym odchyleniu standardowym) odchylenia przyjęto $\sigma=100 \text{ kg/m}^3$ dla gęstości i $\sigma = 100 \text{ m/s}$ dla prędkości. Grubość beleczek była stała i równa $0,05 \text{ mm}$. Symulację przeprowadzono dla porowatości $97,5\%$ i 99% .

Tab.3.6.6

	porowatość 99%	porowatość 97,5%
$\langle \rho \rangle = 1500 \text{ kg/m}^3$		$v=3800 \text{ m/s}$
SNR ($\sigma = 100 \text{ kg/m}^3$)	1,87	1,90
SNR ($\sigma = 400 \text{ kg/m}^3$)	1,87	1,89
$\langle v \rangle = 3500 \text{ m/s}$		$\rho = 1920 \text{ kg/m}^3$
SNR ($\sigma = 100 \text{ m/s}$)	1,87	1,89
SNR ($\sigma = 500 \text{ m/s}$)	1,85	1,91

Umieszczone w Tab.3.6.6 wartości współczynnika SNR wyraźnie pokazują, że rozrzut wartości prędkości i gęstości w materiale beleczek nie ma praktycznie wpływu na własności statystyczne sygnału rozproszonego.

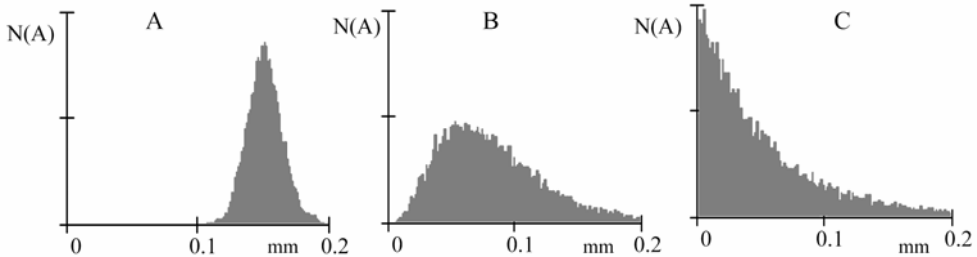


Rys.3.6.13 Przykład histogramów unormowanej amplitudy symulacji sygnału rozproszonego dla dwóch struktur znacznie różniących się rozrzutem prędkości w materiale beleczek. Linia ciągła odpowiada rozkładowi Rayleigh'a dla parametrów rozkładu znalezionych z symulacji. Symulacja dla porowatości równej 97,5%.

Wielkość rozrzutu grubości beleczek w strukturze symulowanej kości była trzecim parametrem, którego wpływ na charakter rozproszenia fali ultradźwiękowej badany był za pomocą opisanej metody symulacji. Na grubość beleczek kości gąbczastej ma wpływ wiele czynników. Zależy ona między innymi od wielkości anatomicznej kości, od jej wieku, charakteru i wielkości przenoszonych obciążeń oraz od chorób metabolicznych kości. Te ostatnie mają również istotny wpływ na rozrzut grubości beleczek w danym obszarze struktury beleczkowej. Na obrazach z mikroskopu akustycznego czy też obrazach optycznych próbek kości gąbczastej pobranych od chorych na osteoporozę widoczne są zarówno beleczki o grubościach odpowiadających beleczkom kości zdrowej jak i zanikające beleczki o grubościach znacznie mniejszych (rys.3.6.15). Dlatego też, w przeprowadzonych symulacjach uwzględnione zostały duże wartości odchylenia standardowego w rozkładach grubości beleczki przyjęto, że wartości grubości opisywane są rozkładem Gamma. W rozkładzie Gamma prawdopodobieństwo wystąpienia grubości $d \leq 0$ wynosi 0. Dla grubości $d > 0$ funkcja gęstości prawdopodobieństwa opisana jest następującym wyrażeniem

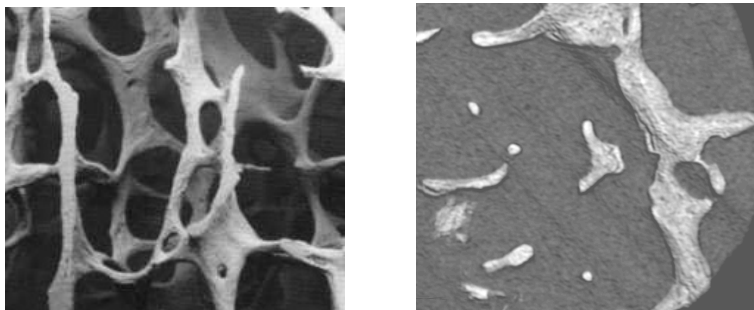
$$p(d) = \frac{d^{u-1} \cdot \exp(-d)}{\Gamma(u)} \quad (3.6.1)$$

gdzie średnia wartość d ($\langle d \rangle$) jest równa u .



Rys.3.6.14 Histogramy trzech rozkładów Gamma opisujących rozkład grubości beleczek w kości gąbczastej. Kolejno: rozkład o średniej 0,15 i odchyleniu standardowym 0,01, następnie rozkład o średniej = 0,08 i odchyleniu standardowym = 0,04 oraz ostatni dla średniej = 0,05 i o odchyleniu standardowym = 0,05.

Wraz z postępowaniem osteoporozy, w wyniku zaburzenia procesu przebudowy beleczek, grubość beleczek maleje aż do całkowitego ich zaniku. Zaburzenie procesu odbudowy przebiega z różną prędkością dla różnych beleczek. W efekcie maleje średnia grubość beleczek, ale jednocześnie bardzo rośnie rozrzut ich grubości. Wydaje się, że rozkład Gamma dobrze przybliża rozkład grubości beleczek kości gąbczastej występujący w przypadku chorób kości. Na rys.3.6.14 przedstawiono histogramy grubości beleczek symulujące różny stopień degradacji grubości. Histogram A symuluje rozkład dla kości zdrowej, dla której wartości grubości są dobrze określone wokół wartości średniej. Histogram C przedstawia rozkład grubości dla kości bardzo zniszczonej procesem chorobowym, gdzie cały szereg beleczek osiąga grubości bliskie zero. Histogram B przedstawia sytuację przejściową pomiędzy A i C.



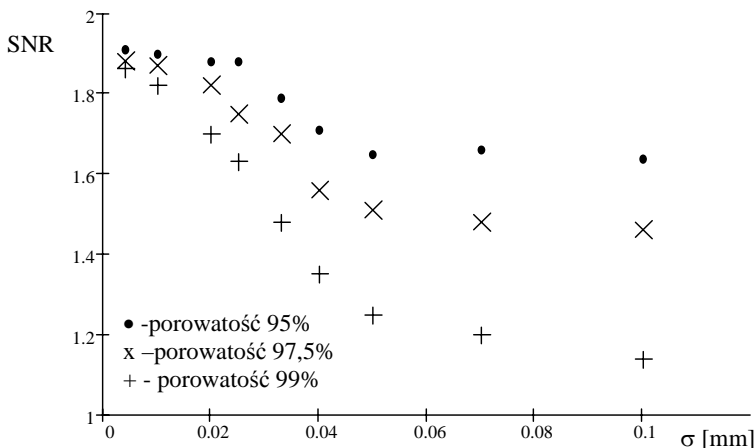
Rys.3.6.15 Obraz optyczny struktury kości beczkowej ze zmianami osteoporotycznymi w postaci zanikających beczek (obrazek lewy) i obraz z mikroskopu akustycznego próbki kości gąbczastej z bardzo zaawansowaną osteoporozą (obrazek prawy).

Symulacje przeprowadzono dla trzech wartości porowatości kości różnych 99%, 97,5% i 95%. Założono, że sondowanie odbywa się za pomocą głowicy 1MHz. Przyjęto, że parametry beczek takie jak gęstość, prędkość fali podłużnej i poprzecznej odpowiadają parametrom kości zdrowej i wynoszą odpowiednio 1900kg/m^3 , 3800m/s i 2000m/s . Przyjęto również, że średnia grubość beczek wynosi $0,05\text{mm}$. Wielkością zmienną, dla której obliczano parametry statystyczne rozproszenia była wartość odchylenia standardowego (σ) charakteryzująca odchylenie grubości od wartości średniej. Poniżej, w tabeli przedstawiono wyniki obliczonych wartości współczynnika SNR i wartości średniej - $\langle A \rangle$ dla amplitudy symulowanych przebiegów sygnału rozproszonego.

Dla wszystkich rozważanych przypadków porowatości widać wyraźny wpływ rozrzutu wartości grubości beczek na własności statystyczne amplitudy rozproszonego sygnału (rys.3.6.16). Spadek wartości współczynnika SNR jest z początku nieznaczny (dla małych wartości odchylenia standardowego grubości $\sigma = 0,004\text{mm}$ - $0,01\text{mm}$). Małym rozrzutem grubości beczek charakteryzują się kości zdrowe. Procesy degradacji beczek związane z chorobami metabolicznymi kości prowadzą do wzrostu rozrzutu grubości beczek. Wraz ze wzrostem rozrzutu grubości maleje gwałtownie wartość współczynnika SNR (rys.3.6.16). Zjawisko to dotyczy charakterystycznego dla wszystkich porowatości zakresu zmian odchylenia standardowego w granicach $\sigma = 0,02\text{mm}$ -

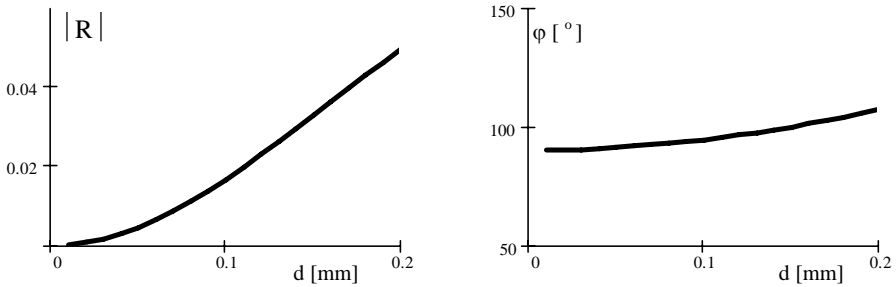
0,05mm, co przy założonej grubości średniej beleczek równej 0,05mm z dobrym przybliżeniem opisują rozkłady grubości beleczek w chorej kości.

Tab.3.6.7 Odchylenie standardowe [mm]	Porowatość 99%		Porowatość 97,5%		Porowatość 95%	
	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$	SNR	$\langle A \rangle \cdot 10^{-3}$
$\sigma=0,004$	1,86	0,86	1,88	1,23	1,91	1,72
$\sigma=0,010$	1,82	0,90	1,87	1,36	1,90	1,84
$\sigma=0,020$	1,70	1,05	1,82	1,54	1,88	2,37
$\sigma=0,025$	1,63	1,32	1,75	1,83	1,88	2,73
$\sigma=0,033$	1,48	1,53	1,70	2,37	1,79	3,40
$\sigma=0,040$	1,35	1,78	1,56	2,74	1,71	4,08
$\sigma=0,050$	1,25	2,24	1,51	3,30	1,65	4,95
$\sigma=0,070$	1,20	3,13	1,48	4,85	1,66	7,41
$\sigma=0,100$	1,14	4,38	1,46	6,43	1,64	9,25



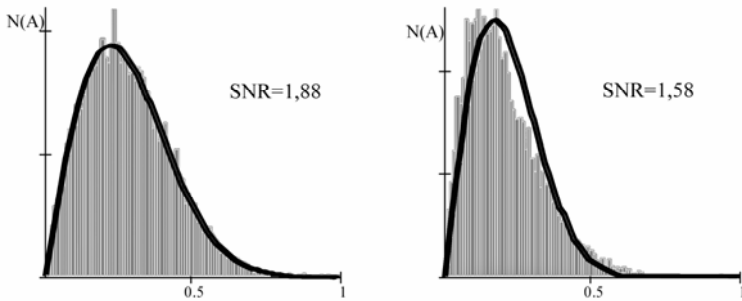
Rys.3.6.16 Wartości współczynnika SNR dla obwiedni sygnałów rozproszonych na strukturze beleczek, których grubość opisana jest rozkładem Gamma o średniej 0,05mm, dla zmiennej wartości odchylenia standardowego.

Zmiana grubości beleczki powodują zmianę amplitudy współczynnika rozproszenia (rys.3.6.17). Rozrzut grubości beleczek jest równoważny rozrzutowi wartości współczynnika rozproszenia.



Rys.3.6.17 Zależność amplitudy ($|R|$) i fazy (φ) współczynnika rozproszenia na walcu od grubości walca (d). Symulacja przy częstotliwości 1MHz.

Czym bardziej przypadkowa staje się wartość współczynnika rozproszenia tym bardziej maleje efektywna ilość elementów rozpraszających w objętości pomiarowej. Prowadzi to do odstępstw rozkładu amplitudy sygnału rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a, co widoczne jest na rys.3.6.18.



Rys.3.6.18 Histogramy unormowanych wartości amplitudy fali rozproszonej na strukturze beleczkowej o porowatości 97,5% i o wartościach grubości beleczek opisywanych rozkładem Gamma o średniej 0,05mm i odchyleniu standardowym odpowiednio 0,004mm (A) i 0,05mm (B). Linia ciągła odpowiada rozkładowi Rayleigh'a dla parametrów rozkładu znalezionych z symulacji.

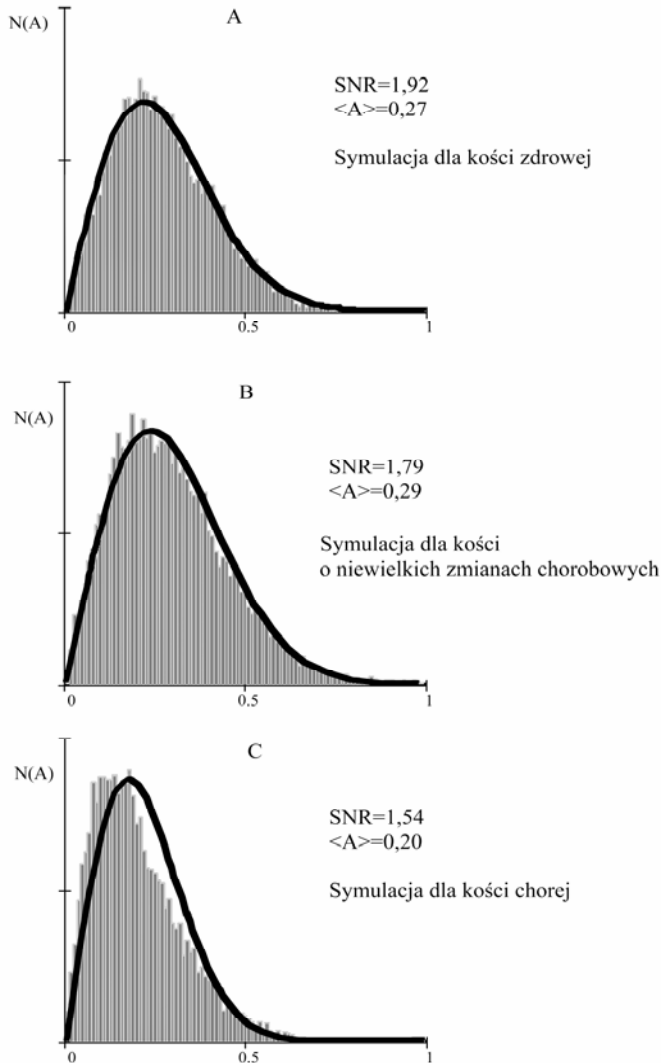
Gwałtowny wzrost wartości średniej wraz ze wzrostem rozrzutu grubości beleczek wynika z przyjętego założenia o stałości średniej grubości i niesymetrycznym rozkładzie prawdopodobieństwa. Wraz ze wzrostem rozrzutu (wzrost σ) rośnie ilość beleczek o grubości znacznie przekraczających średnią (rys.3.6.14). Ciśnienie fali rozproszonej w zakresie niskich częstotliwości ($kd \ll 1$) zależy praktycznie od kwadratu grubości beleczki (rys.3.6.17). Prowadzi to do zwiększenia średniego współczynnika rozpraszania i w efekcie do zwiększenia średniej amplitudy sygnału rozproszonego.

W symulacji przyjęto założenie o stałej średniej grubości, aby ograniczyć wpływ parametrów struktury jedynie do rozrzutu grubości. W kości gąbczastej proces degradacji beleczek, związany z osteoporozą, odbywa się jedynie w kierunku mniejszych wartości grubości, co powoduje, że wraz ze wzrostem rozrzutu grubości maleje również średnia grubość. Doświadczalnie można się spodziewać spadku amplitudy sygnału rozproszonego wraz z maleniem średniej grubości beleczek. Potwierdzają to pomiary sygnału rozproszonego na próbkach kości gąbczastej prowadzone w celu znajdowania własności statystycznych rozproszenia jak i wyniki pomiarów współczynnika rozproszenia (Wear, 1999).

Jako ostatnie przeprowadzone zostały symulacje sygnału rozproszonego dla trzech przypadków struktury kości beleczkowej (rys.3.6.14) odpowiadających przypadkom kości zdrowej (A), kości w fazie środkowej zaniku beleczek (B) i kości bardzo zniszczonej chorobą (C). Histogramy wartości amplitudy sygnału rozproszonego i obliczone rozkłady Rayleigh'a dla tych przypadków przedstawiono na rys.3.6.19.

Struktura kości beleczkowej w przypadku modelowania kości zdrowej (A) charakteryzowała się względnie dużą gęstością (95%), grubymi beleczkami ($\langle d \rangle = 0,15\text{mm}$) i małym rozrzutem ich grubości ($\sigma=0,01\text{mm}$). Dodatkowo gęstość tkanki kostnej tworzącej beleczki była duża ($\rho=1920\text{kg/m}^3$) tak jak i założona prędkość propagującej się w niej fali podłużnej ($v=3900\text{m/s}$). Amplituda symulowanego sygnału

rozproszonego na takiej strukturze podlega rozkładowi Rayleigh'a (rys.3.6.19A). Takie same własności statystyczne posiadały sygnały mierzone in vivo na grupie pacjentów zdrowych (rys.3.5.6).



Rys.3.6.19 Histogramy amplitudy sygnałów rozproszonych w trzech symulowanych strukturach kości beczkowej o różnym stopniu degradacji opisanym rozkładami grubości beczek na rys.3.6.14. Linia ciągła – rozkład Rayleigh'a dla parametrów znalezionych z symulacji.

Początkowy okres choroby kości gąbczastej symulowany był przez wzrost porowatości (96%), spadek średniej grubości beleczek ($\langle d \rangle = 0,08\text{mm}$) i wzrost jej rozrzutu ($\sigma = 0,04\text{mm}$). Własności tkanki kostnej tworzącej beleczki pozostały niezmienione gdyż jak wynika z pomiarów mikroskopowych w procesie osteoporozy nie ulegają one znacznym zmianom. W symulacjach sygnału rozproszonego na takiej strukturze można zauważyć niewielkie odstępstwa w rozkładach jego amplitudy od rozkładu Rayleigh'a (rys.3.6.19B). Takie niewielkie (5%-10%) zmiany wartości SNR obserwowane były doświadczalnie dla grupy pacjentów chorych, przy stosowaniu dużej objętości pomiarowej (przetwornik - 0,58MHz) i próbki kości piętowej nr.3 (najmniejsza gęstość, najmniejszy wsp. BUA), przy użyciu głowicy 1MHz (mała objętość pomiarowa). Dalszy postęp choroby symulowany był przez wzrost porowatości kości (97%), dalszy spadek średniej grubości beleczek ($\langle d \rangle = 0,05\text{mm}$) i dalszy wzrost rozrzutu grubości ($\sigma = 0,05\text{mm}$). Dla takiej struktury, symulującej kość chorą, widoczne są wyraźne odstępstwa w rozkładach amplitudy sygnału rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a (rys.3.6.19C).

W przypadku, gdy wraz ze wzrostem odchylenia standardowego maleje średnia grubość beleczek i rośnie porowatość kości gąbczastej, zmiany wartości średniej obwiedni sygnału rozproszonego są niejednoznaczne i nie wnoszą informacji o stanie struktury kości.

Symulowanym zmianom struktury towarzyszą istotne zmiany SNR liczonego dla obwiedni sygnału rozproszonego. Zmiany te związane są głównie z rozrzutem wartości grubości beleczek i ze zmianami porowatości kości, wynikającymi raczej z mniejszej gęstości przestrzennej beleczek niż ze zmian ich średniej grubości czy też zmian gęstości tkanki kostnej.

4. Dyskusja i wnioski

Mikroanaliza kości beleczkowej z zastosowaniem metod mikroskopii akustycznej pokazała, że metody te umożliwiają wyznaczanie własności materiałowych bardzo małych obiektów i doskonale nadają się do pomiarów parametrów pojedynczych beleczek.

Przeprowadzona analiza powstawania obrazu w mikroskopie akustycznym i analiza wpływu na jasność tego obrazu takich własności próbki jak wartość impedancji, prędkość podłużnej fali powierzchniowej oraz tłumienie fali podłużnej w próbce, pozwoliły na przeprowadzenie jakościowej i ilościowej interpretacji akustycznych obrazów kości beleczkowej.

Badania wykonywane były z użyciem skanującego mikroskopu akustycznego pracującego przy częstotliwości 100MHz. Mikroskop ten zbudowano zakładając, że przyrząd ma służyć zarówno do obrazowania jak i do pomiarów własności mechanicznych materiałów.

Mierzona była impedancja tkanki kostnej belecзки i prędkość propagującej się w niej fali podłużnej a następnie wyznaczano gęstość i współczynnik elastyczności tkanki kostnej, definiowany jako iloczyn gęstości i kwadratu prędkości fali podłużnej.

Przeprowadzone pomiary prędkości propagacji fali w tkance kostnej beleczek i pomiary gęstości tej tkanki, pozwoliły na oszacowanie wartości średnich i zakresów zmienności tych parametrów. Było to podstawowym celem badań mikroskopowych. Znalezione wartości prędkości fali i gęstości tkanki oraz zakresy rozrzutu wartości tych parametrów, użyte zostały następnie w badaniach sygnału rozproszonego do opisu własności elastycznych elementów struktury symulowanej kości gąbczastej.

Stosując do obrazowania soczewkę o małej aperturze przedstawiono metodę transformacji obrazu w obraz parametryczny, opisujący rozkład impedancji czy też rozkład współczynnika tłumienia w badanej próbce.

Zastosowanie klasycznej techniki pomiaru prędkości za pomocą mikroskopu akustycznego (techniki $V(z)$) nie było możliwe z powodu małych wymiarów beleczek.

Ograniczenia tradycyjnej techniki krzywych $V(z)$ do pracy z małymi próbkami rozwiązane zostały przez zastosowanie nowej metody pomiarowej, w której korzysta się ze związku pomiędzy prędkością podłużnej fali powierzchniowej i odległością pomiędzy ogniskiem a położeniem pierwszego minimum czy też maksimum krzywej pomiarowej. Metoda została zweryfikowana poprzez porównanie otrzymywanych nią wyników z wynikami pomiarów wykonanych metodą tradycyjną. Jednocześnie przeprowadzono bardzo dokładne pomiary fal składowych tworzących krzywą pomiarową ($V(z)$). Wyniki pozwoliły na określenie roli podłużnej fali bocznej w tworzeniu tej krzywej dla tkanki kostnej, która jak to pokazano, jest analogiczna do roli powierzchniowej fali Rayleigh'a dla innych, bardziej sprężystych materiałów.

Zastosowanie obu technik pomiarowych, techniki obrazowania parametrycznego impedancji i techniki pomiaru prędkości podłużnej fali bocznej, pozwoliło na niezależny pomiar impedancji i prędkości fali podłużnej propagującej się w tkance kostnej pojedynczej beleczki kości gąbczastej.

W ramach badań, przeprowadzono pomiary na próbkach kości gąbczastej pochodzących od pacjentów cierpiących na choroby metaboliczne kości. Stwierdzono, że w przypadku beleczek osteoporotycznych znaleziona dla nich gęstość i prędkość rozchodzenia się fali podłużnej zbliżona jest do wartości otrzymywanych dla kości zbitej. Znacznie niższe wartości gęstości i prędkości otrzymuje się dla beleczek pobranych od pacjentów chorych na osteomalację i osteoidozę z osteoporozą.

Poniżej, wyodrębnione zostały główne wnioski wynikające z prac przeprowadzonych w ramach ultradźwiękowej mikroanalizy kości gąbczastej. Są to:

- Opracowany i zbudowany przez autora skanujący mikroskop ultradźwiękowy, pracujący w zakresie fal o częstotliwości od 35MHz do 200MHz, bardzo dobrze nadaje się do ilościowego obrazowania i pomiarów własności mechanicznych obiektów z ciała stałego i obiektów biologicznych, w tym beleczek kości gąbczastej.

- Opracowana metoda pomiarowa (PMM) umożliwia wyznaczanie prędkości fali Rayleigh'a lub podłużnej fali powierzchniowej w silnie tłumiących materiałach. Metoda zapewnia większą rozdzielczość przestrzenną pomiaru od tradycyjnej techniki pomiarowej mikroskopii akustycznej – techniki $V(z)$. Metoda ta umożliwia wyznaczanie prędkości w pojedynczych beleczkach kości gąbczastej.
- Przeprowadzone pomiary względnej fazy fal tworzących sygnał z mikroskopu (fali odbitej bezpośrednio od próbki kości i fali odpromieniowanej przez podłużną fałę powierzchniową) dla odległości kość – soczewka mniejszych od ogniskowej, potwierdziły hipotezę, według której podłużna fala powierzchniowa propagująca się w próbce kości (belecze) odgrywa analogiczną rolę w powstawaniu oscylacji krzywej $V(z)$ co fala Rayleigh'a dla bardziej sprężystych materiałów.
- Przeprowadzone (według wiedzy autora po raz pierwszy) niezależne pomiary impedancji tkanki kostnej w pojedynczych beleczkach i pomiary prędkości fali podłużnej w tych beleczkach dla próbek kości zmienionych w wyniku choroby, pokazały występowanie znacznych różnic w wartości średniej i odchyleniu standardowym mierzonych parametrów. Szczególnie duże różnice znaleziono dla współczynnika sprężystości, który wyznaczono ze zmierzonych wartości prędkości i impedancji. Okazało się, że różnice te powiązane są z rodzajem schorzenia.

Znalezione wartości prędkości fali i impedancji dla tkanki kostnej oraz zakresy rozrzutu tych parametrów użyte zostały następnie w badaniach sygnału rozproszonego. Parametry opisujące własności mechaniczne struktur walcowych w modelu kości beleczkowej odpowiadały parametrom zmierzonym dla rzeczywistych beleczek. W efekcie, umożliwiło to przeprowadzenie modelowania sygnału rozproszonego w strukturze o parametrach możliwie bliskich parametrom kości gąbczastej i badanie wpływu wartości tych parametrów na własności statystyczne tego sygnału.

Model struktury kości beleczkowej, zaproponowany w niniejszej pracy, symuluje fizyczny układ tkanki kostnej w tkance szpiku i krwi,

składający się na obraz kości gąbczastej. Wymiary beleczek, ich rozkład i własności mechaniczne zostały tak dobrane, aby w sposób optymalny odzwierciedlać rzeczywistą strukturę kości beleczkowej. Z założenia, oddziaływanie fali ultradźwiękowej ze strukturą modelową, miało możliwie wierne symulować sytuację pomiarową. W szczególności dotyczy to warunków przy pomiarach *in vivo* prowadzonych dla kości piętowej. Wtedy średni kierunek ułożenia beleczek jest prostopadły w stosunku do kierunku propagacji fali i tak zostało to przyjęte w modelu oddziaływania fali i struktury. Przyjęto również, że sygnał wstecznie rozproszony może być zbudowany jako suma rozproszeń od poszczególnych beleczek, przy czym rozproszenie na beleczce przybliżono rozproszeniem na walcu sprężystym zgodnie z wynikami prac innych autorów, dotyczących pomiarów współczynnika rozproszenia w kości gąbczastej.

Zaletą zaproponowanej metody symulacji przebiegu sygnału wstecznie rozproszonego jest uwzględnianie w obliczeniach kształtu rzeczywistych impulsów ultradźwiękowych oraz wpływu pasma przetwornika odbiorczego. Program służący do generacji przebiegu sygnału rozproszonego umożliwiał opis własności każdej z beleczek składających się na strukturę kości za pomocą wybranego rozkładu statystycznego. Dotyczyło to grubości beleczek, ich gęstości i prędkości fali podłużnej w tkance kostnej.

Wiarygodność symulacji przebiegów rozproszonych można ocenić przez porównanie ich z wynikami doświadczalnymi. Ponieważ celem badań było ustalenie związków pomiędzy stanem struktury kości gąbczastej a odstępstwami rozkładów statystycznych amplitudy sygnału rozproszonego od rozkładu Rayleigh'a to i porównanie modelowanych rozproszeń i sygnałów rejestrowanych doświadczalnie polegało na wyznaczeniu ich własności statystycznych.

W badaniach prowadzonych *in vivo* na pacjentach Warszawskiego Centrum Osteoporozy stwierdzono, że przy sondowaniu kości dużą objętością pomiarową (płaska głowica, 0,58MHz) amplituda sygnału rozproszonego podlega rozkładowi Rayleigh'a ($SNR=1,91$). Niewielkie odstępstwa od tego rozkładu ($SNR=1,80$) znaleziono dla grupy pacjentów o szczególnie

niskich wartościach BUA oraz wartości wsp. BMD poniżej normy wiekowej. Grupę tę można zakwalifikować jako grupę chorych o zaawansowanym rozwoju osteoporozy.

Dla sygnałów symulowanych, z zastosowaniem dużej objętości pomiarowej i parametrach struktury kości beleczkowej odpowiadających kości zdrowej otrzymano wyniki świadczące o Gaussowskim charakterze rozproszonego sygnału (Rayleigh'owskiej statystyce obwiedni) w całym zakresie symulowanych porowatości. Wprowadzenie do symulacji parametrów struktury odpowiadających kości chorej (cienkie beleczki i duży rozrzut ich grubości) spowodowało pojawienie się niewielkich odstępstw od rozkładu Rayleigh'a dla porowatości powyżej 97%.

Analogiczne porównania przeprowadzono stosując małą objętość pomiarową (głowica ogniskowana 1MHz). Tym razem sygnały symulowane porównywane były z pomiarami rozproszenia w próbkach ludzkiej kości gąbczastej pięty. Z pomiarów wynikało, że w przypadku struktur beleczkowych, które można uważać za względnie zdrowe (duża wartość współczynnika BUA) sygnał rozproszony ma dalej charakter Gaussowski ($SNR=1,92$). Dla próbki kości o najmniejszej wartości współczynnika BUA stwierdzono, że statystyka obwiedni sygnału rozproszonego odbiega od rozkładu Rayleigh'a ($SNR=1,70$). Próbka ta pochodziła od najstarszego dawcy (80lat) i można założyć, że przynajmniej z powodu wieku, struktura kości beleczkowej była w niej znacznie zniszczona.

Symulacja sygnału rozproszonego z zastosowaniem małej objętości pomiarowej i przy założeniu parametrów zdrowych beleczek (duża grubość, mały rozrzut grubości) nie wskazywała na zmiany w statystyce obwiedni sygnału w całym zakresie wartości porowatości występujących w kości gąbczastej. Analogiczna symulacja dla kości chorej generowała sygnały rozproszone, których statystyki obwiedni, już przy porowatości 90%, odbiegały nieznacznie od rozkładu Rayleigh'a ($SNR=1,76$) i rozbieżności te rosły wraz ze wzrostem porowatości ($SNR=1,58$ przy porowatości 97,5%). Wyniki te sugerują, że istnieją możliwości techniczne realizacji objętości pomiarowej na tyle małej aby można przy jej pomocy monitorować zmiany

w strukturze kości gąbczastej w pełnym zakresie wartości porowatości tam występujących.

Jednocześnie wyniki symulacji charakteryzują się wzrostem średniej amplitudy sygnału rozproszonego wraz ze spadkiem porowatości kości. Dodatkowo, wartość średniej jest większa dla przypadku kości zdrowej i jednocześnie większa dla małej objętości pomiarowej (uzyskanej stosując większą częstotliwość sondującą przy zachowaniu tej samej ilości okresów). Wyniki te są zgodne z wynikami pomiaru współczynnika rozproszenia w próbkach kości gąbczastej gdzie stwierdzono (w zakresie częstotliwości stosowanych w densytometrii ultradźwiękowej) wzrost wartości współczynnika rozproszenia wraz ze wzrostem gęstości kości gąbczastej, wraz ze wzrostem grubości beleczek i gwałtowny wzrost z częstotliwością rozpraszanej fali.

W efekcie można stwierdzić, że symulowany sygnał rozproszony w podobny sposób reaguje na zmiany objętości pomiarowej, na zmiany porowatości kości, zmiany średniej grubości beleczek i na rozrzut wartości tej grubości jak uzyskiwane doświadczalnie sygnały rozproszone *in vivo* i *in vitro* w kości gąbczastej pięty.

W dalszym etapie pracy przeprowadzono cały szereg symulacji sygnału rozproszonego, zmieniając parametry opisujące strukturę symulowanej kości gąbczastej. Celem tych zabiegów było wyodrębnienie tych parametrów opisujących beleczkę, które w znaczący sposób wpływają na zmiany rozkładu statystycznego obwiedni sygnału rozproszonego. Przeprowadzone symulacje wykazały, że gwałtowna zmiana jednego z parametrów takich jak średnia grubość beleczek ($d=0,12\text{mm}$ i $d=0,05\text{mm}$), gęstość tkanki kostnej ($\rho=1920\text{kg/m}^3$ i $\rho=1200\text{kg/m}^3$) oraz prędkość fali podłużnej w tkance kostnej ($v=3800\text{m/s}$ i $v=3200\text{m/s}$) nie mają wpływu na rozkład amplitudy sygnału rozproszonego. Dla wartości porowatości kości w granicach występujących w chorobach kości (95%-97%), wartość współczynnika SNR liczonego dla obwiedni sygnału waha się w granicach 1,89 - 1,90 przy zachowaniu stałego przestrzennego rozkładu beleczek. W tych samych granicach zmienia się średnia wartość SNR liczona z pięciu symulacji przy zmienym rozkładzie beleczek. W obu przypadkach różnice te można uznać za

nieistotne ze względu na możliwość wnioskowania ze statystyki sygnału rozproszonego o parametrach i stanie struktury kości gąbczastej. Przy skoku grubości beleczek widoczny jest znaczny skok wartości średniej obwiedni sygnału. Znacznie mniejsze zmiany średniej obserwowane są przy zmianach prędkości i gęstości.

Kolejne symulacje miały na celu oszacowanie wpływu rozrzutu parametrów beleczek na rozproszony przez te beleczki sygnał. Parametry takie jak wartość gęstości lub prędkości w materiale tworzącym beleczki losowane były z rozkładu Gaussa o średniej i granicznych wartościach odchylenia standardowego, szacowanych z pomiarów mikroskopem akustycznym. W granicach porowatości odpowiadających kości chorej nie stwierdzono w rozkładzie obwiedni rozproszonego sygnału, istotnych odchyżeń od rozkładu Rayleigh'a.

Znaczący wpływ na przebiegi rozproszonego sygnału miał rozrzut grubości beleczek. Symulację przeprowadzono losując wartość średnicy beleczki z rozkładu Gamma o średniej odpowiadającej beleczkom chorym (0,05mm) i odchyleniu standardowym zmieniającym się od $\sigma=0,004\text{mm}$ do $\sigma=0,1\text{mm}$. Dla wszystkich rozważanych wartości porowatości (95%-99%) odnotowano znaczny spadek współczynnika SNR wraz ze wzrostem odchylenia standardowego. Szczególnie interesujący jest z punktu widzenia badań kości gąbczastej zakres odchyżeń w granicach $\sigma=0,025\text{mm}$ - $\sigma=0,05\text{mm}$. W zakresie tym wartości SNR zmieniają się najprędzej i jednocześnie podobnych wartości odchylenia standardowego grubości beleczek można spodziewać się w czasie procesów chorobowych w kości gąbczastej.

Przeprowadzone badania pokazują, że w oparciu o metody statystyczne można badać zarówno próbki kości jak i prowadzić pomiary *in vivo*. Stosowanie metody opartej na badaniu statystyki sygnału rozproszonego wydaje się być szczególnie uzasadnione w przypadku monitorowania zmian zachodzących w kości gąbczastej.

W pracy przedstawiono metody pomiaru tłumienia i kompensacji jego wpływu na przebieg sygnału rozproszonego. Na szczególną uwagę zasługuje nowa metoda wyznaczania tłumienia z sygnału rozproszonego. Z jednej strony umożliwia ona prowadzenie badań w oparciu o metody statystyczne

na kościach dostępnych tylko z jednej strony. Z drugiej, rozszerza zakres stosowalności istniejących już metod opartych na pomiarze tłumienia (BUA) o kości niedostępne dla metod transmisyjnych. Otwiera to perspektywy bezpośredniego pomiaru własności kości gąbczastej (gęstości i struktury) na przykład w kości biodrowej, o której stanie można było do tej pory wnioskować jedynie z pomiarów pośrednich, czyli pomiarów wykonywanych dla kości piętowej lub w kościach palców.

Poniżej przedstawiono główne wnioski wynikające z przeprowadzonych pomiarów i analizy wyników pomiarów sygnału rozproszonego w strukturze kości oraz wynikające z przeprowadzonej, w oparciu o proponowany model kości, symulacji rozproszonego sygnału. Należą do nich:

- Opracowane i zbudowane w ramach pracy układy pomiarowe (układ do pomiaru próbek kości, układ do pomiaru kości piętowej i układ skanera kości piętowej), przeznaczone do badań kości gąbczastej pięty *in vitro* i *in vivo*, umożliwiają rejestrację ultradźwiękowych sygnałów rozproszonych i sygnałów przechodzących w zakresie częstotliwości 0,2MHz – 1,5MHz. Rejestrowane przebiegi pozwalają na jednoznaczne wyznaczenie takich parametrów tkanki kości gąbczastej jak BUA, SOS czy też grubość kości.
- Opracowane i zastosowane metody pomiaru i kompensacji tłumienia rejestrowanych doświadczalnie sygnałów rozproszonych pozwalają na badanie własności statystycznych sygnału, zależnych tylko od własności struktury beleczkowej kości. Dodatkowo, zaproponowana technika pomiaru współczynnika tłumienia z sygnały rozproszonego niesie ze sobą możliwości pomiaru współczynnika BUA w głęboko położonych kościach, kościach niedostępnych dla stosowanych obecnie technik transmisyjnych.
- Analiza rejestrowanych doświadczalnie sygnałów rozproszonych w kości piętowej wykazała, że amplituda tych sygnałów (opisana ich obwiednią), podlega rozkładowi Rayleigh'a. Wyniki takie otrzymano przy zastosowaniu warunków pomiaru zbliżonych do warunków występujących przy ultradźwiękowych pomiarach densytometrycznych (częstotliwość 0,5MHz). Niewielkie odstępstwa od rozkładu Rayleigh'a wykazywały

- obwiednie sygnału rozproszonego w próbce kości o zniszczonej strukturze, mierzonego przy częstotliwości 1MHz (mała objętość pomiarowa). Otrzymane wyniki pozwalają stwierdzić, że istnieją techniczne możliwości budowy systemu ultradźwiękowego, umożliwiającego monitorowanie zmian w kości, w zakresie wartości porowatości charakterystycznych dla chorej kości gąbczastej.
- Zaproponowany w pracy model kości gąbczastej umożliwia symulację sygnału rozproszonego przez strukturę beleczkową kości. Własności statystyczne symulowanych sygnałów odpowiadają własnościom statystycznym wyznaczonym dla sygnałów rejestrowanych doświadczalnie. Model kości umożliwia symulację zmian zachodzących w kości gąbczastej w wyniku procesów chorobowych i szacowanie wpływu tych zmian na własności statystyczne sygnału rozproszonego. Wyniki przeprowadzonych pomiarów próbek kości gąbczastej i pomiarów kości piętowej *in vivo*, potwierdziły słuszność założeń przyjętych w modelu kości gąbczastej i prawidłowość metod symulacji sygnału rozproszonego.
 - Przeprowadzona analiza „wrażliwości” statystycznej modelu kości wykazała, że zdecydowanie największy wpływ na charakter rozproszonego sygnału ma średnia gęstość przestrzenna beleczek i rozrzut grubości beleczek. Pozostałe, analizowane parametry takie jak średnia wartość własności mechanicznych tkanki kostnej tworzącej beleczki (gęstość, prędkość fali podłużnej i poprzecznej) jak i rozrzut tych własności oraz średnia grubość beleczek nie wpływają w znaczący sposób na własności statystyczne rozproszonego sygnału.
 - Sygnał rozproszony dobrze nadaje się do oceny stanu kości gąbczastej. Wykorzystywany w pracy współczynnik SNR (stosunek wartości średniej obwiedni sygnału do jej odchylenia standardowego) stosowany był do znajdowania odstępstw w rozkładach statystycznych obwiedni sygnału od rozkładu Rayleigh’a. Współczynnik ten może również służyć do rozróżniania struktur kości gąbczastej o dobrze definiowanej średniej grubości beleczek (co odpowiada kości zdrowej) od struktur o dużym rozrzucie grubości beleczek (charakterystycznym dla kości zmiennej osteoporotycznie). Równocześnie, sygnał rozproszony może być

stosowany do wyznaczania współczynnika BUA, który zależny jest od średniej gęstości kości gąbczastej. W efekcie, sygnał rozproszony umożliwia kompletną ocenę stanu kości (ocenę ilościową kości gąbczastej i ocenę zmian struktury kości gąbczastej) i może być użyty do badań kości położonych głęboko, szczególnie ważnych ze względu na zagrożenie osteoporozą.

Skuteczność metody opartej na detekcji zmian w rozkładzie statystycznym obwiedni sygnału rozproszonego zależy od możliwości uzyskania wystarczająco małej objętości pomiarowej oraz od możliwości rejestracji odpowiednio dużej ilości niezależnych wyników sondowania tej samej struktury kości. Wielkość objętości pomiarowej zależy od długości impulsu i powierzchni przekroju wiązki w płaszczyźnie prostopadłej do kierunku propagacji. Przy częstotliwościach stosowanych komercyjnie do badań kości (0,5MHz) jak pokazały to wyniki pomiarów i wyniki symulacji, objętość pomiarowa jest za duża, aby mierzyć efekty zmiany struktury. Możliwości zmniejszenia objętości pomiarowej są ograniczone. Stosowane impulsy są zazwyczaj możliwie krótkie a ostre ogniskowanie fali prowadzi do zmiennej objętości pomiarowej, co z kolei prowadzi do niejednoznaczności otrzymywanych wyników. Skuteczną metodą jest zwiększenie częstotliwości fali sondującej (1MHz). Zarówno długość impulsu jak i promień przekroju wiązki skalowane są długością fali. W efekcie, objętość pomiarowa jest zależna od trzeciej potęgi długości fali. Na przeszkodzie zwiększania częstotliwości w badaniach kości stoi bardzo duże, prawie liniowo zwiększające się z częstotliwością, tłumienie fali ultradźwiękowej. Badając próbki kości wzrost tłumienia można kompensować wzrostem amplitudy nadawanego sygnału. Z obawy przed wystąpieniem efektów biologicznych nie jest to możliwe w przypadku pomiarów *in vivo*. Jednym z rozwiązań wydaje się zastosowanie kodowania sygnału nadawczego. Jak udało się to wykazać (Nowicki i wsp., 2003; Litniewski i wsp., 2004) metody kodowania sygnału bardzo dobrze nadają się do badań kości gąbczastej, zwiększając stosunek sygnału do szumu odbieranego sygnału.

Z pomiarów na próbkach kości oraz z symulacji wynika, że aby zebrać wystarczającą ilość danych o strukturze (ze względu na analizę

statystyki rozproszenia) potrzebny jest obszar kości gąbczastej o powierzchni ok. 200mm^2 (koło o promieniu ok. 8mm) i grubości 25mm-30mm (przy cieńszej kości obszar odpowiednio większy). Na takim obszarze można zebrać ok. 50 przebiegów, co odpowiada warunkom prowadzonych symulacji (8 przebiegów po 150mm). Warunki takie występują w kości piętowej, o czym świadczą przeprowadzone pomiary na próbkach kości piętowej oraz w kości biodrowej (powierzchnia pomiaru BMD wynosi $400\text{-}500\text{mm}^2$).

Z przeprowadzonych symulacji wynika, że zmienna grubość beleczek w strukturze kości gąbczastej jest głównym powodem spadku wartości współczynnika SNR obliczanego dla amplitudy sygnału rozproszonego. Zmienne (o dużym rozrzucie) wartości grubości beleczek są źródłem dużego rozrzutu wartości współczynnika rozproszenia, który jest funkcją silnie rosnącą wraz z grubością beleczki. W efekcie w objętości pomiarowej znajdują się elementy w różnym stopniu wpływające na końcowy efekt fazowego sumowania, którego skutkiem jest chwilowa wartość amplitudy. Ilość elementów o dużym wkładzie (od beleczek o dużej grubości) jest mniejsza od ilości wszystkich elementów w objętości pomiarowej. Skutkuje to zmniejszeniem efektywnej ilości elementów w porównaniu do ilości rzeczywistej. W generowanych w takich warunkach sygnałach, rośnie znacznie wariancja jego amplitudy, co prowadzi do spadku współczynnika SNR i odstępstw histogramów amplitudy od rozkładu Rayleigh'a.

Interpretacja zmian w rozkładzie amplitudy sygnału rozproszonego w kości gąbczastej jako związanych ze stopniem zróżnicowania grubości beleczek wydaje się być w pełni uzasadniona. Takie podejście prowadzi do nowego spojrzenia na możliwości detekcji własności struktury kości beleczkowej za pomocą metod ultradźwiękowych. Współczynnik SNR obwiedni sygnału rozproszonego nie jest czuły na gęstość kości wyrażaną za pomocą średniej grubości beleczek czy też gęstości tkanki kostnej. Oczywiście tam gdzie zmiany gęstości kości wywoływane są przez parametry strukturalne takie jak średnia ilość beleczek czy też zróżnicowany spadek grubości beleczek, obszary stosowalności metody rozproseniowej z wykorzystaniem własności statystycznych sygnału i metod opartych na pomiarach współczynnika rozproszenia czy współczynnika BUA pokrywają

się. Nie zmienia to jednak faktu, że nowa metoda badania ultradźwiękowego kości gąbczastej, zaproponowana w niniejszej pracy, jest obecnie jedyną metodą w pełni wykorzystującą informację o własnościach strukturalnych kości.

5. Bibliografia

1. Abramowitz M., Stegun, I. (ed.), Handbook of Mathematical Functions, National Bureau of Standards, 1964; reprinted Dover Publications, 1965.
2. Asai H., Kanai H., Chubachi N., Noninvasive method for measuring velocity of leaky surface skimming compressional wave propagating on bone surface, Electronics Letters, 1996, 32, 24, 2290-2291.
3. Atalar A, Quate CF, Wickramasinghe HK, Phase Imaging in Reflection with Acoustic microscope, Appl. Phys. Lett. 1977; 31;791-793.
4. Atalar A., Lens geometries for quantitative acoustic microscopy, in Advances in Acoustic Microscopy I, Plenum Press, New York, 1995.
5. Bamber J., Hill C., King J., Acoustic properties of normal and cancerous human liver, Ultrasound Med. Biol. 1981, 7,121-133.
6. Bertoni H, Ray-Optical Evaluation of $V(z)$ in Reflection Acoustic Microscope, IEEE Trans. Sonics Ultrasonic, 1984,31,105-116.
7. Bertoni H., Rayleigh waves in scanning acoustic microscopy, in Rayleigh-Wave theory and application, Spriger-Verlag, Berlin, 1985.
8. Biot M., Theory of propagation of elastic waves in a fluid-saturated porous solid. I. Low frequency range, J. Acoustic Soc. Am., 1956, 28, 168-178.
9. Biot M., Theory of propagation of elastic waves in a fluid-saturated porous solid. I. Higher frequency range, J. Acoustic Soc. Am., 1956, 28, 179-191.
10. Brandt S., Statistical and computational methods in data analysis, Elsevier Publishing Company, New York, 1970.
11. Brekhovskikh L, Waves in layered media, London: Academic Press, 1960.
12. Brekhovskikh L, Godin O, Acoustics of Layered Media II, Berlin: Springer-Verlag, 1992.
13. Briggs A, Acoustic Microscopy, Oxford: Clarendon Press,1992.

14. Bumrerraj S, Katz JL, Scanning Acoustic microscopy study of human cortical and trabecular bone, *Ann. Biomed. Eng.* , 2001, 29, 1034-1042.
15. Chaffai S., Roberjot V., Peyrin F., Berger G., Lugier P., Frequency dependence of ultrasonic backscattering in cancellous bone: Autocorrelation model and experimental results, *J. Acoust. Soc. Am.* 2000, 108, 5, 2403-2411.
16. Chan K, Bertoni H, Ray interpretation of Longitudinal Lateral Waves in Acoustic Microscopy, *IEEE Trans, SUFC* 1991,38, 27-34.
17. Chou C, Khuri-Yakub B, Liang K, Acoustic Microscopy with shear wave transducer, *IEEE Ultrasonic Symposium Proceedings*, 1987, 813-816.
18. Davids D, Bertoni H, Bow-tie transducers for measurement of anisotropic materials in Acoustic Microscopy, *IEEE Ultrasonic Symposium Proceedings*, 1986, 735-740.
19. Dransfeld K, Salzman E, High frequency elastic surface waves, *Physical Acoustic*, 7, W., Mason, R., Thursten, London, 1970, 219-272.
20. Faran J. J., Sound scattering by solid cylinders and spheres, *JASA* 1951, 23, 405-418.
21. Flax L., Gaunaud G. C., Uberall H., Theory of resonance scattering, in Mason W.P., Thurston R.N., eds. *Physical Acoustics*, 15, New York 1981, Academic Press, 191-294.
22. Flax L., Neubauer W., Reflection of elastic waves by cylindrical cavity in an absorptive medium, *J. Acoust. Soc. Am.*, 1978, 63, 3, 675-680.
23. Foldes A., Rimon A., Keinan D., Popovtzer M., Quantitative ultrasound of tibia: A novel approach for assessment of bone status, *Bone*, 1995, 17, 4, 363-367.
24. Goodman J., Statistical properties of laser speckle patterns, in *Topics in applied physics - Laser speckle and related phenomena*, wydawca Dainty J., Springer, Berlin, 1975.
25. Goodman J., *Optyka statystyczna*, PWN, Warszawa, 1993.

26. Hans D., Wu C., Njeh C., Zhao S., Augat P., Newitt D., Link T., Lu Y., Majumdar S., Genant H., Ultrasound velocity of trabecular tubes reflects mainly bone density and elasticity, *Calcif. Tissue Int.*, 1999, 64, 18-23.
27. Hans D., Arlot M., Schott A., Roux J., Kotzki P., Meunier P., Do ultrasounds measurements on the Os Calcis reflect more the bone microarchitecture than the bone mass? : A two-dimensional histomorphometric study, *Bone* 1995, 16, 3, 295-300.
28. Hasegawa K, Turner C, Recker R, Wu E, Burr D, Elastic Properties of Osteoporotic Bone measured by Scanning Acoustic Microscopy, *Bone* 1995; 16; 85-90.
29. Hausler K, Rich P, Smith P, Barry E, Relationships between static histomorphometry and ultrasound in the human calcaneus, *Calcif. Tissue Int.* 1999,64,477-480.
30. Heuter T., Messung der Ultraschallabsorption in menschlichen Schadelknochen und ihre Abhangigkeit von der Frequenz, *Naturwissenschaften*, 1952, 39, 21-22.
31. Hildebrand J, Lam L, Directional Acoustic Microscopy for observation of elasic anisotropy, *Appl. Phys. Lett.*, 1983, 42, 413-415.
32. Hosokawa A., Otani T., Ultrasonic wave propagation in bovine cancellous bone, *J. Acoustic Soc. Am.*, 1997, 101, 558-562.
33. Hosokawa A., Otani T., Acoustic anisotropy in bovine cancellous bone, *J. Acoustic Soc. Am.*, 1998, 103, 2718-2722.
34. Hughes E., Leighon T., Petley G., White P., Ultrasonic propagation in cancellous bone: a new stratified model, *Ultrasound Med. Biol.*, 1999, 25, 5, 811-821.

35. Insana M., Wagner R., Brown D., Hall T., Describing small-scale structure in random media using pulse-echo ultrasound, *J. Acoust. Soc. Am.*, 1990, 87, 179-182.
36. Jensen J., Leeman S., Non-parametric estimation of ultrasound pulses, *IEEE Trans. on Biomedical Engineering*, 1994, 41, 10, 926-936.
37. Jenson F., Padilla F., Laugier P., Prediction of frequency – dependent ultrasonic backscatter in cancellous bone using statistical weak scattering model, *Ultrasound Med Biol* 2003, 29(3), 455-464.
38. Kaczmarek M., Kubik J., Pakula M., Short ultrasonic waves in cancellous bone, *Ultrasonics*, 2002, 40, 95-100.
39. Kanis J., *Osteoporosis*, Oxford: Blackwell Science ,1994.
40. Kothari M., Keaveny T., Lin J., Newitt D., Majumdar S., Measurement of intraspecimen variation in vertebral cancellous bone architecture, *Bone* 1999, 25, 2, 245- 250.
41. Langton C., The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis, *Clinical Rheumatology*, 1994, 13, suppl. 1, 13-17.
42. Laugier P., Giat P., Berger G., Bone characterization with ultrasound: state of art and new proposal, *Clinical Rheumatology*, 1994, 13, suppl. 1, 22-32.
43. Laugier P., Giat P., Chappard C., Roux Ch., Berger G., Clinical assessment of the backscatter coefficient in osteoporosis, *IEEE Ultrasonic Symposium*, 1997, 1101-1105.
44. Leguerney I, Trabecular bone properties evaluated by scanning acoustic microscopy, *Proceedings WCU 2003*, 295-298.
45. Litniewski J, An acoustic microscope in measurements of mechanical properties of surface layers – $V(Z)$, *Archives of Acoustics* 1986, 11,299-312.

46. Litniewski J, On the Possibility of the Visualization of the Velocity Distribution in Biological Samples Using SAM, IEEE Trans SUFC 1989, 36, 134-135.
47. Litniewski J, Bereiter-Hahn J, Acoustic Velocity Determination in Cytoplasm by $V(z)$ Shift, Acoustical Imaging 1992, 19, 535-538.
48. Litniewski J, Sawicki A, Parametric Imaging of a Trabecular Bone by a Scanning Acoustic Microscope, EAA Symposium on Hydroacoustics and Ultrasonics, 1997, 199-204.
49. Litniewski J, An Acoustic Microscope for Microflaw Inspection and Subsurface Imaging, Archives of Acoustics 2001, 26, 25-36.
50. Litniewski J, Nowicki A, Sawicki A, Bones characterisation with ultrasound, Engineering Transactions 2001, 49, 165-177.
51. Litniewski J., Nowicki A., Sawicki A., Detection of bone disease with ultrasound – comparison with bone densitometry, Ultrasonics, 2000, 38, 693-697.
52. Litniewski J., Determination of the elasticity coefficient for a single trabecula of a cancellous bone: Scanning Acoustic Microscopy approach., Ultrasound in Medicine and Biology, 2005, 31, 10,1361-1366.
53. Litniewski J., Nowicki A., Secomski W., Lewin P.A., Trots I., Advantages of probing the trabecular bone with Golay Coded Ultrasound, 2003 IEEE Ultrasonic Symposium, 2004, 1 1, 462-464.
54. Litniewski J., Lewandowski P., Korytowski R., Acoustic Biomicroscopy of eye tissue, Ultrasound In Biomeasurements, Diagnostic and Therapy, 1994, Warsaw (wydawcy: Filipczyński i Nowicki).

55. Lowet G., Van der Perre G., Ultrasound velocity measurement in long bones; measurement method and simulation of ultrasound wave propagation, *J. Biomechanics*, 1996, 29, 10, 1255-1262.
56. Lizzi F., Ostromogilsky M., Feleppa I., Rotke M., Yaremko M., Relationship of ultrasound spectral parameters to features of tissue microstructure, *IEEE trans. UFFC* 1986, 33, 319-328.
57. McCloskey E., Murray S., Charlesworth D., Miller C., Fordham J., Clifford K., Atkins R., Kanis J., Assessment of broadband ultrasonic attenuation in the os calcis in vitro, *Clinical Science*, 1990, 78, 221-225.
58. Molthen R., Shankar P., Reid J., Characterization of ultrasonic B-scans using non-Rayleigh statistics, *Ultrasound Med Biol* 1995, 21(2), 161-170.
59. Morse P., Ingard K., *Theoretical Acoustics*, New York: McGraw-Hill, Inc., 1968.
60. Narayanan V., Shankar P., Reid J., Non-Rayleigh statistics of ultrasonic backscattered signals, *IEEE Trans on SUFC* 1994, 41(6), 845-852.
61. National Electrical Manufactures Association (NEMA), NEMA Acoustic Output Measurement Standard for Diagnostic Ultrasound Equipment, UD-3-1993, NEMA and AIUM (American Institute of Ultrasound Medicine) Standard for Real Time Display of Thermal and Mechanical Acoustic Output Indices on Diagnostic Ultrasound Equipment.
62. Nicholson P., Boussein M., Bone marrow influences quantitative ultrasound measurements in human cancellous bone, *Ultrasound in Med. and Biol.*, 2002, 28,3,369-375.

63. Nowicki A., Litniewski J., Secomski W., Lewin P.A., Trots I., Estimation of ultrasonic attenuation in a bone using coded excitation, *Ultrasonics*, 2003, 41, 8, 615-621.
64. Papoulis A., *Prawdopodobieństwo, zmienne losowe i procesy stochastyczne*, WNT, Warszawa 1972.
65. Quate C, *Microwave, Acoustics and Scanned Microscopy*, In: Ash EA, ed. *Scanned Image Microscopy*, London: Academic Press, 1980, 23-55.
66. Raum K, Brandt J, *Simultaneous Determination of Acoustic Impedance, Longitudinal and Lateral Wave Velocities for the Characterization of the Elastic Microstructure of a Cortical Bone*, *Proceedings WCU 2003*, 321-324.
67. Raum K., Leguerney I., Chandelier F., Talmant M., Saiyed A., Peyrin F., Laugier P., *Site-matched assessment of structural and tissue properties of cortical bone using scanning acoustic microscopy and synchrotron radiation μ CT*, *Phys. Med. Biol.*, 2006, 51, 733-746.
68. Raum K., Cleveland R., Peyrin F., Laugier P., *Derivation of elastic stiffness from site-matched mineral density and acoustic impedance maps*, *Phys. Med. Biol.*, 2006, 51, 747-758.
69. Reilly D., Burstein A., *The elastic and ultimate properties of compact bone*, *J. of Biomechanics*, 1975, 8, 393-405.
70. Rich C., Klink E., Smith R., Graham B., *Measurements of bone mass from ultrasonic transmission time*, *Proc Roy Soc Exp Biol Med*, 1966, 123, 282-285.
71. Roux C., Roberjot V., Porcher R., Kolta S., Dougados M., Laugier P., *Ultrasonic backscatter and transmission parameters at the os calsis in postmenopausal osteoporosis*, 2001, *J. Bone Miner. Res.*, 16, 1352-1362.

72. Rozygraev N., Ultrasonic nondestructive testing by Head waves : Physical prerequisites and practical use, *Russian Journal of NDT*, 2004, 40,9, 593-601.
73. Saporin P., Gowin W.- coordinators, 2D and 3D Quantification of bone structure and its changes in microgravity condition by measure of complexity, Mid Term Report for ESA-Project, 2004, MAP AO-99-030.
74. Saniie J., Bilgutay N. M., Quantitative grain size evaluation using ultrasonic backscattered echoes, *JASA* 1986, 80(6), 1816-1824.
75. Shankar M., A general statistical model for ultrasonic backscattering from tissue, *IEEE trans. on UFFC*, 2000, 47, 3, 727-736.
76. Shung K., Thieme G., Ultrasonic scattering in biological tissue, 1993, CRC, Boca Raton.
77. Siegel M., Anast G., Fields T., The determination of fracture healling by measurements of sound velocity across the fracture site, *Surg. Gynecol Obstet.*, 1958, 107, 327-332.
78. Smith S., Wagner R., Sandrik J., Lopez H., Low contrast detectability and contrast/detail analysis in medical ultrasound, *IEEE trans. on Sonics and Ultrasonics*, 1983, 30, 3, 164-173.
79. Strelitzki R., Metcalfe S., Nicholson P., Evans J., Paech V., On the ultrasonic attenuation and its frequency dependence in the os calcis assessed with a multielement receiver, *Ultrasound Med. Biol.*, 1999, 25, 1, 133-141.
80. Tamir T., Inhomogeneous wave types at planar structures: I. The Lateral Wave, *Optik*, 1972, 36, 2, 209-232.
81. Thijssen J., Multiparameter tissue characterization and image processing, in *Ultrasonic tissue characterization*, Springer-Verlag, Tokyo, 1996.

82. Thomson P., Taylor J., Oliver R., Fisher A., Quantitative ultrasound (QUS) of the heel predicts wrist and osteoporosis related fractures in women ages 45-75 years, *J. Clin. Densitometry*, 1998, 1, 219-225.
83. Teriierooiterai M., Defontaine M., Depollier C., Patat F., Pourcelot L., A new approach concerning human calcis bone characterization, *IEEE Ultrasonics Symposium*, 1997, 1189-1192.
84. Tsukahara Y., Liu Y., Neron Ch., Jen C., Kushibiki J., Longitudinal Critical Angle Singularities and their effect on $V(z)$, *IEEE trans. UFFC*, 1994, 41, 445-466.
85. Tsukahara Y., Interaction of acoustic waves with solid surfaces, in *Advances in Acoustic Microscopy II*, Plenum Press, New York, 1996.
86. Turner C., Rho J., Takano Y., Tsui T., Pharr G., The Elastic Properties of Trabecular and Cortical Bone Tissue are Similar: Results from Two Microscopic Measurement Techniques, *Journal of Biomechanics*, 1999, 32, 437-441.
87. Turner C., Chandran A., Pidaparti R., The Anisotropy of Osteonal Bone and Its Ultrastructural Implications, *Bone*, 1995, 17, 1, 85-89.
88. Wagner R., Smith S., Sandrik J., Lopez H., Statistics of speckle in ultrasound B-scans, *IEEE Trans on Sonics Ultrasonics* 1983, 30(3), 156-163.
89. Wagner R., Insana M., Brown D., Statistical properties of radio-frequency and envelope-detected signals with applications to medical ultrasound, *J. Opt. Soc. Am.* 1987, 4 (5), 910-922.
90. Wear K., Wagner R., Brown D., Insana M., Statistical properties of estimates of signal-to-noise ratio and number of scatterers per resolution cell, *J. Acoust. Soc. Am.*, 1997, 102, 635-641.
91. Wear K., Garra B., Assessment of bone density using ultrasonic back-scatter, *Ultrasound Med. Biol.* 1998, 24(5), 689-695.

92. Wear K., Frequency dependence of ultrasonic backscatter from human trabecular bone: Theory and experiment, *J. Acoust. Soc. Am.*, 1999, 106(6), 3659-3664.
93. Wear K., Measurement of frequency dependence of scattering from cylinders using focused transducers, *J. Acoust. Soc. Am.*, 2004, 115, 1, 66-72.
94. Wear K., Laib A., The Dependence of Ultrasonic backscatter on trabecular thickness in Human Calcaneus: Theoretical and Experimental results, *IEEE Trans. Ultrason., Ferro. Freq. Cont.*, 2003, 50, 8, 979-986.
95. Wear K., The effect of trabecular material properties on the frequency dependence of backscatter from cancellous bone, *J. Acoust. Soc. Am.*, 2003, 113(4), 1, 62-65.
96. Wear K., Anisotropy of attenuation and backscatter in cancellous bone, *IEEE Ultrasonics Symposium 2000*.
97. Wear K., The effects of frequency-dependent attenuation and dispersion on sound speed measurements: Applications in human trabecular bone, *IEEE Trans. Ultrason., Ferro. Freq. Cont.*, 2000, 47, 1, 265-273.
98. Wear K., Fundamental precision limitations for measurements of frequency dependence of backscatter: applications in tissue-mimicking phantoms and trabecular bone, *J. Acoust. Soc. Am.*, 2001, 110(6), 3275-3282.
99. Wear K., Armstrong D.A., The relationship between ultrasonic backscatter and bone mineral density in human calcaneus, *IEEE trans. SUFC*, 2000, 47, 4, 777-780.
100. Wear K., Measurements of phase and group velocity in human calcaneus, *Ultrasounds in Med. and Biol.*, 2000, 26, 4, 641-646.
101. Weglein R., A model for predicting acoustic material signature, *Appl. Phys. Lett.*, 1979, 34, 179-181.

-
102. Weng L., Reid J., Shankar M., Soetanto K., Ultrasound speckle analysis based on the K distribution, JASA 1991, 89, 6, 2992-2995.
 103. Wilhelmij P., Denbigh P., A statistical approach to determining the number density of random scatterers from backscattered pulses, JASA 1984, 76(6), 1810-1818.
 104. Williams J., Johnson W., Elastic constants of composites formed from PMMA bone cement and anisotropic bovine tibial cancellous bone, J. Biomech. 1989, 22, 673-682.

6. Spis stosowanych oznaczeń

\underline{A} – zespolona amplituda

D – odległość soczewka-przetwornik

d_0 – promień apertury soczewki

d – grubość beleczki, średnica walca

F, F^{-1} – prosta i odwrotna transformata Fouriera

f – częstotliwość

f_0 – ogniskowa

f_p – funkcja przenoszenia częstotliwości

I – natężenie

k – wektor falowy

L – zakres penetracji fali, grubość próbki

LRW – fala powierzchniowa Rayleigh’a dla powierzchni obciążonej cieczą

LLLW – fala powierzchniowa boczna (podłużna) dla powierzchni obciążonej cieczą

M – efektywna ilość elementów w objętości pomiarowej

N – ilość elementów w objętości pomiarowej

$N(A)$ – częstość występowania amplitudy o wartości A

n – współczynnik refrakcji

$P(\theta)$ – funkcja apertury soczewki

$p(\)$ – funkcja rozkładu prawdopodobieństwa

R – amplitudowy współczynnik odbicia (rozdział 2)

R – amplitudowy współczynnik rozproszenia (rozdział 3)

R_s – promień krzywizny soczewki

r_0 – rozdzielczość mikroskopu

S – przekrój wiązki sondującej

SNR, SNR_0 – stosunek wartości średniej do odchylenia standardowego

T – temperatura

t – czas

u_G, u_L – amplituda fali odbitej geometrycznie i fali odpromieniowanej przez falę powierzchniową

- V, u – napięcie
 $V(z)$ – krzywa pomiarowa w mikroskopii akustycznej
 V_0 – stała aparaturowa (SAM)
 V_p – objętość pomiarowa
 v – prędkość fali
 v_R – prędkość fali powierzchniowej (Rayleigh'a)
 v_L – prędkość podłużnej fali bocznej
 v_0 – prędkość fali w ośrodku sprzęgającym
 v_w – prędkość fali w wodzie
 Z – impedancja akustyczna
 Z_b – impedancja akustyczna tkanki kostnej
 Z_w – impedancja akustyczna wody
 z_0 – wielkość przeogniskowania
 α – współczynnik tłumienia
 Γ – funkcja Gamma
 $\Delta(z)$ – okres oscylacji funkcji $V(z)$
 δz – wielkość przeogniskowania
 θ – kąt padania fali
 θ_R – kąt graniczny dla fali Rayleigh'a.
 θ_L – kąt graniczny dla podłużnej fali bocznej
 λ – długość fali
 λ_0 – długość fali w ośrodku sprzęgającym
 λ_w – długość fali w wodzie
 ρ – gęstość
 ρ_b – gęstość tkanki kostnej
 ρ_w – gęstość wody
 σ – odchylenie standardowe
 φ – faza
 φ_G, φ_L – faza fali odbitej geometrycznie i fali odpromieniowanej przez falę powierzchniową
 $\langle \rangle$ – oznaczenie wartości średniej
 \angle – oznaczenie fazy