

NUMERYCZNA I EKSPERYMENTALNA OPTYMALIZACJA PLANOWANIA LECZENIA
LITYCH NOWOTWORÓW TECHNIKĄ ABLACYJNĄ *HIFU* KONTROLOWANĄ
OBRAZOWANIEM USG W BADANIACH PRZEDKLINICZNYCH

ŁUKASZ FURA

PROMOTOR: DR HAB. INŻ. TAMARA KUJAWSKA
PROMOTOR POMOCNICZY: DR NORBERT ŻOŁEK

INSTYTUT PODSTAWOWYCH PROBLEMÓW TECHNIKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
Zakład Ultradźwięków

WARSZAWA 2022

PODZIĘKOWANIA

Chciałbym serdecznie podziękować:

- dr hab. inż. Tamarze Kujawskiej, za pomoc merytoryczną i wsparcie w redakcji rozprawy,
- dr. Norbertowi Żołąkowi, za pomoc merytoryczną i owocną krytykę,
- dr hab. Barbarze Gambin, dr. inż. Piotrowi Karwatowi i dr. Ziemowitowi Klimondzie za pomoc i użyteczne wskazówki,
- koleżankom i kolegom z Zakładu Ultradźwięków, za współpracę,
- mojej żonie Paulinie, za cierpliwość, długie rozmowy i niezłomną wiarę we mnie,
- oraz wszystkim osobom bez których ta praca nie mogłaby powstać.

STRESZCZENIE

Jedną z nowatorskich metod nieinwazyjnego termicznego niszczenia litych guzów nowotworowych jest technika ablacyjna *HIFU* (*High Intensity Focused Ultrasound*), która polega na szybkim (< 3 s) nagraniu małej objętości guza usadowionego głęboko pod skórą do temperatury powyżej 56°C , co prowadzi do jej koagulacyjnej martwicy nie uszkadzając otaczających tkanek. Objętość nowotworu jest znacznie większa od objętości zmiany martwiczej, formowanej na skutek jego pojedynczej ekspozycji na wiązkę *HIFU* i odzwierciedlającej jej objętość ogniskową, dlatego dla zniszczenia całego guza konieczne jest przeskanowanie całej jego objętości ogniskiem wiązki *HIFU*. Do tego potrzebne jest zaplanowanie wielokrotnej sonikacji tkanki wiązką *HIFU*. Celem tej pracy było opracowanie metody predykcji numerycznej i optymalizacji czasowej planu zautomatyzowanej terapii ablacyjnej *HIFU* oraz jej weryfikacja eksperymentalna na próbkach tkanek *ex vivo*.

Ten problem został rozwiązany i przedstawiony w rozprawie.

W części eksperymentalnej wyznaczono:

- progową moc akustyczną zdolną utworzyć zmianę nekrotyczną w tkance *ex vivo* w ciągu 3 s,
- zależność lokalizacji oraz wielkości zmiany nekrotycznej od parametrów akustycznych wiązki *HIFU*,
- czas temperaturowej relaksacji tkanki.

Na podstawie otrzymanych wyników opracowano przestrzenny plan wielokrotnych sonikacji i zweryfikowano dokładność pokrycia nekrozą zaplanowanej objętości.

Objętość zmiany nekrotycznej według opracowanego planu ablacyjnego została obliczona numerycznie - korzystając z modelu *k-Wave* rozwiązującego nieliniowe równanie falowe

drugiego rzędu metodą k-przestrzeni pseudo-spektralnej oraz równanie transferu ciepła dla tkanek *ex vivo* i zweryfikowana eksperymentalnie.

Zgodność w granicach niepewności prognozowanych wyników numerycznych z danymi eksperymentalnymi pozwoliła wykorzystać ten model do optymalizacji czasowej procedury ablacji uzyskując prawie 11-krotne skrócenie czasu terapii ablacyjnej *HIFU*.

Zaproponowane i zweryfikowane eksperymentalnie rozwiązanie ma duże znaczenie poznawcze oraz jest przydatne w praktyce do badań przedklinicznych na małych zwierzętach.

ABSTRACT

One of the novel methods of non-invasive thermal destruction of solid tumors is the ablative HIFU (High Intensity Focused Ultrasound) technique, which consists in rapid (< 3 s) heating of the small volume of the tumor seated deep under the skin to a temperature above 56°C , which leads to its coagulative necrosis without damaging the surrounding tissues. The volume of the tumor is much larger than the volume of the necrotic lesion formed as a result of its single exposure to the HIFU beam and reflecting its focal volume, therefore in order to destroy the entire tumor it is necessary to scan its entire volume with the focus of the HIFU beam. For this, it is necessary to plan multiple sonications of the tissue with the HIFU beam. The aim of this work was to develop a method for numerical prediction and temporal optimisation of a plan for automated HIFU ablative therapy and its experimental verification on *ex vivo* tissue samples.

This problem was solved and presented in the thesis.

In the experimental part, the following were determined:

- threshold acoustic power capable of creating a necrotic lesion in *ex vivo* tissue within 3 s,
- dependence of the location and size of necrotic lesion on acoustic parameters of HIFU beam,
- the temperature relaxation time of the tissue.

Based on the obtained results, a spatial plan of multiple sonications was developed and the accuracy of necrotic coverage of the planned volume was verified.

The volume of necrotic lesion according to the developed ablation plan was calculated numerically - using the k-Wave model solving the second-order nonlinear wave equation by

the k-space pseudo-spectral method and the heat transfer equation for *ex vivo* tissues and verified experimentally.

The agreement within the uncertainty limits of the predicted numerical results with the experimental data allowed the use of this model for time optimisation of the ablation procedure, obtaining an almost 11-fold reduction in the time of HIFU ablation therapy.

The proposed and experimentally verified solution is of great cognitive importance and useful in practice for preclinical studies on small animals.

Spis treści

	Strona
1. WSTĘP	1
1.1. Zasada działania techniki <i>HIFU</i>	2
1.2. Modelowanie numeryczne terapii <i>HIFU</i>	6
1.3. Cel i motywacja	9
2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA	10
2.1. Propagacja fal ultradźwiękowych w ośrodkach bezstratnych	10
2.2. Rozchodzenie się fal akustycznych w tkankach	11
2.2.1. Kawitacja	13
2.3. Transport ciepła w tkance	14
2.4. Równanie przewodnictwa cieplnego	15
3. BADANIA EKSPERYMENTALNE	17
3.1. Lokalny przyrost temperatury w tkance <i>ex vivo</i>	17
3.1.1. Materiały i metody	18
3.1.2. Wyniki	24
3.1.3. Dyskusja	30
3.1.4. Wnioski	31
3.2. Stanowisko doświadczalne <i>HIFU</i> do badań na małych zwierzętach	32
3.2.1. Ośrodki propagacji	35
3.2.2. Głowica <i>HIFU</i>	37
3.2.3. Pomiar charakterystyki wiązki <i>HIFU</i> w wodzie	39
3.2.4. Planowanie leczenia	40
3.3. Badania wpływu parametrów sonikacji na wielkość zmian nekrotycznych	41
3.3.1. Materiały i metody	41
3.3.2. Wyniki	45
3.3.3. Dyskusja	59

3.3.4. Wnioski	64
3.4. Ocena dokładności wykonania zaplanowanej ablacji <i>HIFU</i>	65
3.4.1. Materiały i metody	65
3.4.2. Wyniki	70
3.4.3. Dyskusja	77
3.4.4. Wnioski	78
4. MODELOWANIE NUMERYCZNE	80
4.0.1. Modele teoretyczne	81
4.1. Eksperymentalna weryfikacja warunków brzegowych źródła fal	83
4.1.1. Materiały i metody	84
4.1.2. Wyniki	87
4.2. Pojedyncza ekspozycja tkanki na wiązkę <i>HIFU</i>	89
4.2.1. Materiały i metody	89
4.2.2. Wyniki	93
4.3. Wielokrotna ekspozycja tkanki na wiązkę <i>HIFU</i>	105
4.3.1. Materiały i metody	105
4.3.2. Wyniki	106
4.4. Optymalizacja czasowa procesu wielokrotnej termoablacji <i>HIFU</i>	110
4.4.1. Materiały i metody	111
4.4.2. Wyniki	116
4.4.3. Dyskusja i wnioski	121
5. PODSUMOWANIE	124
BIBLIOGRAFIA	135

Rozdział 1

WSTĘP

Choroby nowotworowe na świecie stanowią obecnie drugą przyczynę zgonów [1] oraz jeden z najpoważniejszych problemów dla służby zdrowia. Popyt na nowe przeciwnowotworowe terapie, napędzany wzrostem częstości wykrywania nowotworów oraz pojawianiem się skutecznych ale bardzo drogich nowatorskich metod leczenia, stale rośnie. W Polsce koszty onkologiczne w 2019r. wyniosły ok. 10.4 mld złotych [2], co stanowiło 10.7 % wydatków na ochronę zdrowia. Konwencjonalne metody leczenia raka, obejmujące głównie operacje chirurgiczne oraz chemio- i/lub radioterapie, są obarczone różnymi powikłaniami, prowadzącymi do innych chorób lub śmierci, oraz długotrwałym pobytem w szpitalu i okresem rekonwalescencji. Głównym celem nowych metod leczenia jest zmniejszenie kosztów terapii oraz niepożądanych efektów ubocznych. W ostatnich latach zaproponowano kilka nowych przeciwnowotworowych podejść terapeutycznych, a jednym z nich jest technologia wykorzystująca zogniskowane ultradźwięki o dużym natężeniu (*HIFU - High Intensity Focused Ultrasound*). Technika *HIFU* stosowana jest od niedawna w praktyce klinicznej na świecie do termoablacyjnego niszczenia litych nowotworów o wyraźnie zarysowanych granicach, np. raka prostaty, nerek, wątroby, piersi, a także mięśniaków macicy [3]. Przewagą techniki *HIFU* nad innymi metodami leczenia nowotworów jest jej znacząca nieinwazyjność (brak ingerencji chirurgicznej), dzięki czemu ryzyko infekcji jest drastycznie zmniejszone, brak promieniowa-

nia jonizującego, możliwość wielokrotnego powtarzania zabiegu, minimalne powikłania po nim a w konsekwencji znacznie mniejsze koszty leczenia [3].

Kliniczne zastosowania termoablacyjnej techniki *HIFU* były badane w różnych dziedzinach medycyny, m. in. w neurochirurgii, okulistyce, urologii, ginekologii i onkologii [4]–[8]. Wstępne doniesienia wskazują, że zalety tej techniki, a mianowicie: jej nieinwazyjny charakter, zminimalizowany ból dla pacjenta, niskie koszty zabiegu, brak blizn, szybszy powrót do zdrowia, teoretycznie nieograniczona ilość powtarzanych zabiegów oraz brak promieniowania jonizującego, uzasadniają potrzebę dalszych badań nad tą technologią. Stopień zaawansowania badań dotyczących stosowania techniki *HIFU* do termoablacyjnego leczenia litych guzów nowotworowych zlokalizowanych w różnych narządach jest zróżnicowany [9]. Technika *HIFU* posiada także kilka ograniczeń, m.in. kości i gazy są istotną przeszkodą w propagacji fal akustycznych, dlatego, np. nowotwory umiejscowione w płucach nie nadają się do termoablacji ultradźwiękowej. Oprócz tego, ruch oddechowy organów podczas procedury ablacji *HIFU* może prowadzić do niecałkowitego zniszczenia nowotworu. Ograniczeniem jest także mała objętość tkankowa, w której powstaje martwica po pojedynczej ekspozycji na wiązkę *HIFU*, co znacznie wydłuża proces terapii w przypadku nowotworów o rozmiarach istotnie większych od rozmiarów elipsoidalnej objętości ogniska wiązki [4]. Skończona wartość ogniskowej [10] również stanowi ograniczenie głębokości stosowania techniki *HIFU* pod skórą. Podsumowując, technika *HIFU* staje się bezpieczną, skuteczną i korzystną pod różnymi względami technologią leczenia litych guzów nowotworowych i może odegrać istotną rolę w przyszłej praktyce onkologicznej.

1.1. Zasada działania techniki *HIFU*

Podstawowym celem wielu terapeutycznych zastosowań zogniskowanych fal ultradźwiękowych jest nagrzanie leczonej tkanki. Zasada działania techniki *HIFU* polega na szybkim

(< 3 s) nagrzaniu małej objętości wewnątrz tkanki (odzwierciedlającej objętość ogniska wiązki *HIFU*) do temperatury powyżej 56°C, co prowadzi do jej koagulacyjnej martwicy [11] (na skutek absorpcji energii fal ultradźwiękowych oraz kawitacji niszczącej tkankę mechanicznie) nie uszkadzając otaczających tkanek. Jednym z pierwszych udokumentowanych eksperymentów przedstawiających generację ciepła w organizmie było nagrzanie kości kurczaka w 1932 [12] stosując zaproponowany przez P. Langevin'a układ [13]. Przez następne lata opracowywano technikę ogniskowania ultradźwięków i w 1942 roku John G. Lynn i współautorzy [14] wykonali pierwszą ablację tkanki przy pomocy *HIFU*, jednak główne zainteresowanie *HIFU* rozpoczęło się pod koniec lat 80-tych, kiedy to pierwsze urządzenie wykorzystujące zogniskowane ultradźwięki zostało zatwierdzone przez *U.S. Food and Drug Administration - FDA* [15].

Urządzenia ablacyjne *HIFU* stosowane obecnie w praktyce klinicznej dzielą się na pozaustrojowe i doodbytnicze. W urządzeniach pozaustrojowych przetwornik *HIFU* znajduje się poza ciałem pacjenta a ognisko generowanej wiązki *HIFU* wnika do ciała przez skórę jest nacelowane na wnętrze guza zlokalizowanego głęboko pod skórą. Takie urządzenia są stosowane do leczenia nowotworów piersi, wątroby, nerek oraz mięśniaków macicy [9]. Doodbytnicze urządzenia *HIFU* są stosowane do leczenia raka prostaty [16].

Skupienie energii fal ultradźwiękowych o dużym natężeniu w małej lokalnej objętości wewnątrz leczonej tkanki można uzyskać stosując jednoelementowy przetwornik piezoelektryczny w kształcie sferycznej misy o dużej średnicy (od 6 cm do 20 cm) i zbliżonym do niej promieniu krzywizny lub rozmieszczając wiele małych płaskich przetworników na kulistej powierzchni misy [16]. Typowa szerokość wiązki *HIFU* stosowanej do leczenia guzów umiejscowionych w tkankach miękkich waha się w granicach 0.5 mm–3 mm [10], [17], [18] w płaszczyźnie ogniska (dla –6 dB spadku ciśnienia), a długość strefy ogniskowej w granicach 3 mm–15 mm [18]–[20]. Te wielkości zależą od geometrii i parametrów akustycznych (średniej mocy, częstotliwości, czasu trwania generowanych impulsów i współczynnika wypełnienia) stosowanej wiązki, a także akustycznych i termicznych właściwości tkanek przez

które się ona propaguje. Wielkość guzów jest znacznie większa od objętości ogniska wiązki *HIFU*, dlatego aby martwica objęła nowotwór w całości niezbędne jest jego zeskanowanie ogniskiem wiązki *HIFU* po całej objętości.

W urządzeniach *HIFU* starszej generacji skanowanie guza odbywa się przy użyciu wiązki generowanej przez jednoelementowy przetwornik (ze stałą ogniskową oraz wielkością ogniska) przesuwany mechanicznie za pomocą układu precyzyjnego pozycjonowania. Takie urządzenia zazwyczaj są stosowane do badań laboratoryjnych ze względu na prostotę i mały koszt rozwiązania.

Dzięki rozwojowi w dziedzinie elektroniki oraz technologii wytwarzania wieloelementowych przetworników piezoelektrycznych stała się możliwa budowa urządzeń *HIFU* nowszej generacji, w których ogniskowanie i skanowanie wiązki odbywa się poprzez elektroniczne sterowanie amplitudą i fazą impulsów pobudzających każdy element przetwornika osobno. Wieloelementowe głowice fazowe zapewniają szybsze przesuwanie ogniska wiązki *HIFU* w obrębie guza i dają większe możliwości regulacji jego geometrycznych wymiarów poprzez jednoczesne tworzenie wielu ognisk [16].

Zmiany martwicze indukowane w guzie po wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU*, mogą nachodzić na siebie lub być rozdzielone. Konieczność pokrycia nekrozą całej objętości guza wymaga zastosowania poprawnie dobranych parametrów akustycznych, m.in. natężenia wiązki w ognisku oraz odstępu przestrzennego i czasowego pomiędzy ekspozycjami podczas skanowania.

Wybór optymalnej częstotliwości wiązki *HIFU* zależy od specyfiki leczonego narządu i stanowi kompromis pomiędzy głębokością umiejscowienia nowotworu pod skórą a pożądaną szybkością wzrostu temperatury. Wykazano [21], że do lokalnego nagrzania guzów usadowionych głęboko w tkankach miękkich najbardziej nadają się fale o częstotliwości zbliżonej do 1 MHz, natomiast do leczenia guzów umiejscowionych blisko powierzchni przetwornika (np. rak prostaty) stosowane są wyższe częstotliwości (np. 4 MHz) [22]. Do leczenia głęboko umiejscowionych guzów, gdy na drodze propagacji fal znajdują się silnie tłumiące tkanki

(np. w przezczaszkowej terapii ablacyjnej guzów mózgu), stosuje się niższe częstotliwości (ok. 0.6 MHz) [23], [24].

Jak już wspomniano wyżej przetworniki *HIFU* w pozaustrojowych urządzeniach mają duże pole powierzchni promieniowania, a stosunek ich średnicy do promienia krzywizny jest zbliżony do 1 lub mniejszy. Zaletą takich przetworników jest to, że generowana przez nich zogniskowana wiązka wnika w głąb ciała przechodząc przez wystarczająco dużą powierzchnię skóry, co znacząco zmniejsza jej natężenie, minimalizując możliwość doprowadzenia do poparzenia skóry. Jako ośrodek dopasowujący impedancje przetwornika *HIFU* i tkanki służy zazwyczaj woda, która jednocześnie jest ośrodkiem chłodzącym. Monitorowanie i kontrolowanie procesu formowania się nekrozy w tkance odbywa się za pomocą jednej z dwóch technik obrazowania: USG (ultrasonografia) lub MR (rezonans magnetyczny).

W Zakładzie Ultradźwięków Instytutu Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk opracowano, zaprojektowano i zbudowano zrobotyzowane, naprowadzane obrazowaniem USG urządzenie ablacyjne wykorzystujące *HIFU* do termicznego niszczenia litych guzów u małych zwierząt i służące do badań przedklinicznych. Urządzenie to zostało opatentowane [25]. Jednak zanim to urządzenie mogło być zastosowane do eksperymentów na zwierzętach niezbędne były badania na próbkach tkanek *ex vivo* w celu doboru optymalnego natężenia wiązki *HIFU* w ognisku, zdolnego doprowadzić do koagulacyjnej nekrozy małej objętości wewnątrz badanej tkanki w czasie ekspozycji krótszym niż 3 s. Oprócz tego, niezbędne były badania zależności rozległości formowanej nekrotycznej zmiany od innych akustycznych parametrów impulsowej wiązki o wybranym natężeniu (częstotliwości, czasu trwania i współczynnika wypełnienia) w celu doboru planu terapii. Właściwe dobranie tych parametrów skutkuje "zlewaniem się" nekroz wywołanych pojedynczymi ekspozycjami i prowadzi do objęcia nekrozą całej leczonej objętości wewnątrz tkanki.

1.2. Modelowanie numeryczne terapii *HIFU*

Podobnie jak w przypadku innych terapii przeciwnowotworowych predykcja skutków biologicznych indukowanych w tkance eksponowanej na wiązkę *HIFU* o zadanej geometrii i parametrach akustycznych (mocy, częstotliwości) jest kluczowa dla bezpiecznego i skutecznego przeprowadzenia termoablacji *HIFU*. Głównym efektem biologicznym do przewidzenia jest lokalizacja i rozległość koagulacyjnej nekrozy powstałej pod wpływem wzrostu temperatury w lokalnej objętości tkankowej. Można tego dokonać poprzez numeryczne modelowanie propagacji fali akustycznej o dużym natężeniu generowanej przez przetwornik *HIFU* [26]–[31]. W ośrodkach tłumiących o zadanej absorpcji rozkład ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* można przekształcić w rozkład gęstości mocy źródeł ciepła będący parametrem wejściowym numerycznego modelu transportu ciepła i przyrostu temperatury w tkance. Znajomość rozkładu temperatury w czasie pozwala wyznaczyć wielkość dawki termicznej. Dawkę równą lub większą od wartości progowej przyjmuje się za skutkującą koagulacją białek [32], [33].

Przez wiele lat pojawiło się kilka symulatorów numerycznych propagacji fali akustycznej w ośrodkach biologicznych z czego obecnie jednymi z najbardziej popularnych jest *Field II* [34] oraz *k-wave* [35]. Model *Field II* znajduje zastosowanie głównie w tematyce związanej z obrazowaniem ultradźwiękowym tkanek, gdyż nie umożliwia on obliczenia rozkładu ciśnienia akustycznego generowanego przez przetwornik ogniskujący w ośrodkach dwu- lub więcej warstwowych (np. woda-tkanka) oraz nie symuluje zjawisk nieliniowych, co jest kluczowe w przypadku symulacji termoablacji *HIFU*. Natomiast narzędzie *k-wave* umożliwia zadanie dowolnych parametrów materiałowych w każdym węźle siatki oraz symuluje generację fal harmonicznym związanych ze zjawiskami nieliniowymi. Dodatkowo, model *k-wave* umożliwia rozwiązanie równania przewodnictwa cieplnego, co pozwala na wyznaczenie rozkładu temperatury w czasie i przestrzeni, a więc i rozkładu dawki termicznej w symulowanej przestrzeni.

W związku z rosnącym zainteresowaniem w ostatnich 30 latach tematyką termoablacji *HIFU* zostały stworzone także inne modele umożliwiające wyznaczenie rozkładów pól

akustycznych lub termicznych w tkankach, szczególnie w przypadku generacji zogniskowanych fal ultradźwiękowych o dużym natężeniu. Jednym z przykładów jest narzędzie *HITU Simulator* [36] pozwalające na symulację propagacji fali akustycznej generowanej przez osiowo-symetryczny przetwornik poprzez rozwiązanie w dziedzinie częstotliwości szerokokątnego równania KZK (*wide-angle Khoklov-Zabolotkaya-Kuznetsov*) oraz wyznaczenie rozkładu przestrzenno-czasowego temperatury i dawki termicznej w wyniku rozwiązania równania przewodnictwa cieplnego. Wspomniane oprogramowanie nie umożliwia jednak modelowanie w 3D, co znacząco ogranicza jego zastosowanie w przypadku rzeczywistych niejednorodnych struktur tkankowych występujących u pacjenta bądź zwierzęcia.

Innym przykładem jest narzędzie *HIFU beam* stworzone w 2021r. [37]. *HIFU beam* jest darmowym oprogramowaniem do modelowania nieliniowych, osiowo-symetrycznych zogniskowanych wiązek ultradźwiękowych z uwzględnieniem możliwości powstawania tzw. frontów uderzeniowych (*shock fronts*). Wspomniany program nie umożliwia rozwiązania równania przewodnictwa cieplnego, a więc wyznaczenia rozkładów przestrzenno-czasowych temperatury oraz, podobnie jak *HITU simulator*, nie wspiera symulacji w 3D.

Zweryfikowane eksperymentalnie narzędzie numeryczne do przewidywania lokalizacji i rozległości efektów biologicznych na skutek ekspozycji tkanki na wiązkę *HIFU* o różnych parametrach akustycznych usprawniłoby proces planowania terapii ablacyjnej oraz umożliwiło optymalizację tego procesu. W pracy [38] zasymulowano ablację *HIFU* w wątrobie świni i porównano wyznaczoną w symulacji temperaturę do wyniku eksperymentalnego zmierzonego termoparą w wątrobie zwierzęcia. Pomimo zgodności wyników należy zauważyć, że pomiar termoparą obarczony był dużą niepewnością $\pm 10^{\circ}\text{C}$, został wykonany tylko raz (nie powtórzono eksperymentu) oraz nie porównano rozmiarów uzyskanej zmiany nekrotycznej z tą przewidywaną numerycznie.

W innej pracy [39] autorzy porównali rozmiary zmiany nekrotycznej powstałej po pojedynczej ekspozycji króliczej wątroby na wiązkę *HIFU* z rozmiarami przewidywanej numerycznie zmiany martwiczej. Autorzy wykorzystali narzędzie *k-wave* i uzyskali dobrą zgodność

między ich modelem a wynikami eksperymentalnymi, jednak w przypadku wykonywania kilku, obok siebie ekspozycji na wiązkę *HIFU* zgodność ta była niewystarczająca.

Suomi i współpracownicy [26] w 2018r. opublikowali badania, w których zamodelowali rozkład ciśnienia akustycznego, temperatury i zmiany nekrotycznej u pacjentów po ablacji *HIFU* raka nerek na podstawie ich rzeczywistych obrazów tomografii komputerowej. Autorzy na podstawie modelu znaleźli prawdopodobną przyczynę niepowodzenia terapii - ze względu na otyłość pacjenta wiązka *HIFU* została częściowo rozproszona przez co nie doszło do ablacji tkanki nowotworowej. Zweryfikowany model numeryczny termoablacji *HIFU* umożliwiający predykcję lokalizacji i rozmiarów utworzonej zmiany nekrotycznej mógłby zostać wykorzystany, podobnie jak w [26], do uwidocznienia takich problemów jak, np. niewyraźne ognisko wiązki, występujące podczas terapii u otyłych pacjentów.

Jak już wcześniej wspomniano, nowotwory zazwyczaj są większe od pojedynczej zmiany nekrotycznej indukowanej wiązką *HIFU*, dlatego konieczna jest wielokrotna ekspozycja tkanki na falę ultradźwiękową tak, aby objąć martwicą cały nowotwór. Ze względu na to, że pomiędzy każdą sonikacją należy zachować odstęp czasowy konieczny do ostygnięcia tkanki, terapia ablacyjna *HIFU* znacznie się wydłuża, a czas pasywnego chłodzenia tkanki wynosi średnio 80% czasu terapii, np. w przypadku ablacji mięśniaków macicy [40]. Skrócenie czasu terapii z kilku godzin [41] do kilkunastu minut poprzez jej czasową i przestrzenną optymalizację zwiększyłoby komfort pacjenta oraz umożliwiło wykonanie większej ilości zabiegów.

W pracy [42] autorzy zaproponowali skrócenie czasu terapii poprzez zmianę planu przestrzennego środków nekrozy z liniowego na spiralny oraz zastosowanie zerowego odstępu czasowego pomiędzy sonikacjami przy jednoczesnej zmianie czasu sonikacji w schemacie np. 10 s, 5 s, 10 s, 5 s, itd. Czas symulowanej terapii został skrócony o co najmniej 50% oraz uzyskano wysoką skuteczność objęcia nekrozą zaplanowanej do leczenia objętości wewnątrz tkanki.

W innej pracy z 2021r. [43] została zaproponowana kolejność sonikacji bazująca na mak-

symalizacji odległości pomiędzy kolejnymi sonikacjami w celu minimalizacji czasu stygnięcia tkanki, a więc i ablacji *HIFU*. Autorzy w symulacjach numerycznych ablacji *HIFU* modulowali moc wiązki według wzoru $1 - \frac{1}{N-(i-1)}$, gdzie N to liczba sonikacji, a i to wybrany w kolejności punkt sonikacji. W efekcie czas terapii ablacyjnej został skrócony o ok. 10%.

1.3. Cel i motywacja

Teza: możliwe jest znaczne skrócenie czasu trwania procedury ablacyjnej wymagającej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* poprzez numeryczną predykcję lokalizacji i rozległości zmian nekrotycznych w tkankach *ex vivo* oraz czasową optymalizację planu terapii.

Celem tej pracy było opracowanie metody predykcji numerycznej i optymalizacji planu terapii ablacyjnej *HIFU* oraz jej weryfikacja eksperymentalna na próbkach tkanek *ex vivo*. Wyniki weryfikacji pozwolą na zaplanowanie bezpiecznej i skutecznej terapii ablacyjnej *HIFU* do termicznego niszczenia litych nowotworów wszczepionych małym zwierzętom podczas badań przedklinicznych. Skróci to czas terapii poprzez jej optymalizację czasową oraz umożliwi prognozowanie skutków terapii poprzez symulacje numeryczne minimalizując w ten sposób konieczność wykonywania czasochłonnych badań *ex vivo*. Otrzymane wyniki badań będą także pomocne w testowaniu nowych leków przeciwnowotworowych dostarczanych do guzów w termoczulych liposomach i uwalnianych w warunkach hipertermii wywołanej wiązkami zogniskowanych ultradźwięków o właściwie dobranych parametrach akustycznych.

Rozdział 2

CZEŚĆ TEORETYCZNA

2.1. Propagacja fal ultradźwiękowych w ośrodkach bezstratnych

Ultradźwiękami nazywamy drgania mechaniczne cząstek ośrodka wokół położenia równowagi tworzące ruch falowy o częstotliwości $f > 20$ kHz, innymi słowy są to zaburzenia gęstości i ciśnienia rozchodzące się w ośrodku sprężystym. Fale ultradźwiękowe nie są słyszalne dla człowieka i są wykorzystywane m.in. w medycynie w celach zarówno diagnostycznych jak i terapeutycznych. Charakterystyczne wielkości stosowane do opisu fal ultradźwiękowych [11], [44]:

- częstotliwość (f) i pulsacja ($\omega = 2\pi f$),
- prędkość propagacji (c),
- prędkość drgania cząstki ośrodka wokół położenia równowagi, czyli prędkość akustyczna ($\mathbf{u}(\mathbf{x}, t)$),
- długość fali ($\lambda = \frac{c}{f}$) i liczba falowa ($k = \frac{\omega}{c}$),
- ciśnienie akustyczne (p),

- gęstość ośrodka (ρ),
- impedancja akustyczna - $Z = \rho c$.

Stosując powyższe zmienne propagację fali akustycznej o niewielkiej amplitudzie w jednorodnym i bezstratnym ośrodku można opisać przy wykorzystaniu następujących równań różniczkowych cząstkowych pierwszego rzędu [11], [45]:

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} = -\frac{1}{\rho_0} \nabla p \quad (2.1)$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = -\rho_0 \nabla \cdot \mathbf{u} \quad (2.2)$$

$$p = c^2 \rho \quad (2.3)$$

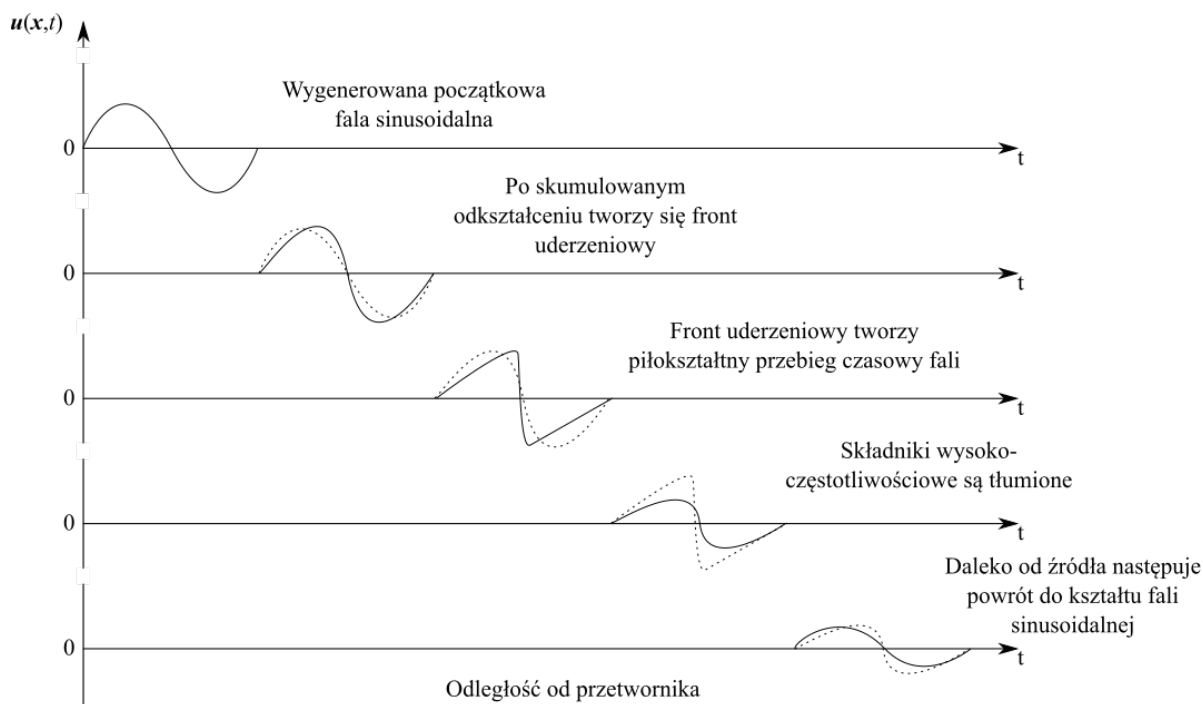
gdzie ρ_0 - gęstość ośrodka w stanie równowagi. Równania te można zapisać w formie równania różniczkowego cząstkowego drugiego rzędu, zwanego równaniem falowym:

$$\nabla^2 p - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0 \quad (2.4)$$

2.2. Rozchodzenie się fal akustycznych w tkankach

Jak wspomniano wyżej, równanie (2.4) opisuje propagację płaskiej fali akustycznej o niewielkiej amplitudzie w bezstratnym ośrodku, natomiast zogniskowane ultradźwięki o dużym natężeniu rozchodzące się w ośrodkach tłumiących, jakimi są tkanki, charakteryzują się dużą amplitudą ciśnienia akustycznego (szczególnie w ognisku wiązki) oraz generacją ciepła w objętości ogniska na skutek absorpcji energii fali przez ośrodek nieliniowy. Z tego powodu konieczne jest uwzględnienie w równaniach (2.1), (2.2) oraz (2.3) czynników związanych z efektami nieliniowymi oraz absorpcją fal harmonicznymi, które są istotne w przypadku propagacji fal o skończonej amplitudzie ciśnienia akustycznego.

Głównym efektem nieliniowym uwzględnianym w opisie teoretycznym propagacji fal *HIFU* w ośrodku stratnym jest powstawanie tzw. fali uderzeniowej (ang. *shock wave*). Proces ten polega na przekształceniu się frontu falowego z sinusoidalnego w zbliżony do piło-kształtnego (Rys. 2.1). Związane jest to z lokalnie zwiększoną prędkością dźwięku w obszarze sprężenia i lokalnie zmniejszoną prędkością dźwięku (w stosunku do stanu, w którym nie propaguje się żadna fala) w obszarze rozprężenia ośrodka propagacji.



Rys. 2.1. Schemat procesu powstawania fali uderzeniowej w odległości szoku [11].

Propagującą się falę uderzeniową o piłokształtnym przebiegu czasowym można opisać szeregiem Fourier'a składającym się z funkcji sinusoidalnej o częstotliwości podstawowej generowanej fali ($f = f_0$) oraz z funkcji sinusoidalnych o częstotliwościach harmonicznych $f = n f_0$, gdzie n jest liczbą naturalną. Wyższe częstotliwości widma fali uderzeniowej propagującej się w tkance są tłumione bardziej niż niższe częstotliwości, co opisuje równanie (2.5) [11], [44]. Dlatego daleko od źródła fala powraca do kształtu sinusoidy.

$$\alpha(f) = \alpha_0 f^y \quad (2.5)$$

gdzie α_0 - współczynnik tłumienia ośrodka propagacji, y - wykładnik potęgi będący stałą materiałową.

Tłumienie fali akustycznej składa się głównie z dwóch składowych: absorpcyjnej oraz rozproszeniowej. W przypadku propagacji tej fali w tkance miękkiej człon absorpcyjny jest dominujący, dlatego dla obliczeń ciepła indukowanego przez wiązkę *HIFU* przyjmuje się wartość współczynnika absorpcji tkanki w przybliżeniu równą wartości współczynnika jej tłumienia [11].

2.2.1. Kawitacja

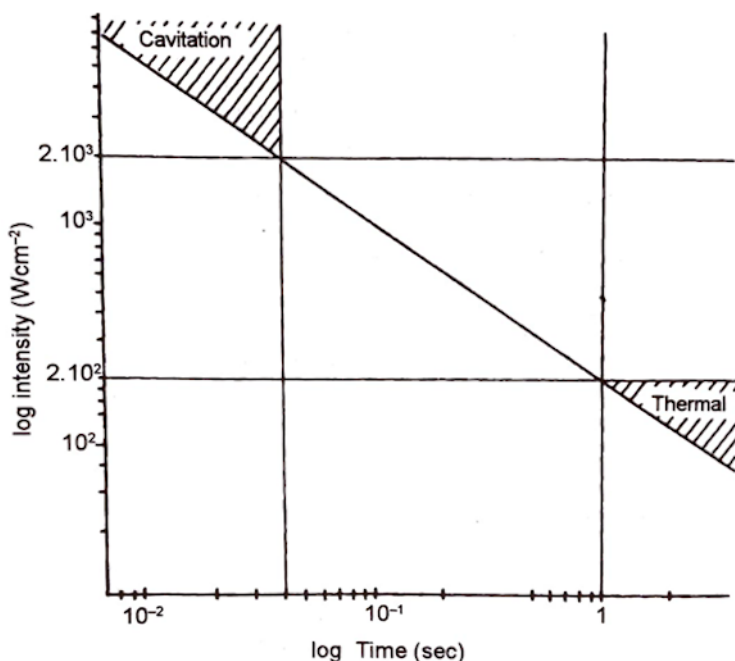
Wraz z rosnącą amplitudą ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* rośnie prawdopodobieństwo występowania zjawisk kawitacyjnych, a w szczególności kawitacji inercyjnej [11], [46]. Kawitację w rozpatrywanym przypadku można zdefiniować jako powstawanie i drganie mikropęcherzyków ($\approx 1 \mu\text{m}$) wypełnionych gazem lub parą w tkance eksponowanej na fale ultradźwiękowe. Mikropęcherzyki mogą powstawać w fazie rozprężenia fali na skutek powstania lokalnego ujemnego ciśnienia wewnątrz tkanki. Spadek lokalnego ciśnienia powoduje przejście wody zawartej w tkance z fazy ciekłej do parowej [44]. Rozróżnia się dwa rodzaje kawitacji tkankowej: wspomnianą powyżej inercyjną i nieinercyjną.

Kawitacja nieinercyjna (stabilna) definiowana jest jako ciągłe i o skończonej amplitudzie zmiany rozmiarów pęcherzyków gazu wywołane zmiennym ciśnieniem akustycznym propagującej się fali. Tego typu zmiany prowadzą m.in. do zwiększenia przepuszczalności błon komórkowych [11].

Kawitacja inercyjna (niestabilna) występuje w warunkach, gdy amplituda ujemnego ciśnienia propagującej się fali jest wystarczająco duża by spowodować gwałtowne zapadnięcie się oscylującego pęcherzyka. W konsekwencji powstaje lokalna fala uderzeniowa indukująca

wysoką temperaturę (do 5000 K w roztworze wodnym w centrum implozji pęcherzyka [47]), która prowadzi do formowania zmiany nekrotycznej. W niektórych przypadkach kawitacja inercyjna może prowadzić do mechanicznego rozdrobnienia ("homogenizacji") tkanki. Technika mechanicznego niszczenia tkanek wywołanego nietermicznym mechanizmem kawitacji inercyjnej jest znana jako histotrypsja (ang. *histotrypsy*) [11], [48].

Wpływ kawitacji na proces termoablacji wywołanej przez *HIFU* można minimalizować poprzez dobór natężenia w ognisku wiązki oraz czasu ekspozycji tkanki na podstawie zależności wyznaczonej w publikacji [11] i przedstawionej na Rys. 2.2.



Rys. 2.2. Zależność natężenia w ognisku wiązki *HIFU* od czasu ekspozycji tkanki [11].

2.3. Transport ciepła w tkance

Część energii transportowanej przez falę ultradźwiękową jest przekształcana w energię ciepłą, jeśli fala propaguje się w ośrodku lepkim. Tkanki miękkie są ośrodkami lepkosprężystymi [49], czyli spełniają powyższy warunek transportu ciepła. Samo ciepło jest zaś generowane,

ponieważ propagująca się fala w ośrodku biologicznym powoduje, na poziomie molekularnym lub makromolekularnym, drgania bądź rotacje cząsteczek lub ich części, co w efekcie zwiększa średnią energię kinetyczną cząsteczek zwiększając temperaturę ośrodka. Stąd możemy powiedzieć, że fala akustyczna propagująca się w tkance może być źródłem ciepła.

Szybkość generowania ciepła w jednostce objętości można obliczyć ze wzoru:

$$\dot{Q} = \alpha I, \quad (2.6)$$

gdzie I - natężenie fali akustycznej, α - współczynnik tłumienia ośrodka propagacji fali [11].

2.4. Równanie przewodnictwa cieplnego

Od szybkości generacji ciepła w tkance wywołanego przez falę ultradźwiękową (równanie 2.6) zależy jego transport oraz przyrost temperatury. Proces ten można opisać następującym wzorem [50]:

$$\rho_0 C_t \frac{\partial T}{\partial t} = k \nabla^2 T - W_b C_b (T - T_b) + [G(T - T_b)^2 f(t)] + \dot{Q}, \quad (2.7)$$

gdzie C_t - ciepło właściwe tkanki, T - temperatura, k - współczynnik przewodnictwa cieplnego tkanki, W_b - współczynnik perfuzji krwi, C_b - ciepło właściwe krwi, T_b - temperatura krwi, G - stała, $f(t)$ - funkcja zależna od czasu, która uwzględnia, na przykład, dodatkowe chłodzenie związane z rozszerzaniem się naczyń krwionośnych. Człon $W_b C_b (T - T_b) + [G(T - T_b)^2 f(t)]$ uwzględnia chłodzenie tkanki na skutek przepływu krwi odprowadzającej ciepło.

Rozwiązując równanie (2.7) wyznaczamy przybliżony przestrzenno-czasowy rozkład temperatury w tkance podczas procesu termoablacji *HIFU*, a także podczas procesu chłodzenia po ablacji zakładając $\dot{Q} = 0$. Należy jednak zwrócić uwagę, że źródła ciepła związane są przede wszystkim ze zjawiskiem absorpcji fali akustycznej. Inne mechanizmy (związane

głównie z kawitacją) są pominięte. Z tego powodu powyższe równanie najlepiej opisuje proces ablacji *HIFU* wywołany głównie mechanizmem termicznym.

Stopień uszkodzenia tkanek podczas procesu termoablacji *HIFU* można oszacować poprzez obliczenie dawki cieplnej zdefiniowanej jako równowartość czasową przebywania tkanki w temperaturze 43°C (CEM_{43}). Wspomniana dawka jest obliczana z następującego wzoru [32]:

$$CEM_{43} = \int_{t_1}^{t_2} R^{(43-T)} dt, \quad (2.8)$$

gdzie $R = 0.5$ dla $T \geq 43^\circ\text{C}$ i $R = 0.25$ dla $37^\circ\text{C} < T < 43^\circ\text{C}$. Jako granicę nieodwracalnych uszkodzeń tkanki przyjmuje się $CEM_{43} = 240$ min [33]. Wartość ta może się jednak różnić w zakresie 120 – 240 min w zależności od rodzaju tkanki [51].

Główną przyczyną tworzenia się nieodwracalnych uszkodzeń tkanki jest jej koagulacja na skutek denaturacji białek komórkowych. Proces ten polega na zmianie struktury białka pod wpływem wysokiej temperatury, co prowadzi do zaniku aktywności biologicznej białka. W efekcie tkanka poddana koagulacji wywołanej wiązką *HIFU* przypomina wyglądem odbarwioną tkankę. Margines pomiędzy uszkodzoną (poddaną nekrozie) a nieuszkodzoną tkanką wynosi kilkadziesiąt mikrometrów [11]. Dodatkowo, część komórek z marginesu w ciągu ok. 2-3 dni umiera z powodu wejścia m.in. w stan apoptozy ("programowalnej śmierci komórki") [3].

Rozdział 3

BADANIA EKSPERYMENTALNE

Dokładne i bezpieczne przeprowadzenie termoablacji na żywych tkankach eksponowanych na wiązki *HIFU* wymaga przeprowadzenia najpierw badań na tkankach *ex vivo* w celu wyznaczenia:

- progowej mocy akustycznej wiązki *HIFU* zdolnej doprowadzić do lokalnego wzrostu temperatury do 56°C i koagulacji tkanki *ex vivo* w ciągu 3 s oraz czasu termicznej relaksacji tkanki,
- zależności lokalizacji i rozległości zmiany nekrotycznej powstałej w próbce badanej tkanki od akustycznych parametrów wiązki *HIFU*,
- zgodności wielkości powstałych zmian nekrotycznych z zaplanowaną do leczenia objętością tkankową.

3.1. Lokalny przyrost temperatury w tkance *ex vivo*

Celem badań lokalnego przyrostu temperatury w czasie było wyznaczenie progowej mocy akustycznej wiązki *HIFU* zdolnej wywołać w tkance *ex vivo* lokalny wzrost temperatury prowadzący do jej koagulacyjnej nekrozy w ciągu 3 sekund oraz wyznaczenie czasu relaksacji

temperaturowej tkanki. Uzyskane dane są niezbędne dla zminimalizowania dawki termicznej tak, aby uzyskać zakładany efekt terapeutyczny - lokalną nekrozę wewnątrz tkanki - unikając nadmiernego wzrostu temperatury w leczonej objętości tkankowej i uszkodzenia otaczających ją tkanek.

3.1.1. Materiały i metody

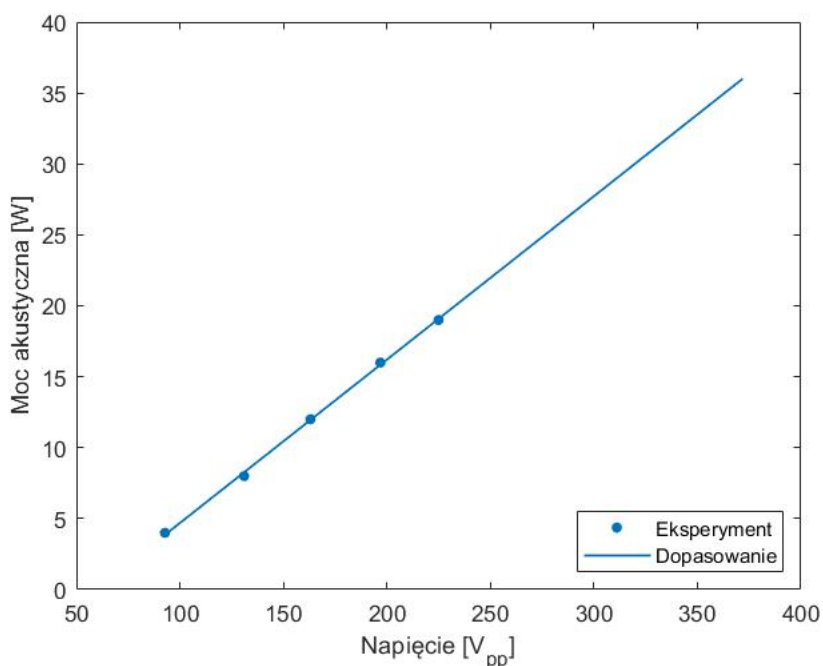
Przetwornik *HIFU*

W eksperymentach jako źródła generującego wiązki *HIFU* użyto głowicy H101 firmy Sonic Concepts Inc (Bothell, WA, USA). Jest to jednoelementowa głowica z przetwornikiem piezoceramicznym w kształcie sferycznej miski o efektywnej średnicy 64 mm i ogniskowej 62.6 mm. Wzmocnienie ogniskowe głowicy będące stosunkiem ogniskowej do efektywnej średnicy, wynosi ok. 0.98. Częstotliwość rezonansowa tego przetwornika wynosi 1.05 MHz. Przetwornik został podłączony do 50 Ω układu dopasowującego. Poglądowe zdjęcie głowicy H101 przedstawiono na Rys. 3.1.



Rys. 3.1. Głowica H101 do generowania wiązki *HIFU* [źródło: sonicconcepts.com].

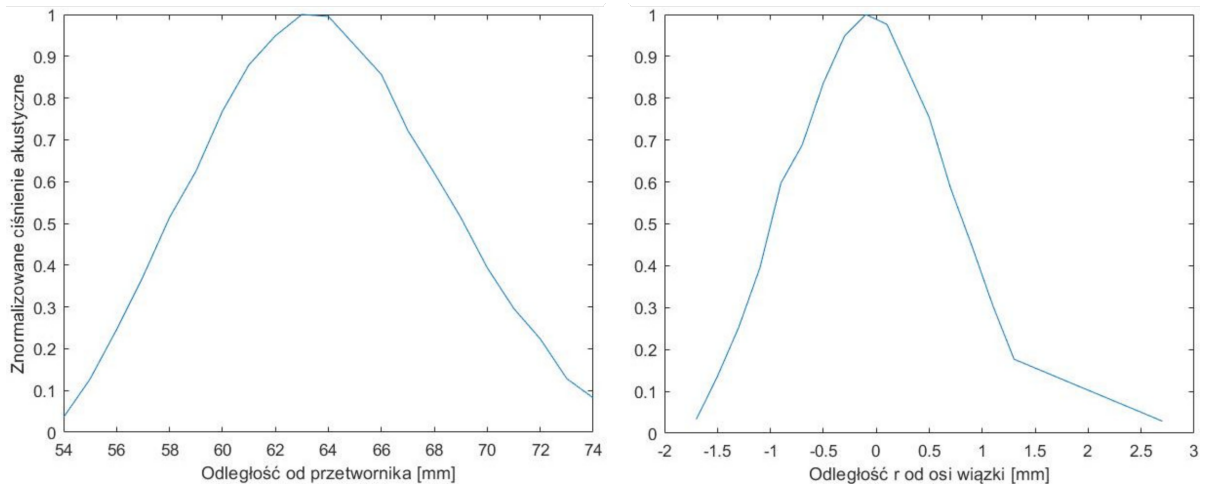
Za pomocą ultradźwiękowego miernika mocy UPMDT1E (Ohmic Instruments, St. Charles, MO, USA) została zmierzona charakterystyka mocy akustycznej generowanej przez przetwornik względem napięcia jego pobudzenia (Rys. 3.2). Do otrzymanych wyników pomiarów metodą najmniejszych kwadratów dopasowano linię prostą, która została ekstrapolowana dla wyższych wartości napięcia pobudzenia zakładając liniowość charakterystyki przetwornika. Założenie to zostało potwierdzone przez producenta przetwornika. Dzięki temu możliwe było dokładne kontrolowanie mocy akustycznej generowanej wiązki *HIFU* sterując napięciem pobudzenia przetwornika. Niepewność pomiaru mocy mieściła się w granicach ± 0.5 W.



Rys. 3.2. Zależność średniej mocy akustycznej wiązki generowanej przez przetwornik H101 od napięcia jego pobudzenia.

Następnie został zmierzony osiowy rozkład ciśnienia w wiązce *HIFU* generowanej przez przetwornik H101 w wodzie oraz rozkład promieniowy w płaszczyźnie ogniska. Pomiarów zostały wykonane za pomocą hydrofonu igłowego o średnicy 0.075 mm (Precision Acoustics Ltd, Dorchester, Wielka Brytania). Oba znormalizowane rozkłady zostały przedstawione na Rys. 3.3. Dla bezpieczeństwa hydrofonu rozkłady ciśnienia w wodzie mierzono dla impulso-

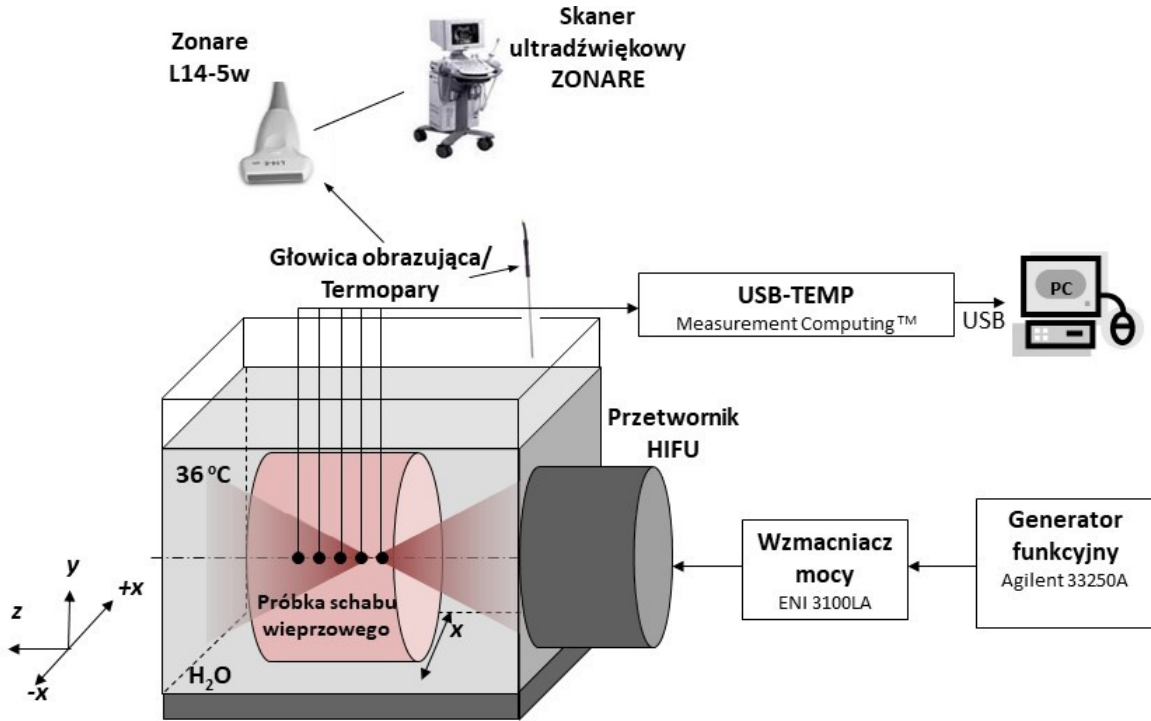
wej wiązki *HIFU* o małej mocy akustycznej (16 W) wyznaczonej dla 20 % współczynnika wypełnienia *DC* (*duty-cycle* 0.2). Aby wygenerować wiązki o takiej mocy międzyszczytowe napięcie pobudzenia przetwornika wynosiło 210 V_{pp}. Na podstawie wykresów przedstawionych na Rys. 3.3 wyznaczono wielkość elipsoidalnej objętości ogniskowej wiązki dla -6 dB spadku ciśnienia (*Full width at half maximum*). Długość elipsoidy wyniosła 11 mm a średnica 1.8 mm.



Rys. 3.3. Zmierzony osiowy (po lewej) i poprzeczny - w płaszczyźnie ogniska - (po prawej) rozkład ciśnienia akustycznego w 16 W wiązce *HIFU* generowanej przez przetwornik H101 w wodzie.

Pomiar przyrostów temperatury w tkance

Schemat blokowy stosowanego układu pomiarowego został przedstawiony na Rys. 3.4.



Rys. 3.4. Schemat blokowy układu eksperymentalnego do pomiaru przyrostów temperatury w tkance *ex vivo* podczas jej ekspozycji na wiązkę *HIFU*. Termopary rozmieszczone wzdłuż osi wiązki.

Jak widać z Rys. 3.4 próbka tkankowa umieszczona w cylindrycznej komorze została zanurzona w demineralizowanej wodzie o temperaturze 36°C wypełniającej zbiornik wodny. Przetwornik *HIFU* został zainstalowany w bocznej ścianie zbiornika. Komora tkankowa została umieszczona w odległości 50 mm od środka przetwornika. Konstrukcja zbiornika zapewniała współosiowość przetwornika i komory tkankowej. Przetwornik *HIFU* posiadał niestandardowy układ dopasowujący i był pobudzany sinusoidalnymi impulsami, generowanymi przez generator funkcyjny Agilent 33250A (Colorado Springs, USA) i wzmacnianymi przez wzmacniacz mocy ENI 3100LA (55 dB) (Rochester, New York, USA).

Przygotowanie próbki tkankowej

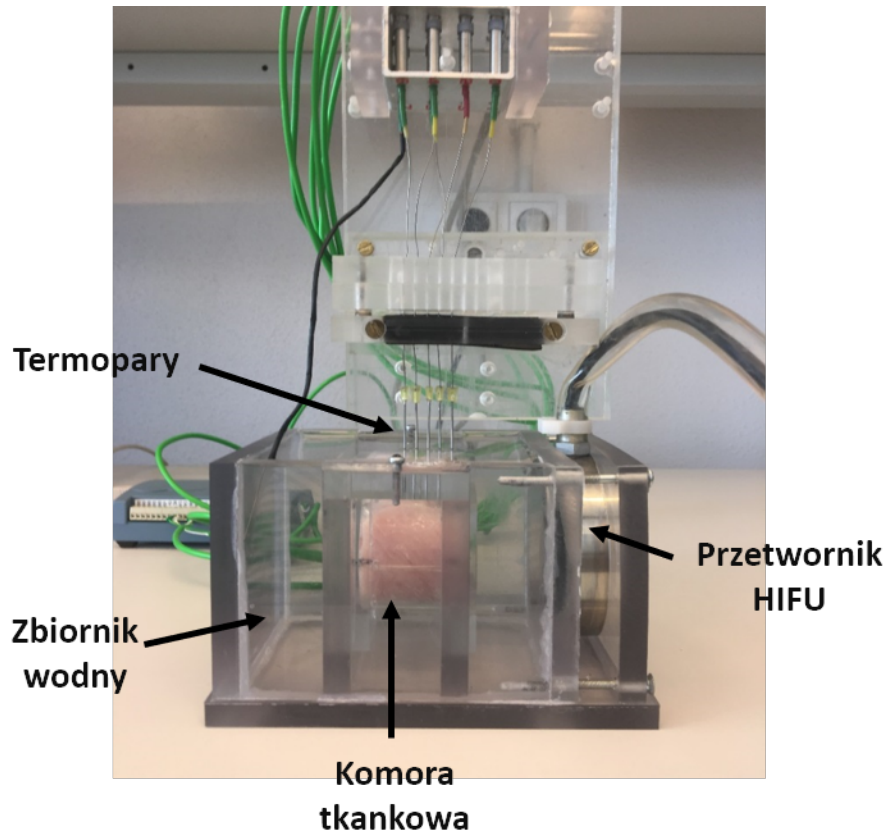
Każda próbka tkankowa została przygotowana z kawałka świeżego schabu wieprzowego zakupionego na bazarze u lokalnego rzeźnika. Dla zbadania wpływu każdego parametru sonikacji na wielkość formowanej zmiany nekrotycznej próbki były przygotowywane z tego samego kawałka schabu. Każda próbka została wycięta nożem cylindrycznym, odgazowana i włożona do komory cylindrycznej o średnicy wewnętrznej 43.5 mm i wysokości 40 mm. Następnie została ona zabezpieczona cienką (20 μm) naciągniętą z obu stron folią, zapobiegającą jej przemieszczaniu się i przezroczystą dla ultradźwięków. Komora wraz z tkanką była zanurzona w zbiorniku wypełnionym wodą o temperaturze 36°C w odległości 50 mm od przetwornika *HIFU*. W tej odległości geometryczne ognisko wiązki *HIFU* znajdowało się na głębokości 12.6 mm pod powierzchnią tkanki.

Pomiar temperatury

Przed każdą sonikacją temperatura wewnątrz próbki tkankowej była kontrolowana za pomocą termopar umieszczonych wzdłuż osi akustycznej wiązki *HIFU*. Końcówki termopar mogły być umieszczone w tkance na osi wiązki *HIFU* dzięki 1-mm otworom na pokrywie zbiornika wodnego służącym do wkładania 0.9-mm igieł strzykawkowych oraz dzięki podłużnemu prostokątnemu otworowi w komorze tkankowej przez który igły przebijały się do tkanki. Przez igły strzykawkowe pięć termopar TP-201 (Czaki Thermo-Product, Raszyn, Poland) o średnicy 0.5 mm umieszczano w tkance na osi wiązki *HIFU*. Przed sonikacją igły były podnoszone poza zbiornik wodny aby uniknąć błędów pomiarowych. Odległość między termoparami wynosiła 5 mm, a pierwsza termopara umiejscowiona była na głębokości 5 mm pod powierzchnią próbki.

Termopary podłączone były do urządzenia USB-TEMP (Measurement Computing, Norton, USA) skomunikowanego z komputerem. Rejestracja i monitorowanie przyrostów temperatury w czasie odbywała się za pomocą oprogramowania Tracer DAQ (Micro-DAQ.com

Ltd, Contoocook, NH, USA). Częstotliwość próbkowania zapisu temperatury wynosiła ok. 1.5 Hz i wynikała z ograniczeń sprzętowych. Zdjęcie akustyczno-mechanicznej części układu pomiarowego zostało przedstawione na Rys. 3.5.



Rys. 3.5. Zdjęcie akustyczno-mechanicznej części układu eksperymentalnego do pomiaru przyrostów temperatury w tkance *ex vivo* podczas jej ekspozycji na wiązkę *HIFU*.

Za pomocą termopar zostały zarejestrowane zmiany temperatury w badanej tkance przed, podczas i po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU*. Próbka była eksponowana na impulsową wiązkę *HIFU* o średniej mocy akustycznej zmienianej od 24 W do 36 W co 4 W i zmierzonej dla 20 % współczynnika wypełnienia. Dla tych mocy przewidywane z obliczeń numerycznych natężenie wiązki I_{SPTA} (szczytowe w przestrzeni i uśrednione w czasie) w tkance w płaszczyźnie ogniska wyniosło odpowiednio 1164 W/cm², 1450 W/cm², 1760 W/cm², 2096 W/cm².

W celu zwiększenia ilości danych statystycznych zbieranych z badanej tkanki każda prób-

ka tkankowa była eksponowana na 4 równoległe wiązki *HIFU* poprzez przesuwanie komory tkankowej w poprzek jej osi w lewo lub w prawo ± 2 mm oraz jej odwracanie tyłem do przodu.

Wizualizacja nekrotycznych zmian

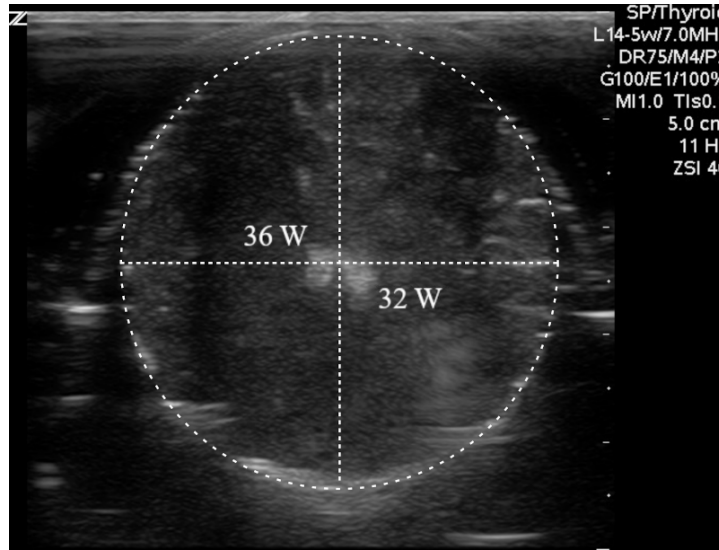
Po ekspozycji każdej próbki tkankowej na 4 wiązki *HIFU*, powstałe w jej wnętrzu zmiany nekrotyczne były wizualizowane w płaszczyźnie osiowej oraz ogniskowej za pomocą ultrasonografu Zonare (Zonare Medical Systems Inc., Mountain View, CA, USA) wyposażonego w liniową głowicę obrazującą Zonare L14-5w. Następnie próbka została przecięta w płaszczyźnie osiowej tak, aby na przecięciu widoczne były wszystkie powstałe zmiany nekrotyczne. Przekrój próbki został sfotografowany.

3.1.2. Wyniki

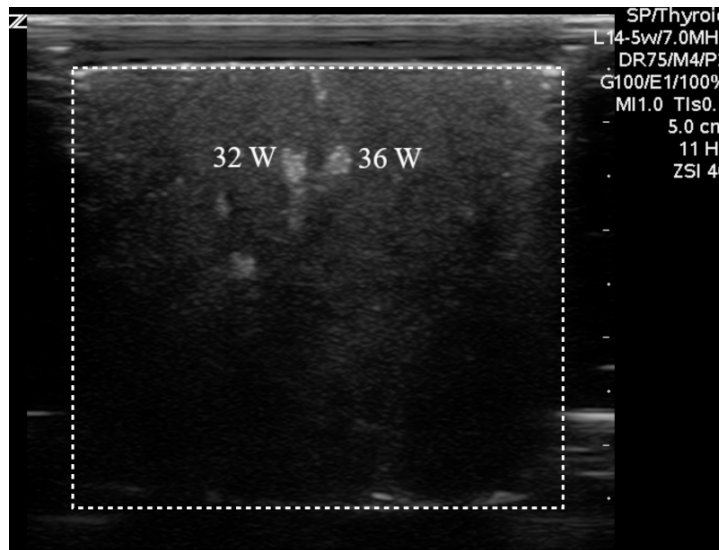
W celu wyznaczenia progowej mocy akustycznej wiązki *HIFU* zdolnej wytworzyć w badanej tkance zmianę nekrotyczną w ciągu trzech sekund przeprowadzono eksperymenty na 41 próbkach eksponowanych na wiązki *HIFU* o mocach akustycznych zmieniających się od 24 W do 36 W co 4 W. Eksperymenty zostały przeprowadzone bez użycia termopar. Przykładowe obrazy USG B-mode osiowych i promieniowych przekrojów badanych próbek po ich ekspozycji na wiązki *HIFU* o różnej mocy akustycznej przedstawiono na Rys. 3.6, Rys. 3.7, Rys. 3.8.

Jak widać z tych rysunków dwa widoczne obszary hiperechogeniczne, odzwierciedlające powstałe zmiany nekrotyczne odpowiadają pozycji ogniska wiązki *HIFU* w tkance. Należy jednak zaznaczyć, że nie każdy obszar, w którym doszło do koagulacji tkanki, był wyraźnie widoczny na obrazie USG. To zostało pokazane na Rys. 3.9 przedstawiającym częstość występowania obszaru hiperechogenicznego na obrazie USG w przypadku realnego utworzenia się nekrozy widocznej na zdjęciu w zależności od zastosowanej mocy.

Jak wynika z innych badań [52], pojawienie się obszaru hiperechogenicznego najprawdopodobniej związane jest z obecnością kawitacji podczas ekspozycji próbki na wiązkę *HIFU*.

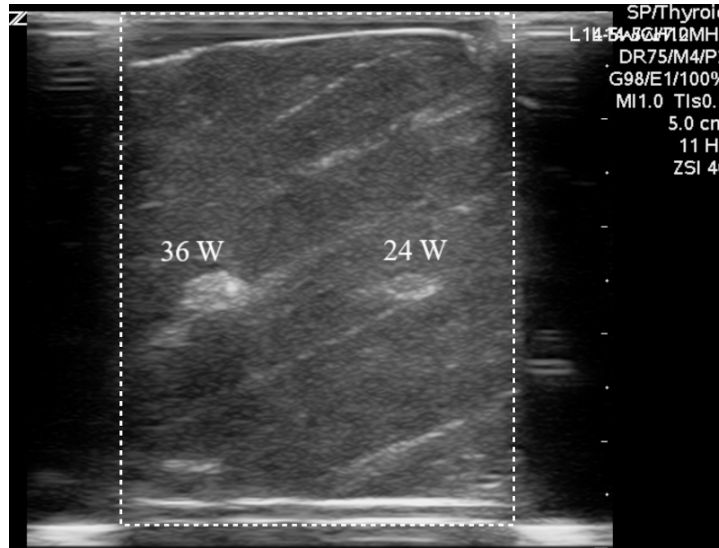


Rys. 3.6. Obraz USG (B-mode) przekroju promieniowego (xy) badanej próbki umieszczonej w cylindrycznej komorze po jej ekspozycji na dwie równoległe wiązki *HIFU* o mocy 32 W i 36 W. Obraz przedstawia przekrój w płaszczyźnie ogniskowej wiązki.

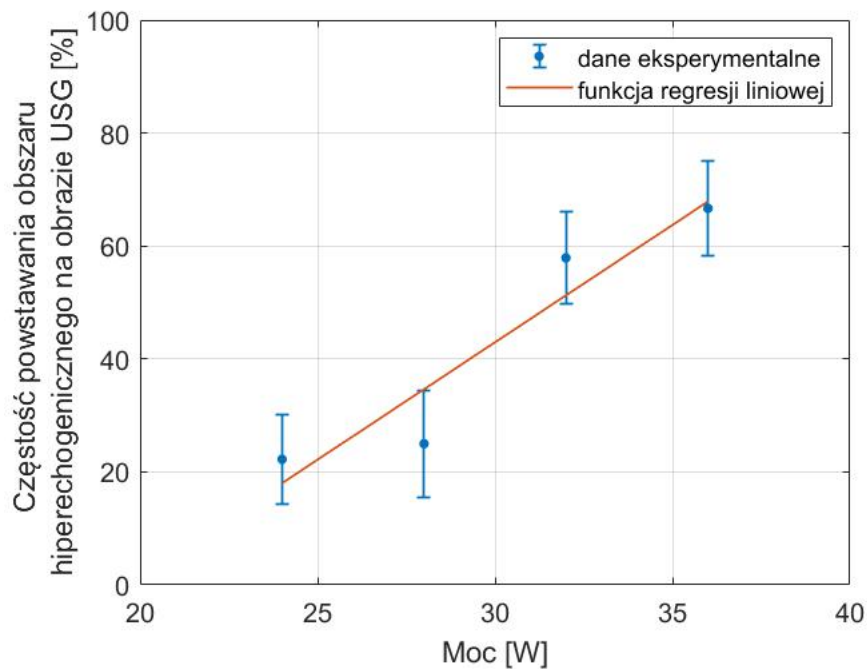


Rys. 3.7. Obraz USG (B-mode) przekroju osiowego (xz) badanej próbki umieszczonej w cylindrycznej komorze po jej ekspozycji na dwie równoległe wiązki *HIFU* o mocy 32 W i 36 W.

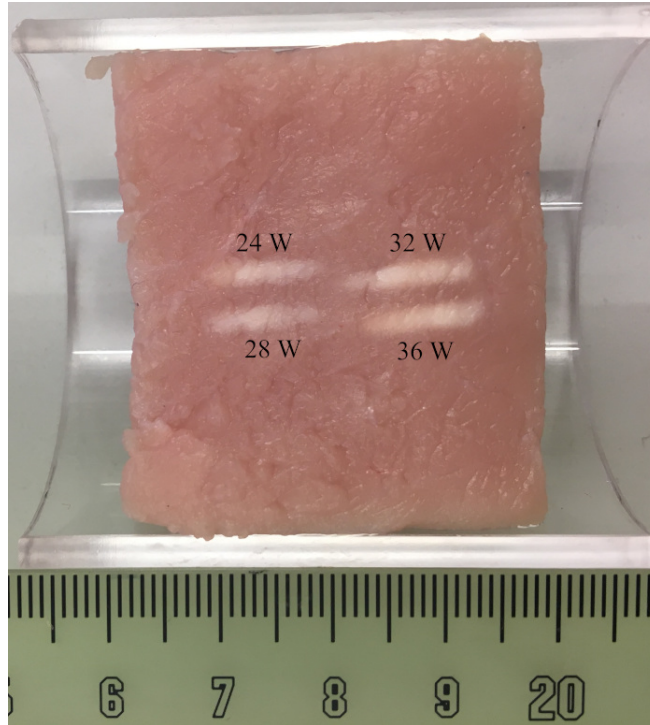
Jest to zgodne z tym co można zaobserwować na Rys. 3.9 potwierdzającym, że częstość występowania obszaru hiperechogenicznego na obrazie USG rośnie wraz z mocą, która zwiększa



Rys. 3.8. Obraz USG (B-mode) przekroju osiowego (yz) badanej próbki umieszczonej w cylindrycznej komorze po jej ekspozycji na dwie równoległe wiązki *HIFU* o mocy 24 W i 36 W z obu stron.



Rys. 3.9. Zależność częstości powstawania obszaru hiperechogenicznego na obrazie USG przekrojów zmian nekrotycznych wywołanych 3 sekundową ekspozycją tkanki na wiązkę *HIFU* o mocy akustycznej zwiększanej od 24 W do 36 W co 4 W.



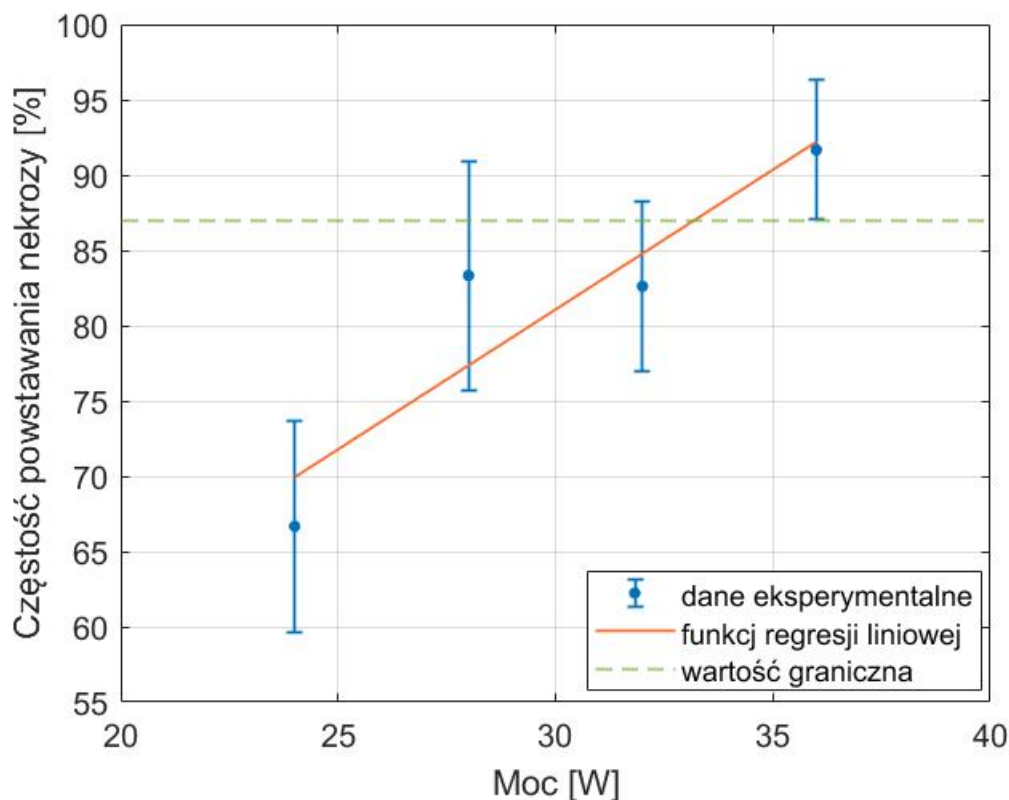
Rys. 3.10. Zdjęcie osiowych przekrojów zmian nekrotycznych powstałych w tkance eksponowanej z obu stron na dwie równoległe wiązki *HIFU* o różnych mocach akustycznych: 24 W, 28 W, 32 W i 36 W.

prawdopodobieństwo wystąpienia zjawisk kawitacyjnych wpływających na kontrast obrazowania. Do danych pomiarowych dopasowano metodą najmniejszych kwadratów funkcję liniową opisaną równaniem $y = 4.16x - 81.73$, dla którego niepewność wyznaczenia współczynnika nachylenia oraz przesunięcia wyniosła odpowiednio 0.99 i 29.96. Wartość współczynnika determinacji R^2 będącego miarą stopnia dopasowania liniowego wyniosła 0.9.

Po zobrazowaniu próbki za pomocą ultrasonografu została ona przecięta w płaszczyźnie osiowej lub promieniowej wiązki *HIFU* tak, aby uwidocznić osiowy lub ogniskowy przekrój powstałych zmian nekrotycznych. Przykładowe zdjęcie osiowego przekroju powstałych zmian przedstawiono na Rys. 3.10.

Na podstawie zdjęć przekrojów zmian martwiczych powstałych wewnątrz tkanki na skutek jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o różnej mocy akustycznej zmienianej od 24 W do 36 W co 4 W wyznaczono procentową częstość powstawania zmiany nekrotycznej w badanej tkance

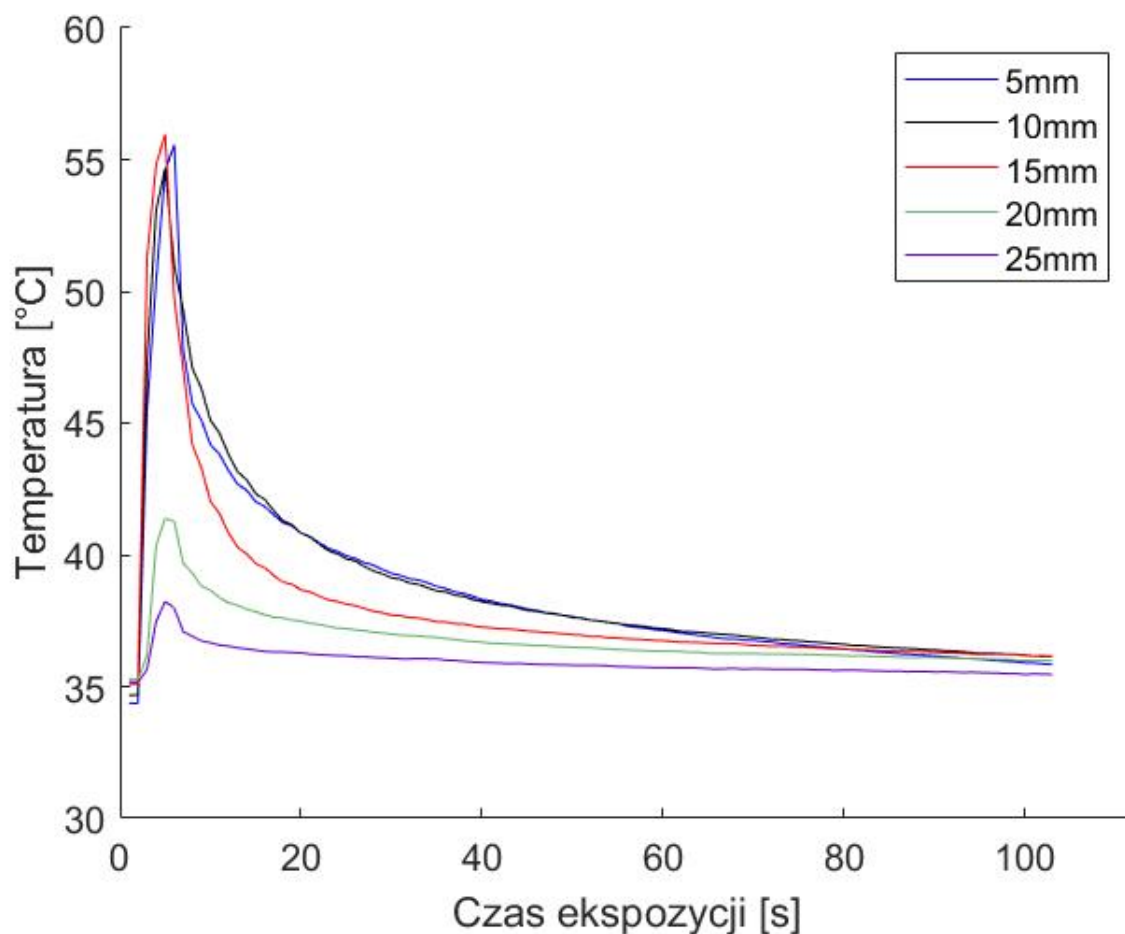
w zależności od mocy akustycznej stosowanej wiązki (Rys. 3.11)



Rys. 3.11. Zależność częstości powstawania nekrozy w badanych tkankach po ich 3 sekundowej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o różnej mocy akustycznej zmienianej od 24 W do 36 W co 4 W.

Przerwaną linią na rys. 3.11 zaznaczono wartość 87 % częstości powstawania nekrozy, którą uznano za wartość graniczną. Wartość ta według dopasowania liniowego odpowiada mocy ok. 33 W. Funkcja regresji liniowej opisana równaniem $y = 1.86x + 25$ została wyznaczona metodą najmniejszych kwadratów. Niepewność wyznaczenia współczynnika nachylenia i współczynnika przesunięcia linii prostej wyniosła odpowiednio 0.57 i 17. Wartość współczynnika determinacji R^2 wyniosła 0.84.

Przeprowadzono także serię 19 ekspozycji 3 sekundowych próbki tkankowej na wiązkę *HIFU* o mocy akustycznej 32 W. Podczas tych eksperymentów zmierzono lokalny przyrost temperatury wewnątrz tkanki za pomocą termopar umieszczonych na osi wiązki na głębokości



Rys. 3.12. Przykładowe zmiany lokalnej temperatury wewnątrz badanej tkanki podczas jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o mocy 32 W. Zmiany temperatury zostały zmierzone na osi wiązki na głębokości 5 mm, 10 mm, 15 mm, 20 mm, 25 mm pod powierzchnią tkanki.

5 mm, 10 mm, 15 mm, 20 mm i 25 mm pod powierzchnią tkanki. Przykładowe wykresy lokalnych przyrostów temperatury w czasie pokazano na Rys. 3.12.

Na podstawie otrzymanych wyników eksperymentów wyznaczono średni czas stygnięcia nagrzanego objętości tkankowej jako czas niezbędny do spadku maksymalnej temperatury do poziomu 10 % powyżej jej pierwotnej wartości. Wyznaczony czas relaksacji temperaturowej tkanki umożliwił wykonanie kolejnych sąsiadujących sonikacji zapobiegając zlewaniu się zmian nekrotycznych. Wartość średnia czasu relaksacji temperaturowej wyniosła 52 ± 16 s.

3.1.3. Dyskusja

Pierwsze pytanie jakie nasuwa się do dyskusji brzmi następująco: dlaczego progowa moc akustyczna wiązki *HIFU* zdolnej doprowadzić do lokalnej nekrozy wewnątrz tkanki *ex vivo* w ciągu trzech sekund nie została wyznaczona na podstawie zmierzonego wzrostu temperatury w tkance podczas jej ekspozycji na wiązkę *HIFU*. Odpowiedź związana jest z artefaktami występującymi przy pomiarze temperatury za pomocą termopar o średnicy zbliżonej do długości fal rozchodzących się w wiązce *HIFU*. W publikacjach [53]–[57] opisano wpływ tzw. lepkiego grzania termopary (ang. *viscous heating*) na pomiar rozkładu temperatury i został on oszacowany jako wzrost temperatury o od 90 % do 220 %. Zjawisko zaś jest związane z konwersją energii akustycznej na ciepło na granicy próbka termopara i wynika z istniejących sił lepkości pomiędzy przewodem a próbką.

Metoda wyznaczenia progowej mocy akustycznej wiązki *HIFU* która wywołuje ablację tkanki w ciągu 3 s na podstawie zdjęć przekrojów powstałych w niej zmian nekrotycznych po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* jest obarczona niepewnością, która może być związaną z:

- niejednorodnością tkanki powodującą rozproszenie wiązki *HIFU*,
- niedokładnością przekrojenia tkanki w płaszczyźnie osiowej lub promieniowej co może prowadzić do niezauważenia nekrozy w otrzymanym przekroju.

Ze względu na mniejszą niepewność wyznaczania progowej mocy akustycznej stosując metodę opartą na rejestracji powstałych nekrotycznych zmian ze zdjęć ich przekrojów niż stosując pomiar lokalnego wzrostu temperatury za pomocą termopar, wybrano pierwszą metodę.

Jak widać na Rys. 3.12 maksymalny wzrost temperatury został zarejestrowany dla trzech termopar znajdujących się na głębokości 5 mm, 10 mm i 15 mm pod powierzchnią próbki. Wyniki te w dużej mierze pokrywają się z wynikami pomiarów rozkładu ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* w wodzie (patrz Rys. 3.3). Rozbieżności pomiędzy zmierzonym rozkładem ciśnienia akustycznego w wodzie, a zmierzonym rozkładem temperatury w tkance najpraw-

dopodobniej wynikają z opisywanych wcześniej artefaktów związanych z tzw. *viscous heating* występujących przy pomiarze temperatury w polu ultradźwiękowym za pomocą termopar.

Dla wyznaczenia czasu relaksacji temperaturowej tkanki zjawisko lepkiego grzania termopar nie miało istotnego znaczenia, gdyż:

- podczas stygnięcia tkanki do temperatury początkowej termopary nie znajdowały się już w polu ultradźwiękowym, a więc nie zachodziło zjawisko lepkiego grzania,
- ze względu na eksponencjalny charakter powrotu temperatury tkanki do temperatury początkowej dodatkowe ogrzanie termopary wynikające ze zjawiska lepkiego grzania było pomijalne w trakcie procesu chłodzenia trwającego ok. 1 min. Jak podaje [57] po 5 sekundach od wyłączenia pola ultradźwiękowego temperatura związana z lepkiem grzaniem stanowi ok. 15 % temperatury związanej ze zjawiskiem absorpcji fali akustycznej przez tkankę.

Zastosowane termopary posiadają klasę dokładności 1, a więc niepewność pomiaru temperatury wynikająca z samego urządzenia wynosiła $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$.

3.1.4. Wnioski

Uzyskane wyniki eksperymentalne wykazały, że impulsowa wiązka *HIFU* o wystarczającej mocy akustycznej jest w stanie utworzyć w tkance *ex vivo* nekrotyczną zmianę o dobrze zarysowanym konturze w nacelowanej małej objętości wewnątrz badanej tkanki bez uszkodzenia otaczających tkanek.

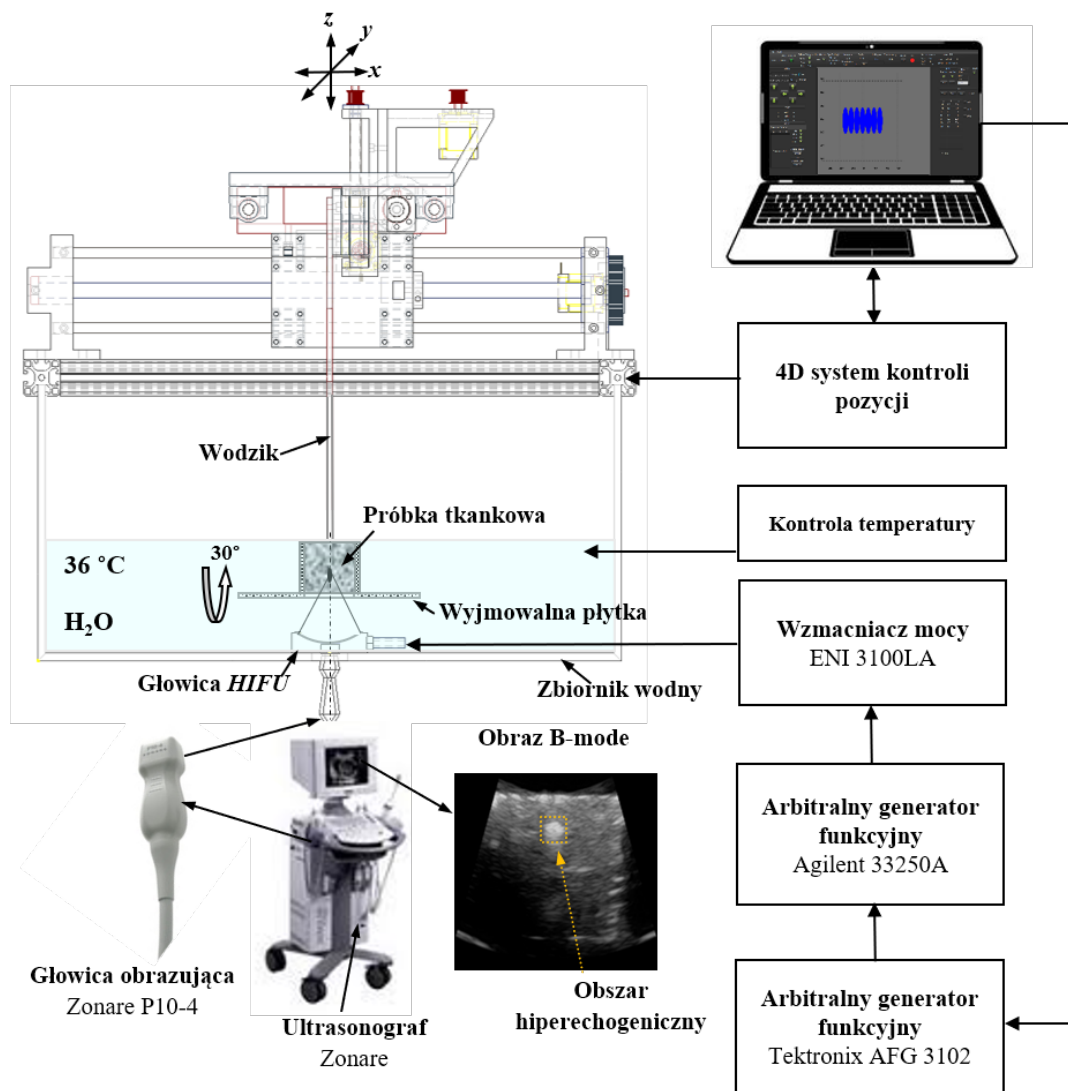
Do oceny progowej mocy akustycznej wiązki *HIFU* zdolnej do utworzenia miejscowej zmiany martwiczej wewnątrz badanej tkanki w ciągu 3-sekundowej ekspozycji zastosowano dwie metody: lokalny pomiar temperatury za pomocą układu 5 termopar umieszczonych w tkance wzdłuż osi wiązki *HIFU*, a także pomiar częstości powstania zmian nekrotycznych w zależności od zadanej mocy akustycznej.

Możliwość i skuteczność powstania zmian martwiczych w badanej tkance została zweryfikowana za pomocą obrazów USG osiowych i promieniowych przekrojów próbki tkankowej, a także za pomocą ich zdjęć uzyskanych po sonikacji i przekrojeniu próbki. Ilościowa analiza uzyskanych wyników wykazała, że ponad 85% częstość powstawania nekrozy w próbce tkankowej uzyskano dla mocy akustycznej równej 32 W (dla 20% współczynnika wypełnienia). Na ok. 60% obrazach USG przekrojów próbki tkankowej po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o mocy akustycznej powyżej 32 W zarejestrowano obszary hiperechogeniczne, których lokalizacja odzwierciedlała umiejscowienie zmian nekrotycznych powstałych w tkance. Oszacowany czas temperaturowej relaksacji tkanki (dla spadku jej temperatury do wartości wyższej o 10% od wartości pierwotnej) wyniósł 52 ± 16 s.

3.2. Stanowisko doświadczalne *HIFU* do badań na małych zwierzętach

W Zakładzie Ultradźwięków IPPT PAN zostało zbudowane i opatentowane bimodalne urządzenie ultradźwiękowe do nieinwazyjnego niszczenia litych guzów nowotworowych u małych zwierząt [25]. Urządzenie to zawiera 1) układ ablacyjny *HIFU* (do grzania leczonej objętości wewnątrz tkanki) zintegrowany z 2) układem USG do jej obrazowania, a także 3) łóżko dla zwierzęcia przesuwane w przestrzeni i czasie względem układu grzejąco-obrazującego za pomocą układu komputerowego sterowania mechanicznym systemem precyzyjnego pozycjonowania przy użyciu niestandardowego oprogramowania opracowanego w IPPT PAN. Zaprojektowane urządzenie wchodzi w skład stanowiska doświadczalnego służącego do badań przedklinicznych na małych zwierzętach.

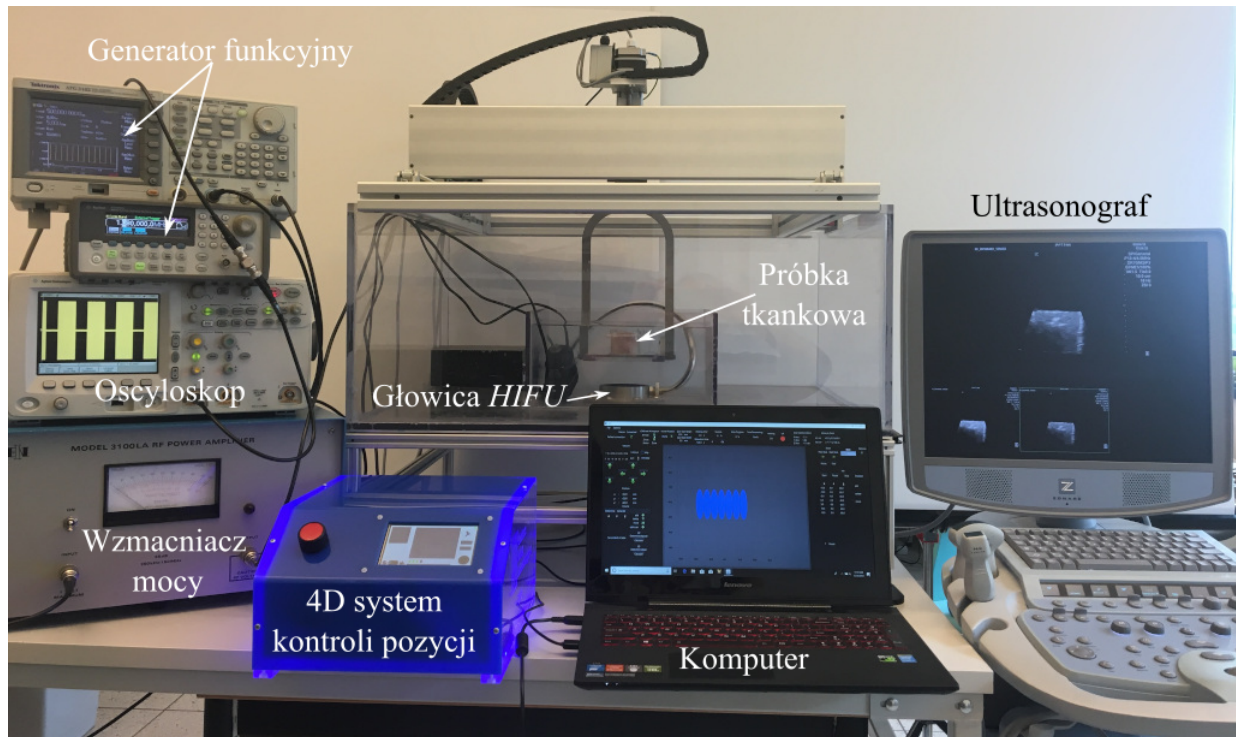
Jednak przed tym jak to stanowisko można było wykorzystywać do eksperymentów na zwierzętach konieczne było przeprowadzenie badań na tkankach *ex vivo* w celu wyznaczenia lokalizacji i rozległości zmian termicznych utworzonych wewnątrz badanej tkanki przez



Rys. 3.13. Schemat blokowy stanowiska eksperymentalnego zawierającego bimodalne ultradźwiękowe urządzenie ablacyjne *HIFU* do badań przedklinicznych na małych zwierzętach.

impulsową wiązkę *HIFU* w zależności od jej parametrów akustycznych (mocy akustycznej, natężenia w ognisku, czasu trwania impulsów i współczynnika wypełnienia). Wyniki tych badań przedstawiono w niniejszej rozprawie doktorskiej. Schemat blokowy stanowiska eksperymentalnego przedstawiono na Rys. 3.13, a jego zdjęcie widoczne jest na Rys. 3.14.

Układ ablacyjny *HIFU* zawierał piezoceramiczny przetwornik *HIFU* pobudzany sinusoidalnymi impulsami generowanymi przez generator funkcyjny Agilent 33250A (Colorado



Rys. 3.14. Zdjęcie stanowiska doświadczalnego *HIFU* do badań na tkankach *ex vivo* oraz na małych zwierzętach.

Springs, USA) i wzmacnianymi przez wzmacniacz mocy ENI 3100LA (55 dB) (Rochester, Nowy Jork, USA). Aby generator ten wyzwał taką samą liczbę impulsów podczas każdej pojedynczej sonikacji i dostarczał taką samą energię do każdej lokalnej objętości tkanki poddawanej ablacji, zastosowano generator funkcyjny AFG 3102 (Tektronix Inc., Beaverton, OR USA). Przebiegi czasowe impulsów były wyświetlane na ekranie oscyloskopu MSO6052A (Agilent Technologies, Santa Clara, CA USA). Układ obrazowania USG zawierał ultrasonograf Zonare (Zonare Medical Systems Inc., Mountain View, CA, USA) wyposażony w fazową głowicę obrazującą Zonare P10-4 o szerokości pasma częstotliwości 4-10 MHz. Obrazy USG były rejestrowane na częstotliwości 4 MHz oraz 8 MHz (druga harmoniczna). Głowica obrazująca miała 128 elementów i wymiary 11 mm x 18 mm.

Przetwornik *HIFU* w kształcie pierścieniowego wycinka sfery, zintegrowany współosiowo z głowicą obrazującą USG, został zamontowany w dnie zbiornika wypełnianego wodą. Łóżko

z wymowlaną płytką do umieszczania na niej leczonego zwierzęcia lub referencyjnej cylindrycznej komory z próbką tkankową zostało zawieszono nad układem grzejąco-obrazującym i połączone wzdkiem z mechanicznym systemem precyzyjnego pozycjonowania umożliwiającym jego przesuwanie w kierunkach x , y , z oraz pod wybranym kątem nachylenia.

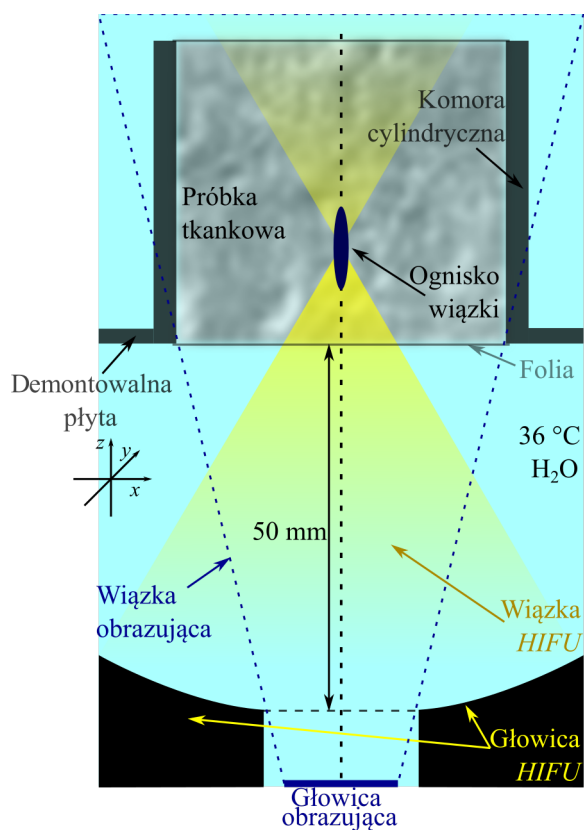
Płytką miała okrągły otwór o średnicy 50 mm, przez który wiązka *HIFU* mogła wnikać do ciała zwierzęcia lub badanej próbki tkankowej. W pozycji początkowej otwór ustawiany był współosiowo z przetwornikiem *HIFU* i głowicą obrazującą. Brzuch zwierzęcia lub komora tkankowa były zanurzane w odgazowanej demineralizowanej wodzie wypełniającej zbiornik. Woda jest stosowana zarówno jako ośrodek dopasowujący pomiędzy przetwornikiem *HIFU* a tkanką, jak i chłodzący zapobiegający oparzeniom skóry. Temperatura wody była kontrolowana za pomocą grzałki elektrycznej Aquael 100 (Aquael Sp. z o.o. Warszawa, Polska) oraz pompy akwariowej umieszczonej w zbiorniku wodnym. Wszystkie pomiary na próbkach tkankowych przeprowadzano w temperaturze 36°C.

Energia wiązki *HIFU*, skoncentrowana w jej ognisku nacelowanym na lezoną objętość wewnątrz tkanki, wywołuje w niej lokalny wzrost temperatury, prowadzący do powstania pojedynczej zmiany martwiczej. Wielkość powstałej zmiany zależy od wielkości strefy ogniskowej użytej wiązki. Wielokrotna ekspozycja każdej próbki tkankowej na wiązki *HIFU* o wybranych właściwościach odbywa się automatycznie po zaprogramowaniu trajektorii ruchu komory tkankowej oraz odległości i czasowych odstępów pomiędzy ekspozycjami.

3.2.1. Ośrodki propagacji

Zgodnie z konstrukcją naszego urządzenia wiązka *HIFU* jest propagowana w dwuwarstwowym układzie ośrodków składającym się z warstwy wody oraz warstwy tkanki. Ze względu na nieliniowość tych ośrodków obliczenia rozkładów ciśnienia w wiązce *HIFU* oraz lokalnych przyrostów temperatury indukowanych nią w tkance przeprowadzono stosując model nieliniowej propagacji. W celu zmaksymalizowania wpływu amplitudy harmonicznyc na wzrost

temperatury indukowany lokalnie wewnątrz tkanki grubość warstwy wody została obliczona przy użyciu modelu propagacji nieliniowej w wodzie jako odległość osiowa od przetwornika w której zaczyna się gwałtowny wzrost amplitudy drugiej harmonicznej [58]. Dla używanego przetwornika *HIFU* odległość ta wyniosła 50 mm. Stąd każda wiązka *HIFU* rozchodziła się w dwuwarstwowym układzie ośrodków zawierającym 50-mm warstwę wody i 40-mm warstwę badanej tkanki *ex vivo*. Wtedy geometryczne ognisko wiązki znajdowało się wewnątrz tkanki na głębokości 12.6 mm pod jej powierzchnią. Schemat dwuwarstwowego układu ośrodków propagacji przedstawiono na Rys. 3.15.



Rys. 3.15. Schemat układu dwuwarstwowego ośrodków propagacji wiązki *HIFU* oraz wiązki obrazującej.

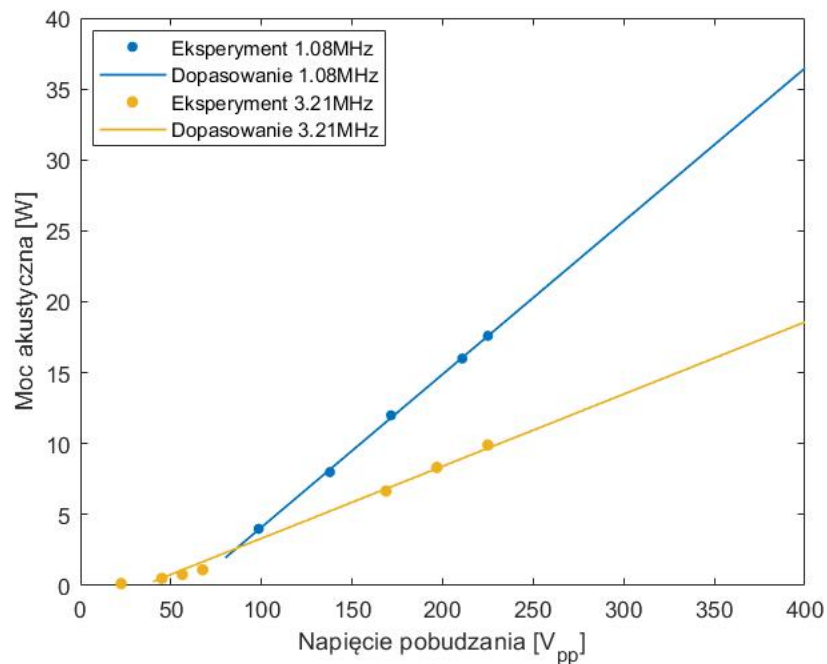
3.2.2. Głowica *HIFU*

Nasze urządzenie ablacyjne jako głowicę grzejącą *HIFU* wykorzystuje jednoelementowy przetwornik H102 (Sonic Concepts Inc, Bothell, WA, USA) w kształcie sferycznej misy z centralnym 20-mm otworem na głowicę obrazującą oraz 50- Ω niestandardowym układem dopasowującym. Analogicznie do przetwornika H101 (używanego w eksperymentach przedstawionych w Rozdziale 3.1.) jego zewnętrzna średnica była równa 64 mm, a ogniskowa 62.6 mm (wzmocnienie ogniskowe 0.98). Zgodnie z charakterystyką producenta przetwornik mógł pracować na dwóch rezonansowych częstotliwościach: podstawowej (1.1 MHz) lub 3-ciej harmonicznej (3.3 MHz). Jednak przeprowadzone pomiary jego średniej mocy akustycznej w funkcji częstotliwości przy użyciu ultradźwiękowego miernika mocy UPMDT1E (Ohmic Instruments, St. Charles, MO, USA) wykazały, że maksymalna moc wiązki *HIFU* jest generowana na częstotliwości 1.08 MHz (podstawowa) oraz 3.21 MHz (3-cia harmoniczna). Przetwornik był pobudzany sinusoidalnymi impulsami o wybranym napięciu, czasie trwania impulsów oraz współczynniku wypełnienia *DC* (*duty-cycle*). Jego sprawność elektroakustyczna na częstotliwości 3.21 MHz stanowiła 75% tej na częstotliwości podstawowej. Zdjęcie głowicy *HIFU* przedstawiono na Rys. 3.16.

Charakterystykę średniej generowanej mocy akustycznej przetwornika *HIFU* w zależności od napięcia jego pobudzania zmierzono wspomnianym wyżej miernikiem mocy akustycznej dla częstotliwości podstawowej i 3-ciej harmonicznej i pokazano na Rys. 3.17. Do otrzymanych wyników eksperymentalnych metodą najmniejszych kwadratów dopasowano funkcję liniową ekstrapolowaną dla wyższych wartości napięcia pobudzania przy założeniu liniowej charakterystyki przetwornika. Niepewność pomiaru mocy wynosi ± 0.5 W, co wynika ze specyfikacji sprzętowej producenta.



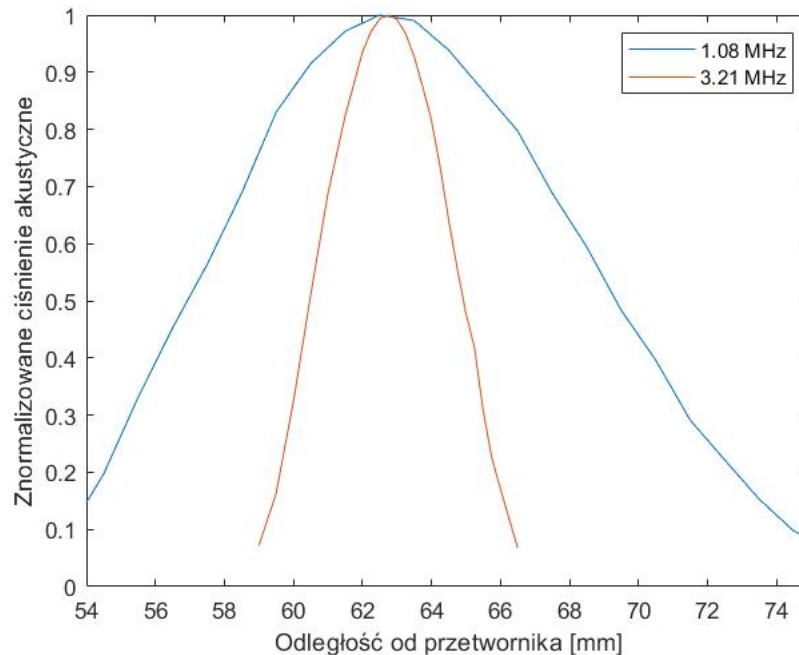
Rys. 3.16. Głowica grzejąca *HIFU* stosowana w urządzeniu ablacyjnym [źródło: sonicconcepts.com].



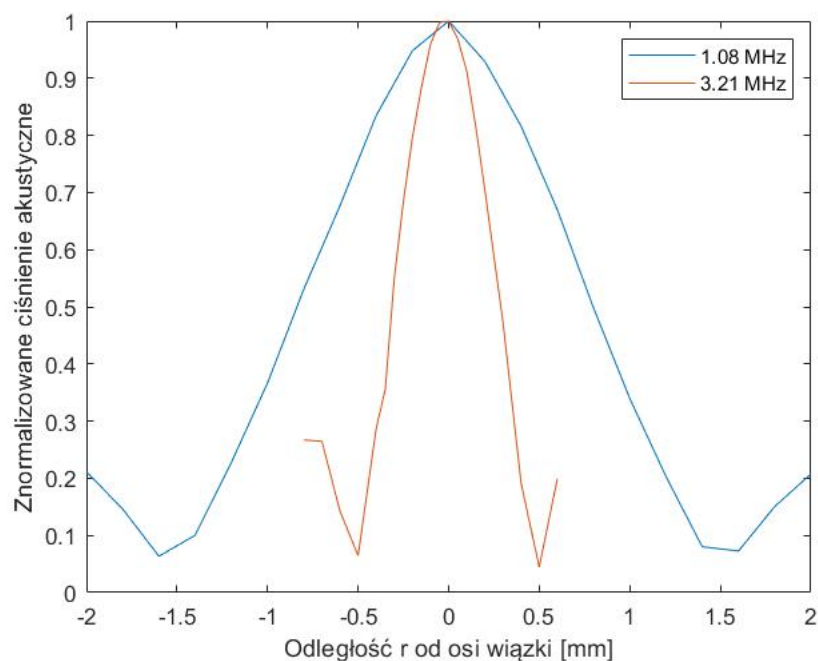
Rys. 3.17. Średnia moc akustyczna wiązki generowanej przez przetwornik *HIFU* pracujący na częstotliwości 1.08 MHz i 3.21 MHz w zależności od napięcia jego pobudzenia. Pomiary przeprowadzono dla współczynnika wypełnienia 20%.

3.2.3. Pomiar charakterystyki wiązki *HIFU* w wodzie

Pomiary przestrzenno-czasowych rozkładów ciśnienia w wiązce *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz i 3.21 MHz przeprowadzono w wodzie w temperaturze pokojowej (23°C) przy użyciu hydrofonu igłowego SN 1664 (Precision Acoustics Ltd, Dorchester, Dorset, Wielka Brytania) o średnicy elementu aktywnego 0.075 mm. Dla bezpieczeństwa hydrofonu pole ciśnienia zostało wyznaczone dla wiązki *HIFU* o mocy akustycznej 16 W mierzonej dla 20% współczynnika wypełnienia. Aby wygenerować taką wiązkę, napięcie pobudzenia przetwornika wynosiło 210 V_{pp}. Znormalizowane osiowe i promieniowe (w płaszczyźnie ogniska) rozkłady ciśnienia dla tej wiązki zostały przedstawione na Rys. 3.18 i Rys. 3.19. Na podstawie otrzymanych wyników eksperymentalnych wyznaczono wymiary elipsoidalnej strefy ogniska wiązki. Dla wiązki o częstotliwości 1.08 MHz długość elipsoidy wyniosła 12 mm, a średnica 1.65 mm, natomiast dla wiązki o częstotliwości 3.21 MHz odpowiednio 4.5 mm i 0.6 mm.



Rys. 3.18. Osiowy rozkład ciśnienia akustycznego w 16 W wiązce *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz i 3.21 MHz generowanej w wodzie.



Rys. 3.19. Promieniowy rozkład ciśnienia akustycznego w 16 W wiązce *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz i 3.21 MHz zmierzony w wodzie w płaszczyźnie ogniska.

3.2.4. Planowanie leczenia

Jak wspomniano wyżej 3D układ sterowania pozycjonowaniem łóżka ze zwierzęciem lub komorą tkankową kontrolowany jest za pomocą opracowanego w IPPT PAN oprogramowania. Umożliwia ono zaplanowanie trajektorii ruchu oraz czasowych i odległościowych odstępów przesuwania łóżka w układzie współrzędnych xyz pomiędzy sonikacjami. Takie rozwiązanie umożliwia zaplanowanie i przeprowadzenie ablacji guzów których wielkość znacznie przewyższa objętość strefy ogniskowej wiązki *HIFU*. Stąd konieczna jest wielokrotna ekspozycja guza na wiązkę *HIFU* doprowadzająca do objęcia nekrozą całej jego objętości.

3.3. Badania wpływu parametrów sonikacji na wielkość zmian nekrotycznych

Jak już wspomniano wyżej, przed tym jak nasze urządzenie ablacyjne zostanie wykorzystane do leczenia guzów u małych zwierząt konieczne było przeprowadzenie badań na tkance *ex vivo* w celu wyznaczenia lokalizacji i wielkości formowanych w niej zmian martwiczych w zależności od akustycznych właściwości stosowanej wiązki *HIFU*. Wyniki tych badań umożliwiły zaplanowanie trajektorii ruchu łóżka oraz czasowych i odległościowych odstępów między kolejnymi sonikacjami aby doprowadzić do objęcia nekrozą całej leczonej objętości wewnątrz badanej tkanki bez uszkodzania otaczających ją struktur tkankowych. Ma to kluczowe znaczenie dla bezpieczeństwa terapii, dlatego celem tego etapu badań była ocena wpływu parametrów sonikacji na wielkość lokalnych zmian martwiczych powstałych wewnątrz badanej tkanki *ex vivo*.

3.3.1. Materiały i metody

Przygotowanie próbek tkankowych

Próbki tkankowe były przygotowywane ze świeżego schabu wieprzowego zakupionego na bazarze u lokalnego rzeźnika. Próbki wycinano nożem cylindrycznym, odgazowywano i umieszczano w komorze cylindrycznej o wewnętrznej średnicy 43.5 mm i wysokości 40 mm. Następnie każda próbka była zabezpieczana naciągniętą z obu stron komory cienką, przezroczystą dla ultradźwięków folią, aby uniknąć jej przemieszczenia. Komorę wraz z próbką zanurzano w zbiorniku wodnym wypełnionym wodą o kontrolowanej temperaturze 36 °C. Powierzchnia tkanki znajdowała się w odległości 50 mm od środka przetwornika *HIFU*, co skutkowało umiejscowieniem geometrycznego ogniska generowanej przez niego wiązki na głębokości 12.6 mm pod powierzchnią tkanki.

Parametry sonikacji

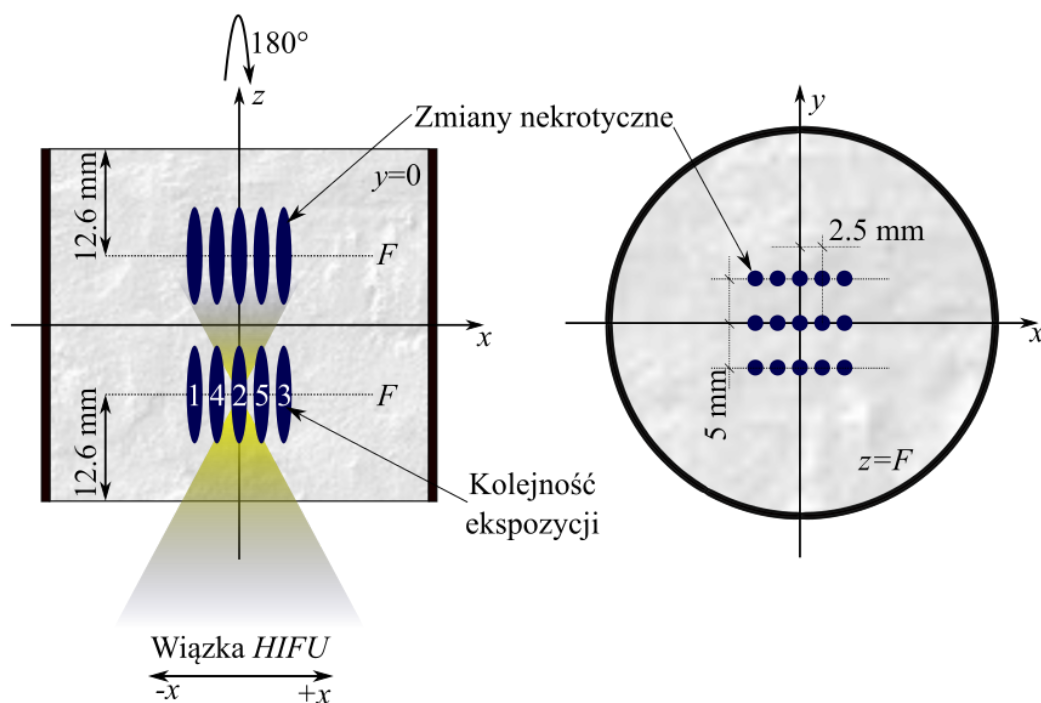
W opisywanych badaniach (punkt 3.1.) wyznaczono wartość graniczną mocy akustycznej równą 33 W dla której uzyskano w 87 % przypadków efekt w postaci ablacji tkanki w obszarze ogniska wiązki *HIFU* generowanej przez przetwornik H101. W związku z tym, że rozkłady ciśnienia akustycznego generowanego przez przetworniki H101 i H102 są bardzo zbliżone do siebie kształtem uznano, że wnioski z badania opisanego w punkcie 3.1. można zastosować do dalszych badań z wykorzystaniem głowicy H102 będącej częścią używanego urządzenia *HIFU* kontrolowanego obrazowaniem USG *Ultrasound Imaging-guided HIFU - USgHIFU*.

W celu wyznaczenia wielkości powstałej zmiany nekrotycznej w zależności od parametrów akustycznych zastosowanej wiązki *HIFU* przeprowadzono badania eksperymentalne dla impulsowych wiązek o częstotliwości 1.08 MHz lub 3.21 MHz z różnym czasem trwania impulsów $\Delta\tau$ (0.03 ms; 3 ms; 300 ms) oraz różnym współczynnikiem wypełnienia *DC* (0.4; 0.6; 0.8).

Konfiguracja przestrzenna sonikacji

Każda badana próbka tkankowa była poddawana ekspozycji na wiązkę *HIFU* z dwóch stron (z przodu i z tyłu), w 3-ch równoległych płaszczyznach oddalonych od siebie o 5 mm, po 5 sonikacji w każdej płaszczyźnie z 2.5 mm odstępem między nimi. W każdej z 3 płaszczyzn stosowano wiązkę *HIFU* o takich samych parametrach akustycznych z każdej strony próbki. Stąd każda próbka była nadźwiękawiana 10 wiązkami *HIFU* (po 5 z każdej strony) o takich samych parametrach. Konfigurację i kolejność sonikacji przedstawiono na Rys. 3.20.

Jak pokazano na tym rysunku kolejność sonikacji została wybrana tak, aby zmaksymalizować odległość między nimi w celu uniknięcia wzrostu pierwotnej temperatury tkanki w miejscu kolejnej sonikacji spowodowanego poprzednią sonikacją. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono czas temperaturowej relaksacji badanej tkanki oraz wynikający z niego



Rys. 3.20. Osiowe (po lewej) i poprzeczne (po prawej) - w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU* - przekroje zmian nekrotycznych planowanych do utworzenia wewnątrz badanej próbki tkanki.

odstęp czasowy pomiędzy sonikacjami, który wyniósł 60 s. Wybrana konfiguracja i kolejność nadźwiękawiania próbek tkankowych, a także odstęp czasowy między sonikacjami zapewniły powtarzalność otrzymywanych wyników.

Wizualizacja zmian nekrotycznych

Po sonikacji zmiany martwicze powstałe wewnątrz każdej próbki tkankowej uwidoczniło w przekroju osiowym lub promieniowym (w płaszczyźnie ogniska wiązki *HIFU*) za pomocą

trzech metod wizualizacji:

- obrazowania USG przy wykorzystaniu ultrasonografu Zonare (Zonare Medical Systems Inc., Mountain View, CA, USA) wyposażonego w głowice obrazujące P10-4 i L14 -5w. Obrazy USG typu B-mode rejestrowano dla częstotliwości pracy głowicy obrazującej równej 4 MHz i 8 MHz (*compound harmonic imaging*);
- obrazowania rezonansem magnetycznym (T1-zależne) przy użyciu skanera rezonansu magnetycznego dla małych zwierząt Bruker Biospec 70/30USR z indukcją pola magnetycznego 7 T (Bruker Polska Sp. z oo, Poznań, Polska). Uzyskane obrazy MR poddawano wstępnemu przetworzeniu przy użyciu oprogramowania OsiriX Lite (Pixmeo SARL, Szwajcaria) wykorzystując funkcję *minimum intensity projection (MinIP)* do uzyskania z sekwencji obrazów T1-zależnych obejmujących całą zmianę martwiczą pojedynczego obrazu w jednej płaszczyźnie;
- obrazowania optycznego przy użyciu zdjęć fotograficznych uzyskanych po przekrojeniu każdej zamrożonej po sonikacji próbki w płaszczyźnie uwidoczniającej powstałe zmiany nekrotyczne w ich maksymalnej długości i średnicy.

Lokalizację i wielkość powstałych zmian martwiczych, widocznych na obrazach USG jako obszary hiperechogeniczne oraz na obrazach T1-zależnych jako obszary czarne porównano z lokalizacją i rozległością zmian widocznych na zdjęciach przekrojów próbki tkankowej.

Pomiary długości, średnicy i lokalizacji powstałych zmian nekrotycznych przeprowadzono przy użyciu oprogramowania ImageJ [59] ze zdjęć oraz obrazów MR ich przekrojów osiowych i promieniowych. Zakładano, że zmiana nekrotyczna występuje w obszarze charakteryzującym się co najmniej 50 % zmianą jasności względem obszaru nieobjętego sonikacją.

Analiza statystyczna wyników

Na podstawie otrzymanych wyników pomiarów wyznaczono średnią wartość położenia środka zmian martwiczych i ich wielkości wraz z odchyleniami standardowymi. Do zmierzonych

wartości długości i średnicy powstałych zmian martwiczych dopasowano funkcję liniową metodą najmniejszych kwadratów. Uzyskane dane zostały przeanalizowane przy użyciu języka programowania *R*. Analizie poddano 240 zmian nekrotycznych powstałych w badanej tkance na skutek jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o różnych parametrach akustycznych. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe (σ).

3.3.2. Wyniki

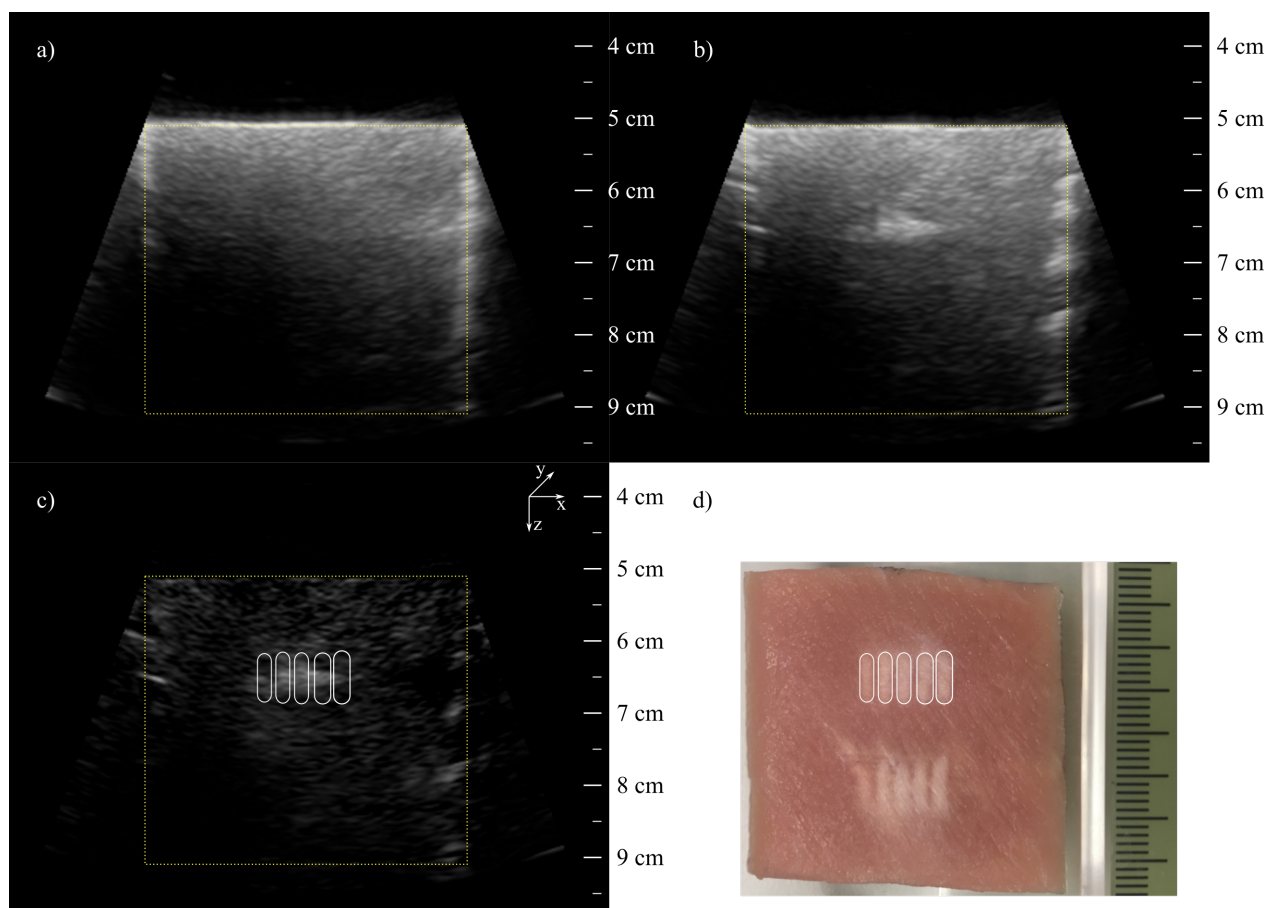
Na podstawie ilościowej analizy otrzymanych wyników eksperymentalnych oceniono lokalizację i rozległość elipsoidalnej zmiany martwiczej powstałej w badanej tkance na skutek jej ekspozycji na impulsową wiązkę *HIFU* o różnych parametrach akustycznych (częstotliwości, czasie trwania impulsów, współczynniku wypełnienia). Wyznaczono również maksymalne czasowe i odległościowe odstępy między ekspozycjami zapewniające skuteczność terapii ablacyjnej. Analizę przeprowadzono poprzez wizualizację osiowych i promieniowych przekrojów powstałych zmian nekrotycznych za pomocą trzech metod obrazowania (USG, MR i optycznej) oraz porównania otrzymanych wyników.

Obrazowanie USG

Podczas powyższych badań obrazowanie USG było wykorzystywane jedynie do wstępnej kontroli procedury ablacji. Miało ono charakter raczej jakościowy i nie służyło do oceny wielkości zmian martwiczych. Stosowano go jednocześnie z procedurą ablacji *HIFU* jedynie w celu sprawdzenia, czy centralna zmiana martwicza (widoczna na obrazie jako obszar hiperechogeniczny) powstaje na centralnej osi obrazu USG przekroju osiowego badanej próbki tkankowej na zaplanowanej głębokości poniżej jej powierzchni.

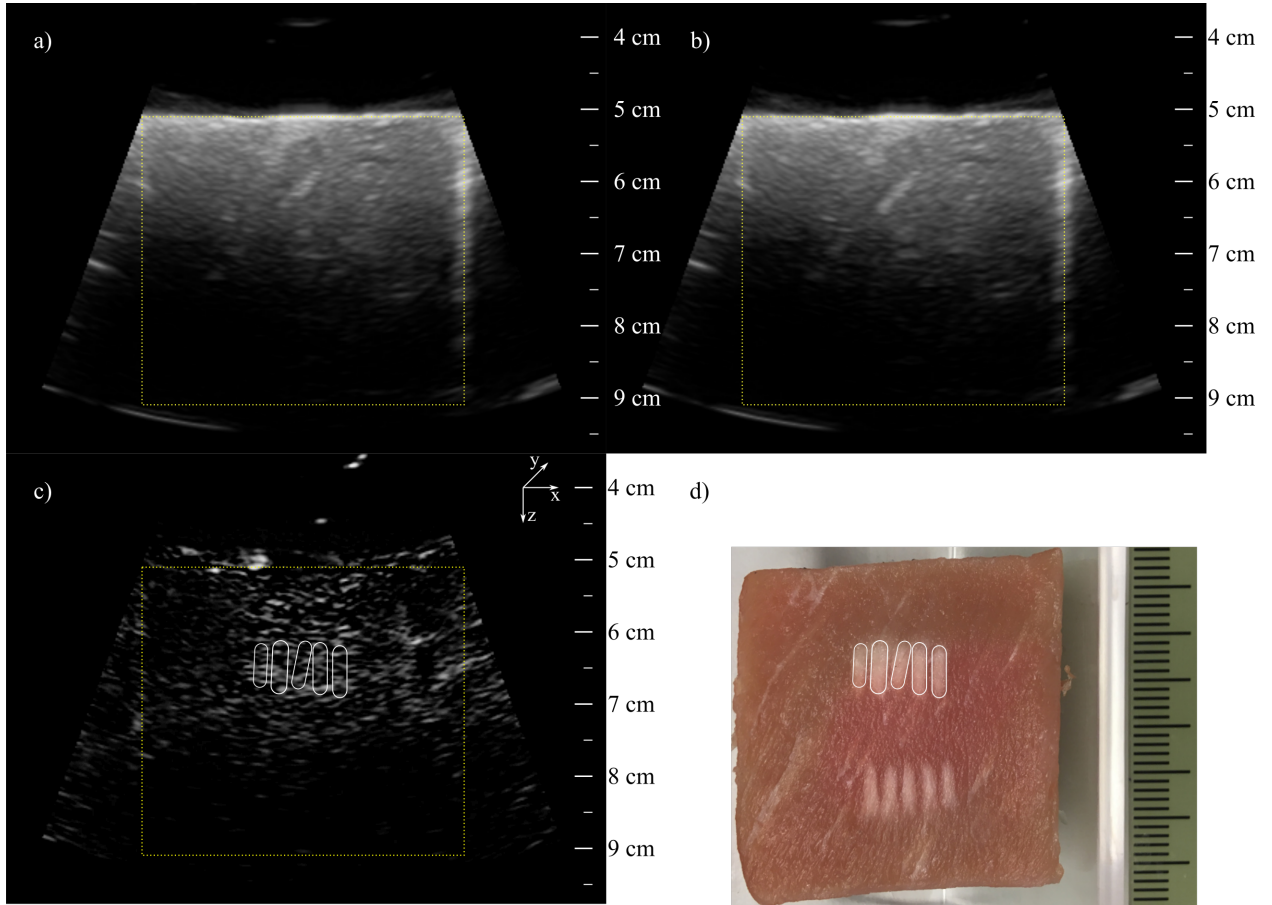
Na niektórych obrazach B-mode przekroju osiowego próbki tkankowej powstałe zmiany nekrotyczne, zazwyczaj obserwowane na obrazie jako obszary hiperechogeniczne, były prawie niewidoczne. Dopiero analiza obrazu stanowiącego różnicę pomiędzy obrazami B-mode za-

rejestrowanymi przed i po sonikacji umożliwiały wykrycie ich przybliżonej lokalizacji. Prawdopodobną przyczyną tego był niewystarczający poziom kawitacji inercyjnej, która zwiększa kontrast obrazowania. Na Rys. 3.21 i Rys. 3.22 przedstawiono przykładowe obrazy USG typu B-mode wykonane przed (a) i po (b) sonikacji, obraz stanowiący ich różnicę (c), a także przekrój osiowy próbki tkankowej *ex vivo* po jej nadźwiękowieniu z obu stron (d).



Rys. 3.21. Obraz USG osiowego przekroju próbki tkankowej przed (a) i po (b) sonikacji z jednej strony oraz obraz będący różnicą tych obrazów (c), a także zdjęcie (d) osiowego przekroju próbki z widocznymi zmianami nekrotycznymi powstałymi po jej obustronnej sonikacji. Prostokątny profil przekroju osiowego próbki na obrazach USG zaznaczono żółtym kolorem. Parametry stosowanej impulsowej wiązki *HIFU*: $f = 3.21$ MHz, $DC = 0.6$; $\Delta\tau = 0.03$ ms.

Rysunek 3.21b przedstawia obraz USG osiowego przekroju próbki z widocznym obszarem hiperechogenicznym, który powstał w miejscu ogniska wiązki *HIFU* po pięciu sonikacjach

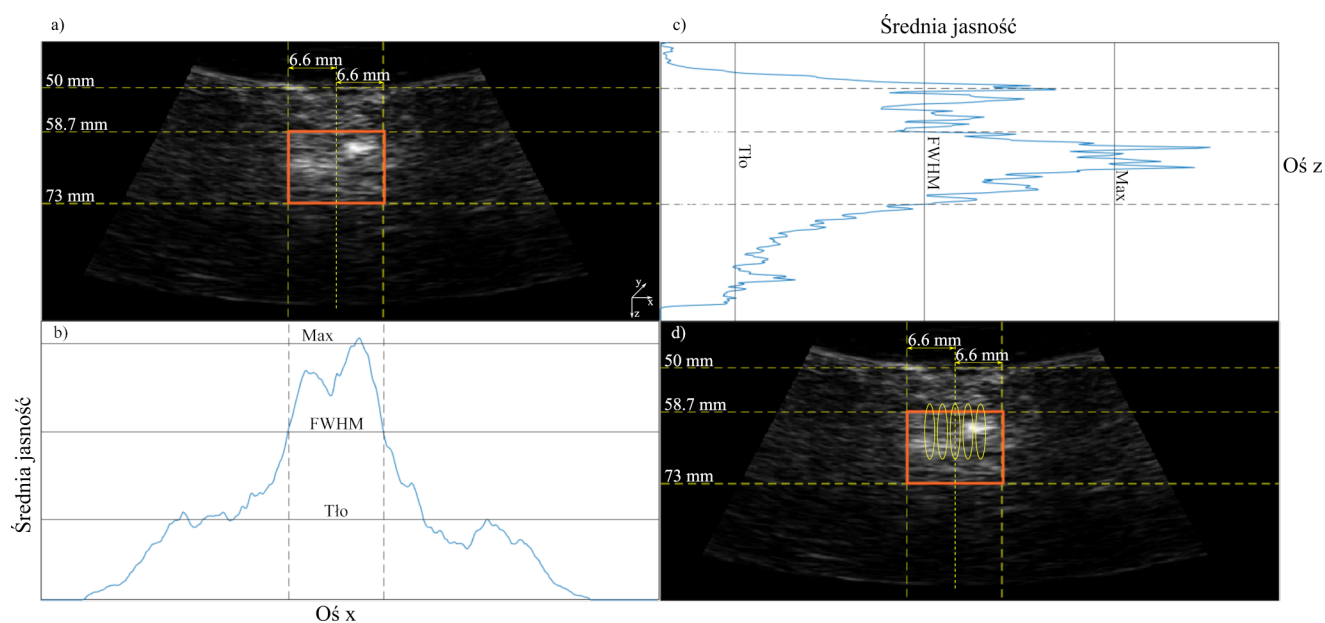


Rys. 3.22. Obraz USG osiowego przekroju próbki tkankowej przed (a) i po (b) sonikacji z jednej strony oraz obraz o trzykrotnie zwiększonym kontraście będący różnicą tych obrazów (c), a także zdjęcie (d) osiowego przekroju próbki z widocznymi zmianami nekrotycznymi powstałymi po jej obustronnej sonikacji. Prostokątny profil przekroju osiowego próbki na obrazach USG zaznaczono żółtym kolorem. Parametry stosowanej impulsowej wiązki *HIFU*: $f = 3.21$ MHz, $DC = 0.6$; $\Delta\tau = 0.03$ ms.

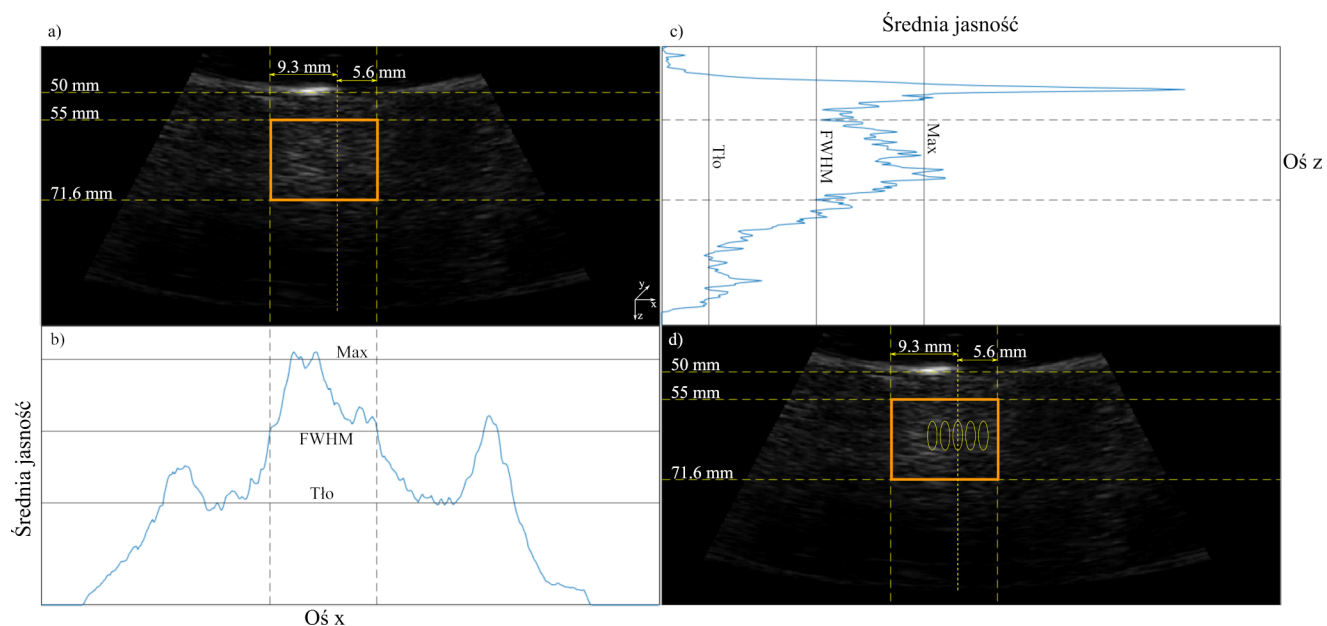
próbki w płaszczyźnie osiowej. Zmiany nekrotyczne na obrazie USG będącym różnicą obrazów B-mode przed i po sonikacji są pokazane na Rys. 3.21c. Ze względu na brak wyraźnie zarysowanych granic obszarów nekrotycznych zbliżonych do granic obszarów zarysowanych na Rys. 3.21 d) i c) nie dokonywano pomiaru lokalizacji i rozmiarów obszarów nekrotycznych. W podobny sposób sytuacja wyglądała dla przypadku pokazanego na Rys. 3.22, gdy zastosowano 3-krotne zwiększenie kontrastu dla obrazu będącego różnicą obrazów przed i po

sonikacji.

Obrazy różnicowe uzyskane dla różnych próbek eksponowanych na wiązki *HIFU* o takich samych parametrach akustycznych zostały uśrednione w celu wyznaczenia lokalizacji i wielkości największych zmian hiperechogenicznych widocznych na obrazach B-mode otrzymanych po sonikacji. Obszar ten wyznaczono jako szerokość połówkową pików przedstawiających największe zmiany w średniej jasności na obrazie różnicowym (Rys. 3.23b i Rys. 3.24b oraz Rys. 3.23c i Rys. 3.24c). Na Rys. 3.23d i Rys. 3.24d przedstawiono uśredniony obraz różnicowy wraz ze zmianami nekrotycznymi o wielkości wyznaczonej ze zdjęć przekrojów próbek (Tab. 3.1). Jak widać z tych rysunków wielkość obszarów hiperechogenicznych na obrazach różnicowych jest znacznie większa od średniej wielkości powstałych zmian nekrotycznych. Z powyższych powodów nie stosowano obrazowania USG do wyznaczania lokalizacji oraz wielkości zmian nekrotycznych utworzonych w próbce tkankowej.



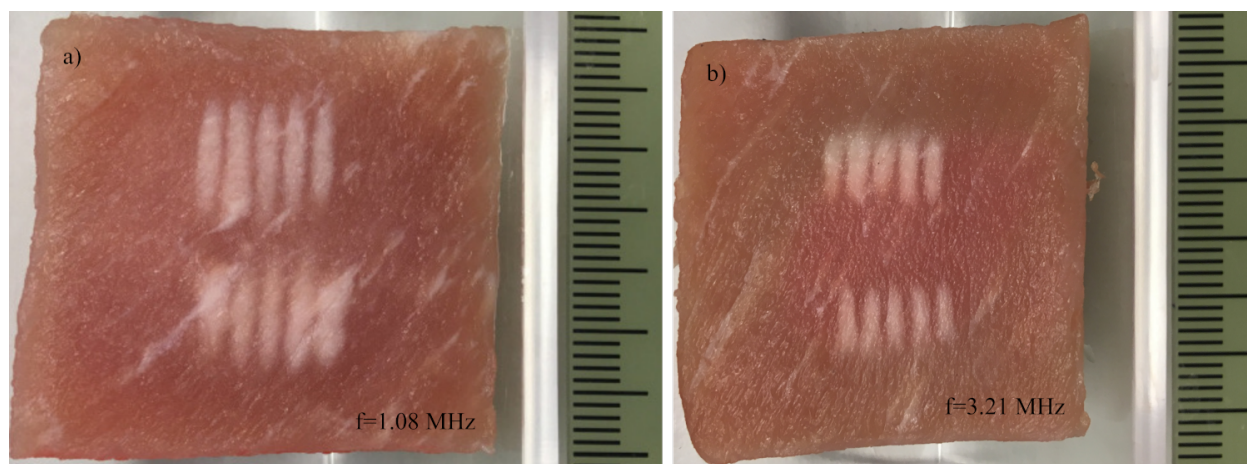
Rys. 3.23. a) Uśredniony obraz różnicowy przedstawiający zmiany jakie zaszły w strukturze obrazu po wykonaniu ablacji wiązką *HIFU* o parametrach $f = 1.08$ MHz, $DC = 0.6$, $\Delta\tau = 300$ ms, b) wykres średniej jasności pikseli wzdłuż osi x , c) wykres średniej jasności pikseli wzdłuż osi z , d) obraz a) wraz z zaznaczonymi zaplanowanymi obszarami nekrotycznymi.



Rys. 3.24. a) Uśredniony obraz różnicowy przedstawiający zmiany jakie zaszły w strukturze obrazu po wykonaniu ablacji wiązką *HIFU* o parametrach $f = 3.21$ MHz, $DC = 0.6$, $\Delta\tau = 300$ ms, b) wykres średniej jasności pikseli wzdłuż osi x , c) wykres średniej jasności pikseli wzdłuż osi z , d) obraz a) wraz z zaznaczonymi zaplanowanymi obszarami nekrotycznymi.

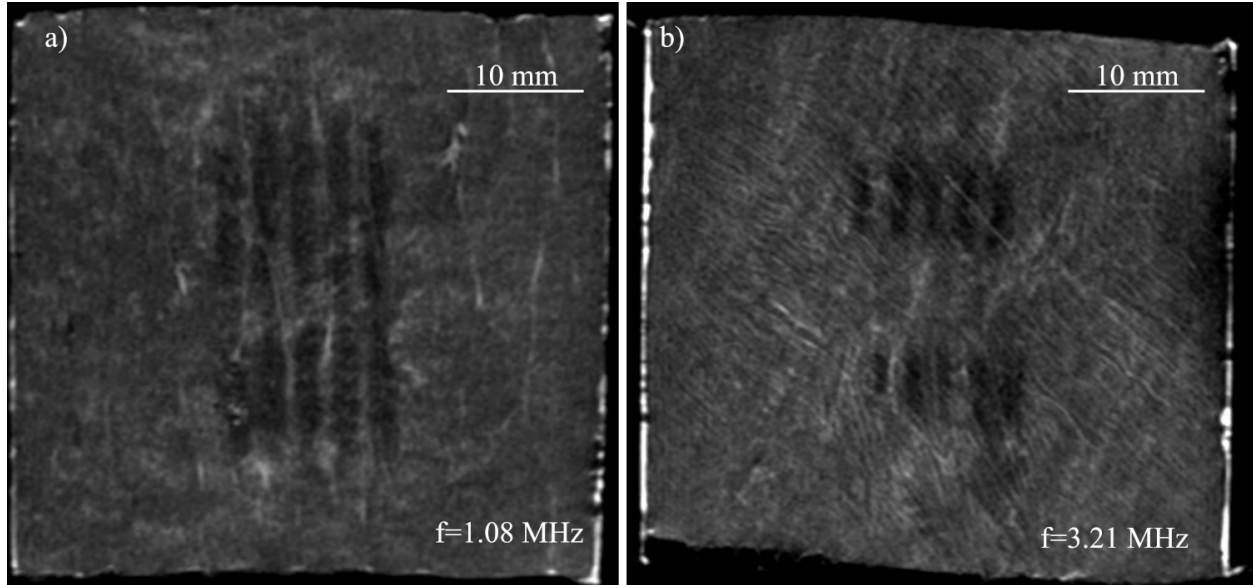
Wpływ częstotliwości wiązki *HIFU*

Następnie został zbadany wpływ częstotliwości stosowanej wiązki *HIFU* na lokalizację i wielkość zmian nekrotycznych. W tym celu próbki były nadźwiękowane wiązkami *HIFU* o różnej częstotliwości ($f = 1.08$ MHz lub $f = 3.21$ MHz) przy takim samym czasie trwania impulsu $\Delta\tau = 300$ ms i współczynniku wypełnienia $DC = 0.6$. Na Rys. 3.25 i Rys. 3.26 przedstawiono przykładowe przekroje osiowe próbek tkankowych wraz z powstałymi zmianami nekrotycznymi widocznymi odpowiednio na zdjęciach i na obrazach MR.



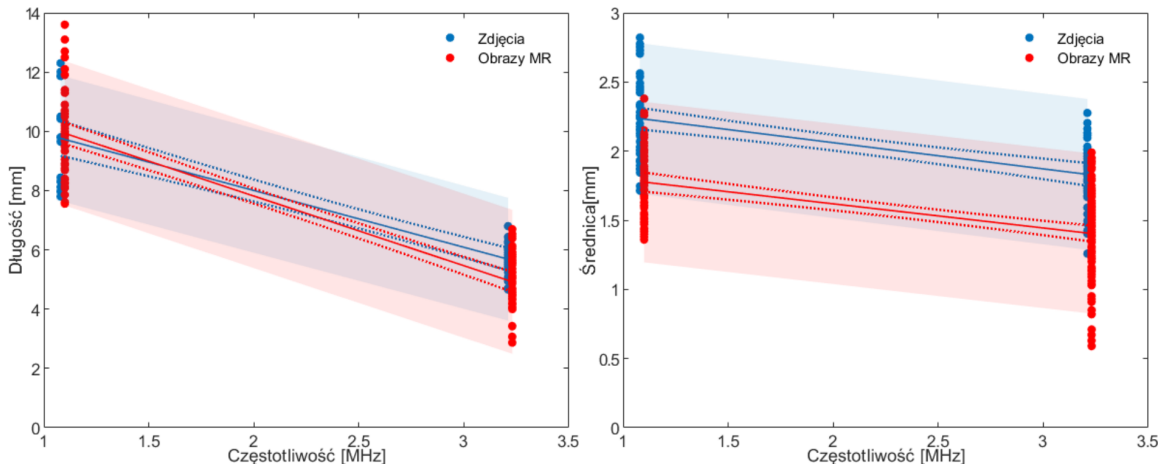
Rys. 3.25. Zdjęcia przekroju osiowego 10 zmian nekrotycznych powstałych w badanej próbce tkankowej *ex vivo* eksponowanej obustronnie na wiązkę *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz (a) lub 3.21 MHz (b) z takim samym współczynnikiem wypełnienia (0.6) i czasem trwania impulsów (300 ms).

Wielkość powstałych zmian nekrotycznych została uśredniona i przedstawiona w Tab. 3.1. Ilościowa analiza otrzymanych wyników wykazała, że średnice zmian nekrotycznych dla obu badanych częstotliwości są zbliżone do siebie, natomiast ich długość w przypadku wiązki o częstotliwości $f = 1.08$ MHz jest prawie dwa razy większa niż dla wiązki *HIFU* o częstotliwości $f = 3.21$ MHz. Ponadto stwierdzono, że średnie rozmiary zmian nekrotycznych zmierzonych na podstawie obrazów MR są przeważnie mniejsze od tych wyznaczonych ze zdjęć, jednak różnice te mieszczą się w granicach niepewności. Uśrednione wartości rozmiarów zmian nekrotycznych wraz z odchyleniem standardowym przedstawiono na Rys. 3.27.



Rys. 3.26. T1-zależny obraz MR przekroju osiowego 10 zmian nekrotycznych powstałych w badanej próbce tkankowej *ex vivo* eksponowanej obustronnie na wiązkę *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz (a) lub 3.21 MHz (b) z takim samym współczynnikiem wypełnienia (0.6) i czasem trwania impulsów (300 ms).

Do otrzymanych danych eksperymentalnych dopasowano metodą najmniejszych kwadratów funkcję liniową opisaną równaniem $y = af + b$ (Tab. 3.2).



Rys. 3.27. Długość (po lewej) i średnica (po prawej) utworzonych zmian nekrotycznych zmierzona ze zdjęć (niebieskie kropki) i obrazów MR (czerwone kropki) w zależności od częstotliwości stosowanej wiązki *HIFU*. Linie przerywane oznaczają granice 95 % przedziału ufności dopasowanej funkcji, zaś jasne obszary wyznaczają zakres 95 % ufności przewidywanych danych doświadczalnych.

		Wartości średnie $\pm \sigma$ [mm]		
		Zdjęcia	Obrazy MR	
$\Delta\tau = 300$ ms, $DC = 0.6$	$f = 1.08$ MHz	długość	9.8 ± 1.7	9.9 ± 1.5
		średnica	2.24 ± 0.31	1.78 ± 0.24
	$f = 3.21$ MHz	długość	5.69 ± 0.54	4.92 ± 0.91
		średnica	1.83 ± 0.22	1.40 ± 0.32

Tab. 3.1. Średnia długość i średnica zmiany nekrotycznej powstałej wewnątrz badanej tkanki ekspozowanej na wiązkę *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz lub 3.21 MHz oraz takim samym współczynnikiem wypełnienia (0.6) i czasem trwania impulsów (300 ms).

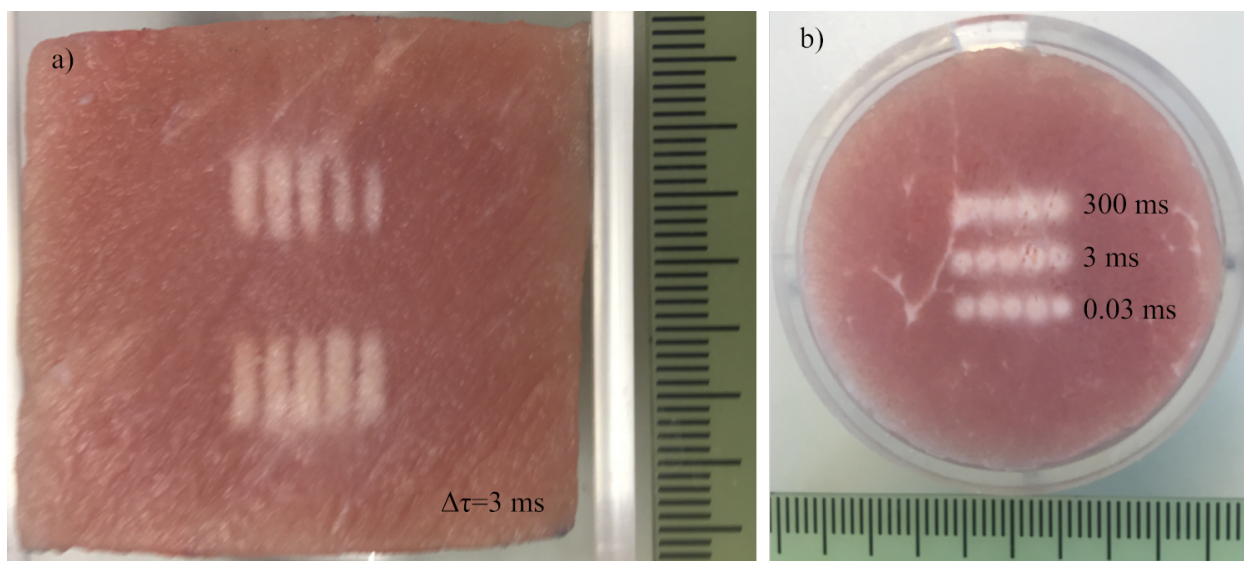
		a	$\sigma(a)$	b	$\sigma(b)$
Zdjęcia	długość	-1.92	0.16	11.83	0.45
	średnica	-0.190	0.027	2.440	0.063
Obrazy MR	długość	-2.35	0.12	12.52	0.29
	średnica	-0.175	0.021	1.968	0.055

Tab. 3.2. Współczynniki a i b funkcji liniowej wraz z ich odchyleniem standardowym $\sigma(a)$, $\sigma(b)$ wyznaczone na podstawie zdjęć i obrazów MR.

Wpływ czasu trwania impulsów

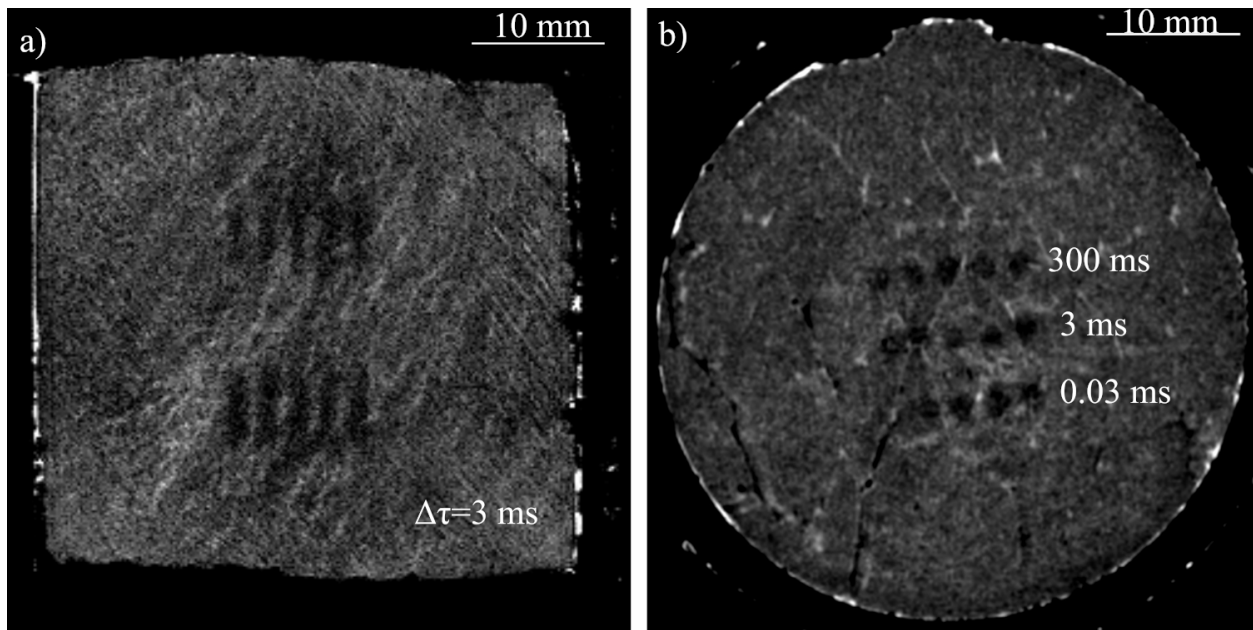
Zbadano także wpływ czasu trwania impulsów wiązki *HIFU* na rozległość zmian nekrotycznych formowanych w badanej tkance. Przykładowe obrazy przekrojów osiowych i promienionych (w płaszczyźnie ogniska wiązki) zmian nekrotycznych utworzonych w badanej tkance po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o różnych parametrach akustycznych przedstawiono na Rys. 3.28 i Rys. 3.29.

Na podstawie zdjęć oraz obrazów MR przekrojów zmian nekrotycznych zmierzono ich

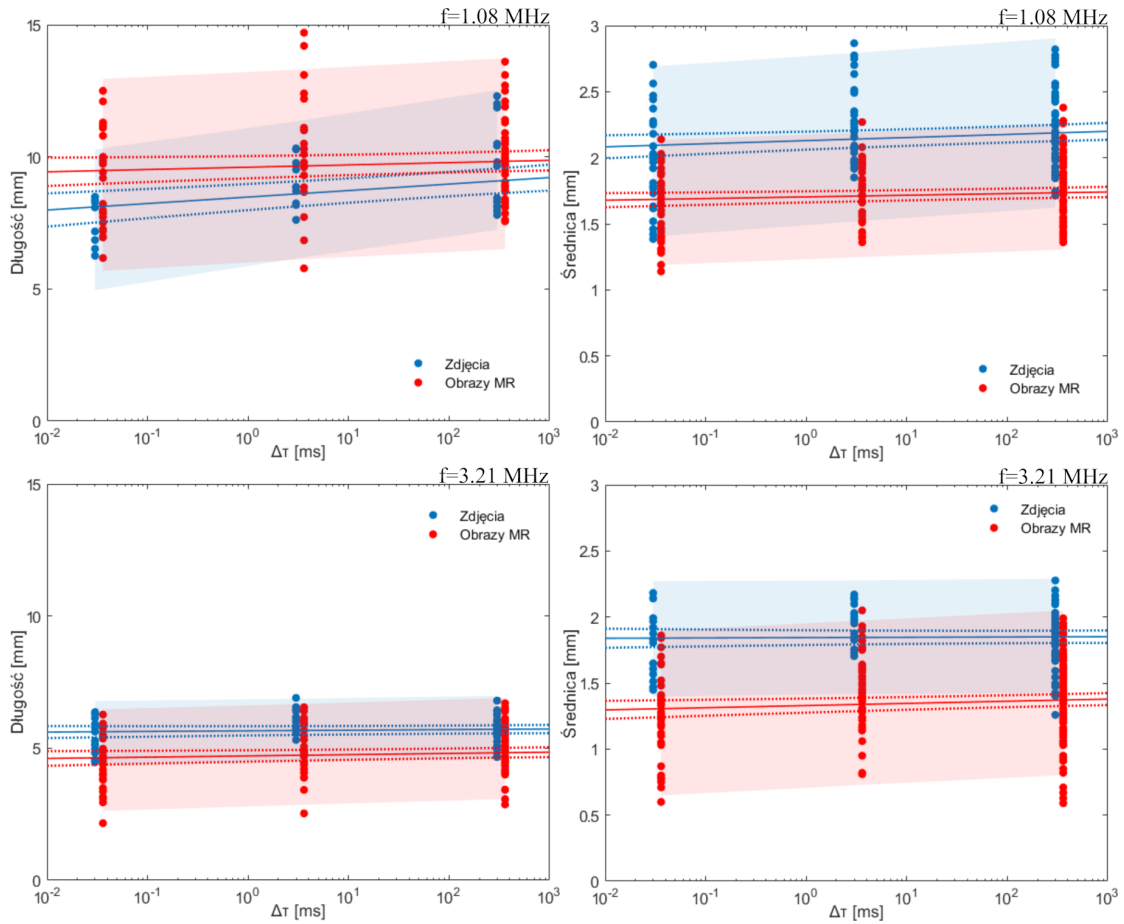


Rys. 3.28. Zdjęcia przekroju osiowego (a) i promieniowego (b) (w płaszczyźnie ogniska wiązki *HIFU*) zmian nekrotycznych powstałych w badanej tkance po jej sonikacji wiązką *HIFU* o $f = 3.21$ MHz, $\Delta\tau = 3$ ms, $DC = 0.6$ (a) oraz wiązką o $f = 1.08$ MHz, $DC = 0.6$, $\Delta\tau = \{0.03, 3, 300\}$ ms (b).

długość i średnicę oraz wyznaczono ich średnią wartość wraz z odchyleniem standardowym (Tab. 3.3). Zmianę wielkości nekrozy wraz ze zmianą czasu trwania impulsów wiązki *HIFU* przedstawiono na Rys. 3.30. Na podstawie analizy otrzymanych wyników wykazano, że zmiana czasu trwania impulsów wiązki nawet o \pm dwa rzędy wielkości niezależnie od jej częstotliwości nie wpływa znacząco na wielkość formowanych zmian nekrotycznych. Do uzyskanych wartości średnich dopasowano metodą najmniejszych kwadratów funkcję liniową o równaniu $y(\log(\Delta\tau)) = a\log(\Delta\tau) + b$ (Tab. 3.4).



Rys. 3.29. Obrazy MR przekroju osiowego (a) i promieniowego (b) (w płaszczyźnie ogniska wiązki *HIFU*) zmian nekrotycznych powstałych w badanej tkance po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o $f = 3.21$ MHz, $\Delta\tau = 3$ ms, $DC = 0.6$ (a) oraz po jej ekspozycji na wiązkę o $f = 1.08$ MHz, $DC = 0.6$, $\Delta\tau = \{0.03, 3, 300\}$ ms (b).



Rys. 3.30. Długość (po lewej) i średnica (po prawej) powstałych zmian nekrotycznych zmierzona na podstawie zdjęć (niebieskie kropki) i obrazów MR (czerwone kropki) ich przekrojów w zależności od czasu trwania impulsów wiązki *HIFU* o częstotliwości $f = 1.08$ MHz (górze) oraz $f = 3.21$ MHz (dół). Linie przerywane oznaczają granice 95 % przedziału ufności dopasowanej funkcji, zaś jasne obszary oznaczają zakres 95 % ufności przewidywanych danych doświadczalnych.

		Wartość średnia $\pm \sigma$ [mm]				
		$f = 1.08$ MHz		$f = 3.21$ MHz		
		Zdjęcia	Obrazy MR	Zdjęcia	Obrazy MR	
$\Delta\tau$	0.03 ms	długość	7.74 \pm 0.85	9.0 \pm 1.8	5.39 \pm 0.65	4.4 \pm 1.0
		średnica	2.00 \pm 0.35	1.66 \pm 0.24	1.78 \pm 0.22	1.20 \pm 0.32
	3 ms	długość	9.3 \pm 1.3	10.4 \pm 2.2	6.08 \pm 0.41	4.99 \pm 0.98
		średnica	2.24 \pm 0.29	1.73 \pm 0.22	1.95 \pm 0.15	1.44 \pm 0.29
	300 ms	długość	9.8 \pm 1.7	9.9 \pm 1.5	5.69 \pm 0.54	4.92 \pm 0.91
		średnica	2.24 \pm 0.31	1.78 \pm 0.24	1.83 \pm 0.22	1.40 \pm 0.32

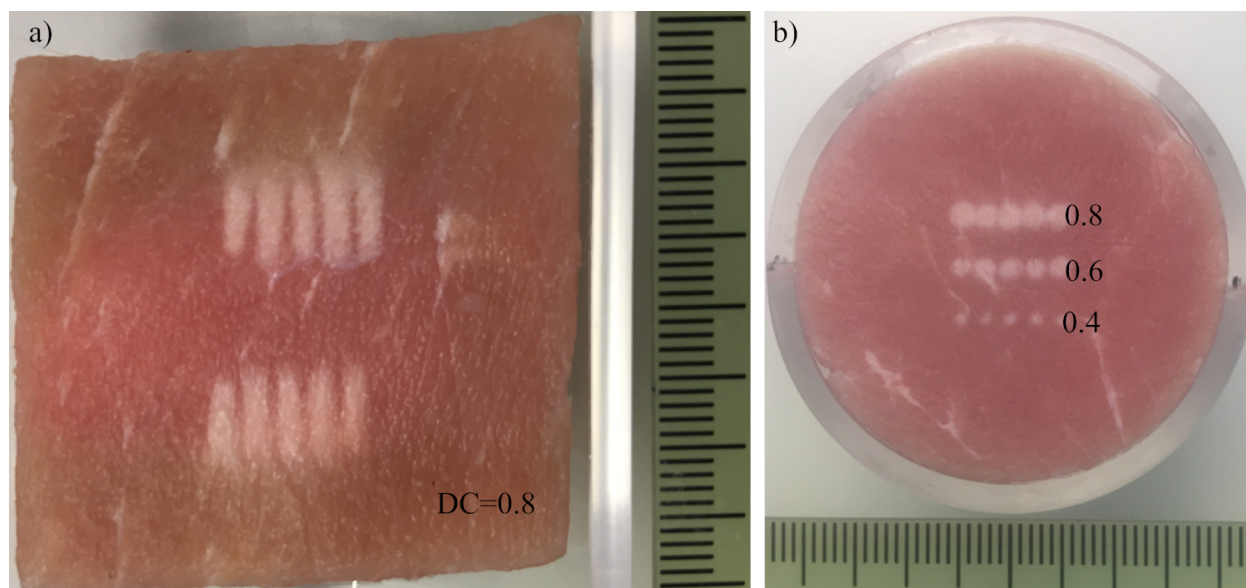
Tab. 3.3. Średnia długość i średnica zmiany nekrotycznej powstałej wewnątrz badanej tkanki po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o różnej częstotliwości $f = 1.08$ MHz lub $f = 3.21$ MHz i czasie trwania impulsów ($\Delta\tau = 0.03$ ms lub 3 ms lub 300 ms) oraz takim samym współczynnikiem wypełnienia ($DC = 0.6$).

			a	$\sigma(a)$	b	$\sigma(b)$
			$f = 1.08$ MHz, $DC = 0.6$	Zdjęcia	długość	0.246
średnica	0.0235	0.0081			2.130	0.034
Obrazy MR	długość	0.087		0.048	9.61	0.21
	średnica	0.0125		0.0049	1.704	0.021
$f = 3.21$ MHz, $DC = 0.6$	Zdjęcia	długość	0.023	0.020	5.655	0.088
		średnica	0.0024	0.0063	1.844	0.028
	Obrazy MR	długość	0.048	0.024	4.71	0.11
		średnica	0.0164	0.0059	1.329	0.027

Tab. 3.4. Współczynniki a i b funkcji liniowej wraz z ich odchyleniem standardowym $\sigma(a)$, $\sigma(b)$ wyznaczone na podstawie zdjęć i obrazów MR przekrojów zmian nekrotycznych powstałych w badanej tkance po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o różnej częstotliwości $f = 1.08$ MHz lub $f = 3.21$ MHz i czasie trwania impulsów ($\Delta\tau = 0.03$ ms lub 3 ms lub 300 ms) oraz takim samym współczynnikiem wypełnienia ($DC = 0.6$).

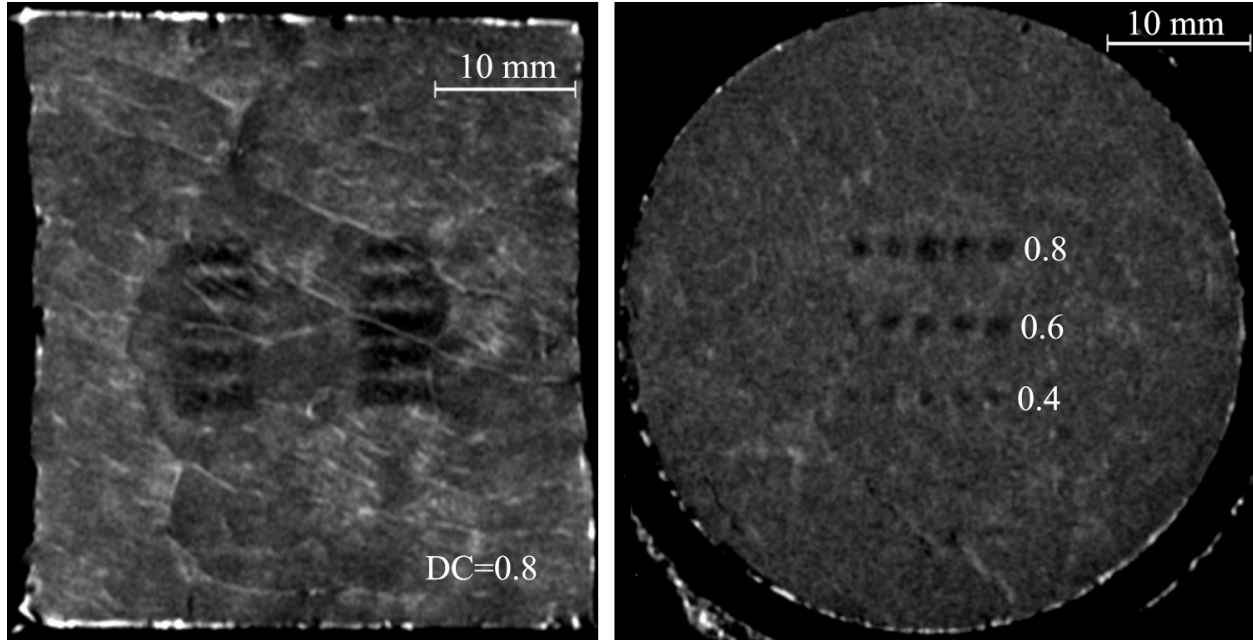
Wpływ współczynnika wypełnienia

Zbadano także wpływ współczynnika wypełnienia (DC) impulsowej wiązki *HIFU* na wielkość zmiany nekrotycznej powstałej w badanej tkance po jej nadźwiękowieniu. W eksperymentach stosowano wiązki *HIFU* o różnej częstotliwości (1.08 MHz lub 3.21 MHz) i współczynnika wypełnienia ($DC = 0.4$ lub 0.6 lub 0.8) dla takiego samego czasu trwania impulsów ($\Delta\tau = 300$ ms). Pomiar rozległości powstałych zmian nekrotycznych przeprowadzono na podstawie zdjęć i obrazów MR ich przekrojów osiowych i promieniowych (w płaszczyźnie ogniskowej wiązki). Przykładowe zdjęcia i obrazy MR przekrojów zmian przedstawiono na Rys. 3.31 i Rys. 3.32.



Rys. 3.31. Zdjęcia przekroju osiowego (a) i promieniowego (b) (w płaszczyźnie ogniska wiązki *HIFU*) zmian nekrotycznych powstałych w badanej tkance po jej sonikacji wiązką *HIFU* o takich samych parametrach (a) ($f = 3.21$ MHz, $\Delta\tau = 3$ ms, $DC = 0.6$) i o różnych parametrach (b) ($f = 1.08$ MHz, $DC = 0.6$, $\Delta\tau = 0.03$ ms lub 3 ms lub 300 ms).

Wyniki pomiarów wielkości zmian nekrotycznych uśredniono i przedstawiono w Tab. 3.5. Na Rys. 3.33 widoczna jest zmiana wielkości nekrozy wraz ze zmianą współczynnika wypełnienia impulsowej wiązki *HIFU*. Dwukrotne zwiększenie współczynnika wypełnienia wiązki

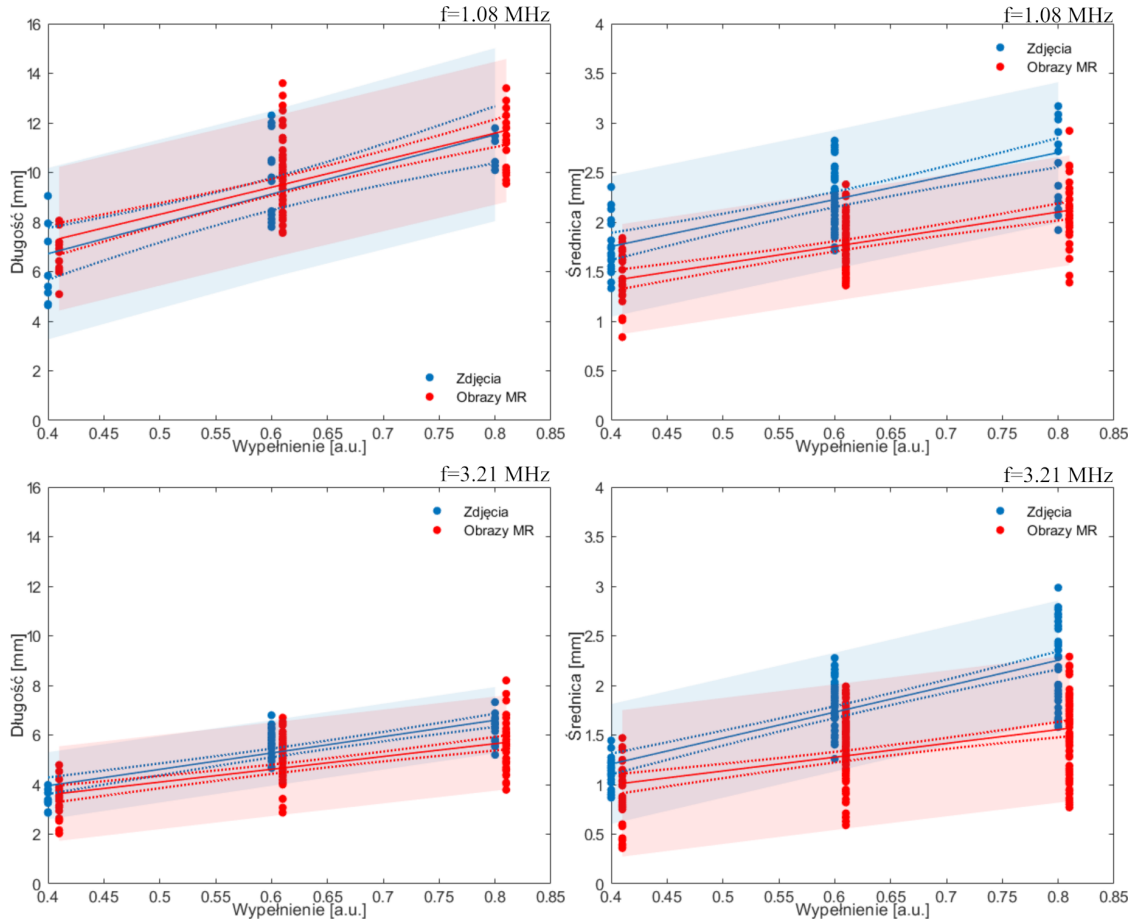


Rys. 3.32. T1-zależne obrazy MR przekrojów osiowych (a) i promieniowych w płaszczyźnie ogniska wiązki *HIFU* (b) zmian nekrotycznych powstałych w badanej tkance po jej sonikacji wiązką *HIFU* o różnych parametrach akustycznych: $f = 3.21$ MHz, $\Delta\tau = 3$ ms, $DC = 0.6$ (a) i $f = 1.08$ MHz, $DC = 0.4$ lub 0.6 lub 0.8 , $\Delta\tau = 300$ ms (b).

HIFU powoduje prawie dwukrotne wydłużenie zmiany nekrotycznej. Do wyników pomiarów dopasowano metodą najmniejszych kwadratów funkcję liniową (Tab. 3.6).

Weryfikacja lokalizacji utworzonej nekrozy

Lokalizacja powstałych zmian nekrotycznych, czyli głębokość środka każdej nekrozy pod powierzchnią tkanki została wyznaczona na podstawie pomiarów ze zdjęć i obrazów MR ich przekrojów dla wiązek *HIFU* o różnych parametrach akustycznych ($f = 1.08$ MHz lub 3.21 MHz, $DC = 0.4; 0.6; 0.8$ i $\Delta\tau = 0.03$ ms; 3 ms; 300 ms). Wyznaczona w ten sposób średnia głębokość zmiany wyniosła odpowiednio 12.16 ± 1.26 mm i 13.13 ± 0.91 mm. Nie zaobserwowano istotnych różnic w lokalizacji powstałych zmian nekrotycznych w związku ze zmianą parametrów akustycznych wiązki *HIFU*.



Rys. 3.33. Długość (po lewej) i średnica (po prawej) utworzonych zmian nekrotycznych zmierzona na podstawie zdjęć (niebieskie kropki) i obrazów MR (czerwone kropki) ich przekrojów w zależności od stosowanego współczynnika wypełnienia wiązki *HIFU* o częstotliwości $f = 1.08$ MHz (górną) i $f = 3.21$ MHz (dół). Linie przerywane oznaczają granice 95 % przedziału ufności dopasowanej funkcji, zaś jasne obszary oznaczają zakres 95 % ufności przewidywanych danych doświadczalnych.

3.3.3. Dyskusja

Na podstawie ilościowej analizy uzyskanych wyników eksperymentalnych oceniono lokalizację i rozległość elipsoidalnych zmian martwiczych utworzonych w badanej tkance po jej ekspozycji na impulsową wiązkę *HIFU* o różnej częstotliwości, czasie trwania impulsów i współczynnika wypełnienia. Analizę przeprowadzono poprzez pomiar wielkości osiowych i promieniowych przekrojów powstałych zmian nekrotycznych po ich wizualizacji z wykorzy-

		Wartość średnia $\pm\sigma$ [mm]			
		$f = 1.08$ MHz		$f = 3.21$ MHz	
		Zdjęcia	Obrazy MR	Zdjęcia	Obrazy MR
0.4	długość	6.2 ± 1.6	6.8 ± 1.1	3.38 ± 0.36	3.40 ± 0.79
	średnica	1.77 ± 0.30	1.42 ± 0.27	1.12 ± 0.18	0.86 ± 0.31
0.6	długość	9.8 ± 1.7	9.9 ± 1.5	5.69 ± 0.54	4.92 ± 0.91
	średnica	2.24 ± 0.31	1.78 ± 0.24	1.83 ± 0.22	1.40 ± 0.32
0.8	długość	10.88 ± 0.71	11.2 ± 1.2	6.34 ± 0.62	5.5 ± 1.0
	średnica	2.74 ± 0.52	2.11 ± 0.35	2.14 ± 0.40	1.48 ± 0.42

Tab. 3.5. Średnia długość i średnica zmiany nekrotycznej utworzonej wewnątrz badanej tkanki po jej sonikacji wiązką *HIFU* o częstotliwości $f = 1.08$ MHz lub 3.21 MHz, czasie trwania impulsów $\Delta\tau = 300$ ms oraz współczynnika wypełnienia $DC = 0.4$ lub 0.6 lub 0.8 .

staniem różnych metod obrazowania (rezonansu magnetycznego i optycznego) oraz porównanie wyników.

W tym badaniu obrazowanie USG wykorzystano jedynie do wstępnej kontroli zabiegu ablacji. Miało ono charakter raczej jakościowy i nie służyło do oceny wielkości zmian martwiczych. Obrazowanie USG stosowano jednocześnie z ablacją jedynie w celu sprawdzenia, czy centralna zmiana martwicza (widoczna na obrazie jako obszar hiperechogeniczny) tworzy się na osi obrazu USG przekroju osiowego badanej próbki tkanki na zamierzonej głębokości pod jej powierzchnią.

Średnie wielkości powstałych zmian nekrotycznych zmierzone na podstawie zdjęć lub obrazów MR ich przekrojów różnią się od siebie w granicach niepewności. Średnia długość zmiany nekrotycznej powstałej w badanej tkance na skutek jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz jest prawie dwukrotnie większa od długości zmian utworzonych po sonikacji wiązką o częstotliwości 3.21 MHz. Stosunek tych długości jest zgodny ze sto-

		a	$\sigma(a)$	b	$\sigma(b)$	
$f = 1.08$ MHz, $\Delta\tau = 300$ ms	Zdjęcia	długość	12.0	2.1	1.9	1.3
		średnica	2.37	0.30	0.81	0.18
	Obrazy MR	długość	10.9	1.3	2.85	0.81
		średnica	1.73	0.20	0.72	0.13
$f = 3.21$ MHz, $\Delta\tau = 300$ ms	Zdjęcia	długość	6.61	0.61	1.31	0.40
		średnica	2.62	0.20	0.16	0.13
	Obrazy MR	długość	5.16	0.64	1.52	0.41
		średnica	0.14	0.19	0.44	0.12

Tab. 3.6. Współczynniki a i b funkcji liniowej wraz z ich odchyleniem standardowym $\sigma(a)$, $\sigma(b)$ wyznaczone na podstawie danych otrzymanych ze zdjęć i obrazów MR przekrojów zmian nekrotycznych powstałych po sonikacji badanej tkanki wiązką *HIFU* o częstotliwości $f = 1.08$ MHz lub 3.21 MHz, $\Delta\tau = 300$ ms i $DC = 0.4; 0.6; 0.8$.

sunkiem długości stref ogniskowych tych wiązek wyznaczonych z osiowych rozkładów ciśnień akustycznych. W przypadku zmiany średnicy wraz ze wzrostem częstotliwości wiązki sytuacja wygląda inaczej. Wyznaczony na podstawie zmierzonego w wodzie rozkładu ciśnienia w wiązce o częstotliwości 1.08 MHz i 3.21 MHz stosunek średnic ich objętości ogniskowej wyniósł 2.75 , tymczasem analogiczny stosunek średnic zmian nekrotycznych wyznaczony ze zdjęć i obrazów MR wyniósł odpowiednio 1.05 i 1.25 . Tak duża różnica w stosunkach średnic wynika najprawdopodobniej z większego gradientu ciśnienia, a tym samym większego gradientu temperatury indukowanej w tkance w rejonie ogniska wiązki o częstotliwości 3.21 MHz. Z kolei większy gradient temperatury prowadzi do szybszego rozchodzenia się ciepła w tkance. W konsekwencji średnica nekrotycznej zmiany powstałej w badanej tkance po jej sonikacji wiązką *HIFU* o częstotliwości 3.21 MHz nie różni się znacząco od średnicy zmiany utworzonej na skutek ekspozycji na wiązkę o częstotliwości 1.08 MHz.

Wyznaczono wartości średnie wraz z odchyleniem standardowym wielkości zmian nekro-

tycznych powstałych w badanej tkance po jej sonikacji wiązką *HIFU* o różnej częstotliwości (1.08 MHz / 3.21 MHz) i czasie trwania impulsów (0.03 ms, 3 ms, 300 ms) przy takim samym współczynniku wypełnienia (0.6). Zbadano wpływ czasu trwania impulsów w zakresie czterech rzędów wielkości i nie stwierdzono znaczących różnic w rozległości powstałych zmian nekrotycznych. Wykazano, że różnice w czasie trwania impulsów przy zachowaniu takiego samego współczynnika wypełnienia nie powodują istotnych różnic w rozległości utworzonych zmian nekrotycznych.

Wpływ współczynnika wypełnienia (DC) na wielkość powstałych zmian nekrotycznych został oszacowany poprzez wyznaczenie ich średniej długości i średnicy wraz z odchyleniem standardowym. Badane próbki tkankowe zostały poddane 3 s ekspozycji na wiązkę *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz lub 3.21 MHz, takim samym czasie trwania impulsów (300 ms) i różnym współczynniku wypełnienia ($DC = 0.4; 0.6; 0.8$). Rozległość powstałej zmiany nekrotycznej w zależności od współczynnika wypełnienia (DC) stosowanej wiązki *HIFU* jest pokazana na Rys. 3.31 i Rys. 3.32. Ilościowy wzrost wielkości nekrozy wraz ze wzrostem wartości DC przedstawiono na Rys. 3.33. Otrzymane wyniki są zgodne z przewidywaniami, gdyż większa wartość współczynnika wypełnienia oznacza dłuższą efektywną ekspozycję tkanki na wiązkę *HIFU* o stałym natężeniu, co powoduje, że większa ilość energii akustycznej fali jest zamienianej w ciepło w próbce.

Zastosowanie dwóch technik wizualizacji przekrojów zmian martwiczych (zdjęcia i obrazy MR) powstałych w badanej tkance po jej sonikacji wiązką *HIFU* o zadanych parametrach akustycznych w celu wyznaczenia ich lokalizacji i wielkości umożliwiło wzajemną weryfikację tych metod. Wykazano, że średnia różnica pomiędzy średnią wielkością utworzonej zmiany wyznaczoną ze zdjęć i obrazów MR jej przekrojów, wynosi 0.25 mm. Biorąc pod uwagę fakt, że rozdzielczość otrzymanych obrazów MR wynosi ok. 5 pikseli/mm, średnia różnica odpowiada wymiarom niewiele większym od jednego piksela. Można więc założyć, że niewielkie różnice w pomiarach wielkości zmian martwiczych wyznaczonych na podstawie zdjęć a obrazów MR są niepewnościami pomiarowymi.

Na podstawie zdjęć i obrazów MR przekrojów powstałych zmian martwiczych wyznaczono także lokalizację ich środka pod powierzchnią badanej tkanki. Zaobserwowano, że środek nekrozy jest umiejscowiony na takiej samej głębokości pod powierzchnią tkanki (wynikającej z geometrii wiązki *HIFU* i ośrodków propagacji) niezależnie od parametrów akustycznych stosowanej wiązki. Średnia głębokość lokalizacji środka nekrozy wyznaczona ze zdjęć i obrazów MR jej przekrojów jest zbliżona i zgodna z pozycją maksymalnej amplitudy wynikającej z obliczonego rozkładu ciśnienia akustycznego w wiązce propagowanej w dwuwarstwowym układzie ośrodków woda-tkanka.

Do głównych źródeł niepewności można zaliczyć:

- niejednorodność struktury próbek tkankowych. Próbki schabu wieprzowego eksponowane na wiązki *HIFU* różnią się między sobą strukturą (ułożeniem włókien, zawartością tłuszczu, umiejscowieniem wtrąceń). Wszystkie te niejednorodności i różnice pomiędzy próbkami wpływają na zmianę ich parametrów akustycznych, a w konsekwencji na powtarzalność wyników, dlatego został przeprowadzony szereg eksperymentów dla zbadania wpływu każdego parametru sonikacji na kilku próbkach, aby zminimalizować niepewności wynikające z niejednorodności próbek.
- nieidealne przekrojenie próbki w płaszczyźnie osiowej lub ogniskowej. Podczas wyznaczania wielkości powstałych zmian nekrotycznych na podstawie zdjęć ich przekrojów osiowych i promieniowych istnieje składowa niepewności związana z trafieniem w płaszczyznę przekroju. W przypadku, gdy próbka nie została przekrojona wzdłuż właściwej płaszczyzny wielkość długości i średnicy powstałych zmian nekrotycznych może być zaniżona. Niepewność ta nie występowała w przypadku wyznaczania wielkości powstałej nekrozy na podstawie pomiarów z obrazów MR, gdyż w tym przypadku próbka nie była krojona i nie była wyjmowana z komory tkankowej. Przed pomiarem wielkości nekrozy obrazy MR przekrojów próbki były poddawane wstępnej obróbce w celu wyznaczenia w skali szarości minimalnej wartości intensywności dla każdego przekroju

zawierającego zmianę nekrotyczną. Taki zabieg pozwalał przekształcić kilka obrazów MR równoległych przekrojów zmian nekrotycznych w jeden obraz MR umożliwiający pomiar wielkości zmiany.

3.3.4. Wnioski

Analiza ilościowa uzyskanych wyników eksperymentalnych umożliwiła dobór trajektorii ruchu wiązki *HIFU*, a także odległościowych odstępów między ekspozycjami, które prowadzą do objęcia nekrozą całej zaplanowanej objętości wewnątrz badanej tkanki bez uszkodzenia otaczających ją struktur. Przykładowo, dla 1.08-MHz wiązek o współczynniku wypełnienia 0.6 maksymalna odległość między sąsiednimi ekspozycjami wyniosła ok. 2 mm, a dla 3.21-MHz wiązek o tym samym współczynniku wypełnienia ok. 1.8 mm.

Na podstawie otrzymanych wyników badań eksperymentalnych wykazano, że zastosowane urządzenie ablacyjne *HIFU* kontrolowane obrazowaniem USG jest zdolne do utworzenia zmiany martwiczej o wyraźnie zarysowanym profilu w zaplanowanej lokalnej objętości wewnątrz tkanki *ex vivo* bez uszkodzenia otaczających ją struktur tkankowych.

Zastosowanie obrazowania USG typu B-mode do kontroli skuteczności terapii *HIFU* wymaga dodatkowych badań, np. poprzez zastosowanie termografii ultradźwiękowej [60], elastografii [61], czy uczenia maszynowego [62].

Analiza ilościowa uzyskanych danych pozwoliła oszacować lokalizację i rozległość powstałych zmian martwiczych w zależności od właściwości akustycznych (częstotliwości, czasu trwania impulsów, współczynniku wypełnienia) wiązek *HIFU*. Wyniki tej analizy umożliwiły zaplanowanie trajektorii ruchu wiązki oraz odległościowych i czasowych odstępów między wielokrotnymi ekspozycjami prowadzącymi do pokrycia nekrozą całej leczonej objętości wewnątrz badanej tkanki. Ma to kluczowe znaczenie w planowaniu bezpiecznej i skutecznej terapii w przyszłych badaniach przedklinicznych na zwierzętach.

3.4. Ocena dokładności wykonania zaplanowanej ablacji *HIFU*

Celem tego etapu badań była eksperymentalna ocena wykonania zaplanowanej ablacji cylindrycznej objętości wewnątrz badanej tkanki *ex vivo* osadzonej w referencyjnej cylindrycznej komorze wiązką *HIFU*.

Zaplanowana objętość tkankowa poddawana ablacji miała kształt cylindra (o średnicy znacznie mniejszej od wewnętrznej średnicy komory) usadowionego współosiowo z nią. Zbadano cztery cylindryczne objętości poddawane ablacji, po dwie dla każdej badanej częstotliwości (1.08 MHz / 3.21 MHz).

Dla wiązek *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz cylindryczna objętość zaplanowana do ablacji miała średnicę 5 mm lub 9 mm. Jak wynika z wyznaczonej wcześniej długości zmiany nekrotycznej powstałej w badanej tkance po jej ekspozycji na pojedynczą 1.08-MHz wiązkę *HIFU* wysokość zaplanowanego do leczenia cylindra wyniosła ok. 10 mm. Dla wiązek *HIFU* o częstotliwości 3.21 MHz zaplanowano do ablacji cylindryczną objętość o średnicy 5 mm lub 8 mm i wysokości ok. 5 mm.

Cylindryczne zmiany martwicze o zaplanowanej średnicy formowano przesuwając komorę tkankową względem przetwornika *HIFU* za pomocą mechanicznego systemu precyzyjnego pozycjonowania sterowanego komputerowo. Zmiany nekrotyczne powstałe po wielokrotnej sonikacji tkanki pojedynczą wiązką *HIFU* porównano z tymi zaplanowanymi do leczenia za pomocą różnych metod ich wizualizacji (optycznej i obrazowania MR), a także wyznaczono przemieszczenie między ich środkami.

3.4.1. Materiały i metody

W tych badaniach używano stanowiska eksperymentalnego opisanego w rozdziale 3.2. Jako tkankę *ex vivo* wykorzystano, podobnie jak w poprzednich badaniach, próbki świeżego schabu

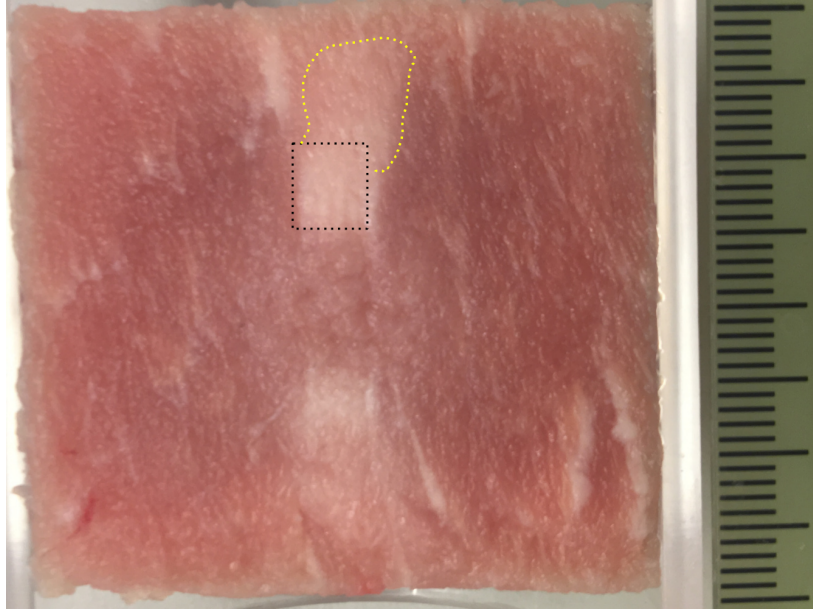
wieprzowego. Metodologia przygotowania próbek była taka sama jak w przypadku badań opisanych w rozdziale 3.3.

Planowanie ablacji

W poprzednich badaniach wyznaczono wpływ parametrów akustycznych wiązki *HIFU* na lokalizację i rozległość utworzonych zmian nekrotycznych dla średniej mocy akustycznej. W opisywanych eksperymentach zastosowano wiązkę o dwóch częstotliwościach 1.08 MHz i 3.21 MHz, czasie trwania impulsu $\Delta\tau = 300$ ms i współczynniku wypełnienia $DC = 0.6$. Czas pojedynczej ekspozycji na wiązkę *HIFU*, tak jak w poprzednich eksperymentach, wynosił 3 s, zaś przerwa czasowa pomiędzy kolejnymi ekspozycjami wynosiła 2 min. Zwiększenie wartości przerwy czasowej (w porównaniu do badań opisanych w 3.3) z 1 min do 2 min była spowodowana zaobserwowanymi różnicami w kolorze próbki umiejscowionymi na drodze wiązki (między powierzchnią próbki a początkiem strefy ogniskowej wiązki) prawdopodobnie związanymi z koagulacją, których, aby zachować jedną z głównych zalet ablacji ultradźwiękowej - nieinwazyjność, należało unikać. Przykładowe zdjęcie ukazujące niepożądane zmiany (obszar ograniczony żółtą linią przerywaną) przedstawiono na Rys. 3.34.

Zgodnie z wynikami eksperymentów opisanych w rozdziale 3.3, dla 1.08-MHz wiązek długość pojedynczej elipsoidalnej zmiany martwiczej powstałej w badanej tkance po jej ekspozycji na pojedynczą wiązkę *HIFU* wyniosła ok. 10 mm, a średnica ok. 2 mm, natomiast dla 3.21-MHz wiązek odpowiednio 5.7 mm i 1.8 mm przy czasie trwania impulsów 300 ms i współczynniku wypełnienia 0.6.

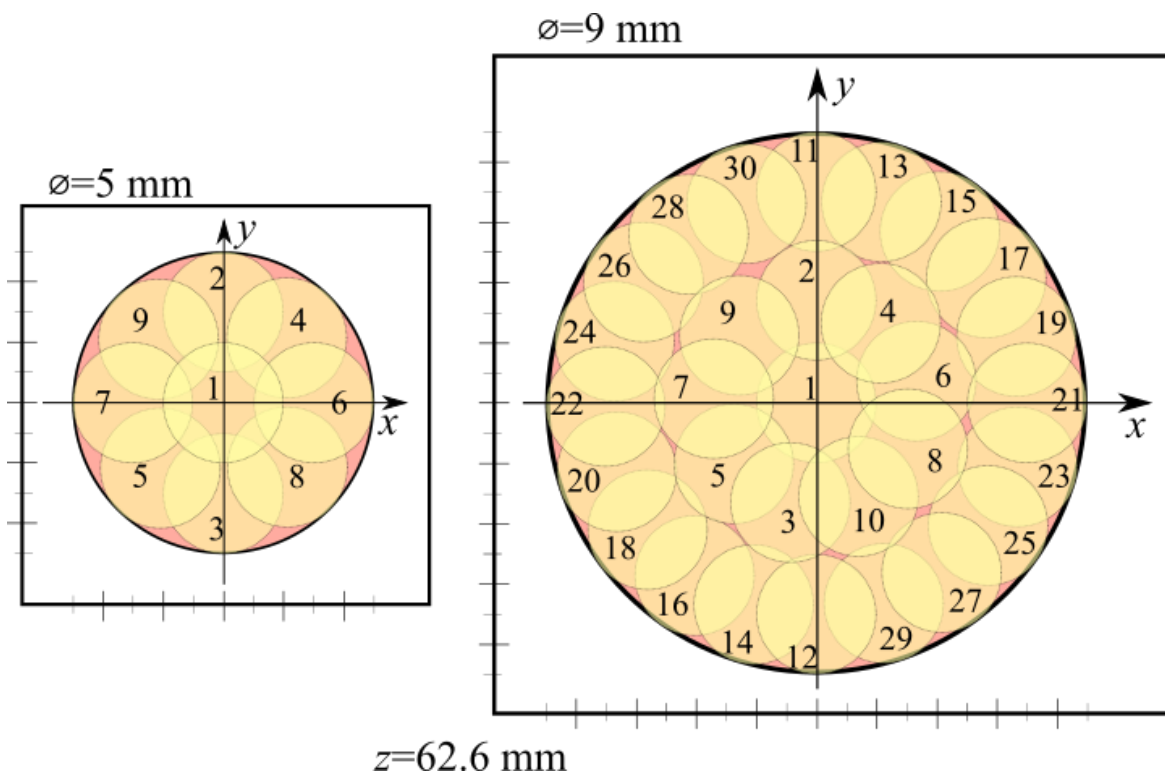
Aby pokryć martwicą całą zaplanowaną do ablacji objętość cylindryczną wewnątrz tkanki należało utworzyć wiele pojedynczych zmian nekrotycznych przesuując komorę tkankową pomiędzy ekspozycjami wzdłuż zaprogramowanej trajektorii ruchu z wybranym odstępem czasowym i odległościowym. Jak wspomniano wyżej, stosowano wiązki *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz lub 3.21 MHz, czasie trwania impulsu 300 ms i współczynniku wypełnienia 0.6. Czas trwania pojedynczej ekspozycji o takiej samej liczbie generowanych impulsów wynosił



Rys. 3.34. Przykładowe zdjęcie przekroju podłużnego próbki *ex vivo* z uwidocznioną zmianą ablacyjną. Czarną linią przerywaną zaznaczono obszar, który był zaplanowany do ablacji. Żółtą linią oznaczono obszar, w którym doszło do koagulacji ze względu na zbyt krótką przerwę pomiędzy kolejnymi ekspozycjami na wiązkę *HIFU*.

3s. Pozycje i kolejność pojedynczych ablacji w płaszczyźnie ogniskowej stosowanych wiązek *HIFU* w celu utworzenia cylindrycznej zmiany martwiczej o zadanej średnicy przedstawiono na Rys. 3.35.

Środek każdego z cylindrów został zaplanowany tak, aby znajdował się 12.6 mm pod powierzchnią próbki na osi cylindrycznej komory tkankowej. Dodatkowo, w celu minimalizacji możliwości związanej z nieochłodzeniem się tkanki do temperatury początkowej, każdą kolejną ekspozycję próbki na wiązkę *HIFU* zaplanowano tak, aby znajdowała się w jak największej odległości od poprzedniej. Każdą próbkę tkanki poddawano ablacji z dwóch jej stron (z przodu i z tyłu) tak, aby zmaksymalizować wykorzystanie materiału badawczego i ilość danych statystycznych oraz zminimalizować ewentualne różnice w wynikach eksperymentalnych wynikające z różnic strukturalnych pomiędzy kolejnymi próbkami.



Rys. 3.35. Położenia i kolejność pojedynczych ablacji zaplanowanych w celu utworzenia cylindrycznej zmiany martwiczej o średnicy 5 mm (po lewej) i 9 mm (po prawej) wiązką *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz, czasie trwania impulsów 300 ms i współczynniku wypełnienia 0.6. Pokazano przekrój cylindra w płaszczyźnie ogniskowej wiązki.

Wizualizacja objętości tkankowej poddanej ablacji

Po sonikacji przekroje osiowe i promieniowe powstałych zmian martwiczych porównano z tymi zaplanowanymi do leczenia stosując różne metody ich wizualizacji (obrazowanie USG, obrazowanie MR oraz optyczne). Oceniono różnice między przekrojami zaplanowanych i powstałych zmian, jak również odchylenie między ich środkami. Porównanie przeprowadzono dla każdej objętości zaplanowanej do leczenia.

Obrazowanie USG

Przed i po sonikacji każdej próbki tkankowej rejestrowano obrazy USG przekroju osiowego za pomocą głowicy obrazującej stosując częstotliwości 4 MHz i 8 MHz.

Obrazowanie MR

Po sonikacji i zarejestrowaniu obrazów USG zmiany martwicze powstałe w każdej próbce tkankowej zostały zwizualizowane w postaci T1-zależnych obrazów MR przy użyciu skanera rezonansu magnetycznego Bruker Biospec 70/30USR o 7 T indukcji pola magnetycznego (Bruker Polska Sp. z o.o., Poznań, Polska). Następnie zostały one poddane wstępnej obróbce za pomocą oprogramowania OsiriX Lite (Pixmeo SARL, Switzerland) posiadającego funkcję *Minimum Intensity Projection (MinIP)* w celu utworzenia z sekwencji obrazów MR, obejmujących całą objętość zmiany nekrotycznej, pojedynczego obrazu w jednej płaszczyźnie.

Obrazowanie optyczne

Po uwidocznieniu powstałych zmian za pomocą obrazowania USG i MR, każda komora z tkanką była mrożona przez około 2 godziny w temperaturze -18°C . Następnie każdą utwardzoną próbkę tkankową wyjmowano z komory i krojono wzdłuż płaszczyzny osiowej lub promieniowej, aby uwidocznić powstałe zmiany martwicze w przekroju osiowym lub promieniowym (w płaszczyźnie ogniskowej). Lokalizację i rozległość każdej elipsoidalnej zmiany oceniono na podstawie zdjęć jej przekrojów przekształconych na skalę szarości i przetworzonych tymi samymi metodami, co obrazy MR.

Parametry oceny dokładności wykonania zaplanowanej ablacji

Przy wykorzystaniu oprogramowania Matlab obrazy w skali szarości znormalizowano na podstawie pomiarów średniej jasności powstałych zmian martwiczych względem otaczających ich struktur. Następnie, założono, że zmiana nekrotyczna powstaje w obszarze charakteryzującym się co najmniej 50 % zmianą jasności względem obszaru nie poddawanego sonikacji. W oparciu o takie założenie obraz był przetwarzany w mapę binarną. Na otrzymaną w ten sposób macierz binarną nakładano maskę odzwierciedlającą lokalizację i rozległość obszaru zaplanowanego do ablacji. Wyznaczono również przemieszczenie między środkiem obszaru zaplanowanego do ablacji a środkiem powstałej zmiany martwiczej (d) oraz parametry (α ,

β, γ) charakteryzujące dokładność wykonania zaplanowanej ablacji, obliczane ze wzorów:

- $\alpha = \frac{S(P \setminus C)}{S(P)} 100\%$ - procentowa część pola przekroju osiowego/promieniowego objętości tkankowej planowanej do ablacji, która nie została objęta nekrozą,
- $\beta = \frac{S(C \setminus P)}{S(C)} 100\%$ - procentowa część pola przekroju osiowego/promieniowego powstałej zmiany nekrotycznej, która wychodzi poza obszar planowany do ablacji,
- $\gamma = \frac{S(P \cap C)}{S(P)} 100\%$ - procentowa część pola przekroju osiowego/promieniowego objętości tkankowej planowanej do ablacji, która została pokryta nekrozą,

gdzie S - pole przekroju osiowego lub radialnego, P - zbiór pikseli w przekroju objętości tkankowej planowanej do ablacji, a C - zbiór pikseli w przekroju powstałej zmiany martwicznej. Wyznaczono także parametry α' , β' i γ' będące odpowiednikami parametrów α , β i γ w przypadku, gdy nałożone zostaną na siebie środki przekrojów objętości tkankowej zaplanowanej do ablacji i utworzonej zmiany nekrotycznej. Tak obliczone parametry pozwoliły oszacować dokładność wykonania zaplanowanej ablacji.

Analiza statystyczna wyników

Otrzymane wyniki w postaci parametrów α , β , γ i α' , β' , γ' oraz odległości między zaplanowanym środkiem cylindra a utworzonym dla każdej próbki zostały wyznaczone, a następnie dla wszystkich eksperymentów uśrednione. Całkowita liczba analizowanych obszarów nekrotycznych wyniosła 12 (po 3 dla każdego rodzaju cylindra).

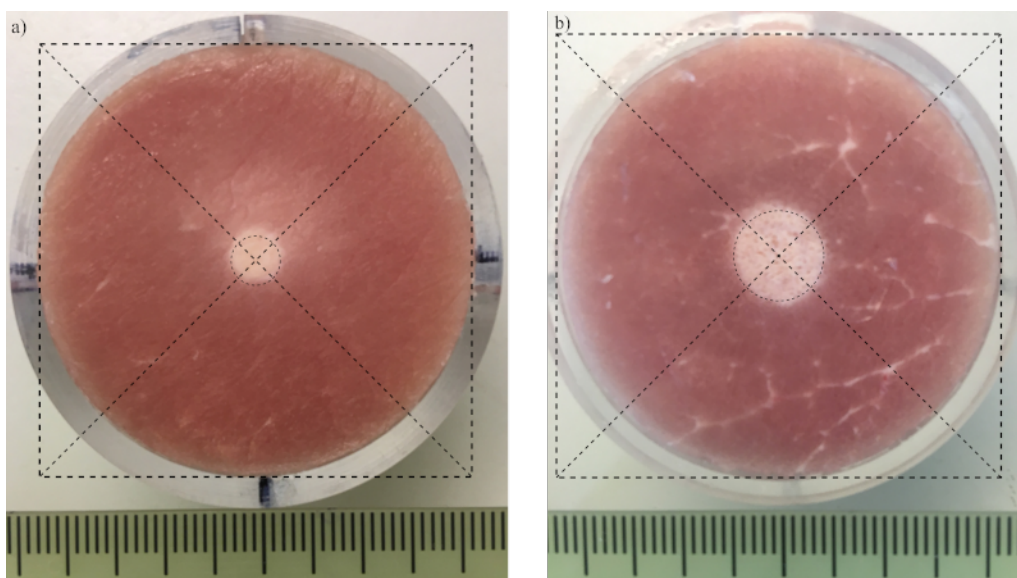
3.4.2. Wyniki

Oszacowano eksperymentalnie dokładność wykonania zaplanowanej ablacji przez zrobotyzowane, kontrolowane obrazowaniem USG urządzenie ablacyjne *HIFU* (zarówno w płaszczyźnie osiowej jak i ogniskowej wiązki *HIFU*) za pomocą różnych metod wizualizacji zmiany martwicznej powstałej w próbce tkankowej schabu wieprzowego *ex vivo* po jej wielokrotnej

sonikacji wiązką *HIFU* przesuwaną z wybranym krokiem czasowym i odległościowym wzdłuż zaprogramowanej trajektorii prowadzącej do koagulacyjnej nekrozy zaplanowanej objętości cylindrycznej wewnątrz tkanki. Następnie, zwizualizowane przekroje powstałych zmian martwiczych porównano z tymi, planowanymi do leczenia.

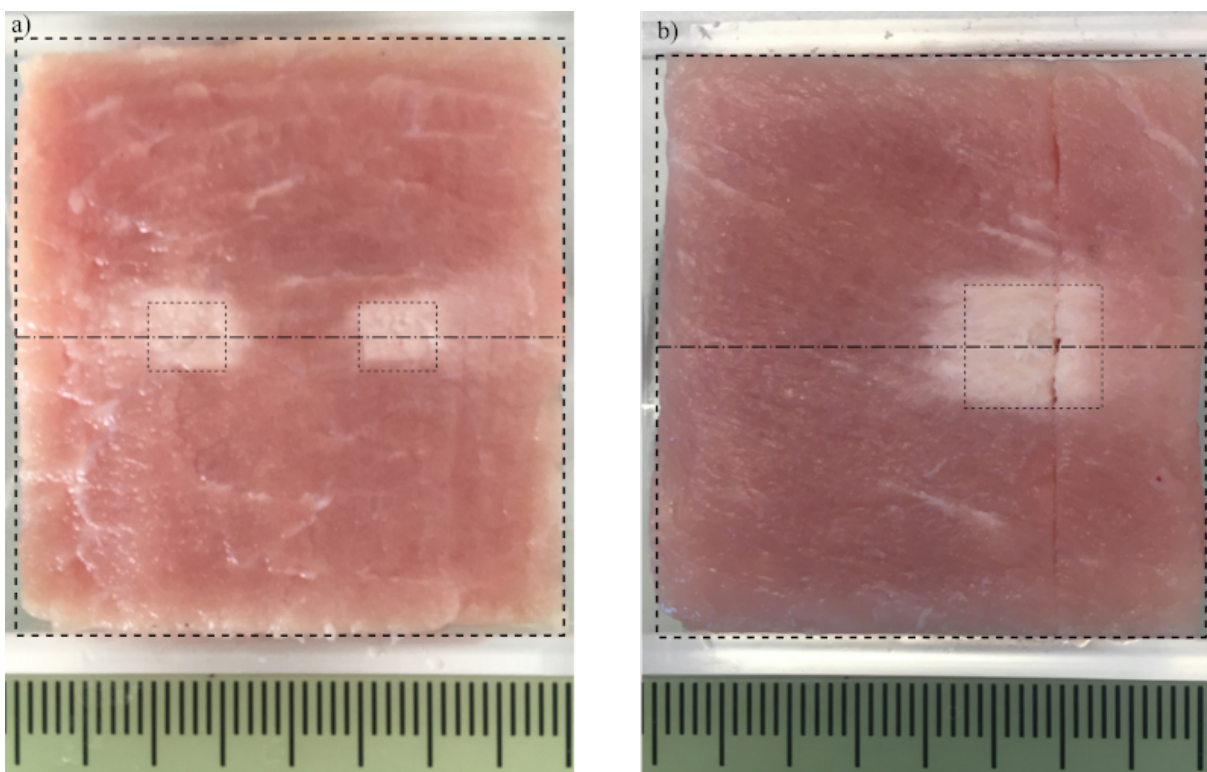
Zastosowano trzy metody wizualizacji: obrazowanie USG, obrazowanie MR i obrazowanie optyczne. Podobnie jak w rozdziale 3.3. do ilościowej oceny dokładności wykonanej ablacji służyły tylko obrazy MR i zdjęcia fotograficzne.

Rys. 3.36 przedstawia przykładowe zdjęcia przekroju promieniowego zmiany martwiczej o różnej średnicy, utworzonej w badanej próbce tkankowej po jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o różnej częstotliwości. Zdjęcia zostały wykonane po przekrojeniu zamrożonej próbki wzdłuż płaszczyzny ogniskowej wiązki *HIFU*. Przykładowe zdjęcia przekroju osiowego tych zmian przedstawiono na Rys. 3.37.



Rys. 3.36. Zdjęcia przekroju promieniowego (w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU*) 5-mm (a) i 9-mm (b) cylindrycznej zmiany martwiczej powstałej w badanej tkance po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o częstotliwości $f = 3.21$ MHz (a) oraz $f = 1.08$ MHz (b). Czarnym kropkowanym okręgiem wewnątrz przekroju próbki zaznaczono obszar zaplanowany do ablacji.

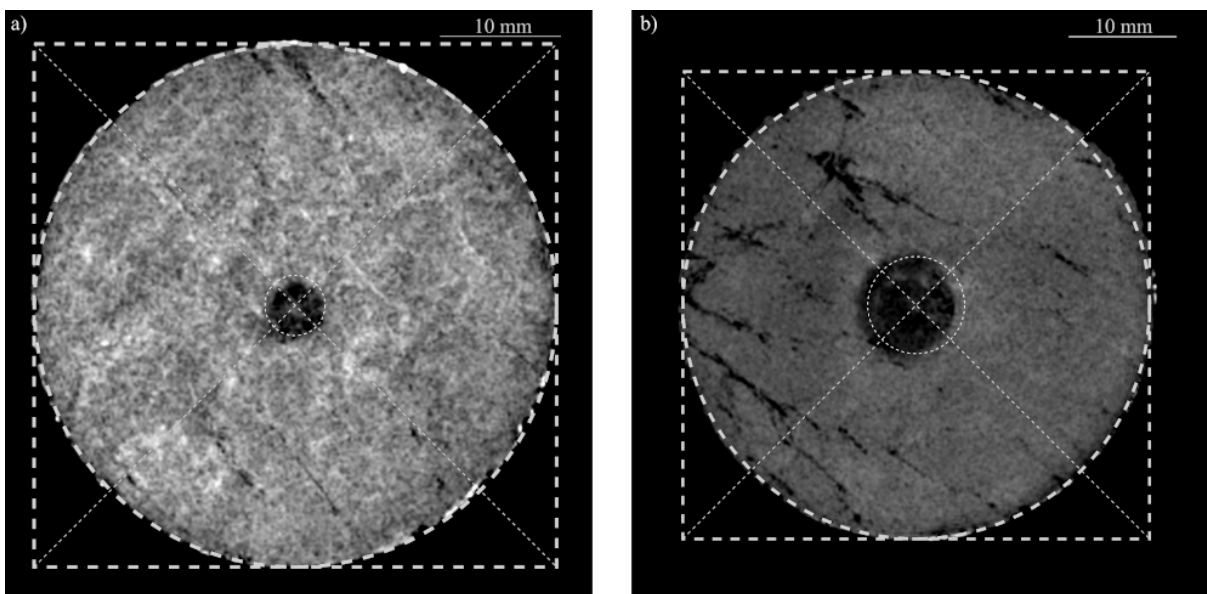
Jak widać z powyższych zdjęć, każda zmiana martwicza była łatwa do wykrycia ze wzglę-



Rys. 3.37. Zdjęcia przekroju osiowego cylindrycznej zmiany martwiczej o średnicy 5 mm (a) i 9 mm (b) powstałej w badanej próbce po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o $f = 3.21$ MHz (a) lub po jednostronnej ekspozycji na 1.08-MHz wiązkę (b). Czarnym kropkowanym prostokątem wewnątrz przekroju próbki zaznaczono obszar zaplanowany do ablacji.

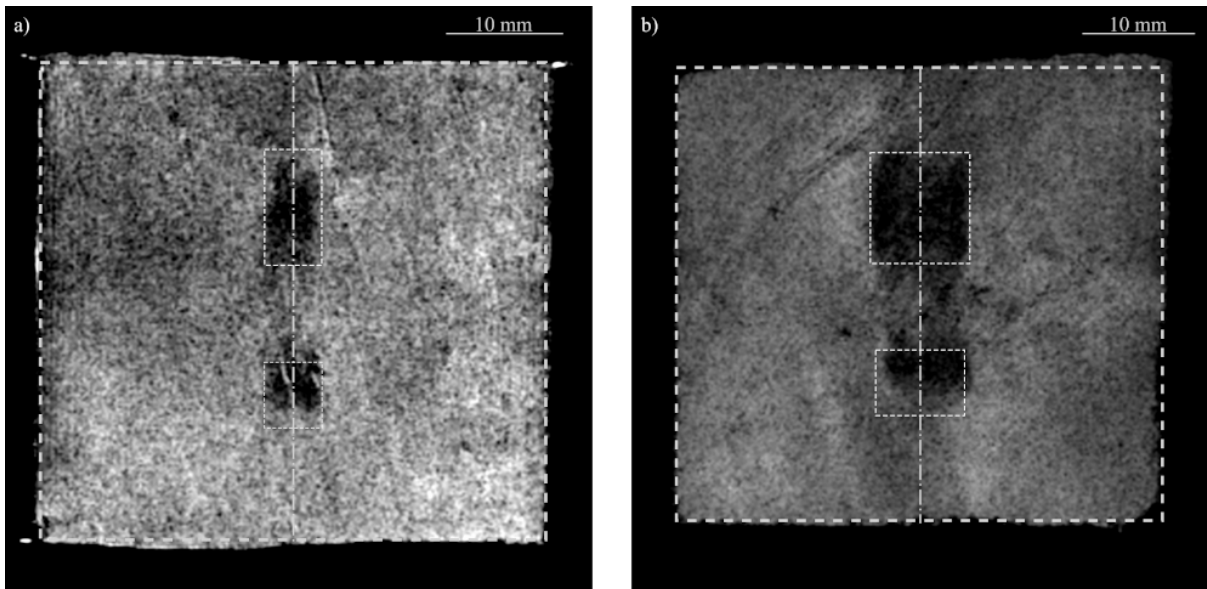
du na wyraźnie zarysowaną granicę między odbarwioną tkanką martwiczą a otaczającą ją tkanką o kolorze niezmienionym. Na zdjęciach przekrojów promieniowych lokalizacja i wielkość objętości tkankowej planowanej do leczenia została zaznaczona jako okrąg o zadanej średnicy ze środkiem na przecięciu przekątnych kwadratu, w który wpisano okrąg o średnicy równej średnicy wewnętrznej komory tkankowej. Na zdjęciach przekrojów osiowych obszar planowany do ablacji zaznaczano jako prostokąt o bokach równych średnicy i długości planowanej cylindrycznej objętości martwiczej. Środek prostokąta znajdował się na osi komory tkankowej na głębokości ok. 12 mm poniżej powierzchni tkanki. Na podstawie zdjęć przekrojowych powstałej zmiany martwiczej wyznaczono jej położenie, wielkość i przemieszczenie w stosunku do zmiany planowanej do ablacji.

Na Rys. 3.38 pokazano przykładowe obrazy MR przekroju promieniowego (w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU*) zmiany nekrotycznej o różnej średnicy utworzonej w badanej tkance po jej wielokrotnej sonikacji wiązką *HIFU* o zadanych właściwościach akustycznych. Przekrój objętości tkankowej planowanej do ablacji został zaznaczony jako okrąg, zaś przekrój powstałej nekrozy jest widoczny jako czarny obszar. Przykładowe obrazy MR przekroju osiowego zmian utworzonych oraz tych planowanych do ablacji przedstawiono na Rys. 3.39.



Rys. 3.38. T1-zależny obraz MR przekroju promieniowego (w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU*) cylindrycznej zmiany nekrotycznej o średnicy 5 mm (a) lub 9 mm (b) powstałej w badanej tkance po jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o częstotliwości odpowiednio 3.21 MHz lub 1.08 MHz. Białą kropkowaną linią okręgową wewnątrz przekroju tkanki zaznaczono obszar zaplanowany do ablacji.

Na podstawie ilościowej analizy danych z zarejestrowanych obrazów MR oraz zdjęć przekrojów badanej próbki wyznaczono wartości średnie oraz odchylenia standardowe dla parametrów α , β , γ i α' , β' , γ' oraz dla przemieszczenia środka cylindra zaplanowanego do ablacji względem tego powstałego (d). Wymienione parametry dla przekroju promieniowego oraz osiowego przedstawiono w Tab. 3.7. Na Rys. 3.40 pokazano przykładowy kontur przekroju promieniowego objętości tkankowej planowanej do ablacji oraz powstałej wewnątrz badanej próbki tkankowej po jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o zadanej częstotliwości.



Rys. 3.39. T1-zależne obrazy MR przekroju osiowego zmian cylindrycznych o średnicy 5 mm (a) oraz 9 mm i 8 mm (b) powstałych w próbce tkankowej po jej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz (górną zmianą) lub 3.21 MHz (dolną zmianą). Białym kropkowanym prostokątem wewnątrz przekroju próbki zaznaczono obszar zaplanowany do ablacji.

Zgodnie z wynikami przedstawionymi w tabeli 3.7, średnia wartość przemieszczenia między środkami przekrojów promieniowych zaplanowanych do ablacji i powstałych wyniosła 1.01 ± 0.18 mm w przypadku wyznaczania tego parametru na podstawie zdjęć i 0.74 ± 0.59 mm w przypadku wyznaczania na podstawie obrazów MR. Wykazano także, że średnia wartość przemieszczenia między środkami przekrojów osiowych zaplanowanych do ablacji i powstałych wyniosła 1.38 ± 0.37 mm lub 1.08 ± 0.26 mm, gdy została wyznaczona odpowiednio na podstawie zdjęć lub obrazów MR.

Wyznaczono również wartości średnie parametrów α' , β' , γ' opisujących dokładność przeprowadzenia zaplanowanej ablacji, gdy środki przekrojów planowanych i powstałych są nałożone na siebie. Średnia wartość parametru γ' wyznaczona na podstawie zdjęć oraz obrazów MR przekrojów promieniowych powstałych zmian martwiczych wyniosła odpowiednio $97.8\% \pm 2.0\%$ i $87.6\% \pm 6.4\%$, tymczasem gdy średnia wartość parametru β' była równa odpowiednio $18.5\% \pm 9.5\%$ i $7.8\% \pm 4.2\%$. Ilościowa analiza otrzymanych wyników wy-



Rys. 3.40. Dwie nałożone na siebie mapy binarne przekroju promieniowego cylindrycznej objętości tkankowej o średnicy 5 mm zaplanowanej do ablacji i tej utworzonej wewnątrz badanej tkanki po jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o częstotliwości 3.21 MHz. Wspólny obszar przekroju zaplanowanej i utworzonej zmiany nekrotycznej jest przedstawiony w kolorze białym. Niebieskim kolorem zaznaczono obszar nekrozy powstałej poza przekrojem zaplanowanym. Kolorem zielonym zaznaczono obszar zaplanowany do ablacji, który nie został pokryty nekrozą.

kazała, że powstała nekroza obejmuje średnio ok. 93 % powierzchni planowanej do ablacji i ok. 13 % powstałej zmiany nekrotycznej znajduje się poza planowanym obszarem.

Dla przekrojów osiowych średnia wartość parametru γ' wyniosła $86.2\% \pm 2.7\%$, gdy była wyznaczana ze zdjęć, oraz $76.1\% \pm 4.2\%$, gdy wyznaczano ją z obrazów MR, przy zachowaniu zbliżonej wartości parametru β' ($17.1\% \pm 5.5\%$ dla zdjęć oraz $8.8\% \pm 2.0\%$ dla obrazów MR).

Wyznaczono także wartości średnie parametrów α , β , γ opisujących dokładność pokrycia nekrozą lokalnej objętości tkankowej zaplanowanej do ablacji. Wartość średnia parametru α wyniosła $14.4\% \pm 6.9\%$ lub $22.0\% \pm 4.7\%$ odpowiednio, gdy została wyznaczona ze zdjęć przekrojów promieniowych czy osiowych oraz $25.8\% \pm 9.4\%$ i $35.5\% \pm 11.4\%$ odpowiednio,

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe				
	Zdjęcia		Obrazy MR	
	Przekrój promieniowy	Przekrój osiowy	Przekrój promieniowy	Przekrój osiowy
d [mm]	1.01 ± 0.18	1.38 ± 0.37	0.74 ± 0.59	1.08 ± 0.26
α [%]	14.4 ± 6.9	22.0 ± 4.7	25.8 ± 9.4	35.5 ± 11.4
β [%]	29.9 ± 8.5	26.0 ± 3.4	22.8 ± 4.0	16.9 ± 3.1
γ [%]	85.6 ± 6.9	78.0 ± 4.7	74.2 ± 9.4	64.5 ± 11.4
α' [%]	2.2 ± 2.0	13.8 ± 2.7	12.4 ± 6.4	23.9 ± 4.2
β' [%]	18.5 ± 9.5	17.1 ± 5.5	7.8 ± 4.2	8.8 ± 2.0
γ' [%]	97.8 ± 2.0	86.2 ± 2.7	87.6 ± 6.4	76.1 ± 4.2

Tab. 3.7. Wartość średnia wraz z odchyleniem standardowym przemieszczenia środka przekroju powstałej zmiany nekrotycznej względem środka przekroju objętości zaplanowanej do ablacji, a także parametrów wyznaczających dokładność wykonania zaplanowanej ablacji *HIFU*.

gdy została obliczona z obrazów MR tych przekrojów. Wartość średnia parametru β wyniosła $29.9\% \pm 8.5\%$ lub $26.0\% \pm 3.4\%$ odpowiednio, gdy wyznaczono ją ze zdjęć przekrojów promieniowych czy osiowych oraz $22.8\% \pm 4.0\%$ lub $16.9\% \pm 3.1\%$ odpowiednio, gdy została obliczona z obrazów MR tych przekrojów. Ilościowa analiza wartości parametrów β i α pozwoliła dojść do wniosku, że średnio ok. 20 % (dla przekroju promieniowego) i ok. 28 % (dla przekroju osiowego) obszaru zaplanowanego do ablacji nie zostało objęte nekrozą, zaś ok. 26 % (dla przekroju promieniowego) i ok. 21 % (dla przekroju osiowego) obszaru powstałej nekrozy znajduje się poza obszarem zaplanowanym do ablacji.

Wartości parametrów α , β i γ są mniejsze od wartości parametrów α' , β' , γ' . Prawdopodobną przyczyną tego jest dodatkowy czynnik wpływający na dokładność celowania ogniska wiązki *HIFU*, a mianowicie niepewność związana z ustawieniem komory tkankowej współosiowo z przetwornikiem *HIFU*. Średnia wartość przemieszczenia (d) środka powstałej

nekrozy względem środka objętości tkankowej zaplanowanej do ablacji jest zbliżona do tej wyznaczonej w rozdziale 3.3. i wynosi ok. $0.34 \text{ mm} \pm 1.26 \text{ mm}$ lub $0.63 \text{ mm} \pm 0.91 \text{ mm}$ odpowiednio, gdy została wyznaczona ze zdjęć czy obrazów MR. Rozrzut lokalizacji środka powstałej nekrozy wynika najprawdopodobniej z niedokładności wykonania konstrukcji mechanicznej zbudowanego urządzenia ablacyjnego.

3.4.3. Dyskusja

Na ocenę dokładności wykonania zaplanowanej ablacji mogą mieć wpływ błędy pochodzące z następujących źródeł: niedokładności wykonania konstrukcji urządzenia lub komory tkankowej oraz niedokładności pomiaru. Gdy błędy wynikają z niedokładności konstrukcji, oś centralna na obrazie B-mode przekroju osiowego komory tkankowej może być nieznacznie odchylna od osi wiązki *HIFU*. To może prowadzić do braku współosiowości przekrojów objętości tkankowej planowanej do leczenia i zmian nekrotycznych powstałych po sonikacji. Dla zminimalizowania tego błędu urządzenie zostało skalibrowane (za pomocą pomiarów rozkładu ciśnienia w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU* hydrofonom igłowym) poprzez mechaniczną regulację położenia przetwornika *HIFU* względem sondy obrazującej.

Błędy wynikające z niedokładności pomiarów i różnorodności próbek tkankowych minimalizowano poprzez kilkukrotne powtarzanie eksperymentów na kilku próbkach. Uśrednione wyniki oraz niepewności przedstawiono w Tab. 3.7.

Wielkość objętości tkankowej, którą można skutecznie leczyć za pomocą używanego urządzenia ablacyjnego *HIFU* jest ograniczona wielkością zwierzęcia oraz czasem trwania znieczulenia jednorazowego. Jest to zwykle kompromis pomiędzy typowym czasem trwania znieczulenia, a czasem ekspozycji potrzebnym do pokrycia nekrozą całej objętości guza. Maksymalna średnica guzów możliwych do termoablacji wynosi 10 mm, a maksymalna głębokość ich usadowienia pod skórą 15 mm, co wynika z wielkości zwierzęcia.

Trajektoria ruchu wiązki *HIFU*, określająca położenie i kolejność pojedynczych ekspozy-

cji, była dobierana w taki sposób, aby zmaksymalizować odległość pomiędzy kolejnymi ekspozycjami minimalizując tym samym efekt podwyższonej pierwotnej temperatury w miejscu kolejnej sonikacji wywołanej poprzednią sonikacją.

Mniejsze wartości parametru γ' otrzymane dla przekrojów osiowych w porównaniu z promieniowymi są najprawdopodobniej spowodowane:

- większym prawdopodobieństwem, że na drodze propagacji wiązki *HIFU* (w kierunku osi z) w strukturze tkankowej będzie znajdować się więcej niejednorodności (wtrąceń np. tkanki tłuszczowej, tkanki łącznej) zaburzających rozchodzenie się fal, ponieważ długość elipsoidalnej objętości ogniska wiązki jest 5-7 razy większa od jej średnicy;
- większym prawdopodobieństwem wystąpienia zjawisk kawitacyjnych na dłuższej drodze propagacji wiązki w kierunku osi z w porównaniu z drogą rozchodzenia się fal w kierunku osi x lub y (promieniowym).

3.4.4. Wnioski

Otrzymane wyniki pomiarów wykazały, że zrobotyzowane urządzenie ablacyjne *HIFU* używane do eksperymentów jest zdolne formować zmiany martwicze w lokalnej, zaplanowanej do leczenia objętości wewnątrz badanej tkanki z zadowalającą dokładnością.

Zgodnie z danymi przedstawionymi w Tab. 3.7 dokładność celowania używanego urządzenia wyniosła w przybliżeniu 1.2 mm w płaszczyźnie osiowej (płaszczyźnie obrazowania B-mode) i 1 mm w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU*. Wielkości te są porównywalne z dokładnością celowania innych urządzeń ablacyjnych *HIFU* kontrolowanych obrazowaniem USG [63]–[65]. Dlatego używane urządzenie *HIFU* będzie przydatne w badaniach przedklinicznych do planowania, monitorowania i termoablacji litych guzów wszczepianych małym zwierzętom, a także do testowania nowych leków przeciwnowotworowych w warunkach hipertermii.

Poprawa dokładności wykonywania zaplanowanych ablacji może być osiągnięta również

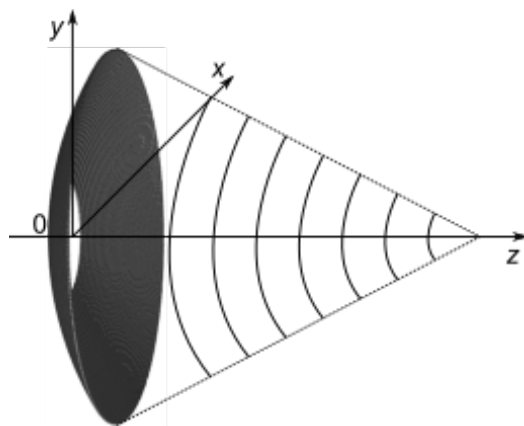
za pomocą technik parametrycznego obrazowania USG umożliwiającego dokładniejsze wykrycie obszaru nekrotycznego po przeprowadzeniu ablacji. W ten sposób będzie możliwa minimalizacja efektu związanego z niejednorodnością tkanek poprzez wykonanie dodatkowej procedury ablacji w miejscu, gdzie nie doszło do koagulacyjnej nekrozy tkanki. Badania nad tego typu metodami wciąż trwają [61], [62], [66]–[70].

Rozdział 4

MODELOWANIE NUMERYCZNE

W tym rozdziale przedstawiono modele numeryczne zastosowane dla przewidywania lokalizacji i wielkości zmiany nekrotycznej indukowanej w badanej tkance po jej pojedynczej lub wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o zadanych parametrach akustycznych.

Założono, że kierunek dodatni osi z pokrywa się z kierunkiem propagacji fal akustycznych. Środek przetwornika *HIFU* w kształcie misy sferycznej z centralnym otworem jest umieszczony na początku układu współrzędnych xyz , jak pokazano na Rys. 4.1.



Rys. 4.1. Źródło fal o skończonej amplitudzie.

Przetwornik generuje impulsowe fale sinusoidalne o skończonej amplitudzie, zadanej częstotliwości, czasie trwania impulsów i współczynniku wypełnienia w dwu-warstwowym ukła-

dzie ośrodków propagacji woda-tkanka skupiając energię fal w ognisku wiązki na głębokości 12.6 mm pod powierzchnią tkanki. Powierzchnia graniczna wody z tkanką jest prostopadła do osi wiązki *HIFU* i znajduje się w odległości osiowej 5 cm od przetwornika. Zakładane warunki brzegowe będące parametrami wejściowymi wprowadzanymi do stosowanego modelu numerycznego są identyczne z tymi stosowanymi w eksperymentach.

4.0.1. Modele teoretyczne

W celu obliczenia przestrzennego rozkładu pola temperatury indukowanego w ogniskowej objętości nieliniowej wiązki rozchodzącej się w dwuwarstwowym układzie ośrodków tłumiących wykorzystano model numeryczny k-Wave [35] łączący w sobie zarówno modelowanie propagacji wiązki *HIFU* w warstwowych nieliniowych ośrodkach stratnych jak i modelowanie przenoszenia ciepła w żywych tkankach (uwzględniając perfuzję cyrkulującej w nich krwi). Model k-Wave jest wygodnym zestawem narzędzi operujących w środowisku MATLAB (MathWorks Inc., Natick, MA, USA).

Modelowanie przestrzenno-czasowych rozkładów ciśnienia fali akustycznej o skończonej amplitudzie propagującej się w warstwowych termolepkich ośrodkach jest oparte na rozwiązaniu numerycznym nieliniowego równania falowego drugiego rzędu, wyprowadzonego z układu przybliżonych równań dynamiki lepkiej cieczy (równań zachowania pędu, masy i stanu), metodą k-przestrzeni pseudo-spektralnej [71]–[74]:

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} = -\frac{1}{\rho_0} \nabla p, \quad (4.1)$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = -(2\rho + \rho_0) \nabla \cdot \mathbf{u} - \mathbf{u} \cdot \nabla \rho_0, \quad (4.2)$$

$$p = c^2(\rho + \mathbf{d} \cdot \nabla \rho_0 + \frac{B}{2A} \frac{\rho^2}{\rho_0} - L\rho), \quad (4.3)$$

gdzie p - ciśnienie akustyczne, t - czas, \mathbf{u} - wektor prędkości cząstkowej, ρ - gęstość ośrodka, ρ_0 - gęstość ośrodka w stanie równowagi, ∇ - gradient, $\nabla \cdot$ - dywergencja, \mathbf{d} - wektor wychylenia chwilowego cząstki ośrodka, $\frac{B}{A}$ - parametr nieliniowości, L - operator w relacji

ciśnienie-gęstość związany z absorpcją i dyspersją fali [75], [76]. Operator L wyrażony jest wzorem:

$$L = \tau \frac{\partial}{\partial t} (-\nabla^2)^{\frac{y}{2}-1} + \eta (-\nabla^2)^{\frac{y+1}{2}-1}, \quad (4.4)$$

gdzie τ i η to współczynnik absorpcji i dyspersji równe

$$\tau = -2\alpha_0 c_0^{y-1}, \eta = 2\alpha_0 c_0^y \tan(\pi y/2), \quad (4.5)$$

gdzie α_0 - współczynnik tłumienia ośrodka w $Np(rad/s)^{-y}m^{-1}$, y - współczynnik potęgowej w funkcji zależności tłumienia od częstotliwości fali.

Równania (4.1), (4.2) i (4.3) w odróżnieniu od równań (2.1), (2.2) i (2.3) zawierają człony uwzględniające zjawiska związane z nieliniową propagacją i tłumieniem.

Modelowanie przenoszenia ciepła w ośrodkach biologicznych było oparte na numerycznym rozwiązaniu równania wymiany ciepła dla żywych tkanek (równanie Pennesa [50]) z pominięciem członu $[G(T - T_b)^2 f(t)]$ uwzględniającego m.in. rozszerzanie się naczyń krwionośnych pod wpływem wzrostu temperatury:

$$\rho_0 C_t \frac{\partial T}{\partial t} = k \nabla^2 T - \rho_b W_b C_b (T - T_b) + \dot{Q}, \quad (4.6)$$

gdzie C_t - ciepło właściwe tkanki, ∇^2 - operator Laplace'a, k - przewodność cieplna tkanki, T - temperatura, ρ_b - gęstość krwi, W_b - współczynnik perfuzji krwi (równy 0 dla tkanek *ex vivo*), C_b - ciepło właściwe krwi, T_b - temperatura krwi, \dot{Q} - gęstość mocy źródeł ciepła.

Pierwszy człon po prawej stronie równania 4.6 uwzględnia efekty dyfuzji ciepła, drugi - efekty związane z perfuzją krwi, a trzeci - efekty osadzania się źródeł ciepła w jednostce objętości w wyniku absorpcji energii fal ultradźwiękowych i jest obliczany z rozkładu ciśnienia akustycznego w nieliniowej wiązce.

Dla prognozowania rozkładu ciśnienia wytwarzanego w wiązce *HIFU* generowanej w dwuwarstwowym układzie ośrodków woda-tkanka wymagane jest wprowadzenie do modelu nieliniowej propagacji parametrów wejściowych charakteryzujących zarówno źródło, jak i ośrodki rozchodzenia się fal.

Średnica zewnątrzna [mm]	Średnica centralnego otworu [mm]	Ogniskowa [mm]	Częstotliwość rezonansowa [MHz]	Ciśnienie początkowe [MPa]
64	20	62.6	1.08	0.286

Tab. 4.1. Parametry brzegowe przetwornika *HIFU*.

Parametrami wejściowymi charakteryzującymi przetwornik były: jego średnice, częstotliwość rezonansowa f , długość ogniskowej F i amplituda ciśnienia początkowego p_0 . Parametry te zostały podane przez producenta lub wyznaczone z pomiarów w wodzie i przedstawione w Tab. 4.1.

Wymagane do modelowania parametry akustyczne i termiczne charakteryzujące każdy z ośrodków propagacji, a mianowicie: gęstość ρ , prędkość propagacji dźwięku c , współczynnik tłumienia i jego zależność od częstotliwości $\alpha(f) = \alpha_0 f^y$, parametr nieliniowości B/A , a także współczynnik przewodnictwa cieplnego k oraz ciepło właściwe C były wzięte z literatury i są zestawione w Tab. 4.2 oraz Tab. 4.3.

4.1. Eksperymentalna weryfikacja warunków brzegowych źródła fal

Przed tym jak rozpoczęto badania pól termicznych, indukowanych lokalnie w tkance wiązką *HIFU*, sprawdzono zgodność modelowanych numerycznie rozkładów ciśnienia w nieliniowej wiązce o małej mocy akustycznej generowanej w wodzie, z tymi zmierzonymi hydrofonem.

Gęstość ρ	[kg/m ³]	998 [77]
Prędkość propagacji dźwięku c	[m/s]	1480 [78]
Współczynnik tłumienia α_0	[dB/(MHz ^{y} cm)]	0.002 [44]
Wykładnik potęgowy y	[a.u.]	2 [44]
Parametr nieliniowości $\frac{B}{A}$	[a.u.]	5 [78]

Tab. 4.2. Parametry akustyczne ośrodka propagacji (wody) dla temperatury 23°C.

4.1.1. Materiały i metody

Geometria przestrzeni obliczeniowej

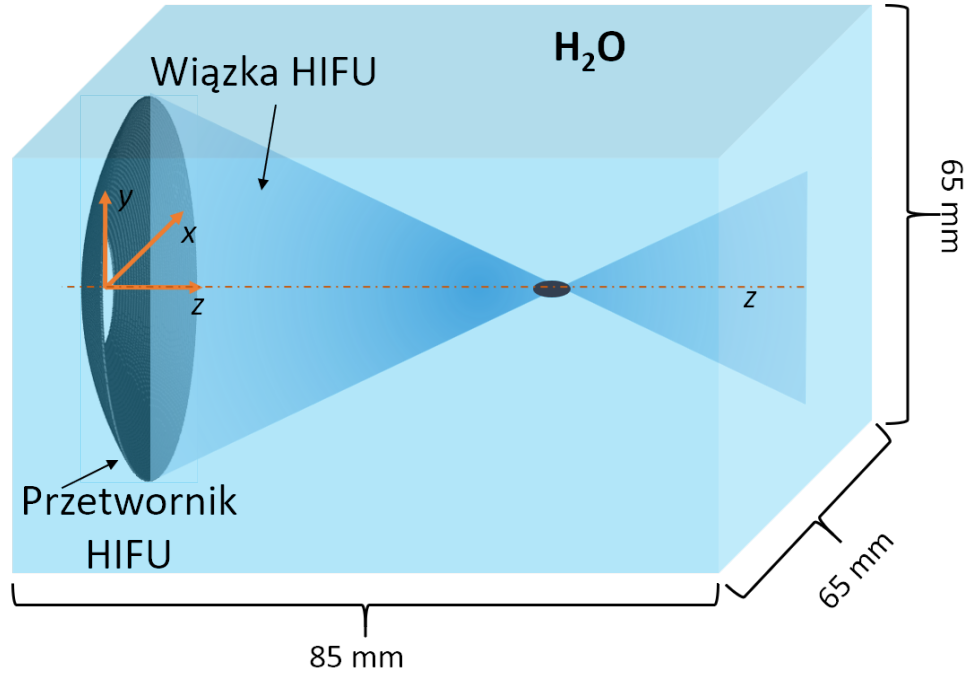
Jak już wspomniano przetwornik *HIFU* został umieszczony na początku układu współrzędnych xyz i promieniuje w wodzie w kierunku dodatnim osi z . Uwzględniając geometrię przetwornika i ośrodków propagacji przestrzeń obliczeniowa została ograniczona prostopadłością o długości 85 mm, szerokości 65 mm i wysokości 65 mm.

Parametry wejściowe do modelu pola ciśnienia

W modelu numerycznym założono, że przetwornik *HIFU* generuje falę ciągłą o częstotliwości f (1.08 MHz) i średniej mocy akustycznej P (80 W). Ze względu na możliwości dostępnej mocy obliczeniowej przeprowadzono symulacje numeryczne tylko dla wiązek *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz, ponieważ nie wymagają one zbyt gęstej siatki przestrzennej i kroków dyskretyzacji czasowej w stosunku do długości fali.

Jak już wspomniano, model nieliniowej propagacji, oparty na oprogramowaniu k-Wave, wymaga wprowadzenia początkowej amplitudy ciśnienia na powierzchni źródła (p_0), które zostało obliczone ze wzorów:

$$I = \frac{P}{S}, \quad (4.7)$$



Rys. 4.2. Ilustracja przestrzeni obliczeniowej ograniczonej prostopadłościanem do wyznaczenia rozkładów ciśnienia akustycznego w nieliniowej wiązce generowanej w wodzie przez używany przetwornik *HIFU*.

$$p_0 = \sqrt{2I\rho_0c}, \quad (4.8)$$

gdzie S - pole efektywnej powierzchni promieniowania przetwornika *HIFU*.

Warunkiem brzegowym dla przestrzeni obliczeniowej jest obecność dobranej cienkiej warstwy PML (ang. *Perfectly Matched Layer*) [79], [80] na jej granicach, prowadzącej do całkowitej absorpcji fal akustycznych. Jest ona konieczna ze względu na stosowanie szybkiej dyskretnej transformaty Fouriera (*FFT*) przy rozwiązywaniu równań opisujących propagację fal okresowych. Warstwa PML zapobiega „przechodzeniu” fali z jednej granicznej powierzchni przestrzeni obliczeniowej na drugą poprzez jej całkowitą absorpcję. Zabieg ten jest sztuczny i umożliwia obliczanie w przestrzeni otwartej bez konieczności używania nieskończonych przestrzeni, w których fala „naturalnie się wytłumi”.

Dyskretyzacja czasowa i przestrzenna

W dyskretyzacji czasowej krok czasowy (Δt) przy rozwiązywaniu równań falowych dobiera się na podstawie wartości liczby CFL (Courant-Friedrichs-Lewy) zdefiniowanej jako:

$$CFL \equiv \frac{c_0 \Delta t}{\Delta x}, \quad (4.9)$$

gdzie Δx - odległość między węzłami siatki obejmującej przestrzeń obliczeniową, stąd Δt można obliczyć ze wzoru:

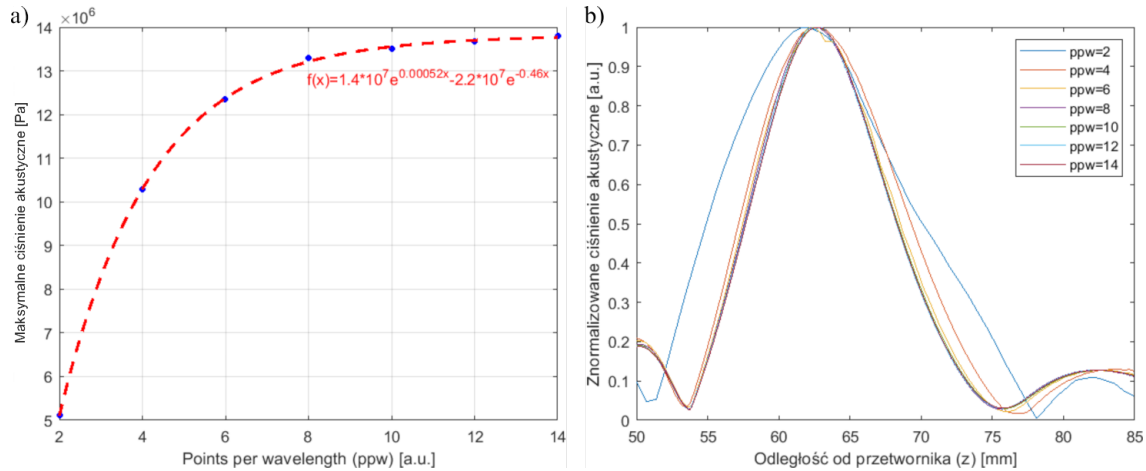
$$\Delta t = \frac{CFL \Delta x}{c_{max}}, \quad (4.10)$$

gdzie c_{max} - największa prędkość dźwięku w układzie ośrodków niejednorodnych. Dla nieliniowej propagacji w wodzie założono, że $CFL = 0.3$, gdyż dla metody pseudospektralnej k-przestrzeni oraz słabo niejednorodnych ośrodków propagacji jest to wartość zapewniająca dobry stosunek szybkości obliczeń do ich dokładności [74].

Dokładność symulacji numerycznych propagacji fali akustycznej przy użyciu oprogramowania k-wave w znacznej mierze zależy od właściwego doboru stopnia dyskretyzacji przestrzennej, a więc od gęstości siatki obejmującej przestrzeń obliczeniową. Odległość między węzłami tej siatki jest bezpośrednio związana z długością (częstotliwością) propagowanej fali wzorem:

$$\Delta x = \frac{\lambda}{2} = \frac{c_{min}}{2f_{max}}, \quad (4.11)$$

gdzie c_{min} - minimalna prędkość propagacji fali w układzie rozpatrywanych ośrodków, f_{max} - maksymalna częstotliwość fali (nazywana także częstotliwością Nyquista). Z tego powodu w celu doboru kroku dyskretyzacji przestrzennej zastosowano zmienną *ppw* (*points per wavelength*) oznaczającą ilość węzłów siatki przestrzennej przypadających na długość propagującej się fali. W celu doboru wartości *ppw* przy obliczaniu propagacji fali o częstotliwości 1.08 MHz i zadanej mocy akustycznej 80 W w wodzie zbadano zależność maksymalnej amplitudy ciśnienia akustycznego w wiązce (Rys. 4.3a) oraz jego osiowego rozkładu (Rys. 4.3b) od wartości *ppw*.

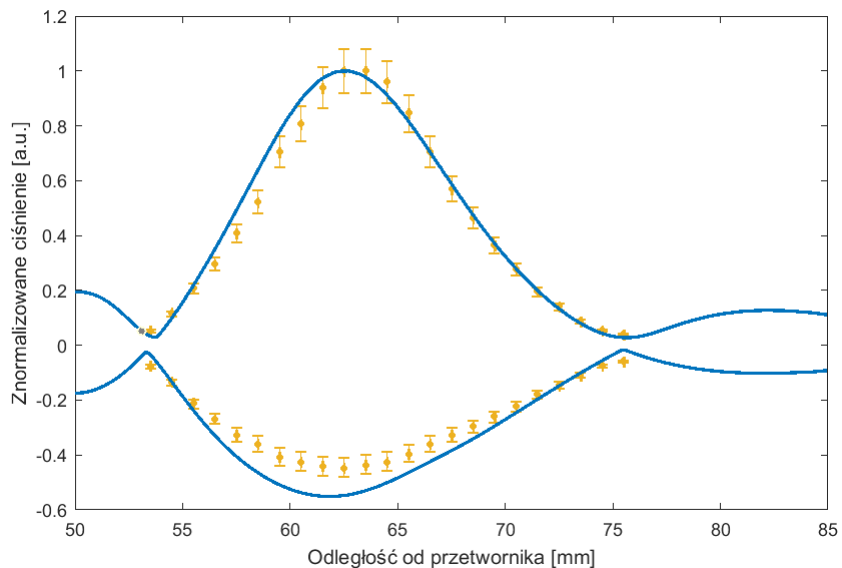


Rys. 4.3. Zależność maksymalnej amplitudy ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* od zmiennej *ppw* (a) oraz znormalizowany rozkład osiowy ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* dla różnych wartości *ppw* (b).

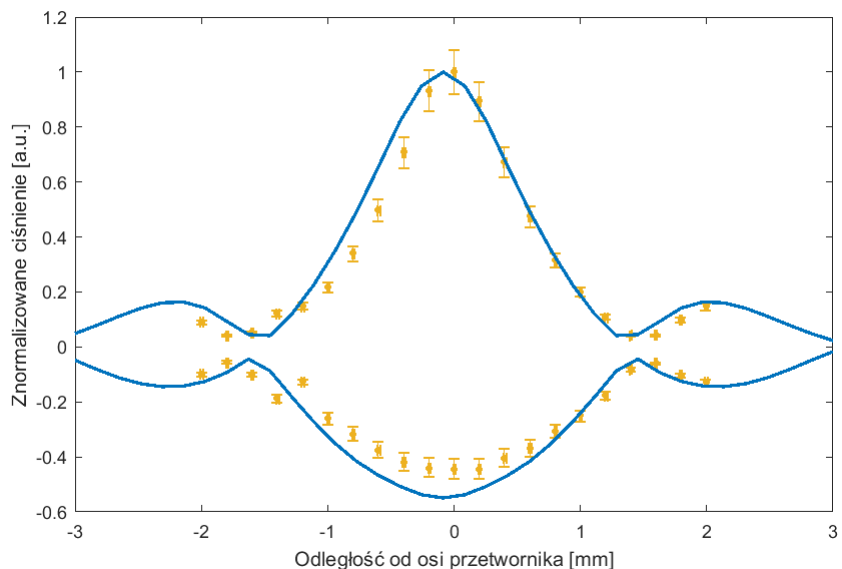
Maksymalna amplituda ciśnienia (punkty na wykresie pokazanym na Rys. 4.3a) dąży do wartości asymptotycznej, będącej wynikiem rozwiązania równania propagacji z minimalnym błędem. Z tego rysunku widać, że dla $ppw > 8$ wartość maksymalnego ciśnienia akustycznego w wiązce zmienia się w niewielkim stopniu. Procentowa różnica między wartością ciśnienia dla $ppw = 14$ i $ppw = 8$ wynosi 3.6 %. Dodatkowo, z osiowych rozkładów ciśnienia w wodzie przedstawionych na Rys. 4.3b widać, że kształt obliczonego rozkładu ciśnienia jest prawie niezmienny dla $ppw \geq 8$. Z powyższych powodów założono, że dla nieliniowej fali o mocy akustycznej 80 W i częstotliwości 1.08 MHz propagującej się w wodzie minimalna wartość kroku dyskretyzacji przestrzennej *ppw* zapewniająca wystarczającą dokładność przewidywania pola ciśnienia w wiązce *HIFU* wynosi 8. W przeprowadzonych symulacjach numerycznych zastosowano siatkę sześcienną o jednakowej gęstości w kierunku osi *x*, *y* i *z*.

4.1.2. Wyniki

W celu weryfikacji zastosowanego modelu propagacji nieliniowej w wodzie porównano obliczone rozkłady ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* z rozkładami zmierzonymi hydrofonem (Rys. 4.4 i Rys. 4.5).



Rys. 4.4. Zmierzony (punkty) i obliczony (linie ciągłe) osiowy rozkład znormalizowanego ciśnienia akustycznego w nieliniowej wiązce generowanej przez używany przetwornik *HIFU* w wodzie.



Rys. 4.5. Zmierzony (punkty) i obliczony (linie ciągłe) promieniowy rozkład znormalizowanego ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* w wodzie w płaszczyźnie ogniskowej.

Jak widać z Rys. 4.4 obliczony rozkład dodatniego ciśnienia w wiązce jest zgodny z tym zmierzonym w granicach niepewności. W obliczaniu pól termicznych indukowanych lokalnie

w tkance istotniejszą rolę odgrywa faza sprężania (dodatnie ciśnienie) ośrodka propagacji aniżeli rozprężania, gdyż głównie podczas sprężania dochodzi do zamiany energii mechanicznej na ciepłą. Dlatego mniejsza zgodność obliczonego ujemnego ciśnienia z tym wyznaczonym eksperymentalnie jest do pominięcia.

4.2. Pojedyncza ekspozycja tkanki na wiązkę *HIFU*

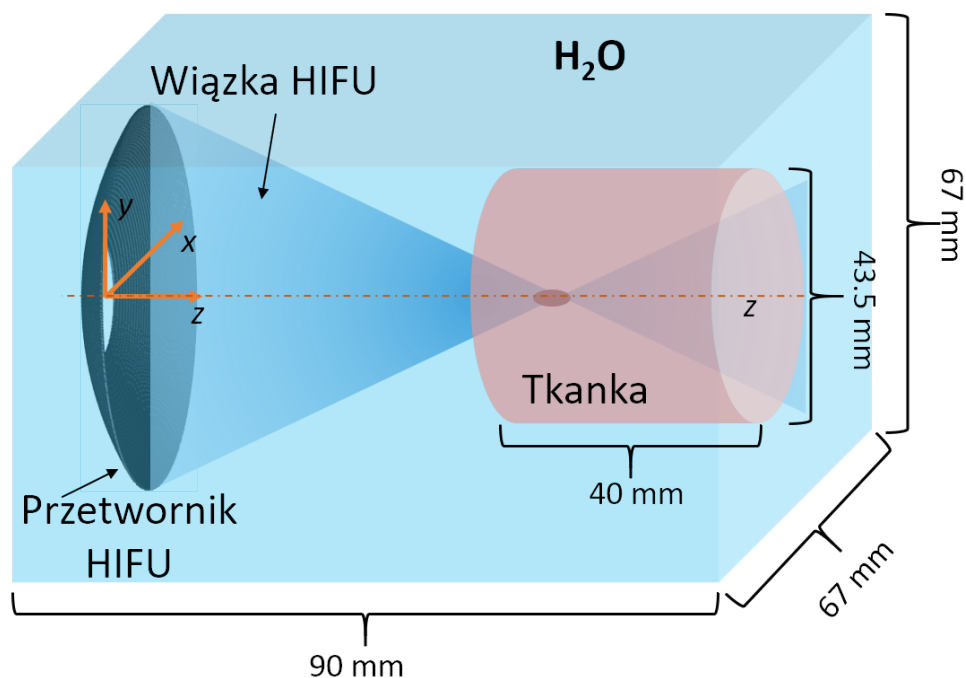
4.2.1. Materiały i metody

Parametry wejściowe do modelu

Zgodność otrzymanych wyników obliczeń z danymi pomiarowymi dla rozkładów ciśnienia w wiązce *HIFU* generowanej w wodzie uzasadnia zastosowanie modelu k-wave do przewidywania pól termicznych indukowanych w tkance eksponowanej na pojedynczą wiązkę *HIFU*. Wyniki symulacji numerycznych zostaną porównane z danymi eksperymentalnymi opisanymi w rozdziale 3.3, dlatego rozmiary i struktura przestrzeni obliczeniowej zostały wybrane analogicznie z tymi stosowanymi w eksperymentach (Rys. 4.6).

Cylindryczna objętość tkankowa o wymiarach wewnętrznych komory tkankowej i właściwościach charakteryzujących badaną tkankę została umieszczona w układzie współrzędnych współosiowo ze źródłem fal w odległości 50 mm od jego środka. Eksperymenty zostały przeprowadzone przy temperaturze tkanki i otaczającej ją wody równej 36°C . W związku z powyższym parametry materiałowe wody i badanej tkanki niezbędne do modelowania numerycznego zostały wzięte z literatury dla tej temperatury i zestawione w Tab. 4.3.

Jak wynika z Tab. 4.3 model k-Wave zakłada wartość wykładnika potęgowego y w funkcji opisującej zależność tłumienia ośrodka od częstotliwości propagującej się w nim fali akustycznej (2.5), taką samą ($y = 1.1$) dla każdego ośrodka propagacji w dwu-warstwowym układzie ośrodków: woda-tkanka. Jest to uzasadnione tym, że tłumienie fali w wodzie niezależnie od jego kwadratowej zależności od częstotliwości ($y = 2$) jest znikomo małe, dlatego zmniejszenie



Rys. 4.6. Schemat układu przestrzeni obliczeniowej dla przewidywania lokalizacji i wielkości zmiany martwiczej formowanej lokalnie w tkance po jej pojedynczej ekspozycji na wiązkę *HIFU*.

go na drodze propagacji w warstwie wody dla każdej składowej harmonicznej o znikomo małej amplitudzie nie ma wpływu na wynik. Na Rys. 4.7 przedstawiono osiowy rozkład ciśnienia w nieliniowej wiązce rozchodzącej się w wodzie zakładając wartość wykładnika potęgowego y równą 1.1 lub 2. Jak widać z Rys. 4.7 rozkłady te całkowicie się pokrywają. Maksymalna różnica amplitud ciśnienia obliczonych przy założeniu $y = 1.1$ lub $y = 2$ wyniosła ok. 0.039% maksymalnej wartości ciśnienia w wodzie, co uzasadnia przyjęte założenie.

Parametry wejściowe źródła

Do modelu nieliniowej propagacji w dwu-warstwowym układzie ośrodków woda-tkanka wprowadzono następujące parametry wejściowe źródła wyznaczone eksperymentalnie z powtórzonych pomiarów za pomocą ultradźwiękowego miernika mocy UPMDT1E (Ohmic Instruments, St. Charles, MO, USA) w wodzie. Średnia moc akustyczna przetwornika *HIFU* wy-

Parametry materiałowe	Woda	Tkanka
Gęstość ρ [kg/m ³]	993 [77]	1052 [81]
Prędkość dźwięku c [m/s]	1520 [78]	1620 [82]
Współczynnik tłumienia α_0 [dB/MHz ^y cm]	0.002 [44]	0.88 [82]
y [a.u.]	1.1 [83]	
Parametr nieliniowości B/A [a.u.]	5 [78]	7.8 [84]
Ciepło właściwe C [J/kg K]	4200	3300 [81]
Przewodnictwo cieplne k [W/m · °C]	0.6	0.48 [81]

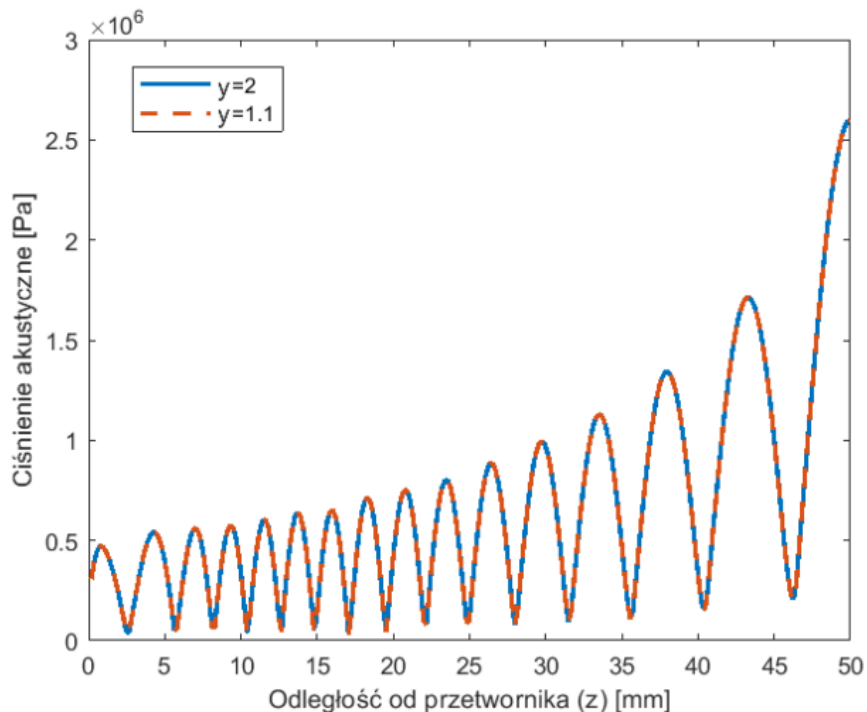
Tab. 4.3. Akustyczne i termiczne właściwości ośrodków propagacji dla temperatury 36°C stosowane w symulacjach numerycznych pól termicznych indukowanych lokalnie w tkance wiązką *HIFU*.

niosła 17 W dla współczynnika wypełnienia 0.2 (85 W dla fali ciągłej), początkowe ciśnienie na powierzchni źródła 0.286 MPa, a początkowe natężenie 2.7 W/cm².

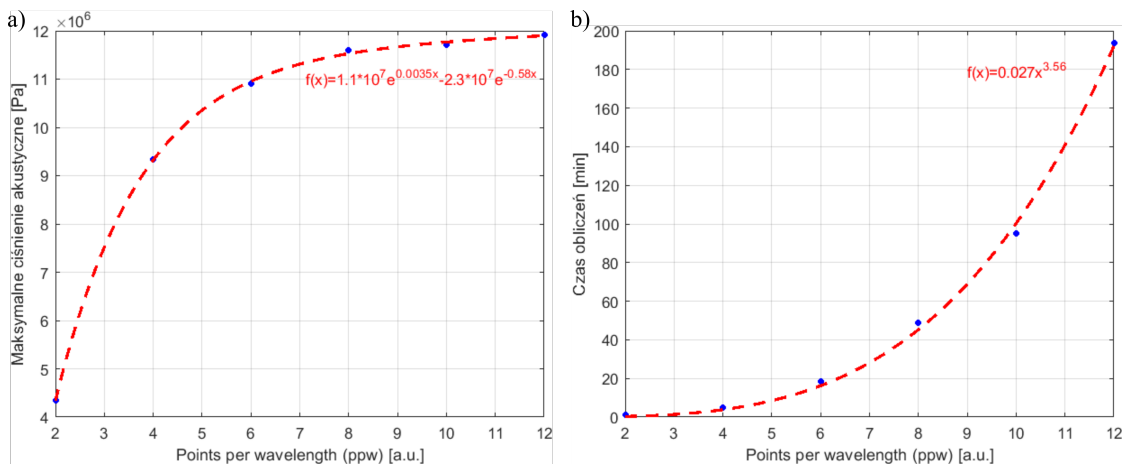
Dyskretyzacja

W związku z zamianą jednowarstwowego ośrodka propagacji (woda) opisanego w rozdziale 4.1 na dwuwarstwy układ ośrodków: woda-tkanka konieczny był dobór odpowiedniej gęstości siatki przestrzennej (Δx). W tym celu obliczono zależność maksymalnej amplitudy ciśnienia akustycznego oraz czasu trwania symulacji numerycznej od ilości węzłów siatki przypadających na długość fali (ppw) (Rys. 4.8). Obliczenia zostały wykonane na komputerze o dużej mocy obliczeniowej (pamięci RAM 128 GB; 2 procesory Intel(R) Xeon(R) CPU E5-2680 v4 o podstawowej częstotliwości pracy 2.4 GHz i 28 procesorów logicznych każdy).

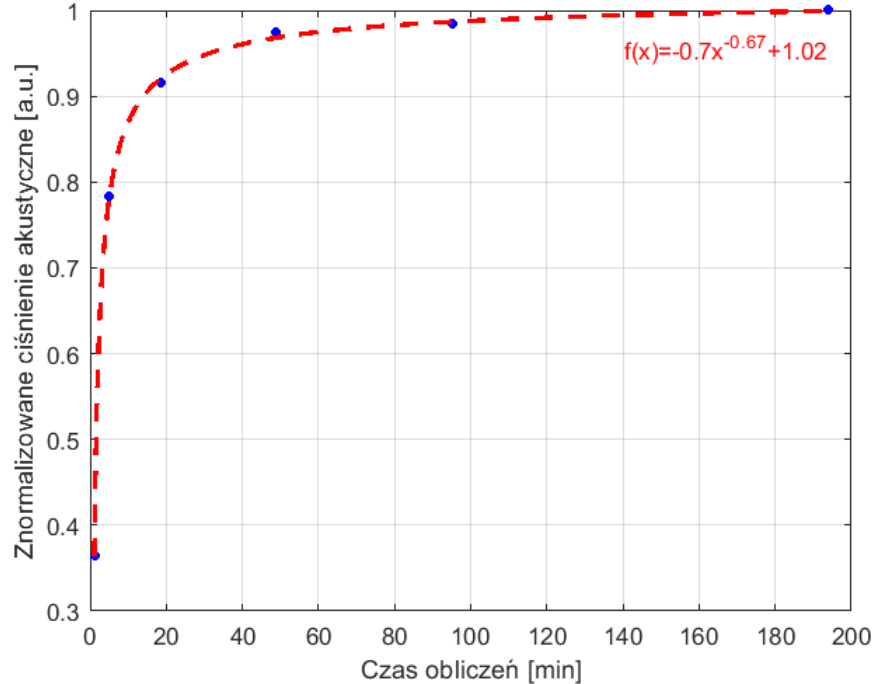
Analogicznie do przypadku doboru gęstości siatki przestrzennej w wodzie (Rys. 4.3) funkcja dopasowana do zależności maksymalnej amplitudy ciśnienia od gęstości siatki (Rys. 4.8a) spłaszcza się, gdy $ppw \geq 8$. Różnica pomiędzy maksymalną amplitudą ciśnienia akustycznego obliczoną dla $ppw = 12$ a $ppw = 8$ wynosi 2.6 %. Czas trwania obliczeń ze wzrostem ilości



Rys. 4.7. Osiowy rozkład ciśnienia akustycznego w warstwie wody obliczony dla wiązki *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz i mocy akustycznej 85 W zakładając wykładnik potęgowy w funkcji zależności tłumienia od częstotliwości - $y = 1.1$ (linia przerywana) lub $y = 2$ (linia ciągła).



Rys. 4.8. Zależność maksymalnego ciśnienia akustycznego w dwuwarstwowym układzie ośrodków propagacji (a) oraz czasu trwania obliczeń (b) od ilości węzłów siatki mieszczących się w długości fali oraz dopasowana do niej funkcja $f(x)$.



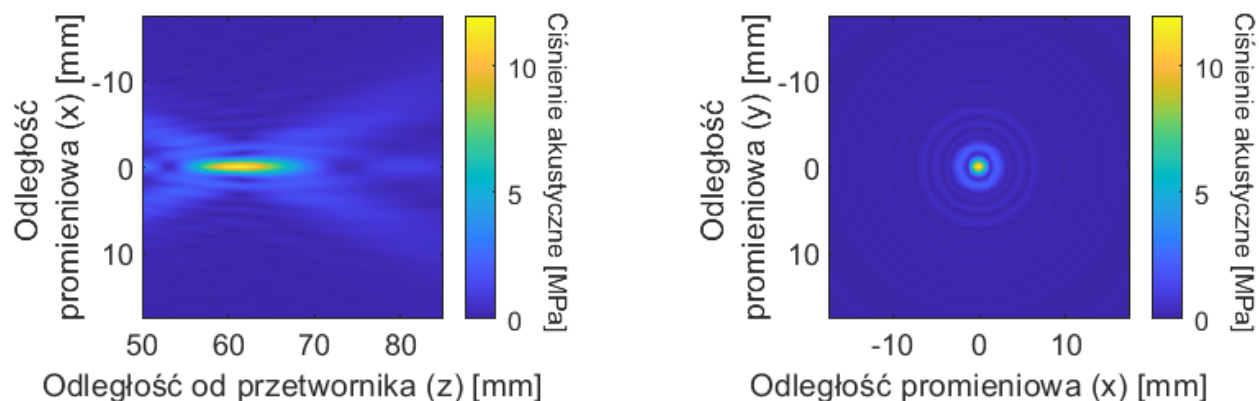
Rys. 4.9. Zależność znormalizowanego maksymalnego ciśnienia akustycznego w wiązce *HIFU* propagowanej w dwuwarstwowym układzie ośrodków od czasu trwania obliczeń oraz dopasowana do niej funkcja $f(x)$.

węzłów przypadających na długość fali rośnie zgodnie z funkcją $f(x) = 0.027x^{3.56}$. Dlatego w celu dobrania gęstości siatki przestrzennej pod kątem optymalizacji dokładności i czasu trwania obliczeń wyznaczono zależność amplitudy ciśnienia akustycznego, znormalizowanej względem maksymalnego ciśnienia obliczonego (dla $ppw = 12$), od czasu trwania obliczeń (Rys. 4.9). Z tego rysunku widać, że wartość znormalizowanego ciśnienia akustycznego prawie się nie zmienia, gdy czas trwania obliczeń jest wyższy od 50 min ($ppw = 8$). Wtedy stosunek dokładności obliczeń do czasu ich trwania jest optymalny.

4.2.2. Wyniki

Obliczono rozkład ciśnienia w nieliniowej wiązce *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz i średniej mocy akustycznej 17 W (mierzonej dla współczynnika wypełnienia 0.2) generowanej w dwuwarstwowym układzie ośrodków woda-tkanka (50 mm-40 mm) i ogniskowanej w tkan-

ce na głębokości 12.6 mm pod jej powierzchnią. Na Rys. 4.10 przedstawiono osiowy oraz promieniowy rozkład ciśnienia akustycznego w tej wiązce.



Rys. 4.10. Osiowy (po lewej) i promieniowy - w płaszczyźnie ogniskowej - (po prawej) rozkład ciśnienia akustycznego w nieliniowej wiązce *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz i mocy akustycznej 85 W rozchodzącej się w dwuwarstwowym układzie ośrodków woda-tkanka (50 mm - 40 mm).

Jak wynika z tych rozkładów w związku z niewielkim załamaniem się fali akustycznej na granicy ośrodków woda-tkanka ognisko wiązki *HIFU* znajduje się w tkance w odległości osiowej ok. 61 mm od środka przetwornika w odróżnieniu od ogniska w wodzie, znajdującego się w odległości 62.6 mm od niego. Maksymalne dodatnie ciśnienie w tkance wynosi 11.6 MPa, a długość i średnica objętości ogniskowej wiązki dla 6 dB spadku ciśnienia ma wartość odpowiednio 10.4 mm i 1.6 mm.

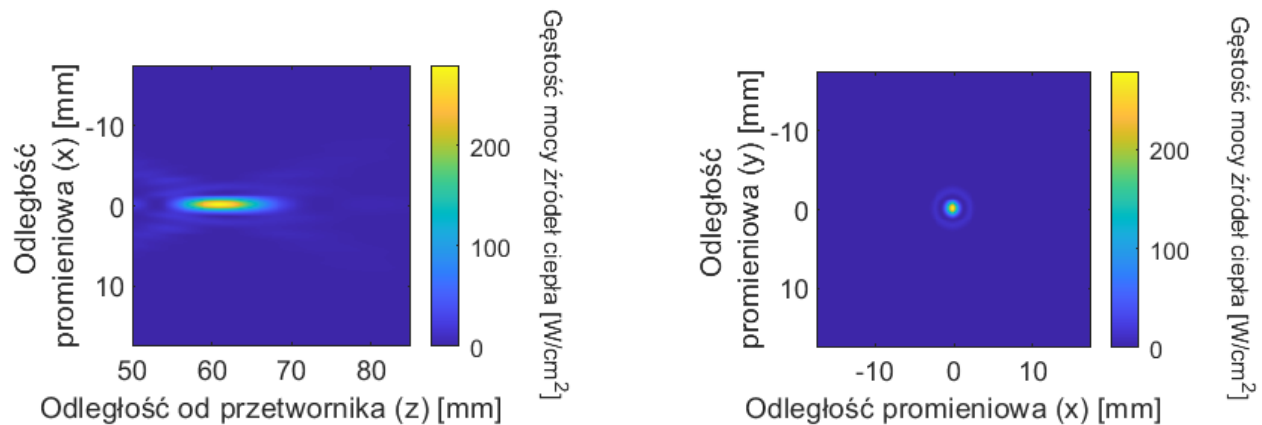
Wyznaczone rozkłady ciśnienia akustycznego w zadanej przestrzeni obliczeniowej umożliwiły wyznaczenie rozkładów gęstości mocy źródeł ciepła (generowanych przez każdą falę harmoniczną wiązki *HIFU* i pokazanych na Rys. 4.11) stosując wzór:

$$\dot{Q} = \sum_{i=1}^n \frac{\alpha_i(\omega_i) p_i^2}{2\rho c}, \quad (4.12)$$

gdzie i - i -ta składowa harmoniczna, n - ilość składowych harmoniczných.

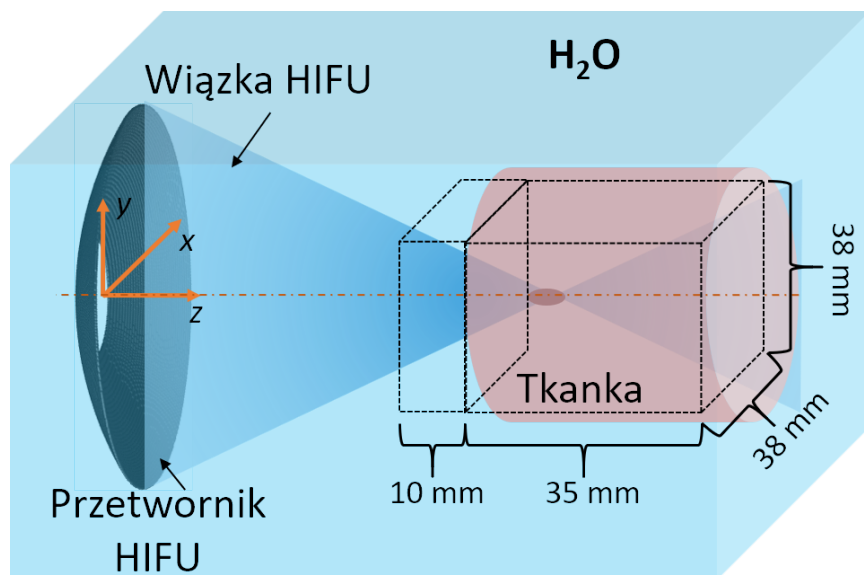
Otrzymane rozkłady gęstości mocy źródeł ciepła osadzonych w tkance przez wiązkę *HIFU* są zbliżone do rozkładów ciśnienia akustycznego przedstawionych na Rys. 4.10.

Przy obliczaniu pola termicznego wytwarzanego w tkance wiązką *HIFU* przestrzeń obli-



Rys. 4.11. Osiowy (po lewej) i promieniowy - w płaszczyźnie ogniskowej - (po prawej) rozkład gęstości mocy źródeł ciepła indukowanych wewnątrz tkanki wiązką *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz i mocy akustycznej 85 W rozchodzącą się w dwuwarstwowym układzie ośrodków woda-tkanka (50 mm - 40 mm).

zeniową zmniejszono do prostopadłościanu o wymiarach 38 mm x 38 mm x 45 mm (Rys. 4.12). Pozwoliło to na znaczne skrócenie czasu obliczeń.



Rys. 4.12. Schemat przestrzeni obliczeniowej (linie przerywane) stosowanej do prognozowania pola termicznego indukowanego w tkance wiązką *HIFU*.

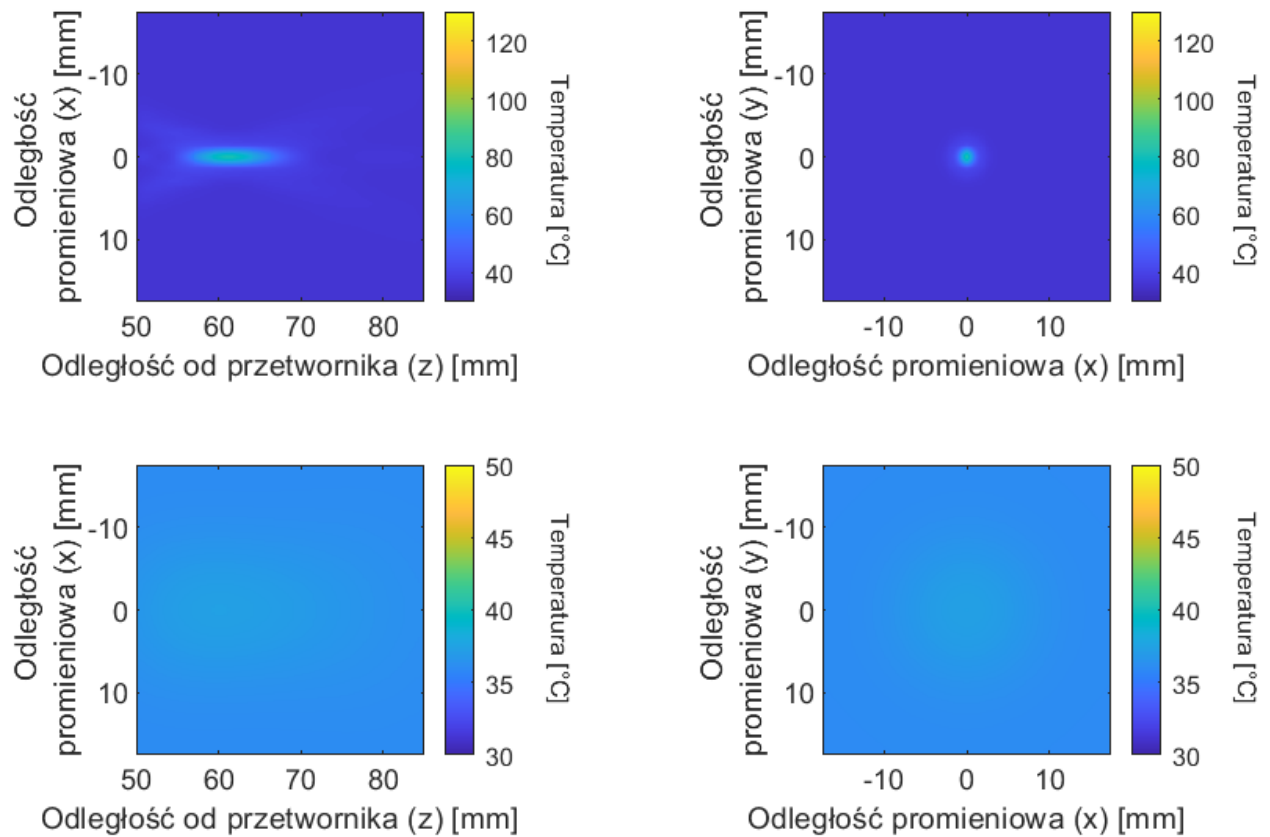
Dla obliczenia pola termicznego indukowanego lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* przy użyciu modelu numerycznego k-Wave założono parametry wejściowe dla źródła i ośrod-

ków propagacji identyczne z tymi stosowanymi w eksperymentach. Zbadano pole termiczne wytworzone wewnątrz tkanki eksponowanej na impulsową wiązkę *HIFU* o początkowej amplitudzie ciśnienia 0.286 MPa, różnym czasie trwania impulsów (200 ms, 300 ms lub 400 ms), stałym okresie ich powtarzania (500 ms) oraz takim samym czasie ekspozycji (3 s). Wtedy w czasie każdej pojedynczej ekspozycji tkanka była nadzwyczajnie taką samą liczbą 6 impulsów, chociaż współczynnik wypełnienia (DC) wiązki był zmienny i wynosił odpowiednio 0.4, 0.6 lub 0.8. Gęstość mocy źródeł ciepła obliczono ze wzoru (4.12). Przy obliczaniu pola termicznego założono krok czasowy 0.1 s. Po 3 sekundach grzania zakładano 120 sekund stygnięcia (wynikających z czasu relaksacji temperaturowej badanej tkanki), gdyż przy obliczaniu dawki termicznej ze wzoru 2.8 wzrost temperatury powyżej 36°C w leczonej objętości może wpływać na wynik. Na rysunkach Rys. 4.13 - 4.15 przedstawiono osiowy i promieniowy rozkład pola termicznego indukowanego lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* o różnych wartościach współczynnika wypełnienia ($DC = 0.4, 0.6$ lub 0.8) po 3 s sonikacji, a także po 3 s sonikacji i 120 s stygnięcia.

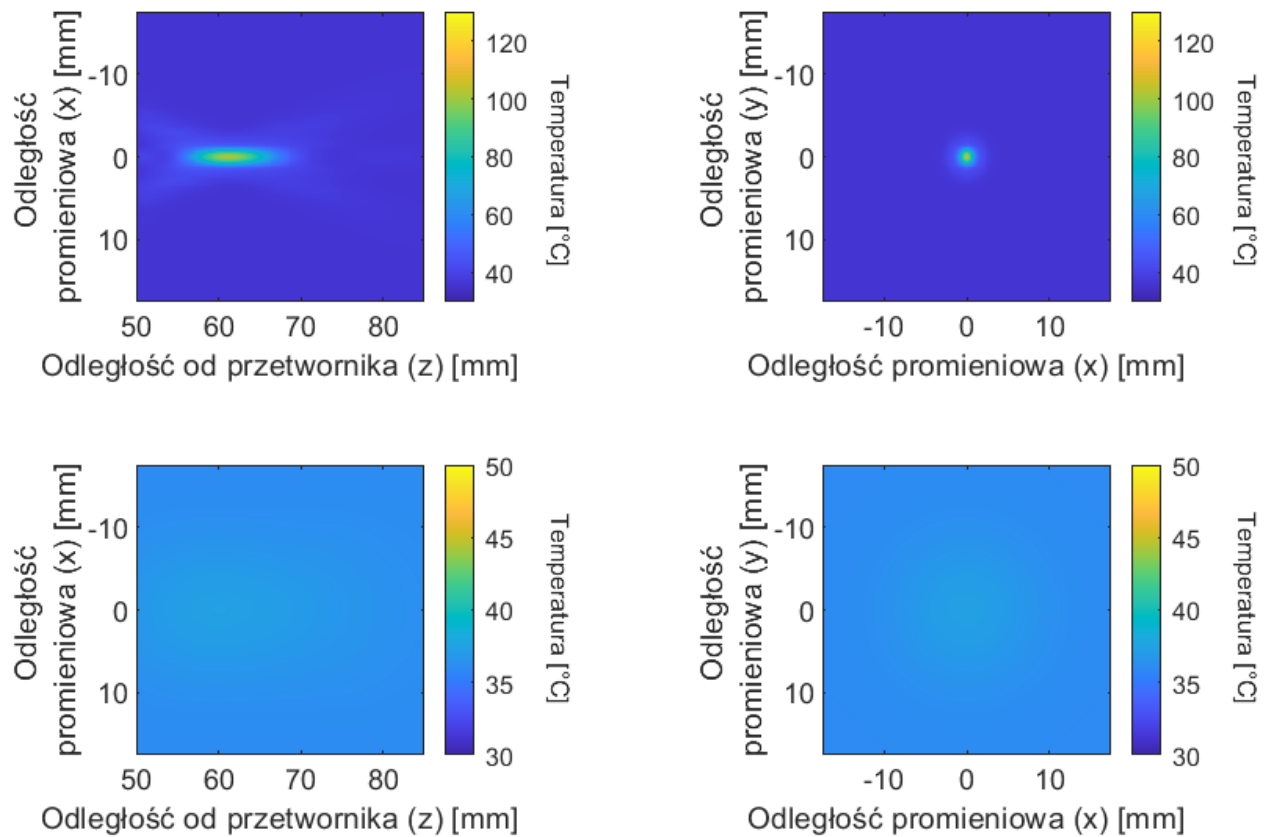
Maksymalna temperatura w tkance obliczona dla 1.08-MHz wiązki *HIFU* o różnym współczynniku wypełnienia ($DC = 0.4, 0.6$ lub 0.8) wyniosła odpowiednio 80°C, 100°C lub 120°C. Stąd dla wiązki *HIFU* o $DC = 0.6$ i $DC = 0.8$ najprawdopodobniej dochodzi do lokalnego wrzenia wody zawartej w tkance. Po 120 s od zakończenia ekspozycji tkanki na wiązkę *HIFU* maksymalna lokalna temperatura w jej wnętrzu spadła do 36°C - 38°C, osiągając poziom zbliżony do temperatury początkowej badanej tkanki.

Przedstawiono także (Rys. 4.17) jak zmieniała się temperatura podczas procesu termabłacji w punktach brzegowych objętości ogniska oraz w jej środku wg. schematu 4.16.

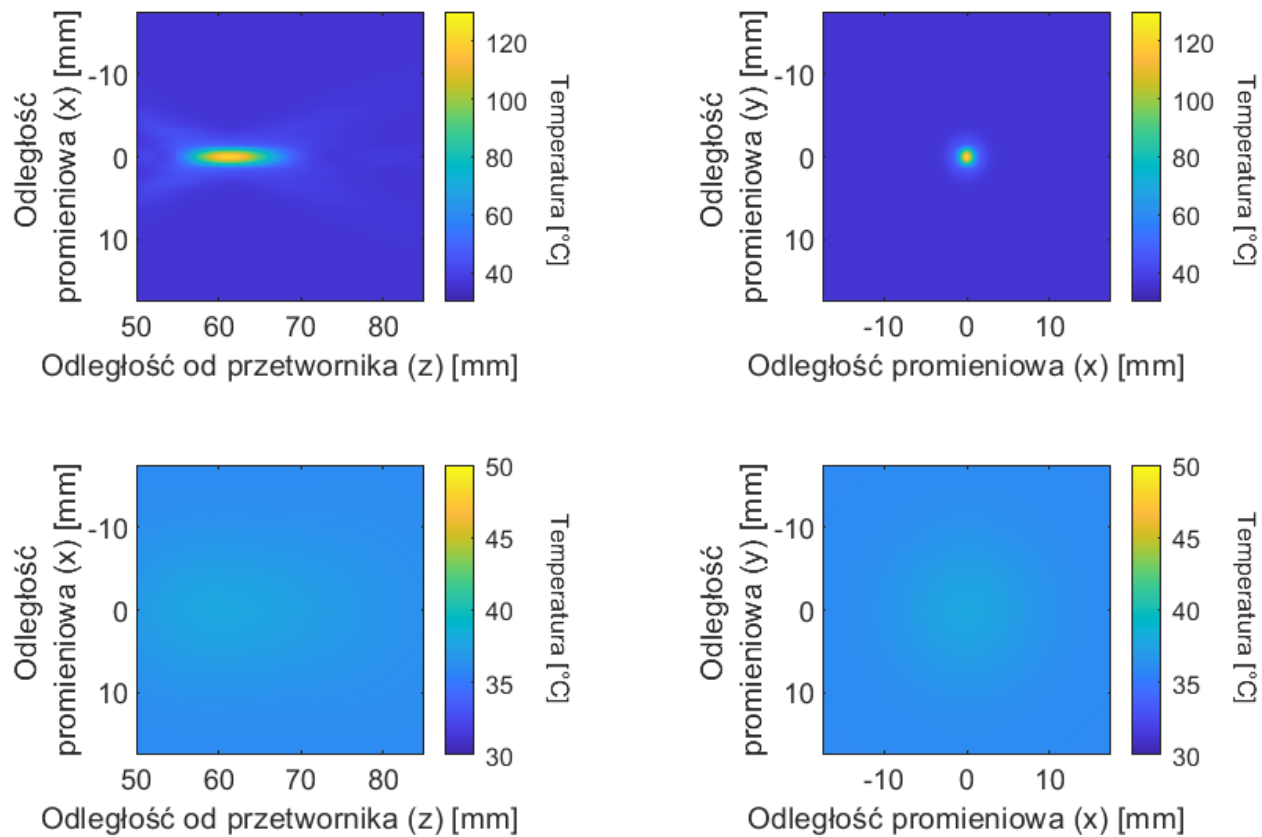
"Piłokształtna" krzywa wzrostu temperatury na przedstawionych wykresach wynika z impulsowego charakteru wiązki ($DC \neq 1$), a więc 3 s nagrzewania zawiera w sobie także krótkie okresy stygnięcia, których długość zależy od wartości DC . Wzrost temperatury w ognisku wiązki jest gwałtowny, a różnica temperaturowa między środkiem ogniska a jego krańcami podłużnymi i poprzecznymi wynosi odpowiednio od 30°C do 60°C i od 15°C do



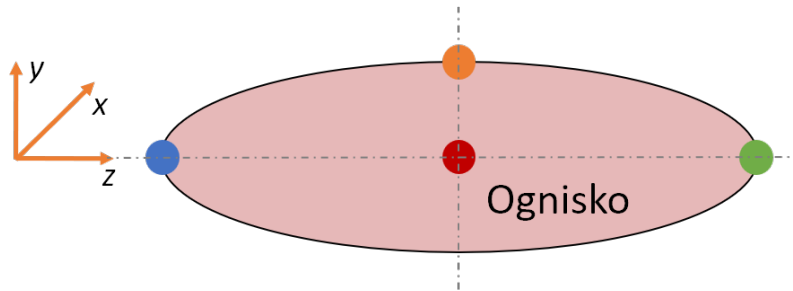
Rys. 4.13. Osiowy (po lewej) i promieniowy - w płaszczyźnie ogniskowej - (po prawej) rozkład pola termicznego, indukowanego lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.4$, obliczony po 3 s ekspozycji (u góry) oraz po 3 s ekspozycji i 120 s stygnięcia (u dołu).



Rys. 4.14. Osiowy (po lewej) i promieniowy - w płaszczyźnie ogniskowej - (po prawej) rozkład pola termicznego, indukowanego lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.6$, obliczony po 3 s ekspozycji (u góry) oraz po 3 s ekspozycji i 120 s stygnięcia (u dołu).



Rys. 4.15. Osiowy (po lewej) i promieniowy - w płaszczyźnie ogniskowej - (po prawej) rozkład pola termicznego, indukowanego lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.8$, obliczony po 3 s ekspozycji (u góry) oraz po 3 s ekspozycji i 120 s stygnięcia (u dołu).



Rys. 4.16. Punkty obliczania przyrostu temperatury indukowanej lokalnie w badanej tkance podczas jej 3-s ekspozycji na wiązkę *HIFU*. Pokazano przekrój objętości ogniskowej wiązki.

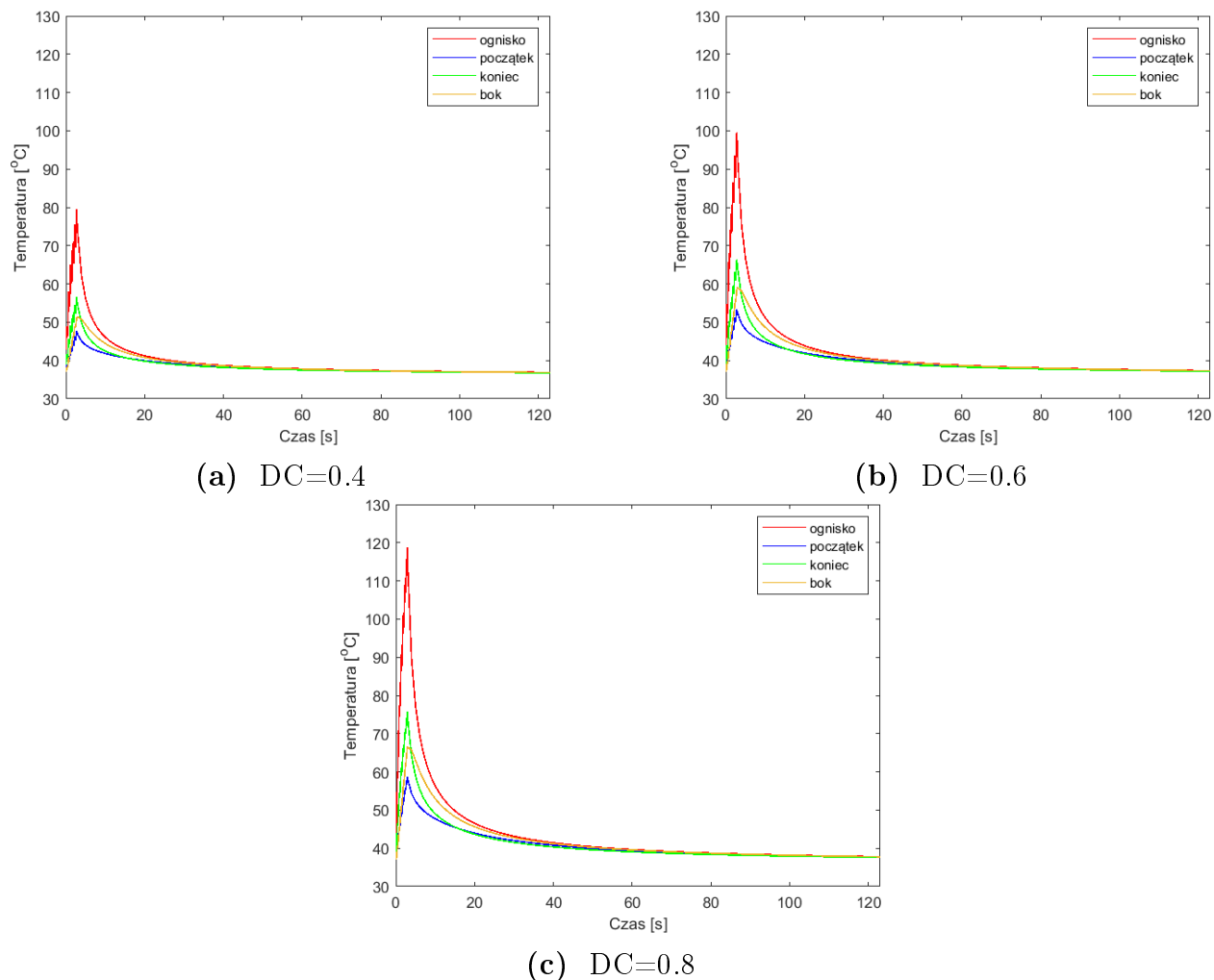
55°C w momencie maksymalnej temperatury. Zgodnie z Rys. 4.13, Rys. 4.14 i Rys. 4.15 oznacza to, że gradient temperatury w poprzek wiązki jest większy niż wzdłuż wiązki.

Korzystając ze wzoru (2.8) wyznaczono dawkę termiczną dla badanej tkanki konwertując dane czasowo-temperaturowe na równoważną liczbę minut w temperaturze 43°C. Wyniki obliczeń dla używanych impulsowych wiązek *HIFU* o różnym współczynniku wypełnienia przedstawiono na Rys. 4.18 - Rys. 4.20.

Obliczona w ten sposób dawka termiczna dla badanej tkanki mięśniowej ekspozowanej przez 3 s na wiązkę *HIFU* o współczynniku wypełnienia 0.4, 0.6 lub 0.8 wyniosła maksymalnie odpowiednio $3.17 \cdot 10^7$ min, $7.83 \cdot 10^{13}$ min, $1.02 \cdot 10^{20}$ min.

Zgodnie z [33] dawka termiczna niezbędna do wywołania nekrozy w badanej tkance mięśniowej w temperaturze 43°C wynosi 240 min . Wyniki obliczeń wskazują, że dawka termiczna wyliczona dla założonych warunków brzegowych przekracza dawkę progową wielokrotnie. Dzieje się tak najprawdopodobniej dlatego, że metoda obliczania dawki ze wzoru (2.8) sprawdza się dobrze w przewidywaniu określonych rodzajów uszkodzeń tkanki w zakresie określonych kombinacji czasu i temperatury (do 50°C).

Zakładając, że objętość tkankowa, do której dostarczono dawkę progową ($CEM_{43} = 240$ min [33]), została nieodwracalnie uszkodzona, a więc może być uznana za objętość zmiany nekrotycznej, obliczono mapy binarne przekrojów zmian martwiczych wywołanych pojedynczą wiązką *HIFU* o różnym współczynniku wypełnienia, które przedstawiono na Rys.

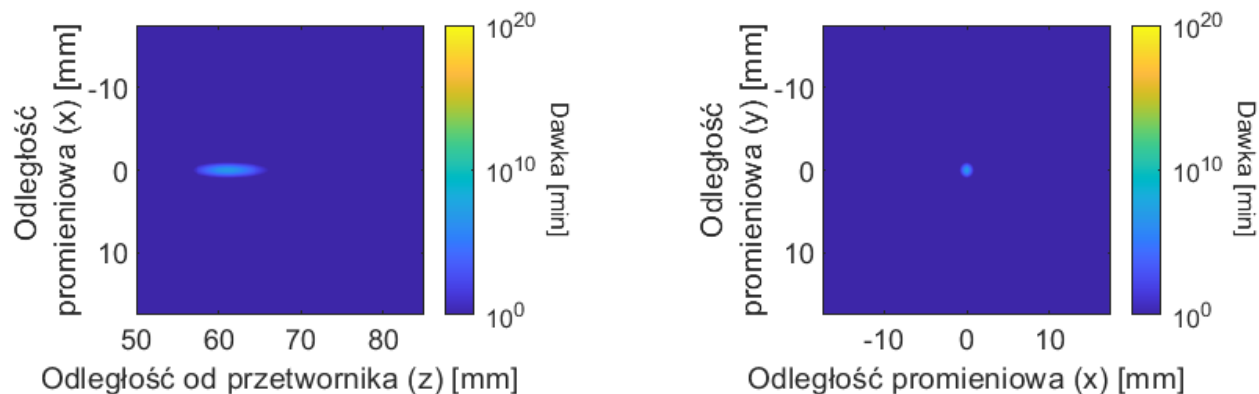


Rys. 4.17. Rozkład temperatury indukowany lokalnie w badanej tkance podczas jej 3-s nadźwiękawiania wiązką *HIFU* o współczynniku wypełnienia 0.4, 0.6 lub 0.8 oraz 120-s stygnięcia. Przedstawiono rozkład w 4 punktach objętości ogniskowej wiązki *HIFU* oznaczonych na Rys. 4.16.

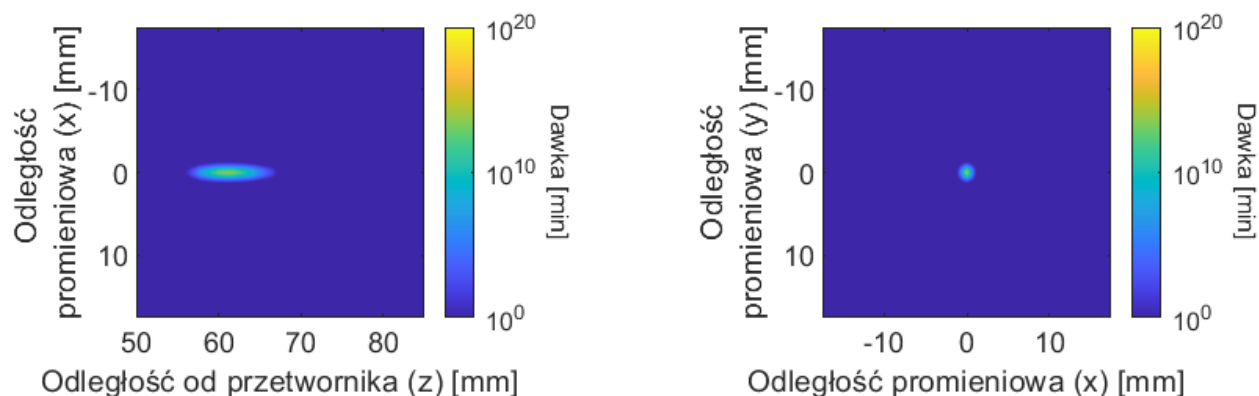
4.21 - Rys. 4.23.

Ilościowa analiza otrzymanych wyników pozwoliła wykazać, że przewidywane zmiany nekrotyczne mają kształt elipsoidalny, a ich środki znajdują się w odległości osiowej od przetwornika *HIFU* ok. 61 mm, co jest w zgodzie z wynikami eksperymentalnymi opisanymi w Rozdziale 3.3. Dokładna wielkość każdej zmiany w postaci długości i średnicy jej przekrojów została przedstawiona w Tab. 4.4.

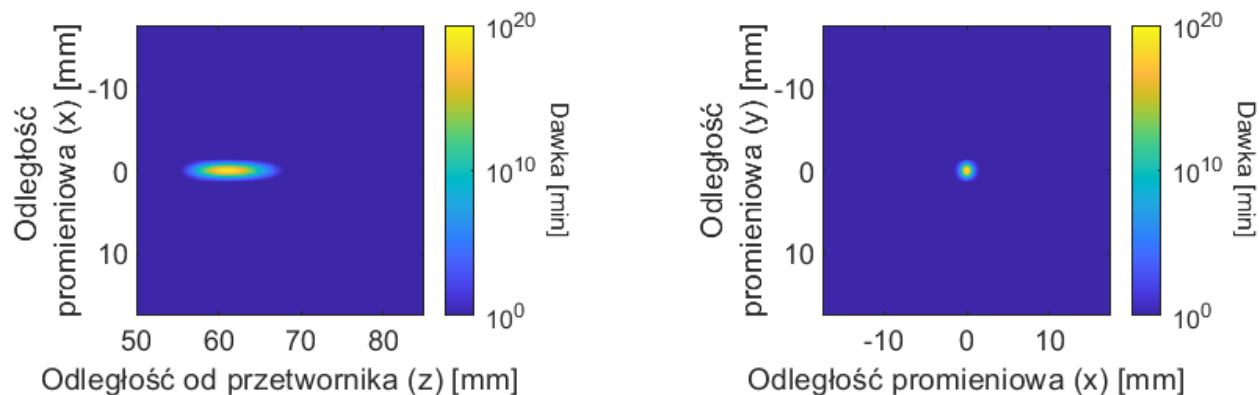
Wielkość zmiany nekrotycznej - powstałej w badanej tkance po jej ekspozycji na wiązkę



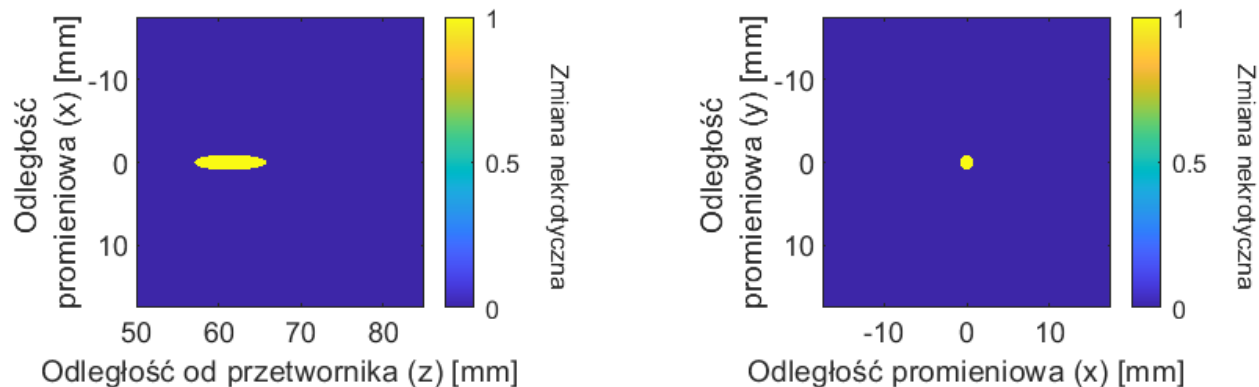
Rys. 4.18. Rozkład dawki termicznej, indukowanej lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.4$, obliczony w płaszczyźnie osiowej (po lewej) i ogniskowej (po prawej) wiązki *HIFU* po 3 s ekspozycji.



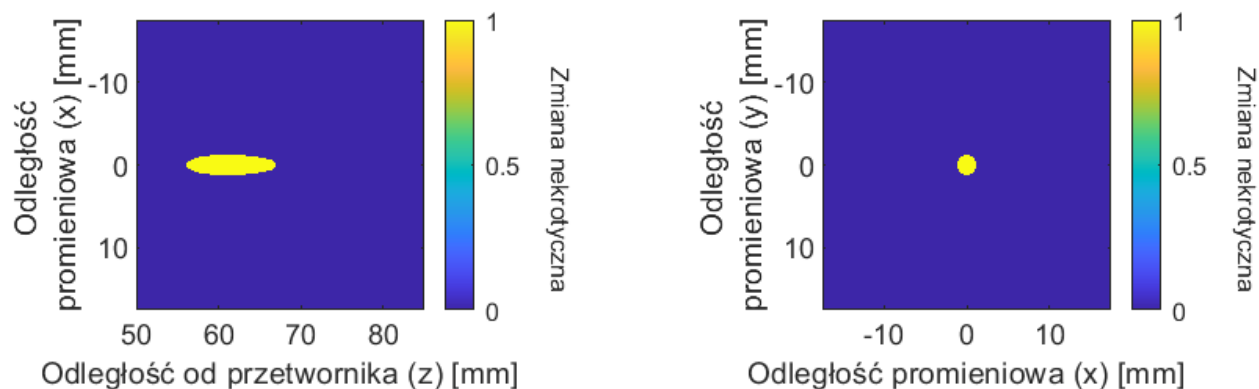
Rys. 4.19. Rozkład dawki termicznej, indukowanej lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.6$, obliczony w płaszczyźnie osiowej (po lewej) i ogniskowej (po prawej) wiązki *HIFU* po 3 s ekspozycji.



Rys. 4.20. Rozkład dawki termicznej, indukowanej lokalnie w badanej tkance wiązką *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.8$, obliczony w płaszczyźnie osiowej (po lewej) i ogniskowej (po prawej) wiązki *HIFU* po 3 s ekspozycji.



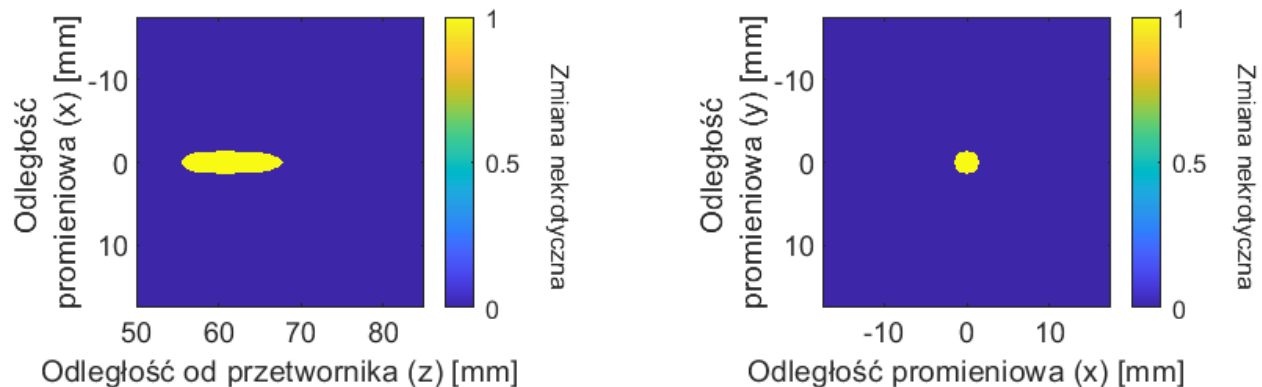
Rys. 4.21. Mapa binarna przekroju zmiany nekrotycznej, indukowanej wewnątrz badanej tkanki po jej 3-s ekspozycji na pojedynczą wiązkę *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.4$, obliczona w płaszczyźnie osiowej (po lewej) i ogniskowej (po prawej) wiązki.



Rys. 4.22. Mapa binarna przekroju zmiany nekrotycznej, indukowanej wewnątrz badanej tkanki po jej 3-s ekspozycji na pojedynczą wiązkę *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.6$, obliczona w płaszczyźnie osiowej (po lewej) i ogniskowej (po prawej) wiązki.

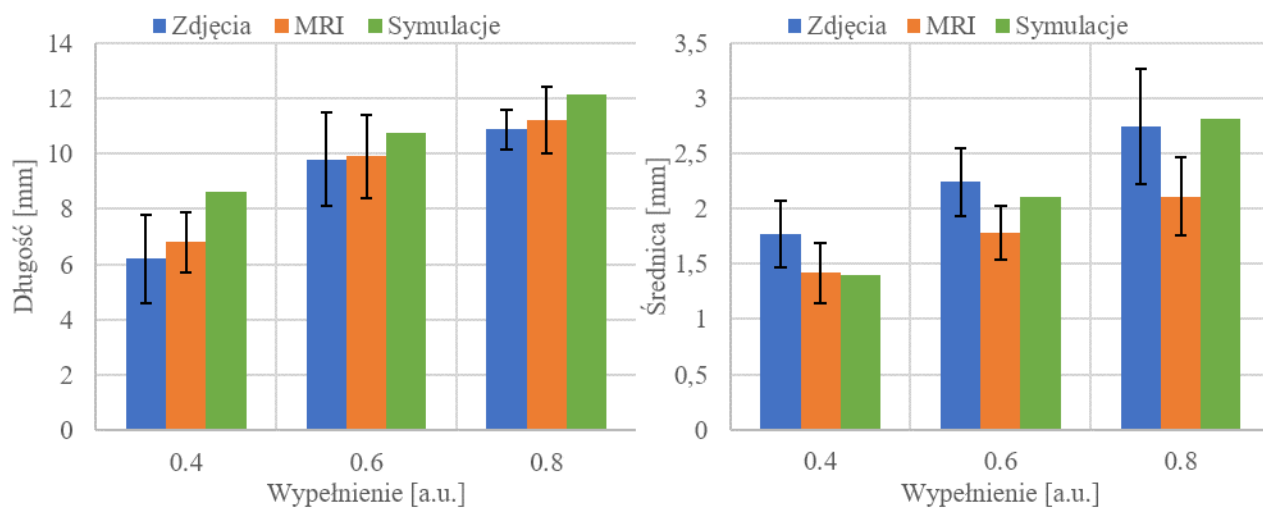
Wielkość zmiany martwiczej	$DC = 0.4$	$DC = 0.6$	$DC = 0.8$
Długość [mm]	8.63	10.73	12.14
Średnica [mm]	1.40	2.11	2.81

Tab. 4.4. Obliczona wielkość zmiany nekrotycznej indukowanej lokalnie w tkance po jej pojedynczej ekspozycji na wiązkę *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.4$, 0.6 lub 0.8 .



Rys. 4.23. Mapa binarna przekroju zmiany nekrotycznej, indukowanej wewnątrz badanej tkanki po jej 3-s ekspozycji na pojedynczą wiązkę *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.8$, obliczona w płaszczyźnie osiowej (po lewej) i ogniskowej (po prawej) wiązki.

HIFU o takiej samej częstotliwości i mocy akustycznej lecz różnym współczynniku wypełnienia - zmierzonej na podstawie zdjęć lub obrazów MR jej przekrojów porównano z tą symulowaną numerycznie i przedstawiono na Rys. 4.24.



Rys. 4.24. Porównanie długości (po lewej) i średnicy (po prawej) zmiany martwicznej, powstałej w badanej tkance po jej ekspozycji na pojedynczą wiązkę *HIFU* o współczynniku wypełnienia $DC = 0.4$, 0.6 lub 0.8 i zmierzonej ze zdjęć lub obrazów MR jej przekrojów, z tą obliczoną numerycznie.

Średnia różnica pomiędzy długością lub średnicą zmiany martwicznej wyznaczoną na podstawie symulacji numerycznych a tą zmierzona wyniosła odpowiednio 1.37 ± 0.64 mm lub

0.27 ± 0.25 mm, co świadczy o dokładności stosowanego modelu numerycznego zbliżonej do rozdzielczości stosowanych technik obrazowania. Dodatkowo, wielkość przewidywanych zmian nekrotycznych znajduje się w granicach odchylenia standardowego wobec wielkości wyznaczonej eksperymentalnie.

4.3. Wielokrotna ekspozycja tkanki na wiązkę *HIFU*

4.3.1. Materiały i metody

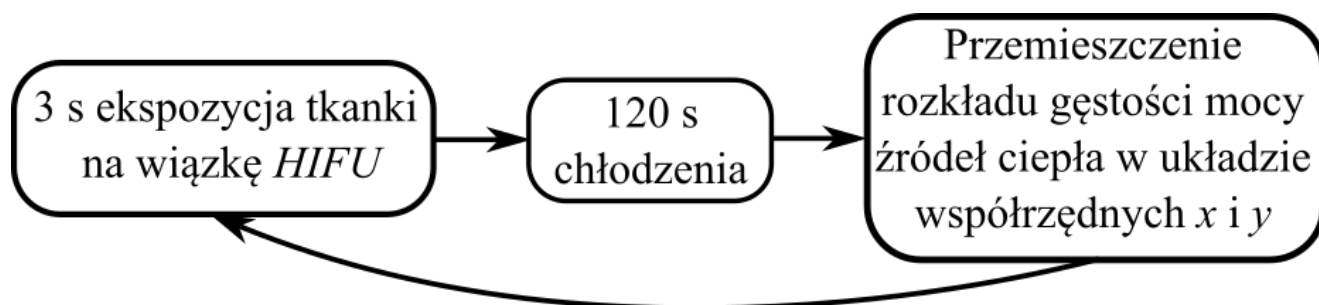
Kolejnym etapem badań w celu weryfikacji używanego modelu numerycznego było porównanie wielkości większej cylindrycznej zmiany nekrotycznej (opisanej w Rozdziale 3.4) powstałej wewnątrz tkanki po jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* (według zaplanowanego schematu procedury ablacyjnej) z tą symulowaną numerycznie. Parametry wejściowe niezbędne dla modelowania numerycznego były zgodne z tymi wyznaczonymi eksperymentalnie dla wiązki *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz, współczynnika wypełnienia 0.6, ilości generowanych impulsów 6, czasie ekspozycji 3 s oraz czasie stygnięcia 120 s. Wartości parametrów akustycznych i termicznych ośrodków propagacji oraz gęstość przestrzennej siatki obliczeniowej pozostały takie same jak w przypadku pojedynczej ekspozycji.

Przestrzenny plan ablacji

W celu odwzorowania w symulacjach numerycznych lokalnej cylindrycznej objętości wewnątrz tkanki poddawanej ablacji zaprogramowano plan jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU*. Założono, że cylindryczna objętość tkankowa planowana do ablacji znajduje się na głębokości 12.6 mm pod powierzchnią tkanki i ma średnicę 5 mm lub 9 mm. Dla wiązki *HIFU* o częstotliwości 1.08 MHz długość tej cylindrycznej objętości wynosi ok. 10 mm (Rozdział 3.4.1). Położenie i kolejność promieniowych przekrojów pojedynczych zmian nekrotycznych w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU* w celu utworzenia cylindrycznej zmiany o zadanej

średnicy przedstawiono na Rys. 3.35.

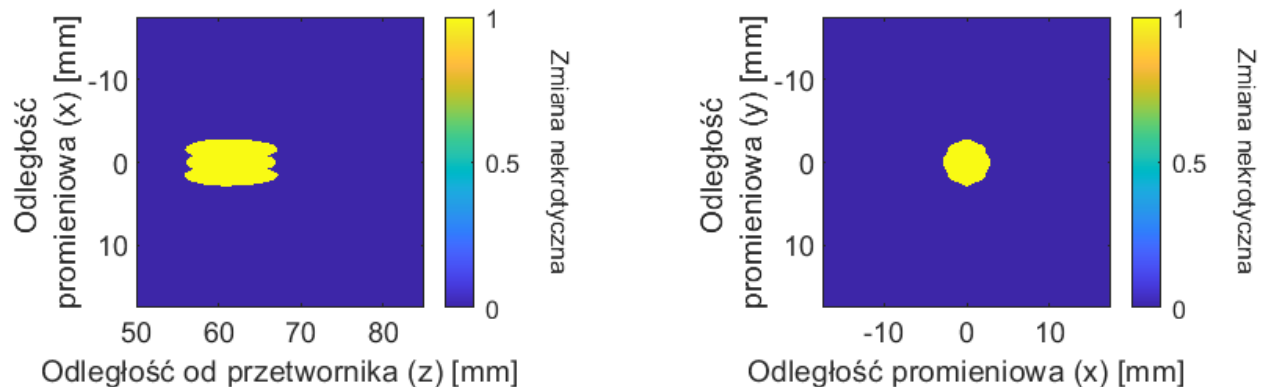
Obliczanie wielkości zmiany martwiczej wywołanej wielokrotną ekspozycją tkanki na wiązkę *HIFU* o zadanych parametrach akustycznych przesuwana zgodnie z planem ablacynym przeprowadzano poprzez zmianę położenia pojedynczego rozkładu gęstości mocy źródeł ciepła (zmiannę współrzędnych x, y według schematu przedstawionego na Rys. 4.25). Założono, że rozkład ciśnienia oraz gęstości mocy źródeł ciepła w każdej wiązce *HIFU* jest niezmienny niezależnie od jej położenia w płaszczyźnie xy , ponieważ propaguje się ona w równoległych ośrodkach propagacji woda-tkanka prostopadłych do jej osi. Takie podejście pozwala na skrócenie czasu obliczeń w przypadku cylindrycznych objętości o średnicy 5 mm lub 9 mm planowanych do ablacji odpowiednio o 7.5 godzin lub 25 godzin.



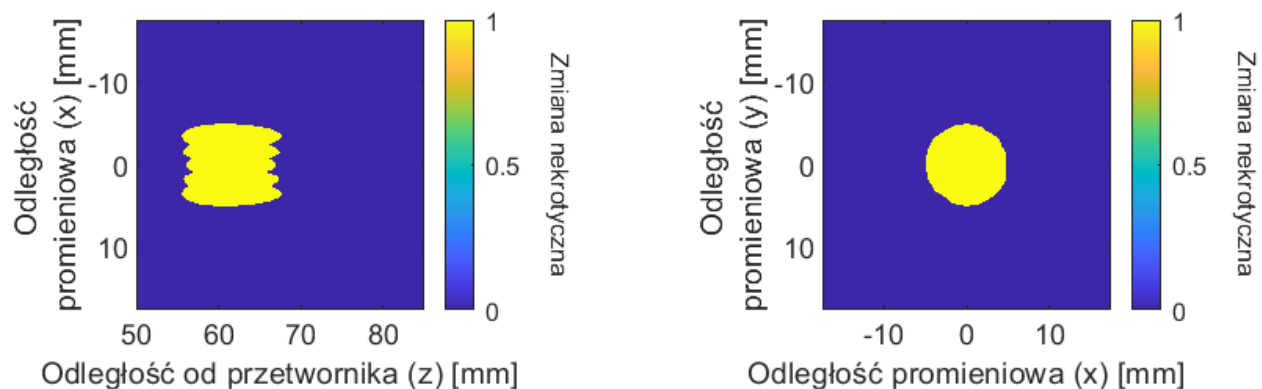
Rys. 4.25. Schemat wielokrotnej ekspozycji tkanki w czasie przyjęty do obliczeń numerycznych.

4.3.2. Wyniki

Proces zmiany objętości nekrozy formowanej w tkance podczas jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* w celu utworzenia w jej wnętrzu cylindrycznej objętości martwiczej o średnicy 5 mm lub 9 mm i długości 10 mm został obliczony i zwizualizowany na filmach video (http://bluebox.ippt.pan.pl/~lfura/plan_5mm.mp4 i http://bluebox.ippt.pan.pl/~lfura/plan_9mm.mp4). Przekroje prognozowanej zmiany nekrotycznej (po przekroczeniu progowej dawki termicznej) w postaci map binarnych przedstawiono na Rys. 4.26 - Rys. 4.28.

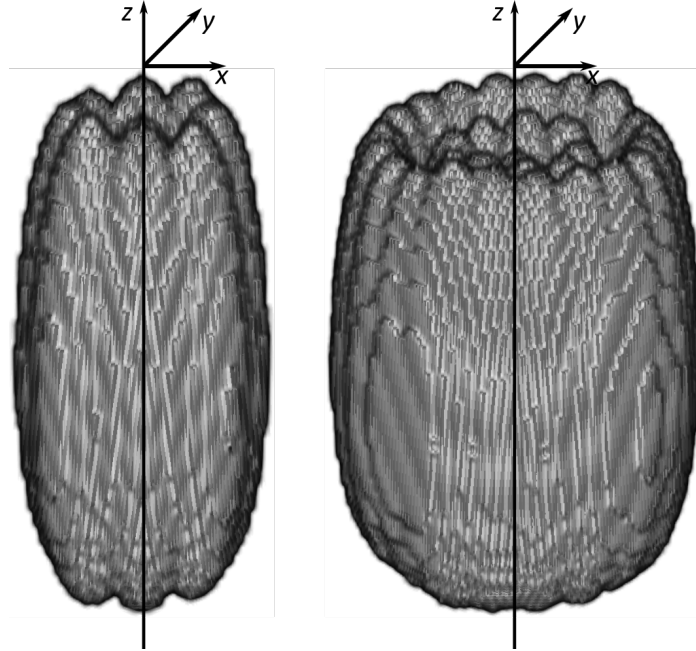


Rys. 4.26. Osiowy (po lewej) i promieniowy - w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU* - (po prawej) przekrój 5-mm cylindrycznej zmiany nekrotycznej uformowanej wewnątrz badanej tkanki po jej 9-krotnej 3-s sonikacji (zgodnie ze schematem na Rys. 3.35), obliczony numerycznie.



Rys. 4.27. Osiowy (po lewej) i promieniowy - w płaszczyźnie ogniskowej wiązki *HIFU* - (po prawej) przekrój 9-mm cylindrycznej zmiany nekrotycznej uformowanej wewnątrz badanej tkanki po jej 30-krotnej 3-s sonikacji (zgodnie ze schematem na Rys. 3.35), obliczony numerycznie.

Zwizualizowana objętość zmiany nekrotycznej powstałej po wielokrotnej ekspozycji tkanki na wiązkę *HIFU* przypomina cylinder złożony z wielu pojedynczych elipsoid. Należy jednak podkreślić, że pomimo zakładanego do obliczeń 120-s czasu stygnięcia oraz maksymalizacji odległości między sonikacjami, długość pojedynczej elipsoidalnej zmiany martwiczej wzrasta wraz ze wzrostem promienia pierścienia określającego jej położenie w układzie współrzędnych xy . Długość elipsoidy położonej na zewnętrznym pierścieniu cylindra może być większa od długości tej położonej w jego środku nawet o 16%. Najprawdopodobną przyczyną tego jest wyższa od pierwotnej (36°C) temperatura w miejscu kolejnej sonikacji



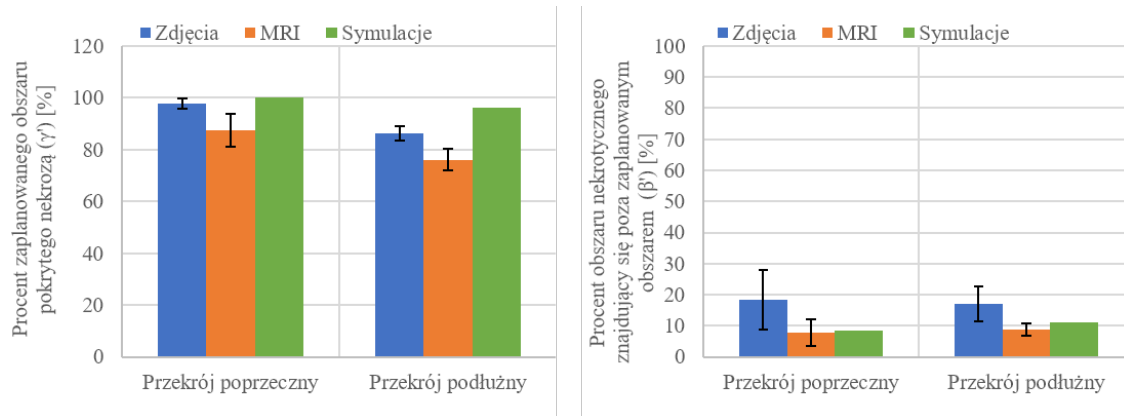
Rys. 4.28. Objętość cylindrycznej zmiany nekrotycznej o średnicy 5 mm (po lewej) i 9 mm (po prawej) symulowana numerycznie.

spowodowana temperaturą wtórną pozostającą w miejscu poprzedniej sonikacji.

Na podstawie analizy obliczonych przekrojów zmiany nekrotycznej oraz porównania ich z tymi wyznaczonymi eksperymentalnie obliczono dokładność przeprowadzenia ablacji tkanki (α' , β' , γ'), gdy środki przekrojów zmian planowanych i powstałych są nałożone na siebie, podobnie jak w Rozdziale 3.4. Otrzymane wyniki uśredniono i porównano z uśrednionymi wynikami eksperymentalnymi, jak pokazano na Rys. 4.29.

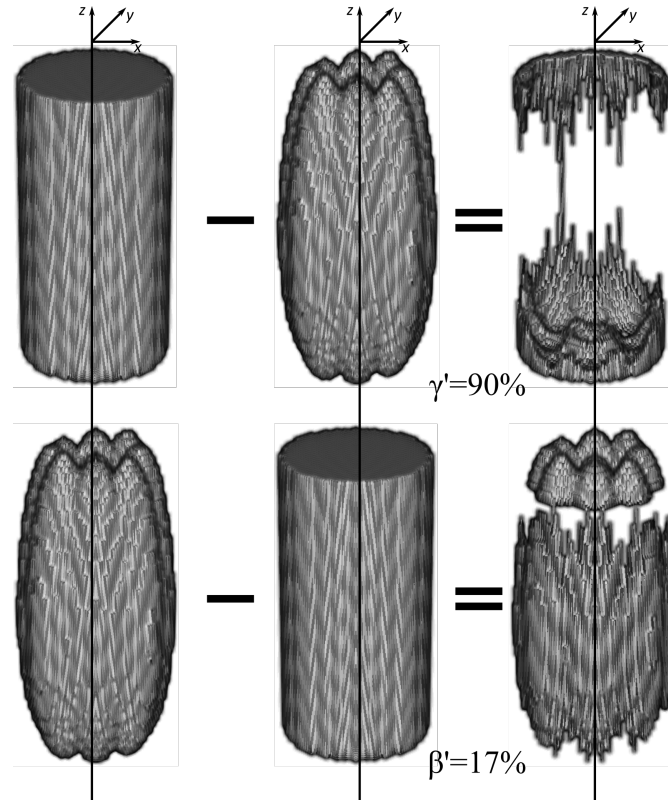
Wykazano, że dla promieniowego przekroju zmiany nekrotycznej obliczone parametry γ' i β' są porównywalne z tymi wyznaczonymi eksperymentalnie w granicach odchylenia standardowego. W przypadku przekroju osiowego obliczony numerycznie parametr γ' jest w przybliżeniu o 10% większy od tego wyznaczonego z pomiarów. Przyczyną tego jest najprawdopodobniej niejednorodność badanej tkanki oraz zróżnicowanie struktury każdej próbki tkankowej.

Analiza osiowych i promieniowych przekrojów zmian nekrotycznych symulowanych numerycznie i wyznaczonych eksperymentalnie wskazuje na dobrą zgodność między nimi. Wy-



Rys. 4.29. Porównanie parametrów oceny dokładności realizacji planu termoablacji cylindra o średnicy 5 mm lub 9 mm, obliczonych numerycznie z tymi wyznaczonymi eksperymentalnie.

znaczono również parametry γ' i β' , określające stopień dokładności pokrycia nekrozą całej cylindrycznej objętości tkankowej zaplanowanej do ablacji i obliczonej numerycznie. Na Rys. 4.30 oraz Rys. 4.31 przedstawiono różnice między tymi objętościami oraz wyznaczono parametry γ' i β' . Ilościowa analiza otrzymanych wyników wykazała, że różnica pomiędzy objętością cylindryczną zaplanowaną do ablacji, a tą uformowaną po wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* i obliczoną numerycznie stanowi w przybliżeniu 3% dla 9-mm cylindra i 10% dla 5-mm cylindra. Wynika ona najprawdopodobniej z zakładanego planu ablacyjnego przedstawionego na Rys. 3.35. Jak widać z tego rysunku pole przekroju promieniowego cylindra o średnicy 5 mm jest pokryte wiązką *HIFU* w mniejszym stopniu niż w przypadku 9-mm cylindra. Jednak wybór ilości ekspozycji jest kompromisem pomiędzy dokładnością a czasem trwania terapii.

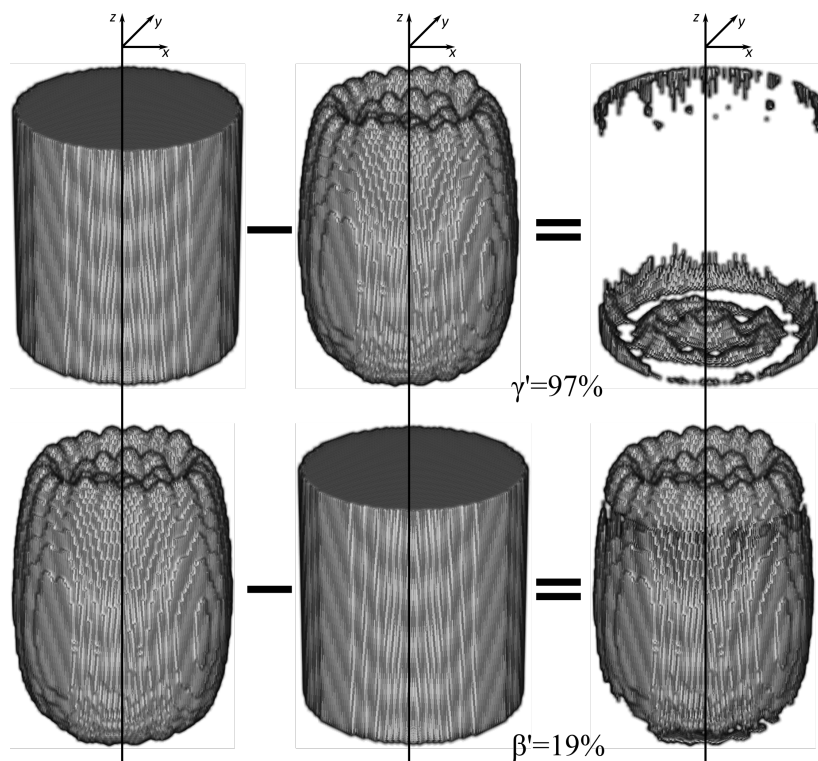


Rys. 4.30. Różnica pomiędzy cylindryczną objętością tkankową o średnicy 5 mm planowaną do ablacji, a objętością zmiany nekrotycznej (według planu na Rys. 3.35A) obliczoną numerycznie. Zaplanowaną do ablacji objętość nie pokrytą nekrozą przedstawiono w prawym górnym rogu ($\alpha' = 100\% - \gamma'$), objętość przekraczającą granice cylindra pokazano w prawym dolnym rogu (β').

4.4. Optymalizacja czasowa procesu wielokrotnej termoablacji *HIFU*

Numeryczna optymalizacja planu wielokrotnej ekspozycji tkanki na wiązkę *HIFU* ma na celu maksymalizację parametru γ' przy jednoczesnej minimalizacji parametru β' oraz czasu trwania procedury ablacyjnej. Optymalizacja planu ablacji obejmuje:

- optymalizację przestrzenną - związaną z wyborem ilości, położenia i kolejności sonikacji w celu objęcia nekrozą całej leczonej objętości wewnątrz tkanki.



Rys. 4.31. Różnica pomiędzy cylindryczną objętością tkankową o średnicy 9 mm planowaną do ablacji, a objętością zmiany nekrotycznej (według planu na Rys. 3.35B) obliczoną numerycznie. Zaplanowaną do ablacji objętość nie pokrytą nekrozą przedstawiono w prawym górnym rogu ($\alpha' = 100\% - \gamma'$), objętość przekraczającą granice cylindra pokazano w prawym dolnym rogu (β').

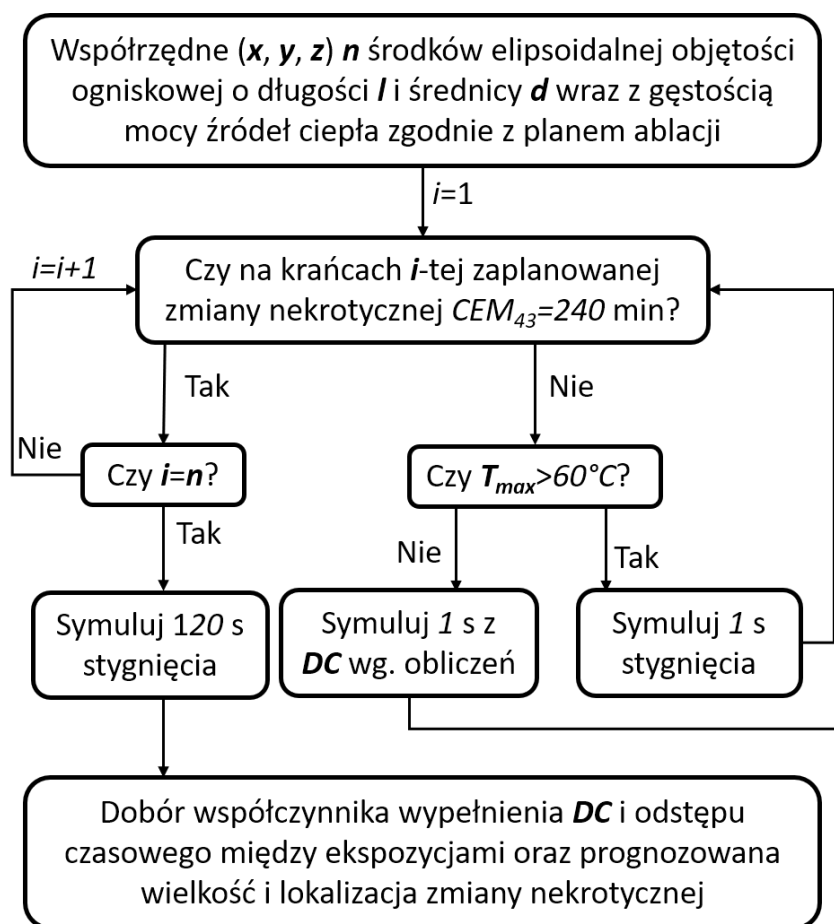
- optymalizację czasową - związaną ze skróceniem czasu procedury termoablacyjnej.

W niniejszej pracy skupiono się głównie na optymalizacji związanej z minimalizacją czasu trwania procedury termoablacyjnej.

4.4.1. Materiały i metody

W poprzednich obliczeniach (Rozdział 4.3) założono, że procedura ablacyjna składa się z wielokrotnych 3-s ekspozycji tkanki na wiązkę *HIFU* i 120-s odstępów między ekspozycjami zgodnie z zadaniem planem ablacyjnym. Wybrany odstęp czasowy - związany z czasem relaksacji temperaturowej badanej tkanki - potrzebny jest dla powrotu temperatury tkanki w miejscu kolejnej ekspozycji do poziomu pierwotnego (36°C). Stąd wynika, że 97.5%

czasu trwania procedury zajmuje przerwa czasowa między sonikacjami. Dlatego aby zminimalizować czas trwania procedury ablacyjnej należy dążyć do rozwiązań prowadzących do minimalizacji odstępu czasowego pomiędzy ekspozycjami oraz do osadzania progowej dawki termicznej tylko w objętości zaplanowanej do ablacji. Takie rozwiązanie wymaga ciągłej regulacji średniej mocy akustycznej wiązki *HIFU*. Regulacja mocy została zrealizowana poprzez dostosowywanie współczynnika wypełnienia *DC* impulsowej wiązki *HIFU* do wartości odpowiadającej progowej dawce termicznej ($CEM_{43} = 240$ min) przy użyciu prostego regulatora proporcjonalno-całkująco-różniczkującego (*PID*). Schemat czasowej optymalizacji procedury termoablacyjnej przedstawiono na Rys. 4.32.



Rys. 4.32. Schemat algorytmu numerycznego do optymalizacji czasu trwania procedury termoablacyjnej.

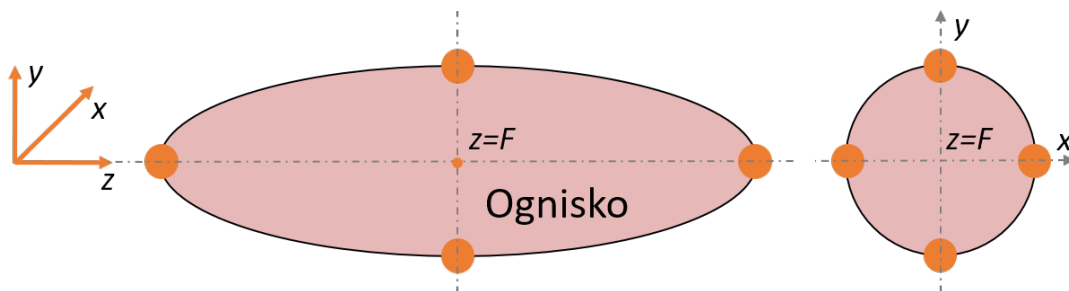
Wejściowymi parametrami algorytmu numerycznej optymalizacji czasu trwania procedury termoablacji był przestrzenny plan położenia n -tego środka n -tej elipsoidalnej objętości ogniskowej wiązki *HIFU* wraz z jej przewidywaną wielkością (l - długością, d - średnicą) oraz rozkładem gęstości mocy źródeł ciepła. Parametry akustyczne i termiczne ośrodków propagacji, ich układ przestrzenny oraz gęstość dyskretyzacji przestrzeni i czasu pozostały takie same jak w Rozdziale 4.2. i Rozdziale 4.3. Jak już wspomniano wyżej w niniejszej pracy skupiono się na optymalizacji czasu trwania procedury ablacji dla cylindrycznej objętości tkankowej o średnicy 5 mm lub 9 mm i długości 10 mm według planu przestrzennego przedstawionego na Rys. 3.35. Zakładany rozkład gęstości mocy źródeł ciepła był taki sam jaki stosowano w Rozdziale 4.2. i Rozdziale 4.3.

Parametrami wyjściowymi po zastosowaniu algorytmu numerycznej optymalizacji były wartości współczynnika wypełnienia DC dla każdej wiązki po każdej sekundzie procedury termoablacyjnej oraz przewidywana wielkość i lokalizacja zmiany nekrotycznej. Algorytm pozwalał przesuwać rozkład gęstości mocy źródeł ciepła zgodnie z zaplanowaną kolejnością i położeniem wiązki w płaszczyźnie ogniskowej (Rys. 3.35). Warunkiem przejścia do kolejnego węzła $(x_{i+1}, y_{i+1}, z_{i+1})$ siatki przestrzennej planu ablacyjnego było osiągnięcie wartości dawki progowej ($CEM_{43} = 240$ min) w 6 skrajnych punktach elipsoidalnej objętości ogniskowej (Rys. 4.33) o długości l_i i średnicy d_i oraz współrzędnych środka (x_i, y_i, z_i) . Jeśli warunek ten został spełniony, to w następnym kroku algorytm sprawdzał czy był to ostatni węzeł zakładanej na wejściu przestrzennej siatki planu ablacyjnego. Odpowiedź twierdząca powodowała zakładanie 120 s stygnięcia i zakończenie optymalizacji, natomiast odpowiedź przecząca skutkowała przejściem do kolejnego węzła siatki przestrzennej planu ablacji $(x_{i+1}, y_{i+1}, z_{i+1})$. W przypadku, gdy w zadanej chwili czasowej w 6-ciu skrajnych punktach elipsoidalnej objętości ogniskowej wiązki *HIFU* progowa dawka termiczna ($CEM_{43} = 240$ min) nie została osiągnięta, algorytm sprawdzał czy maksymalna temperatura pola termicznego (T_{max}) przekracza wartość graniczną 60°C . Jeśli tak, to zakładano 1-s stygnięcie próbki, a następnie algorytm sprawdzał wartość dawki termicznej we wspomnianych 6 punktach, na-

tomiast jeśli odpowiedź brzmiała "nie", to obliczano pole termiczne po 1-s ekspozycji tkanki na wiązkę *HIFU* o wartości współczynnika wypełnienia *DC* wyznaczonej ze wzoru:

$$DC = \frac{\sum_{k=1}^6 (CEM_{progowa} - CEM_k)}{6CEM_{progowa}} DC_{MAX}, \quad (4.13)$$

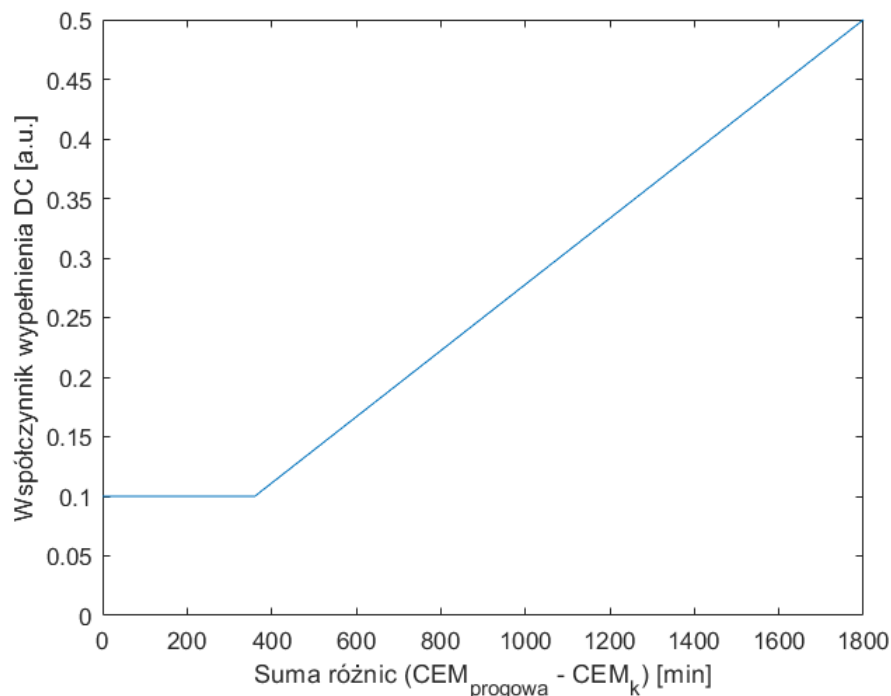
gdzie CEM_k - wartość dawki termicznej w k -tym z 6 skrajnych punktów elipsoidy, $CEM_{progowa}$ - wartość progowej dawki wynosząca 240 min, DC_{MAX} - maksymalny stosowany współczynnik wypełnienia równy 0.5. Następnie, algorytm "wracał" do sprawdzania, czy progowa dawka $CEM_{43} = 240$ min została osiągnięta w 6 skrajnych punktach i -tej elipsoidy. Opisana procedura powtarzana była do momentu osiągnięcia dawki 240 min w 6 skrajnych punktach każdej i -tej elipsoidy.



Rys. 4.33. Schematyczne przedstawienie 6 skrajnych punktów na przekrojach elipsoidalnej objętości ogniskowej wiązki *HIFU*, w których obliczano progową dawkę termiczną.

W przypadku opisanej optymalizacji wartość współczynnika wypełnienia jest wyznaczana z funkcji liniowej $\sum_{k=1}^6 CEM_k$ (wzór 4.13). Dodatkowym ograniczeniem zastosowanym dla współczynnika DC jest jego wartość minimalna wynosząca $DC_{MIN} = 0.1$. Wynika ona z tego, że wartość współczynnika wypełnienia musi być dodatnia ale nie bliska zeru (np. 0.001), co prowadziłoby do znacznego wydłużenia obliczeń (krok czasowy musiałby wynosić maksymalnie 0.001 s) oraz czasu trwania procedury termoablacyjnej ze względu na powolne "zbliżanie się" dawki termicznej do wartości progowej w 6 skrajnych punktach elipsoidy. Maksymalna wartość współczynnika wypełnienia została ograniczona do 0.5, co jest spowodowane bezwładnością układu przy wyznaczaniu dawki termicznej, ponieważ nagrzana

tkanka w trakcie stygnięcia zwiększa wartość otrzymanej dawki termicznej. Zależność współczynnika wypełnienia od dawki termicznej jest pokazana na Rys. 4.34.

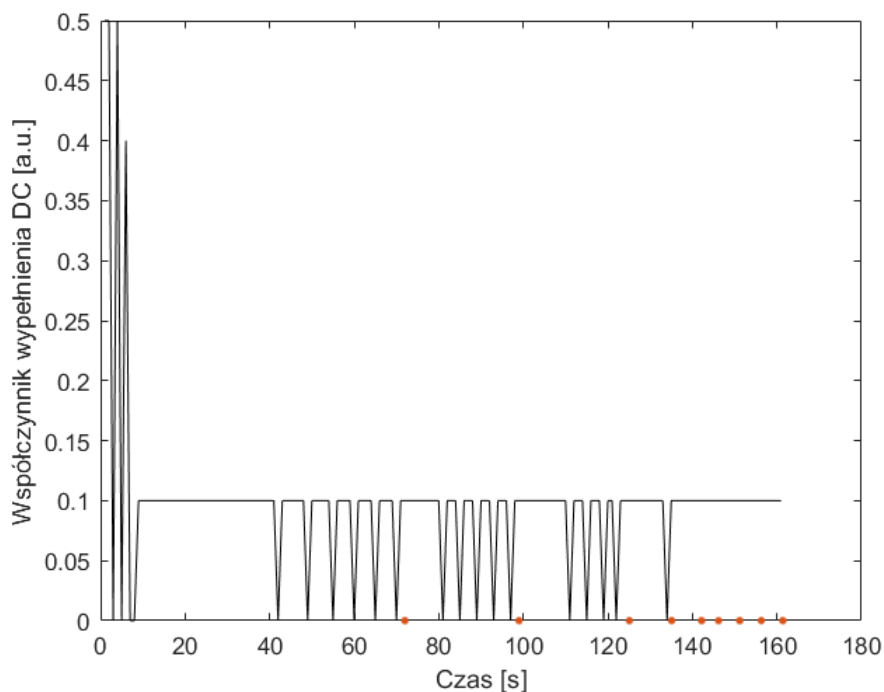


Rys. 4.34. Zależność współczynnika wypełnienia impulsowej wiązki *HIFU* od sumy różnic pomiędzy dawką progową a obliczoną w *k*-tym punkcie elipsoidy dla *i*-tej objętości ogniskowej wiązki *HIFU*.

Dodatkowym warunkiem algorytmu optymalizacji jest 1-s stygnięcie tkanki w przypadku, gdy maksymalna temperatura w objętości ogniskowej wiązki *HIFU* wynosi powyżej 60°C. Jest to związane z wspomnianą bezwładnością wyznaczania dawki termicznej. Brak tego warunku mógłby prowadzić do niekontrolowanego grzania tkanki skutkującego pojawieniem się dodatkowych zjawisk (*boiling*, *histotripsy*), które nie są uwzględnione w modelu numerycznym, oraz powiększeniem się wielkości zmiany nekrotycznej wywołanym zwiększoną dyfuzją ciepła w sposób niekontrolowany.

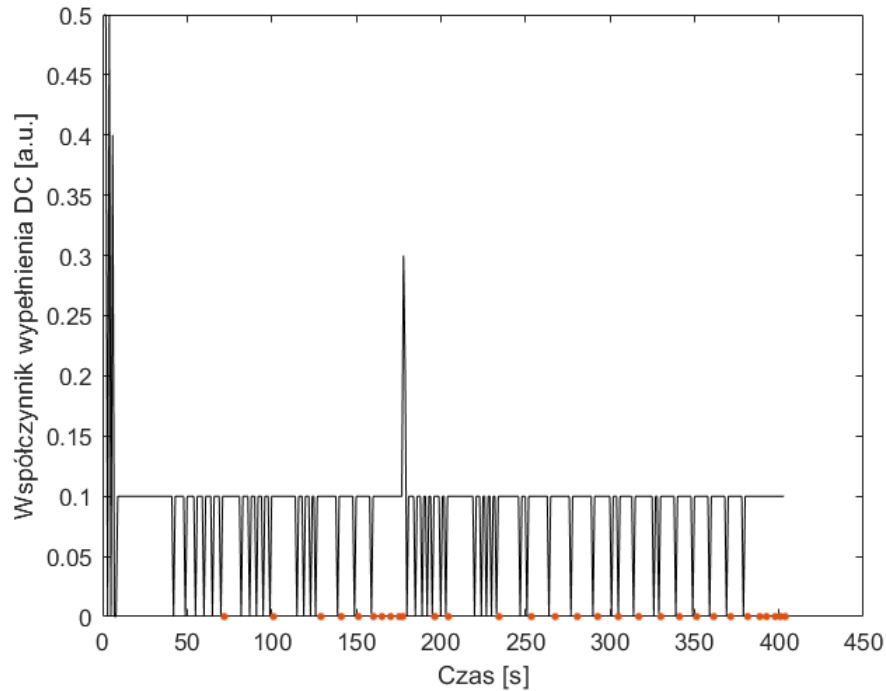
4.4.2. Wyniki

Obrazy wideo przedstawiające dynamikę zmian pól termicznych i objętości nekrotycznych indukowanych w badanej tkance w płaszczyźnie osiowej i ogniskowej wiązek *HIFU* dostępne są pod adresem http://bluebox.ippt.pan.pl/~lfura/plan_5mm_optimal.mp4 oraz http://bluebox.ippt.pan.pl/~lfura/plan_9mm_optimal.mp4. Schemat czasowej regulacji współczynnika wypełnienia wybrany w wyniku optymalizacji zaproponowanego algorytmu przedstawiono na Rys. 4.35 i Rys. 4.36.



Rys. 4.35. Zależność czasowa współczynnika wypełnienia wiązki *HIFU* dobrana w celu optymalizacji czasu trwania procedury ablacji 5-mm objętości cylindrycznej wewnątrz tkanki. Czerwone kropki na osi czasu oznaczają chwile przejścia do następnego węzła przestrzennej siatki zgodnie z planem ablacyjnym.



Jak wynika z Rys. 4.35 podczas procedury ablacji cylindra o średnicy 5 mm dobrana wartość współczynnika wypełnienia wiązki *HIFU* wynosiła przeważnie 0.1 i była zmieniana na wartość 0 w chwili, gdy temperatura $T_{max} > 60^{\circ}\text{C}$. Przejście do następnego węzła siatki



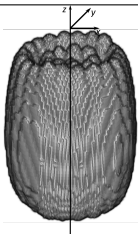

Rys. 4.36. Zależność czasowa współczynnika wypełnienia wiązki *HIFU* dobrana w celu optymalizacji czasu trwania procedury ablacji 9-mm objętości cylindrycznej wewnątrz tkanki. Czerwone kropki na osi czasu oznaczają chwile przejścia do następnego węzła przestrzennej siatki zgodnie z planem ablacyjnym.

przestrzennej zgodnie z planem ablacji nastąpiło po ok. 60 s, a każde kolejne przejście następowało w coraz krótszych odstępach czasu zbliżających się do wartości ok. 5 s. Procedura ablacji w przypadku obu cylindrów zaplanowana była od środka cylindra na zewnątrz, dlatego, jak widać na Rys. 4.36, do chwili osiągnięcia dawki progowej w wewnętrznym pierścieniu (ok. 150 s) widać podobieństwo tej zależności do tej z Rys. 4.35. Podobnie jak w przypadku 5-mm cylindra przez większość czasu trwania pojedynczych ablacji współczynnik wypełnienia wynosił $DC = 0.1$ za wyjątkiem środka cylindra oraz zewnętrznego pierścienia zgodnie z przestrzennym planem ablacyjnym.

Zmiany martwicze obliczone metodą symulacji numerycznych według procedury ablacyjnej zoptymalizowanej w czasie porównano z prognozowanymi zmianami martwiczymi opisanymi w Rozdziale 4.3. W Tab. 4.5 oraz Tab. 4.6 zestawiono parametry oceny dokładności

	Metoda standardowa	Metoda zoptymalizowana
Kształt obliczonej zmiany martwiczej		
γ' [%]	90	87
β' [%]	17	12
Średnica d_x [mm]	5.6	4.9
Średnica d_y [mm]	5.5	5.5
Długość l [mm]	11.6	12.1
Czas trwania ablacji t [min]	17	2.3

Tab. 4.5. Porównanie objętości zmiany nekrotycznej, czasu trwania procedury ablacyjnej oraz parametrów oceny dokładności przeprowadzenia ablacji cylindra o średnicy 5 mm, obliczonych metodą standardową oraz zoptymalizowaną.

	Metoda standardowa	Metoda zoptymalizowana
Kształt obliczonej zmiany martwiczej		
γ' [%]	97	95
β' [%]	19	21
Średnica d_x [mm]	9.7	9.5
Średnica d_y [mm]	9.8	9.2
Długość l [mm]	12.5	15.8
Czas trwania ablacji t [min]	59	5.4

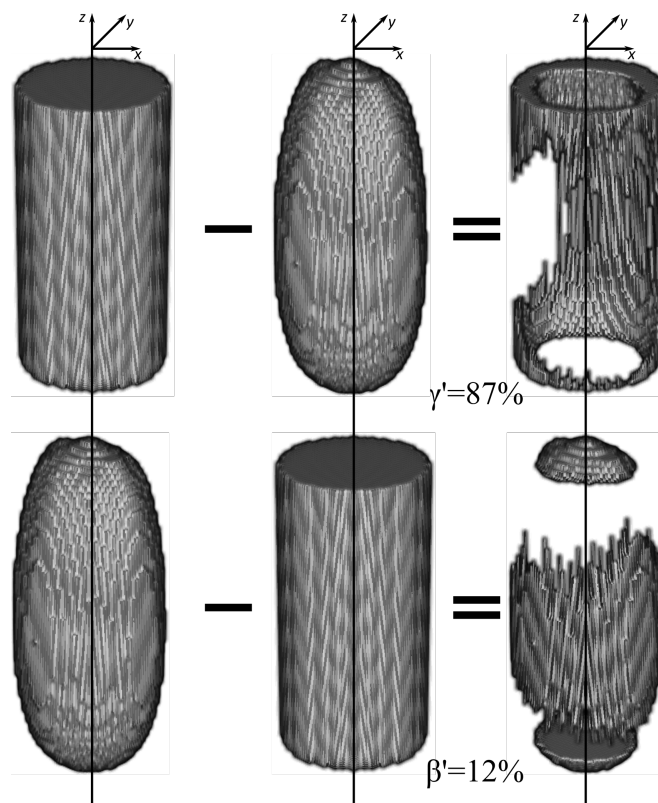
Tab. 4.6. Porównanie objętości zmiany nekrotycznej, czasu trwania procedury ablacyjnej oraz parametrów oceny dokładności przeprowadzenia ablacji cylindra o średnicy 9 mm, obliczonych metodą standardową oraz zoptymalizowaną.

przeprowadzania termoablacji (γ' i β'), maksymalną wielkość zmiany nekrotycznej oraz przewidywany czas trwania procedury ablacyjnej odpowiednio dla cylindra o średnicy 5 mm i 9 mm.

Kształt zmiany martwiczej wyznaczony w wyniku optymalizacji czasu trwania procedury ablacyjnej jest zbliżony do kształtu elipsoidy utworzonej w tkance po jej sonikacji pojedynczą wiązką *HIFU*, natomiast w przypadku zastosowania standardowej metody są to przylegające do siebie pojedyncze elipsoidy wypełniające objętość cylindra. Parametr γ' w przypadku zastosowania metody zoptymalizowanej zmalał o 2 % lub o 3 % odpowiednio dla cylindrów o średnicy 5 mm lub 9 mm, czyli w przybliżeniu taka sama część objętości tkankowej zaplanowanej do ablacji została pokryta nekrozą. Wartość parametru β' oceniającego dokładność przeprowadzenia ablacji także się zmieniła. Dla cylindra o średnicy 9 mm wzrosła ona o 2 %, a dla 5-mm cylindra zmalała o 5 %, czyli nie różniła się znacząco od tej wyznaczonej przy użyciu standardowej metody. Wartość parametrów β' i γ' obliczona metodą zoptymalizowaną dla obu cylindrów została podana na Rys. 4.37 oraz Rys. 4.38.

Porównując maksymalną wielkość zmiany nekrotycznej d_x lub d_y w przekroju promieniowym w płaszczyźnie xy widzimy, że różnica między planowaną wielkością nekrozy a tą przewidywaną numerycznie wynosi maksymalnie 0.5 mm, co w kontekście zastosowania terapii termoablacyjnej *HIFU* w praktyce klinicznej, np. do termicznego niszczenia nowotworów, jest wartością nieistotną. Długość nekrozy l obliczona metodą zoptymalizowaną wyniosła 12.1 mm lub 15.8 mm odpowiednio dla cylindra o średnicy 5 mm lub 9 mm. Względem zaplanowanej długości cylindrycznej zmiany martwiczej, która wynosi 10 mm, różnica ta wynosi odpowiednio 2.1 mm lub 5.8 mm. Otrzymane wyniki wskazują na potrzebę dalszej optymalizacji zaproponowanego algorytmu.

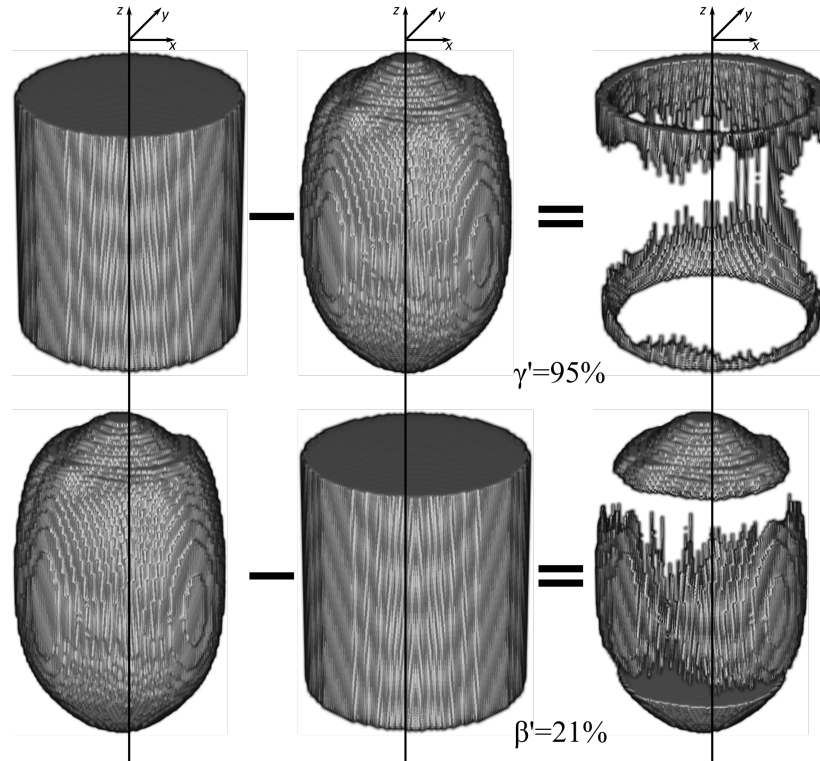
Przewidywany czas trwania procedury ablacji w przypadku zastosowania metody zoptymalizowanej został skrócony do 2.3 min (dla 5-mm cylindra) lub 5.4 min (dla 9-mm cylindra), czyli odpowiednio 7.4-krotnie lub 10.9-krotnie.



Rys. 4.37. Różnica między objętością 5-mm cylindrycznej zmiany nekrotycznej obliczoną metodą zoptymalizowaną, a tą zaplanowaną do termoablacji. Po prawej stronie na górze przedstawiono zaplanowaną objętość cylindryczną nie objętą martwicą ($\alpha' = 100\% - \gamma'$), natomiast na dole - objętość, która przekroczyła granice cylindra (β').

4.4.3. Dyskusja i wnioski

Opracowany na podstawie najprostszej wersji regulatora *PID* algorytm optymalizacji czasu trwania procedury termoablacji *HIFU* umożliwia znaczne skrócenie czasu terapii cylindrycznej objętości tkankowej o rozpatrywanej wielkości i kształcie. W wyniku numerycznej optymalizacji czasu trwania ablacji przewidywana objętość zmiany nekrotycznej wewnątrz badanej tkanki różniła się od tej powstałej w tkance po jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU* według takiego samego planu przestrzennego (Rozdział 4.3), jednak parametry oceny dokładności przeprowadzenia ablacji zmieniły się nieznacznie. Implementacja bardziej zaawansowanego algorytmu proporcjonalno-całkująco-różniczkującego w celu odpowiednie-



Rys. 4.38. Różnica między objętością 9-mm cylindrycznej zmiany nekrotycznej obliczoną metodą zoptymalizowaną, a tą zaplanowaną do termoablacji. Po prawej stronie na górze przedstawiono zaplanowaną objętość cylindryczną nie objętą martwicą ($\alpha' = 100\% - \gamma'$), natomiast na dole - objętość, która przekroczyła granice cylindra (β').

go doboru wartości współczynnika wypełnienia dla wiązki *HIFU* przybliży przewidywaną objętość martwiczą do tej wyznaczonej eksperymentalnie i opisanej w Rozdziale 4.3.

Jednym z rozwiązań umożliwiających poprawę algorytmu optymalizacji wydaje się być bardziej precyzyjny dobór kroku czasowego (Δt) w metodzie optymalizacji czasu trwania ablacji *HIFU*. Zmniejszenie tego kroku umożliwi algorytmowi szybszą korektę wartości współczynnika wypełnienia po osiągnięciu progowej dawki termicznej w danym węźle siatki przestrzennej. Jest to związane z szybkim tempem wzrostu wartości dawki dla temperatur $> 60^\circ\text{C}$. Aby tkanka po osiągnięciu temperatury 60°C przekroczyła dawkę progową 240 min wystarczy czas ekspozycji poniżej 1.1 s (wzór 2.8). Z kolei minimalizacja kroku czasowego Δt powoduje wydłużenie obliczeń numerycznych. Dlatego konieczna jest optymalizacja doboru

wartości kroku czasowego.

Innym rozwiązaniem poprawiającym planowanie procedury ablacyjnej *HIFU* jest optymalizacja planu przestrzennego położenia środków pojedynczych objętości nekrotycznych oraz ich wielkości. Dokładne pokrycie nekrozą całej objętości tkankowej zaplanowanej do ablacji następuje, gdy wartość parametru γ' jest bliska 100 %. To wymaga stosowania wiązek *HIFU*, których objętość ogniskowa ma jak najmniejszą wielkość. Zabieg ten wymaga jednak wcześniejszej optymalizacji kroku czasowego Δt , której brak może skutkować znacznym wzrostem parametru β' .

Warunkiem koniecznym dla zastosowania dobranej za pomocą algorytmu optymalizacyjnego procedury ablacyjnej jest jej weryfikacja eksperymentalna. W niniejszej pracy nie podjęto próby jej przeprowadzenia ze względu na ograniczenia techniczne.

Rozdział 5

PODSUMOWANIE

W Zakładzie Ultradźwięków IPPT PAN opracowano, zaprojektowano i zbudowano zrobotyzowane, kontrolowane obrazowaniem USG, urządzenie ablacyjne wykorzystujące technikę *HIFU* (zogniskowanych ultradźwięków o dużym natężeniu) do termicznego niszczenia litych guzów u małych zwierząt i służące do badań przedklinicznych.

Zanim jednak to urządzenie mogło być użyte do eksperymentów na zwierzętach niezbędne były badania na próbkach tkanek *ex vivo* w celu doboru optymalnych parametrów jego pracy zdolnych doprowadzić do koagulacyjnej nekrozy zaplanowanej objętości wewnątrz badanej tkanki w jak najkrótszym czasie. Właściwe dobranie tych parametrów prowadzi do objęcia nekrozą całej leczonej objętości bez uszkodzenia otaczających ją tkanek zapewniając w ten sposób bezpieczeństwo terapii. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki przeprowadzonych badań numerycznych i eksperymentalnych prowadzących do wyznaczenia progowej średniej mocy wiązki *HIFU* zdolnej doprowadzić do koagulacyjnej nekrozy małej objętości wewnątrz badanej tkanki (odzwierciedlającej objętość ogniskową wiązki *HIFU*) w ciągu 3 s (Rozdział 3.1).

Przeprowadzono również badania eksperymentalne w celu wyznaczenia lokalizacji i wielkości lokalnej zmiany nekrotycznej utworzonej wewnątrz tkanki na skutek jej sonikacji pojedynczą impulsową wiązką *HIFU* w zależności od parametrów akustycznych tej wiązki (często-

tliwości, czasu trwania impulsów, współczynnika wypełnienia). Lokalizacja i rozległość utworzonej zmiany martwiczej została zwizualizowana i oszacowana za pomocą różnych technik obrazowania: USG, MR i optycznej (zdjęcia fotograficzne przekrojów zmiany). Na podstawie otrzymanych wyników zostały wybrane czasowe i odległościowe odstępy pomiędzy sonikacjami prowadzącymi do pokrycia nekrozą całej objętości wewnątrz tkanki planowanej do ablacji. (Rozdział 3.2, Rozdział 3.3)

Otrzymane wyniki powyższych badań posłużyły do opracowania przestrzennego planu procedury ablacyjnej w celu termicznego zniszczenia większej lokalnej objętości tkankowej (w kształcie cylindra o średnicy 5 mm lub 9 mm i długości 10 mm przy użyciu 1.08-MHz wiązki *HIFU* przemieszczanej wzdłuż zaplanowanej trajektorii ruchu, a także w kształcie cylindra o średnicy 5 mm lub 8 mm i długości 5.7 mm przy użyciu 3.21-MHz wiązki *HIFU*). Dokładność pokrycia nekrozą zaplanowanej cylindrycznej objętości wewnątrz badanej tkanki oszacowano za pomocą parametrów α , β , γ oraz α' , β' , γ' , wyznaczonych eksperymentalnie ze zdjęć i obrazów MR przekrojów utworzonych zmian martwiczych (Rozdział 3.4), a także obliczonych numerycznie zakładając do modelowania takie same parametry wejściowe jakie stosowano w eksperymentach (Rozdział 4).

Do symulacji numerycznych został użyty pakiet narzędzi k-Wave służący do obliczeń komputerowych w środowisku Matlab. Wstępnie model k-Wave został zweryfikowany eksperymentalnie porównując obliczone nieliniowe pole ciśnienia akustycznego (wytwarzane przez używany przetwornik *HIFU* w wodzie) z tym zmierzonym hydrofonem i uzyskując dobrą zgodność pomiędzy otrzymanymi wynikami obliczeń i danymi pomiarowymi. To uzasadniło zastosowanie tego modelu do obliczeń pola termicznego oraz lokalizacji i rozległości zmiany nekrotycznej indukowanej w badanej tkance eksponowanej na pojedynczą wiązkę *HIFU*. Zgodność w granicach niepewności pomiędzy otrzymanymi wynikami obliczeń a danymi eksperymentalnymi potwierdziła, że stosowany model numeryczny dobrze opisuje rzeczywisty przebieg termoablacji tkanki.

Pozwoliło to na planowanie za pomocą symulacji numerycznych procedury termoablacji

większych objętości wewnątrz badanej tkanki, wymagającej jej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę *HIFU*.

Przeprowadzono obliczenia numeryczne umożliwiające wyznaczenie wielkości zmian martwiczych wywołanych wielokrotną ekspozycją badanej tkanki na wiązkę *HIFU* zgodnie z opracowanym przestrzennym planem procedury ablacyjnej prowadzącej do termicznego zniszczenia cylindrycznej objętości tkankowej o średnicy 5 mm lub 9 mm i długości 10 mm przy użyciu 1.08-MHz wiązki *HIFU*. Otrzymane wyniki obliczeń porównano z wynikami eksperymentalnymi przedstawionymi w Rozdziale 3.4 w celu weryfikacji ich zgodności poprzez ocenę parametrów γ' i β' określających dokładność przeprowadzenia procedury ablacyjnej w płaszczyźnie osiowej i ogniskowej wiązki *HIFU*. Uzyskane wyniki stanowiły podstawę do przeprowadzenia numerycznej optymalizacji czasu trwania procedury ablacyjnej zgodnej z zastosowanym planem przestrzennym. W tym celu zaimplementowano najprostszy proporcjonalno-całkująco-różniczkujący algorytm regulacji *PID*. Po jego wprowadzeniu czas trwania procedury ablacji został skrócony 7.4-krotnie lub 10.9-krotnie w przypadku formowania odpowiednio 5-mm lub 9-mm cylindrycznej zmiany nekrotycznej przy jednoczesnym braku istotnej zmiany wartości parametrów γ' i β' .

W ramach niniejszej pracy udowodniono postawioną tezę poprzez opracowanie:

- modelu numerycznego predykcji lokalizacji i rozmiarów zmian nekrotycznych indukowanych wiązką *HIFU* w tkankach *ex vivo* oraz jego weryfikację eksperymentalną,
- metody optymalizacji czasowej planu terapii ablacyjnej *HIFU*.

Dalsze badania nad numeryczną optymalizacją procedury termoablacyjnej będą wymagały weryfikacji eksperymentalnej na próbkach tkankowych. W tym celu urządzenie ablacyjne *HIFU* używane do eksperymentów na tkankach *ex vivo* wraz z jego oprogramowaniem będzie wymagało modyfikacji, aby umożliwić np. regulację w czasie współczynnika wypełnienia impulsowej wiązki *HIFU*.

Zaproponowany model numeryczny może również znaleźć zastosowanie w prognozowaniu

pól termicznych indukowanych lokalnie w tkankach eksponowanych na wiązkę zogniskowanych ultradźwięków o małym natężeniu, wywołujących lokalną hipertermię, która prowadzi do uwalniania przeciwnowotworowych leków dostarczanych selektywnie do leczonych tkanek w termoczułych liposomach.

Przeprowadzone w niniejszej pracy badania oraz otrzymane wyniki są bardzo przydatne do planowania i przeprowadzania terapii ablacyjnej *HIFU* litych guzów wszczepianych małym zwierzętom i już są wykorzystywane do badań przedklinicznych na szczurach. Przyczynią się one również do rozwoju alternatywnych nieinwazyjnych metod walki z rakiem, m.in. do testowania nowych antyrakowych leków uwalnianych w warunkach hipertermii.

Bibliografia

- [1] H. Ritchie and M. Roser, “Causes of Death,” *Our World in Data*, 2018. Dostępne: <https://ourworldindata.org/causes-of-death> odwiedzono: 11/02/2021.
- [2] Ministerstwo Zdrowia, *Coraz więcej pieniędzy przeznaczamy na leczenie nowotworów i leki onkologiczne*, 2020. Dostępne: <https://www.gov.pl/web/zdrowie/coraz-wiecej-pieniedzy-przeznaczamy-na-leczenie-nowotworow-i-leki-onkologiczne>.
- [3] Y.-F. Zhou, “High intensity focused ultrasound in clinical tumor ablation,” *World Journal of Clinical Oncology*, vol. 2, no. 1, p. 8, 2011. DOI: [10.5306/wjco.v2.i1.8](https://doi.org/10.5306/wjco.v2.i1.8).
- [4] I. A. Elhelf, H. Albahar, U. Shah, A. Oto, E. Cressman, and M. Almekkawy, “High intensity focused ultrasound: The fundamentals, clinical applications and research trends,” *Diagnostic and Interventional Imaging*, vol. 99, no. 6, pp. 349–359, Jun. 2018. DOI: [10.1016/j.diii.2018.03.001](https://doi.org/10.1016/j.diii.2018.03.001).
- [5] S. A. Quadri, M. Waqas, I. Khan, *et al.*, “High-intensity focused ultrasound: Past, present, and future in neurosurgery,” *Neurosurgical Focus*, vol. 44, no. 2, 2018. DOI: [10.3171/2017.11.FOCUS17610](https://doi.org/10.3171/2017.11.FOCUS17610).
- [6] J. Hugo, F. Matonti, M. Beylerian, E. Zanin, F. Aptel, and D. Denis, “Safety and efficacy of high-intensity focused ultrasound in severe or refractory glaucoma,” *European Journal of Ophthalmology*, vol. 31, no. 1, pp. 130–137, Jan. 2021. DOI: [10.1177/1120672119874594](https://doi.org/10.1177/1120672119874594).
- [7] C. G. Chaussy and S. Thüroff, “High-intensity focused ultrasound for the treatment of prostate cancer: A review,” *Journal of Endourology*, vol. 31, pp. 30–37, 2017. DOI: [10.1089/end.2016.0548](https://doi.org/10.1089/end.2016.0548).
- [8] Y. Ji, K. Hu, Y. Zhang, *et al.*, “High-intensity focused ultrasound (HIFU) treatment for uterine fibroids: a meta-analysis,” *Archives of Gynecology and Obstetrics*, vol. 296, no. 6, pp. 1181–1188, Dec. 2017. DOI: [10.1007/s00404-017-4548-9](https://doi.org/10.1007/s00404-017-4548-9).
- [9] Focused Ultrasound Foundation, *State of the Technology - Focused Ultrasound Foundation*. Dostępne: <https://www.fusfoundation.org/the-technology/state-of-the-technology> odwiedzono: 03/25/2021.

- [10] S. Park, J. A. Cadeddu, and W. B. Shingleton, “Oncologic outcomes for ablative therapy of kidney cancer,” *Current Urology Reports*, vol. 8, no. 1, pp. 31–37, Jan. 2007. DOI: [10.1007/s11934-007-0018-4](https://doi.org/10.1007/s11934-007-0018-4).
- [11] C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, *Physical Principles of Medical Ultrasonics*. Wiley, Sep. 2005, pp. 1–511, ISBN: 9780470093979. DOI: [10.1002/0470093978](https://doi.org/10.1002/0470093978).
- [12] H. Freundlich, K. Söllner, and F. Rogowski, “Einige Biologische Wirkungen von Ultraschallwellen,” *Klinische Wochenschrift*, vol. 11, no. 36, pp. 1512–1513, 1932, ISSN: 1432-1440. DOI: [10.1007/BF01766074](https://doi.org/10.1007/BF01766074).
- [13] P. Langevin, *Procédé et appareils d’émission et de réception des ondes élastiques sous-marines à l’aide des propriétés piézo-électriques du quartz, patent nr fr505703a*, 1920.
- [14] J. G. Lynn, R. L. Zwemer, A. J. Chick, and A. E. Miller, “A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology,” *Journal of General Physiology*, vol. 26, no. 2, pp. 179–193, Nov. 1942, ISSN: 15407748. DOI: [10.1085/JGP.26.2.179](https://doi.org/10.1085/JGP.26.2.179).
- [15] R. H. Silverman, “Focused ultrasound in ophthalmology,” *Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, vol. 10, p. 1865, Sep. 2016, ISSN: 11775483. DOI: [10.2147/OPHTH.S99535](https://doi.org/10.2147/OPHTH.S99535).
- [16] G. ter Haar, “HIFU Tissue Ablation: Concept and Devices,” in Springer, Cham, 2016, pp. 3–20. DOI: [10.1007/978-3-319-22536-4_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-22536-4_1).
- [17] Y. Ji, J. Zhu, L. Zhu, Y. Zhu, and H. Zhao, “High-Intensity Focused Ultrasound Ablation for Unresectable Primary and Metastatic Liver Cancer: Real-World Research in a Chinese Tertiary Center With 275 Cases,” *Frontiers in Oncology*, vol. 10, Oct. 2020. DOI: [10.3389/fonc.2020.519164](https://doi.org/10.3389/fonc.2020.519164).
- [18] L. Guan and G. Xu, “Damage effect of high-intensity focused ultrasound on breast cancer tissues and their vascularities,” *World Journal of Surgical Oncology*, vol. 14, no. 1, May 2016. DOI: [10.1186/s12957-016-0908-3](https://doi.org/10.1186/s12957-016-0908-3).
- [19] M. Köhler, J. Enholm, C. Mougenot, and T. Andreae, “Sonalleve MR-HIFU Philips MR-guided High Intensity Focused Ultrasound,” Tech. Rep., 2011.
- [20] D. R. Brenin, “Focused ultrasound ablation for the treatment of breast cancer,” in *Annals of Surgical Oncology*, vol. 18, Oct. 2011, pp. 3088–3094. DOI: [10.1245/s10434-011-2011-x](https://doi.org/10.1245/s10434-011-2011-x).
- [21] C. R. Hill, “Optimum acoustic frequency for focused ultrasound surgery,” *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 20, no. 3, pp. 271–277, Jan. 1994. DOI: [10.1016/0301-5629\(94\)90067-1](https://doi.org/10.1016/0301-5629(94)90067-1).
- [22] R. S. Foster, R. Bihrlé, N. T. Sanghvi, F. J. Fry, and J. P. Donohue, “High-Intensity Focused Ultrasound in the Treatment of Prostatic Disease,” *European Urology*, vol. 23, no. 1, pp. 29–33, 1993. DOI: [10.1159/000474676](https://doi.org/10.1159/000474676).

- [23] N. McDannold, G. T. Clement, P. Black, F. Jolesz, and K. Hynynen, “Transcranial magnetic resonance imaging- guided focused ultrasound surgery of brain tumors: Initial findings in 3 patients,” *Neurosurgery*, vol. 66, no. 2, pp. 323–332, Feb. 2010. DOI: [10.1227/01.NEU.0000360379.95800.2F](https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000360379.95800.2F).
- [24] D. Coluccia, J. Fandino, L. Schwyzer, *et al.*, “First noninvasive thermal ablation of a brain tumor with MR-guided focused ultrasound,” *Journal of Therapeutic Ultrasound*, vol. 2, no. 1, p. 17, 2014. DOI: [10.1186/2050-5736-2-17](https://doi.org/10.1186/2050-5736-2-17).
- [25] T. Kujawska, W. Dera, and C. Dziekoński, *Bimodalne urządzenie ultradźwiękowe do nieinwazyjnego niszczenia litych guzów nowotworowych u małych zwierząt, nr patentu: 233294*, 2019.
- [26] V. Suomi, J. Jaros, B. Treeby, and R. O. Cleveland, “Full modeling of high-intensity focused ultrasound and thermal heating in the kidney using realistic patient models,” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 65, no. 11, pp. 2660–2670, Nov. 2018. DOI: [10.1109/TBME.2018.2870064](https://doi.org/10.1109/TBME.2018.2870064).
- [27] M. A. Solovchuk, S. C. Hwang, H. Chang, M. Thiriet, and T. W. Sheu, “Temperature elevation by HIFU in ex vivo porcine muscle: MRI measurement and simulation study,” *Medical Physics*, vol. 41, no. 5, 2014. DOI: [10.1118/1.4870965](https://doi.org/10.1118/1.4870965).
- [28] F. Li, R. Feng, Q. Zhang, J. Bai, and Z. Wang, “Estimation of HIFU induced lesions in vitro: Numerical simulation and experiment,” *Ultrasonics*, vol. 44, no. SUPPL. Pp. 337–340, Dec. 2006, ISSN: 0041-624X. DOI: [10.1016/J.ULTRAS.2006.07.002](https://doi.org/10.1016/J.ULTRAS.2006.07.002).
- [29] S. Haddadi and M. T. Ahmadian, “Numerical and experimental evaluation of high-intensity focused ultrasound-induced lesions in liver tissue Ex Vivo,” *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol. 37, no. 6, pp. 1481–1491, Jun. 2018. DOI: [10.1002/JUM.14491](https://doi.org/10.1002/JUM.14491).
- [30] D. Ming, B. K. Wan, L. X. Zhang, and Y. Hu, “Theoretical modeling study of the necrotic field during high-intensity focused ultrasound surgery,” *Medical Science Monitor*, vol. 10, no. 2, pp. 19–24, 2004.
- [31] K. Il Lee, “Simulation and Measurement of Thermal Ablation in a Tissue-Mimicking Phantom and Ex-Vivo Porcine Liver by Using High Intensity Focused Ultrasound,” *Journal of the Korean Physical Society*, vol. 73, no. 9, pp. 1289–1294, 2018. DOI: [10.3938/jkps.73.1289](https://doi.org/10.3938/jkps.73.1289).
- [32] S. SA and D. WC, “Thermal dose determination in cancer therapy,” *International journal of radiation oncology, biology, physics*, vol. 10, no. 6, pp. 787–800, 1984. DOI: [10.1016/0360-3016\(84\)90379-1](https://doi.org/10.1016/0360-3016(84)90379-1).
- [33] W. C. Dewey, “Arrhenius relationships from the molecule and cell to the clinic,” *International Journal of Hyperthermia*, vol. 10, no. 4, pp. 457–483, 1994. DOI: [10.3109/02656739409009351](https://doi.org/10.3109/02656739409009351).

- [34] J. A. Jensen and N. B. Svendsen, "Calculation of Pressure Fields from Arbitrarily Shaped, Apodized, and Excited Ultrasound Transducers," *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 39, no. 2, pp. 262–267, 1992, ISSN: 08853010. DOI: [10.1109/58.139123](https://doi.org/10.1109/58.139123).
- [35] B. E. Treeby and B. T. Cox, "k-Wave: MATLAB toolbox for the simulation and reconstruction of photoacoustic wave fields," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 15, no. 2, 2010. DOI: [10.1117/1.3360308](https://doi.org/10.1117/1.3360308).
- [36] J. Soneson, *HITU Simulator | FDA*. Dostępne: <https://www.fda.gov/about-fda/cdrh-offices/hitu-simulator> odwiedzono: 03/31/2022.
- [37] P. V. Yuldashev, M. M. Karzova, W. Kreider, P. B. Rosnitskiy, O. A. Sapozhnikov, and V. A. Khokhlova, "'HIFU Beam:' A Simulator for Predicting Axially Symmetric Nonlinear Acoustic Fields Generated by Focused Transducers in a Layered Medium," *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 68, no. 9, 2021. DOI: [10.1109/TUFFC.2021.3074611](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2021.3074611).
- [38] C. Garnier, C. Lafon, and J. L. Dillenseger, "3-d modeling of the thermal coagulation necrosis induced by an interstitial ultrasonic transducer," *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering*, vol. 55, no. 2, p. 833, 2008, ISSN: 00189294. DOI: [10.1109/TBME.2007.914543](https://doi.org/10.1109/TBME.2007.914543).
- [39] A. Grisey, S. Yon, V. Letort, and P. Lafitte, "Simulation of high-intensity focused ultrasound lesions in presence of boiling," *Journal of Therapeutic Ultrasound*, vol. 4, no. 1, pp. 1–14, 2016, ISSN: 20505736. DOI: [10.1186/S40349-016-0056-9](https://doi.org/10.1186/S40349-016-0056-9).
- [40] M. J. Park, Y. S. Kim, B. Keserci, H. Rhim, and H. K. Lim, "Volumetric MR-guided high-intensity focused ultrasound ablation of uterine fibroids: Treatment speed and factors influencing speed," *European Radiology*, vol. 23, no. 4, pp. 943–950, Apr. 2013, ISSN: 14321084. DOI: [10.1007/S00330-012-2665-1/TABLES/6](https://doi.org/10.1007/S00330-012-2665-1/TABLES/6).
- [41] M. C. L. Peek and F. Wu, "High-intensity focused ultrasound in the treatment of breast tumours," *ecancer*, vol. 12, Jan. 2018. DOI: [10.3332/ECANCER.2018.794](https://doi.org/10.3332/ECANCER.2018.794).
- [42] D. Li, G. Shen, H. Luo, J. Bai, and Y. Chen, "A study of heating duration and scanning path in focused ultrasound surgery," *Journal of Medical Systems*, vol. 35, no. 5, pp. 779–786, Apr. 2011, ISSN: 1573689X. DOI: [10.1007/S10916-010-9463-6/FIGURES/7](https://doi.org/10.1007/S10916-010-9463-6/FIGURES/7).
- [43] P. Gupta and A. Srivastava, "Numerical Study on the Possible Scanning Pathways to Optimize Thermal Impacts During Multiple Sonication of HIFU," *IEEE transactions on bio-medical engineering*, vol. 68, no. 7, pp. 2117–2128, Jul. 2021, ISSN: 1558-2531. DOI: [10.1109/TBME.2020.3026420](https://doi.org/10.1109/TBME.2020.3026420).
- [44] A. Nowicki, *Ultrasonografia - wprowadzenie do obrazowania i metod dopplerowskich*, I. Warszawa: Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN, 2016, ISBN: 978-83-65550-00-2.

- [45] A. D. Pierce, *Acoustics: An Introduction to Its Physical Principles and Applications*. Springer International Publishing, 2019. DOI: [10.1007/978-3-030-11214-1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-11214-1).
- [46] G. R. ter Haar and S. Daniels, “Evidence for ultrasonically induced cavitation in vivo,” *Physics in Medicine and Biology*, vol. 26, no. 6, p. 1145, Nov. 1981. DOI: [10.1088/0031-9155/26/6/013](https://doi.org/10.1088/0031-9155/26/6/013).
- [47] W. B. McNamara, Y. T. Didenko, and K. S. Suslick, “Sonoluminescence temperatures during multi-bubble cavitation,” *Nature*, vol. 401, no. 6755, pp. 772–775, Oct. 1999, ISSN: 1476-4687. DOI: [10.1038/44536](https://doi.org/10.1038/44536).
- [48] W. W. Roberts, T. L. Hall, K. Ives, J. S. Wolf, J. B. Fowlkes, and C. A. Cain, “Pulsed cavitation ultrasound: A noninvasive technology for controlled tissue ablation (histotripsy) in the rabbit kidney,” *Journal of Urology*, vol. 175, no. 2, pp. 734–738, 2006. DOI: [10.1016/S0022-5347\(05\)00141-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)00141-2).
- [49] A. Maccabi, A. Shin, N. K. Namiri, *et al.*, “Quantitative characterization of viscoelastic behavior in tissue-mimicking phantoms and ex vivo animal tissues,” *PLOS ONE*, vol. 13, no. 1, Jan. 2018. DOI: [10.1371/JOURNAL.PONE.0191919](https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0191919).
- [50] H. H. Pennes, “Analysis of Tissue and Arterial Blood Temperatures in the Resting Human Forearm,” *Journal of Applied Physiology*, vol. 1, no. 2, pp. 93–122, Aug. 1948.
- [51] C. J. Diederich, “Thermal ablation and high-temperature thermal therapy: Overview of technology and clinical implementation,” *International Journal of Hyperthermia*, vol. 21, no. 8, pp. 745–753, 2005. DOI: [10.1080/02656730500271692](https://doi.org/10.1080/02656730500271692).
- [52] B. A. Rabkin, V. Zderic, L. A. Crum, and S. Vaezy, “Biological and physical mechanisms of HIFU-induced hyperecho in ultrasound images,” *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 32, no. 11, pp. 1721–1729, 2006. DOI: [10.1016/j.ultrasmedbio.2006.04.010](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2006.04.010).
- [53] W. J. Fry and R. B. Fry, “Determination of absolute sound levels and acoustic absorption coefficients by thermocouple probes—theory,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 26, no. 3, pp. 294–310, 1954. DOI: [10.1121/1.1907332](https://doi.org/10.1121/1.1907332).
- [54] —, “Determination of absolute sound levels and acoustic absorption coefficients by thermocouple probes—experiment,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 26, no. 3, pp. 311–317, 1954. DOI: [10.1121/1.1907333](https://doi.org/10.1121/1.1907333).
- [55] K. Hynynen, C. J. Martin, D. J. Watmough, and J. R. Mallard, “Errors in temperature measurement by thermocouple probes during ultrasound induced hyperthermia,” *British Journal of Radiology*, vol. 56, no. 672, pp. 969–970, 1983. DOI: [10.1259/0007-1285-56-672-969](https://doi.org/10.1259/0007-1285-56-672-969).
- [56] K. J. Parker, “The thermal pulse decay technique for measuring ultrasonic absorption coefficients,” *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 74, no. 5, pp. 1356–1361, Nov. 1983. DOI: [10.1121/1.390159](https://doi.org/10.1121/1.390159).

- [57] H. Morris, I. Rivens, A. Shaw, and G. T. Haar, “Investigation of the viscous heating artefact arising from the use of thermocouples in a focused ultrasound field,” *Physics in Medicine and Biology*, vol. 53, no. 17, pp. 4759–4776, Sep. 2008. DOI: [10.1088/0031-9155/53/17/020](https://doi.org/10.1088/0031-9155/53/17/020).
- [58] J. Wójcik, A. Nowicki, P. Lewin, P. Bloomfield, T. Kujawska, and L. Filipczyński, “Wave envelopes method for description of nonlinear acoustic wave propagation,” *Ultrasonics*, vol. 44, no. 3, pp. 310–329, 2006, ISSN: 0041-624X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2006.04.001>.
- [59] C. A. Schneider, W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri, “NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis,” vol. 9, no. 7, pp. 671–675, Jul. 2012. DOI: [10.1038/nmeth.2089](https://doi.org/10.1038/nmeth.2089).
- [60] P. Karwat, T. Kujawska, P. A. Lewin, W. Secomski, B. Gambin, and J. Litniewski, “Determining temperature distribution in tissue in the focal plane of the high (>100 W/cm²) intensity focused ultrasound beam using phase shift of ultrasound echoes,” *Ultrasonics*, vol. 65, pp. 211–219, Feb. 2016. DOI: [10.1016/j.ultras.2015.10.002](https://doi.org/10.1016/j.ultras.2015.10.002).
- [61] Z. Zhou, W. Wu, S. Wu, *et al.*, “A survey of ultrasound elastography approaches to percutaneous ablation monitoring,” *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, vol. 228, no. 10, pp. 1069–1082, 2014. DOI: [10.1177/0954411914554438](https://doi.org/10.1177/0954411914554438).
- [62] P. Rangraz, H. Behnam, N. Shakhssalim, and J. Tavakkoli, “A feed-forward neural network algorithm to detect thermal lesions induced by high intensity focused ultrasound in tissue,” *Journal of Medical Signals and Sensors*, vol. 2, no. 4, pp. 192–202, 2012. DOI: [10.4103/2228-7477.110326](https://doi.org/10.4103/2228-7477.110326).
- [63] S. Chauhan and G. Ter Haar, “FUSBOTUS: Empirical studies using a surgical robotic system for urological applications,” in *AIP Conference Proceedings*, vol. 911, Jun. 2007, pp. 117–121. DOI: [10.1063/1.2744261](https://doi.org/10.1063/1.2744261).
- [64] C. Y. An, J. H. Syu, C. S. Tseng, and C. J. Chang, “An ultrasound imaging-guided robotic HIFU ablation experimental system and accuracy evaluations,” *Applied Bionics and Biomechanics*, vol. 2017, 2017. DOI: [10.1155/2017/5868695](https://doi.org/10.1155/2017/5868695).
- [65] C. S. Tseng, J. H. Syu, C. Y. An, and C.-J. Chang, “An Ultrasonography Assisted Robotic HIFU Ablation Experimental System,” in *Proceedings of the International Conference on Biomedical Electronics and Devices - BIODEVICES, (BIOSTEC 2015)*, 2015, pp. 109–114. DOI: [10.5220/0005207601090114](https://doi.org/10.5220/0005207601090114).
- [66] G. Y. Hou, J. Luo, F. Marquet, C. Maleke, J. Vappou, and E. E. Konofagou, “Performance assessment of HIFU lesion detection by harmonic motion imaging for focused ultrasound (HMIFU): A 3-D finite-element-based framework with experimental validation,” *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 37, no. 12, pp. 2013–2027, 2011. DOI: [10.1016/j.ultrasmedbio.2011.09.005](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2011.09.005).

- [67] P. Rangraz, H. Behnam, and J. Tavakkoli, “Nakagami imaging for detecting thermal lesions induced by high-intensity focused ultrasound in tissue,” *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, vol. 228, no. 1, pp. 19–26, 2014. DOI: [10.1177/0954411913511777](https://doi.org/10.1177/0954411913511777).
- [68] C. Maleke and E. E. Konofagou, “Harmonic motion imaging for focused ultrasound (HMIFU): A fully integrated technique for sonication and monitoring of thermal ablation in tissues,” *Physics in Medicine and Biology*, vol. 53, no. 6, pp. 1773–1793, 2008. DOI: [10.1088/0031-9155/53/6/018](https://doi.org/10.1088/0031-9155/53/6/018).
- [69] L. Curiel, R. Chopra, and K. Hynynen, “In Vivo Monitoring of Focused Ultrasound Surgery Using Local Harmonic Motion,” *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 35, no. 1, pp. 65–78, 2009. DOI: [10.1016/j.ultrasmedbio.2008.07.001](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2008.07.001).
- [70] S. Zhang, S. Wu, S. Shang, *et al.*, “Detection and Monitoring of Thermal Lesions Induced by Microwave Ablation Using Ultrasound Imaging and Convolutional Neural Networks,” *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, vol. 24, no. 4, pp. 965–973, Apr. 2020. DOI: [10.1109/JBHI.2019.2939810](https://doi.org/10.1109/JBHI.2019.2939810).
- [71] N. N. Bojarski, “The k-space formulation of the scattering problem in the time domain,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 72, no. 2, pp. 570–584, 1982.
- [72] —, “The k-space formulation of the scattering problem in the time domain: An improved single propagator formulation,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 77, no. 3, p. 826, 1985.
- [73] T. D. Mast, L. P. Souriau, D. L. Donald Liu, M. Tabei, A. I. Nachman, and R. C. Waag, “A k-space method for large-scale models of wave propagation in tissue,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 48, no. 2, pp. 341–354, Mar. 2001. DOI: [10.1109/58.911717](https://doi.org/10.1109/58.911717).
- [74] M. Tabei, T. D. Mast, and R. C. Waag, “A k-space method for coupled first-order acoustic propagation equations,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 111, no. 1, p. 53, Jan. 2002. DOI: [10.1121/1.1421344](https://doi.org/10.1121/1.1421344).
- [75] W. Chen and S. Holm, “Fractional Laplacian time-space models for linear and nonlinear lossy media exhibiting arbitrary frequency power-law dependency,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 115, no. 4, p. 1424, Mar. 2004. DOI: [10.1121/1.1646399](https://doi.org/10.1121/1.1646399).
- [76] B. E. Treeby and B. T. Cox, “Modeling power law absorption and dispersion for acoustic propagation using the fractional Laplacian,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 127, no. 5, p. 2741, May 2010. DOI: [10.1121/1.3377056](https://doi.org/10.1121/1.3377056).
- [77] P. Fierro and E. K. Nyer, Eds., *The Water Encyclopedia : Hydrologic Data and Internet Resources*, Third. CRC/Taylor Francis, 2007.

- [78] B. T. Sturtevant, C. Pantea, and D. N. Sinha, “Measured sound speeds and acoustic nonlinearity parameter in liquid water up to 523 K and 14 MPa,” *AIP Advances*, vol. 6, no. 7, p. 075310, Jul. 2016. DOI: [10.1063/1.4959196](https://doi.org/10.1063/1.4959196).
- [79] J. P. Berenger, “A perfectly matched layer for the absorption of electromagnetic waves,” *Journal of Computational Physics*, vol. 114, no. 2, pp. 185–200, Oct. 1994. DOI: [10.1006/JCPH.1994.1159](https://doi.org/10.1006/JCPH.1994.1159).
- [80] X. Yuan, D. Borup, J. W. Wiskin, M. Berggren, R. Eidens, and S. A. Johnson, “Formulation and validation of berenger’s pml absorbing boundary for the fdtd simulation of acoustic scattering,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 44, no. 4, pp. 816–822, 1997. DOI: [10.1109/58.655197](https://doi.org/10.1109/58.655197).
- [81] R. Niesteruk, *Właściwości Termofizyczne Żywności Część 1*. Wydawnictwa Politechniki Białostockiej, 1996.
- [82] T. Koch, S. Lakshmanan, S. Brand, M. Wicke, K. Raum, and D. Mörlein, “Ultrasound velocity and attenuation of porcine soft tissues with respect to structure and composition: I. Muscle,” *Meat Science*, vol. 88, no. 1, pp. 51–58, May 2011. DOI: [10.1016/j.meatsci.2010.12.002](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.002).
- [83] D. K. Nassiri, D. Nicholas, and C. R. Hill, “Attenuation of ultrasound in skeletal muscle,” *Ultrasonics*, vol. 17, no. 5, pp. 230–232, Sep. 1979. DOI: [10.1016/0041-624X\(79\)90054-4](https://doi.org/10.1016/0041-624X(79)90054-4).
- [84] W. K. Law, L. A. Frizzell, and F. Dunn, “Determination of the nonlinearity parameter B/A of biological media,” *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 11, no. 2, pp. 307–318, Mar. 1985. DOI: [10.1016/0301-5629\(85\)90130-9](https://doi.org/10.1016/0301-5629(85)90130-9).