

dr hab. Jerzy Litniewski  
Pracownia Mikroskopii Akustycznej  
Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN  
02-106 Warszawa, Pawińskiego 5B

## AUTOREFERAT

Moje zainteresowania badawcze dotyczą tematyki z zakresu ultradźwięków w biologii i medycynie. Moja aktywność naukowa koncentruje się głównie wokół badań wykorzystujących fale ultradźwiękowe do poznawania struktury obiektów biologicznych w skali mikro i makroskopowej. Większość prac miała na celu szeroko rozumiane wspomaganie diagnostyki medycznej. Prowadzone przeze mnie badania można podzielić na kilka tematów, które omawiam poniżej. Są to:

- A. Mikroskopia Akustyczna
- B. Sonografia tkanki kostnej
- C. Ultrasonografia ilościowa wysokiej częstotliwości (30MHz)
- D. Obrazowanie parametryczne tłumienia w tkankach
- E. Zastosowanie transmisji kodowanej w diagnostyce ultradźwiękowej

### A. Mikroskopia Akustyczna

Badania naukowe rozpocząłem w pierwszym roku pracy w Zakładzie Ultradźwięków - IPPT (1978), zaraz po ukończeniu studiów na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego (specjalizacja - fizyka medyczna). Początkowo, prace moje dotyczyły zagadnień ogniskowania fal ultradźwiękowych za pomocą złożonych układów soczewek akustycznych. Tematyka ta była rozszerzeniem mojej pracy magisterskiej. Rezultatem tych prac było między innymi, wyznaczenie rozkładu ciśnienia w wiązce fali ultradźwiękowej po przejściu przez układ symulujący ludzkie oko. Zagadnienie to było tematem mojej pierwszej prezentacji na konferencji OSA (Open Seminar on Acoustics) (1).

W tym czasie na uniwersytecie w Stanford prowadzone były badania nowej techniki obrazowania ultradźwiękowego, techniki mikroskopii akustycznej. Bardzo szybko, moje zainteresowania skierowały się w stronę tej tematyki, tematyki związanej z silnym ogniskowaniem fal ultradźwiękowych. Moje pierwsze prace dotyczyły oceny wpływu parametrów soczewki akustycznej na jakość obrazów otrzymywanych za pomocą mikroskopu. Badania te zaowocowały opracowaniem metody wyznaczania funkcji przenoszenia częstotliwości przestrzennych przez mikroskop akustyczny. Rezultaty prac publikowane były w Archiwum Akustyki (A1, A2) i prezentowane na konferencjach Wiosennej Szkoły Akusto-Optyki (2, 3, 6) oraz konferencji OSA (5) i KKBN (4). W następnych latach moje zainteresowania mikroskopią akustyczną rozszerzyły się o wykorzystanie mikroskopu do pomiarów własności warstwy wierzchniej materiałów za pomocą techniki  $V(z)$ . Prowadzone przeze mnie prace koncentrowały się na optymalizacji układu przetwornik-soczewka akustyczna, ze względu na amplitudę oscylacji krzywej  $V(z)$  a tym samym ze względu na dokładność wyznaczania prędkości fali powierzchniowej. Jednym z osiągnięć tych badań była konstrukcja oryginalnej mikrosondy, umożliwiającej wyznaczenie rozkładu ciśnienia akustycznego na powierzchni soczewki mikroskopu, opisanej w Archiwum Akustyki (A3).

W 1985 roku zostałem zaproszony do Moskwy na sympozjum na temat Fotometrii Mikroskopowej i Mikroskopii Akustycznej. Tam, po raz pierwszy zetknąłem się z badaniami mikrobiologicznymi, prowadzonymi za pomocą metod mikroskopii akustycznej, prezentowanymi przez prof. Bereiter-Hahna z Uniwersytetu im. Goethego we Frankfurcie nad Menem – światowego autorytetu w badaniach kinematyki komórek. Interpretacja ultradźwiękowych obrazów mikroskopowych komórek i związane z tym metody pomiarowe stały się głównym tematem moich badań w latach 1986-1995.

Na zaproszenie prof. Bereiter-Hahna (grant Deutchefforschung Gemeinschaft) pracowałem przez rok (1987/1988) w jego laboratorium w Niemczech mając dostęp do najnowocześniejszego w tych czasach, gigahertzowego mikroskopu akustycznego firmy Leitz. Celem badań było opracowanie metody pomiarowej służącej do wyznaczania własności mechanicznych obszarów komórki (poza jądrem komórkowym) ze zmian kontrastu jej obrazu mikroskopowego. Prace koncentrowały się na budowie modelu oddziaływania fali ultradźwiękowej z komórką przy uwzględnieniu własności materiałowych ciała komórki i parametrów mikroskopu. Rezultaty badań opublikowane zostały w renomowanych czasopiśmie *European Journal of Cell Biology* i *IEEE Trans. Ultrasonic. Ferroelectr. Frequency Contr.* (A4, A5) oraz prezentowane na *International Symposium on Acoustical Imaging* w 1989 roku (7).

Tematykę badań i współpracę z grupą z Frankfurtu kontynuowałem po powrocie do Polski. Jednym ze znaczących rezultatów tej współpracy było opracowanie przeze mnie sposobu wyznaczania prędkości i tłumienia fali w cytoplazmie komórki z jej mikroskopowego obrazu. Pomiar tych własności oparty jest o analizę jasności prążków występujących w obrazach komórek a będących rezultatem konstruktywnej i destruktywnej interferencji pomiędzy falą odbitą od powierzchni komórki i od podłoża. Metoda została opublikowana w 1990 roku w *Journal of Microscopy* (A6). Również w tym roku zakończyłem i obroniłem moją rozprawę doktorską („Sygnał z mikroskopu akustycznego przy pracy poza ogniskiem i jego zastosowanie do interpretacji obrazów biologicznych” promotor - prof. dr Leszek Filipczyński ), której tematyka obejmowała zarówno badania prowadzone w Niemczech jak i prowadzone wcześniej prace nad optymalizacją krzywych pomiarowych  $V(z)$ .

Zaraz po doktoracie rozpocząłem prace związane z budową własnego mikroskopu akustycznego. Budowa pierwszego w Polsce, w pełni autonomicznego skanującego odbiciowego mikroskopu akustycznego była w latach 90-tych bardzo poważnym przedsięwzięciem. Wymagała rozwiązania całego szeregu zagadnień inżynierskich i naukowych związanych z optymalizacją działania układów skanujących, budową układów elektronicznych nadawczo-odbiorczych, układów próbkujących i sterujących. Podstawą dobrego działania mikroskopu akustycznego są głowice nadawczo-odbiorcze (przetwornik z soczewką). Według mojego projektu zbudowanych zostało ponad 30 sztuk głowic mikroskopowych umożliwiających w zakresie częstotliwości 30-200MHz, obrazowanie powierzchni i wnętrza materiałów oraz prowadzenie pomiarów za pomocą techniki  $V(z)$ . Pierwszy egzemplarz mikroskopu prezentowany był w 1992 roku w Dusseldorfie na wystawie *SET'92* (w ramach wystawy *Polish Science for Industry*).

Rozwój aparaturowy mikroskopii akustycznej oraz metod badawczych mikroskopii był mi zawsze bardzo bliski. W latach 1991-2005 kierowałem trzema projektami badawczymi KBN, poświęconymi nowym metodom obrazowania i pomiarów w mikroskopii akustycznej. W tym czasie, sukcesywnie powstawały nowe wersje mikroskopów, od mikroskopu do obrazowania powierzchni, mikroskopu z rozszerzoną opcją obrazowania podpowierzchniowego (A15) i obrazowania fazowego do mikroskopu używanego obecnie, rozszerzonego w stosunku do wersji poprzednich o możliwość pomiarów techniką  $V(z)$ , obrazowanie amplitudowo-fazowe i obrazowanie B-scan. Jeden z wcześniejszych

mikroskopów używany jest obecnie w Laboratorium Naukowym II na Wydziale Fizyki Politechniki Warszawskiej. Ostatni z projektów KBN dotyczących mikroskopii, umożliwił realizację systemu ultradźwiękowego obrazowania trójwymiarowego. Ta tematyka kontynuowana była długo po zakończeniu projektu. Nowe rozwiązania techniczne i możliwości badawcze techniki mikroskopowej prezentowałem na licznych konferencjach (10, 12) a głowica do obrazowania podpowierzchniowego opisana została w *Archives of Acoustics* (A9). Techniczne aspekty budowy mikroskopu do pracy 3D i jego możliwości obrazowania przedstawione zostały w dwóch artykułach w *Archives of Acoustics* (A18, A19)

Zbudowane mikroskopy stosowane były do badań próbek medycznych i szeroko rozumianych badań nieniszczących. Prowadzone wspólnie z lekarzami badania tkankowe prezentowane były na licznych konferencjach lekarskich (11, 13, 14, 15, 16) i zostały opublikowane w wydawnictwach lekarskich (A11, A14). Przeprowadzone wspólnie z pracownikami WAT badania naprężeń za pomocą mikroskopu w laserowo umacnianych elementach stalowych opisane zostały w biuletynie WAT (A13) a wyniki współpracy z Politechniką Rzeszowską opublikowałem w wydawnictwie PAN, *Krzepnięcie Metali i Stopów* (A12).

Równoległe z pracami związanymi z konstrukcją nowych mikroskopów kontynuowałem współpracę z grupą biologów z Frankfurtu. W dalszym ciągu związana ona była z interpretacją obrazów mikroskopowych komórek. Rozważając zachowanie krzywej  $V(z)$  dla układu próbki z warstwą cieczy, udało mi się wykazać, że zmiany jasności w obrazach cienkich warstw cytoplazmy (obszar lamella komórki) są wprost proporcjonalne do prędkości fali w cytoplazmie. Rezultaty naszych wspólnych prac prezentowane były na *International Symposium on Acoustical Imaging* w Bochum (A7,8,9) oraz opublikowane w *Cell Biochemistry and Biophysics* (A8). Opracowane przeze mnie metody interpretacji akustycznych obrazów komórki oraz metody wyznaczania prędkości i tłumienia fali w cytoplazmie komórki były i są do tej pory używane w całym szeregu badań nad motoryką komórki i związanych z nią zmianami objętości komórki, jej kształtu i własności mechanicznych. Między innymi, stosując moją metodę pomiaru prędkości udało się połączyć zmiany impedancji cytoplazmy z polimeryzacją włókien aktyny. W 1995 roku w renomowanym czasopiśmie *Applied Mechanical Review* (A10) opublikowane zostały wyniki naszych prac (wspólnie z prof. Bereiter\_Hahnem i dr Yastasem) na temat związków morfogenezy komórki z jej własnościami mechanicznymi.

Z tematyką mikroskopii akustycznej łączy się krótka współpraca (lata 2000-2001) z prof. Filipczyńskim i dr Wójcikiem nad problemem generacji fal harmonicznych i efektami termicznymi w ognisku soczewki mikroskopu akustycznego. Moim zadaniem była realizacja części doświadczalnej badań. Za pomocą zbudowanego szerokopasmowego hydrofonu (z folii PVDF-100MHz) wyznaczyłem funkcję przenoszenia częstotliwości przez układ pomiarowy i zmierzyłem w ognisku kształt nadawanego impulsu. Pozwoliło to na wyznaczenie amplitudy generowanych fal harmonicznych aż do 4-go prążka. Otrzymane wyniki potwierdziły prawidłowość stosowanej metody symulacji pola ciśnień, co pozwoliło na szacowanie zakresu zmian temperatury w ognisku mikroskopu. Wyniki doświadczalne i teoretyczne przedstawione zostały na *17<sup>th</sup> International Congress on Acoustics - ICA* w Rzymie (17) i opublikowane w *Archives of Acoustics* (A16).

Metody mikroskopii akustycznej wykorzystałem w pracy habilitacyjnej („*Wykorzystanie fal ultradźwiękowych do oceny zmian struktury kości gąbczastej*” Prace IPPT 2006) do wyznaczenia wartości parametrów opisujących beleczki kości gąbczastej. Okazało się, że zbudowany przeze mnie skanujący mikroskop ultradźwiękowy, bardzo dobrze nadaje się do ilościowego obrazowania i pomiarów własności mechanicznych obiektów z ciała stałego i obiektów biologicznych, w tym beleczek kości gąbczastej.

Zastosowanie klasycznej techniki pomiaru prędkości za pomocą mikroskopu akustycznego (techniki  $V(z)$ ) nie było możliwe z powodu małych wymiarów beleczek. W pomiarach mikroskopowych wykorzystałem własną, oryginalną technikę niezależnego wyznaczenia impedancji próbki i prędkości propagacji fali podłużnej w materiale próbki. Wartości impedancji znajdowałem z mierzonych wartości współczynnika odbicia a prędkość wyznaczałem za pomocą generacji w próbce podłużnej fali bocznej. Nowa technika mikroskopowa pomiaru prędkości umożliwiła badanie silnie tłumiących, małych, dostępnych tylko z jednej strony próbek, w tym beleczek kości gąbczastej. Metoda ta została pozytywnie zweryfikowana poprzez porównanie otrzymywanych nią wyników z wynikami otrzymanymi klasyczną techniką  $V(z)$ , wykorzystującą oscylacje amplitudy sygnału z mikroskopu wraz ze zmianami odległości soczewka-próbka.

Przeprowadzone (według mojej wiedzy po raz pierwszy) niezależne pomiary impedancji tkanki kostnej w pojedynczych beleczkach i pomiary prędkości fali podłużnej w tych beleczkach dla próbek kości zmienionych w wyniku choroby, pokazały występowanie znacznych różnic w wartości średniej i odchyleniu standardowym mierzonych parametrów. Szczególnie duże różnice znaleziono dla współczynnika sprężystości, który wyznaczono ze zmierzonych wartości prędkości i impedancji. Okazało się, że różnice te powiązane są z rodzajem schorzenia.

Obie metody pomiarowe (wyznaczania prędkości i impedancji) jak i wyniki pomiarów własności beleczkach kostnych dla trzech przypadków chorób metabolicznych kości, opublikowałem w *Ultrasound in Medicine and Biology* (A17) oraz prezentowałem na konferencji *Ist European Symposium on Ultrasonic Characterization of Bone* w Paryżu (18).

Z nową metodą pomiaru prędkości łączą się przeprowadzone przeze mnie pomiary względnej fazy fal tworzących sygnał z mikroskopu (fali odbitej bezpośrednio od próbki kości i fali odpromieniowanej przez podłużną falę powierzchniową - boczną) dla odległości kość – soczewka mniejszych od ogniskowej. Zastosowałem w nich oryginalną technikę separacji sygnałów w.cz. sumowanych przez przetwornik poprzez porównanie sygnału wypadkowego z sygnałem zarejestrowanym dla próbki, w której nie jest generowana fala powierzchniowa. Wyniki pomiarów potwierdziły hipotezę, według której podłużna fala boczna propagująca się w próbce kości (beleczce) odgrywa tą samą rolę w powstawaniu oscylacji krzywej  $V(z)$  co fala Rayleigh'a dla bardziej sprężystych materiałów.

Ostatnio, zjawisko generacji i odbioru przez mikroskop akustyczny powierzchniowej fali Rayleigh'a, wykorzystałem w badaniach (wspólnie z dr hab. Michałem Basistą, Zespół Zaawansowanych Materiałów Kompozytowych) próbek kompozytów Cr-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Re. Mikroskop akustyczny posłużył do wyznaczenia modułu Younga i oceny wpływu zawartości renu w kompozycie na wartość tego modułu. Artykuł na ten temat został opublikowany w *Computational Materials Science* (A20).

#### Publikacje przed habilitacją

- A1. J.Litniewski., The effect of the modulation transfer function on the image in an acoustic microscope, *Archives of Acoustics*, 8,1, 1983, 31-40
- A2. J.Litniewski, An acoustic microscope in measurements of mechanical properties of surface layers –  $V(Z)$ , *Archives of Acoustics*, 11,3,1986, 299-312
- A3. J.Litniewski, An acoustic microprobe, *Archives of Acoustics*, 13, 1-2, 1988, 45-53
- A4. J.Bereiter-Hahn , J.Litniewski, N. Buhles, What can we learn from acoustic microscopy in cell biology, *European Journal of Cell biology*, 46, 22, 1988, 9-10

- A5. J.Litniewski., On the possibility of the visualisation of the velocity distribution in biological samples using SAM, IEEE Trans. Ultrasonic. Ferroelectr. Frequency Contr., UFFC-36, 1,1989, 134-135
- A6. J.Litniewski, J.Bereiter-Hahn, Measurements of cells in culture by scanning acoustic microscope, Journal of Microscopy, 158, 1990, 95-107
- A7. J. Litniewski, J. Bereiter-Hahn, Acoustic velocity determination in cytoplasm by V(z) shift, Acoustical Imaging , vol.19, Plenum Press, N.York, 1992, 535-538
- A8. H.Luers, J.Bereiter-Hahn, K.Hillman, J.Litniewski, The shape of cultured cells: mechanical forces exerted by cytoskeletal elements, Cell Biochemistry and Biophysics, The Humana Press Inc., 1992, 279- 293
- A9. J .Litniewski, Subsurface imaging of samples by SAM, Archives of Acoustics, 19, 4, 1994, 487-493
- A10. J.Bereiter-Hahn, S.Yastas, J.Litniewski, Mechanical basis of cell morphogenesis and volume control, part of Mechanics of Swelling, Applied Mechanics Reviews, vol 48, no10, 1995, 674-680
- A11. T.Kęćik, P.Lewandowski, J.Litniewski, A.Prądnicki, N.Skurczyński, Zastosowanie skanującego mikroskopu akustycznego w badaniach gałki ocznej, Nowa Medycyna, 20/96, 1996
- A12. J.Litniewski, D.Wytrykowski, W.Orłowicz, Obrazowanie warstwy wierzchniej i mikrodefektoskopia materiałów za pomocą skanującego mikroskopu akustycznego, Krzepnięcie Metali i Stopów, Nr 26, PAN, Katowice, 1996, 119-126
- A13. S.Janowski, D.Kocańda, St. Kocańda, M.Lech-Grega, J.Litniewski, L.Śnieżek, Doświadczalna analiza naprężeń własnych w laserowo umocnionych elementach ze stali konstrukcyjnych, Biuletyn WAT, 1997, 7(539), 5-24
- A14. T. Kęćik, P. Lewandowski, J. Litniewski, A. Nowicki, W. Secomski, Ocena badań klinicznych lwykonanych aparatem ultradźwiękowym wysokiej częstotliwości w wybranych jednostkach chorobowych, Okulistyka, vol.5, 1999, 66-67
- A15. J.Litniewski, An Acoustic Microscope for Microflaw Inspection and Subsurface Imaging, Archives of Acoustics, 26, 1, 2001, 25-36
- A16. J. Wójcik, J.Litniewski, L.Filipczyński, T. Kujawska, Nonlinear Effects and Possible Temperature Increases In Ultrasonic Microscopy, Archives of Acoustics, 27, 3, 191-201, 2002
- A17. J.Litniewski, Determination of the elasticity coefficient for a single trabecula of a cancellous bone: Scanning Acoustic Microscopy approach., Ultrasound in Medicine and Biology, 31, 10,1361-1366, 2005

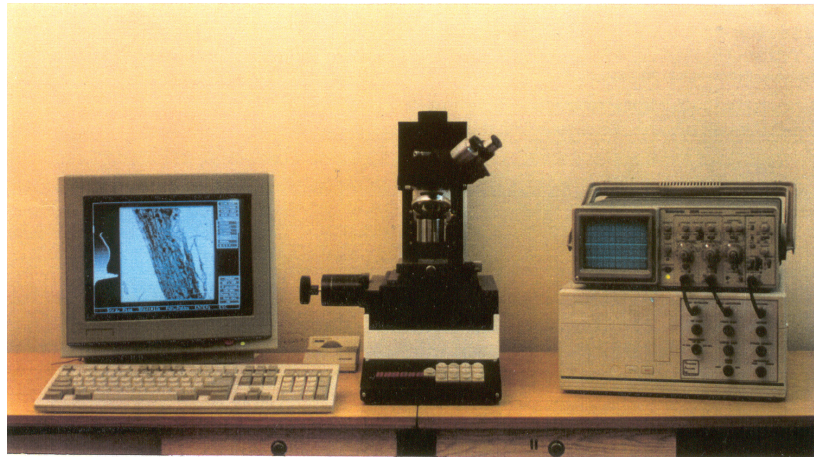
#### Publikacje po habilitacji

- A18. K. Dynowski, J. Litniewski , A. Nowicki, Tree-dimensional imaging in ultrasonic microscopy, Archives of Acoustics, 32(4), 71-77, 2007
- A19. K. Dynowski, J. Litniewski , A. Nowicki , Scanning Acoustic Microscope for 3D imaging, Archives of Acoustics, 33(3), 293-302, 2008
- A20. W. Węglewski, K. Bochenek, M. Basista, T. Schubert, U. Jehring, J. Litniewski, S. Mackiewicz, Comparative assessment of Young's modulus measurements of metalceramic composites using mechanical and non-destructive tests and micro-CT based computational modeling, Computational Materials Science, 77, 19 -30, 2013

## Konferencje

1. J. Litniewski, Obliczanie rozkładu ciśnienia akustycznego w wiązce fal ultradźwiękowych po przejściu przez złożoną soczewkę akustyczną, OSA, 1979
2. J. Zieniuk, J. Litniewski, The influence of coherence and wavelength on ultrasonic imaging, First Spring School on Acousto-Optics, Wieżyca, 1980
3. J. Litniewski, The influence of aberration on a SAM image, Second Spring School on Acousto-Optics, Wieżyca, 1983
4. J. Zieniuk, J. Litniewski, W. Beczek, Mikroskop ultradźwiękowy – nowe narzędzie badań nieniszczących, KKBN, 1984
5. J. Litniewski, Metody badań powierzchni za pomocą mikroskopii akustycznej, OSA, Kraków, 1985
6. J. Litniewski, The quality of images and measurements obtained with acoustic microscope, Third Spring School on Acousto-Optics, Wieżyca, 1986
7. J. Bereiter-Hahn, J. Litniewski, K. Hillman, A. Kraphol, L. Zylberberg, What can scanning acoustic microscopy tell about animal cells and tissue? International Symposium on Acoustical Imaging, Sendai, 1989
8. J. Litniewski, J. Bereiter-Hahn, Acoustic velocity determination in cytoplasm by  $V(z)$  shift, International Symposium on Acoustical Imaging, Bochum, 1992
9. H. Luers, J. Bereiter-Hahn, J. Litniewski, SAM investigations: the structural basis of cell surface stiffness of cultured cells, International Symposium on Acoustical Imaging, Bochum, 1992
10. J. Litniewski, D. Wytrykowski, Ultradźwiękowy mikroskop pomiarowy, Postępy akustyki w technice, kulturze i medycynie w latach 1991-1992 realizowane poprzez granty KBN", Mądralin, 1993
11. P. Lewandowski, M. Skurczyński, P. Skopiński, J. Litniewski, A. Prątnicki, Badania wstępne w mikroskopii ultradźwiękowej, I zjazd naukowo-szkoleniowy sekcji okulistyki PTU, Katowice, 1993
12. J. Litniewski, Low frequency scanning acoustic microscope, Polish-German Symposium on Ultrasound measurements methods in science and techniques, Wisła, 1994
13. T. Kęcik, A. Nowicki, P. Lewandowski, J. Litniewski, M. Skurczyński, P. Skopiński, A. Prątnicki, Ultrasound biomicroscopy examination of the cornea, XX European Cornea Conference, Budapest, 1994
14. T. Kęcik, A. Nowicki, P. Lewandowski, J. Litniewski, M. Skurczyński, P. Skopiński, A. Prątnicki, Examination of neoplastic bulbar tumors in ultrasonographic microscopy, VII Sympozjum Zapobiegania Ślepotcie, Warszawa, 1994
15. J. Litniewski, P. Lewandowski, R. Korytowski, Acoustic Biomicroscopy of eye tissues, Ultrasound in Biomeasurements, Diagnostics and Therapy, Warszawa, 1994
16. T. Kęcik, P. Lewandowski, A. Nowicki, J. Litniewski, A. Prątnicki, Retinoblastinoma w badaniach mikroskopii ultradźwiękowej, II Zjazd Naukowo-Szkoleniowy Sekcji Okulistyki PTU, Warszawa, 1995
17. J. Wójcik, J. Litniewski, L. Filipczyński, Numerical and experimental determination of high-nonlinearity in ultrasonic microscopy, 17<sup>th</sup> International Congress on Acoustics, Rzym, 2001.
18. J. Litniewski, Determination of the elasticity coefficient for a single trabecula of a cancellous bone: Scanning Acoustic Microscopy approach, 1st European Symposium on Ultrasonic Characterization of Bone, Paryż, 2006

## Skanujący Mikroskop Akustyczny



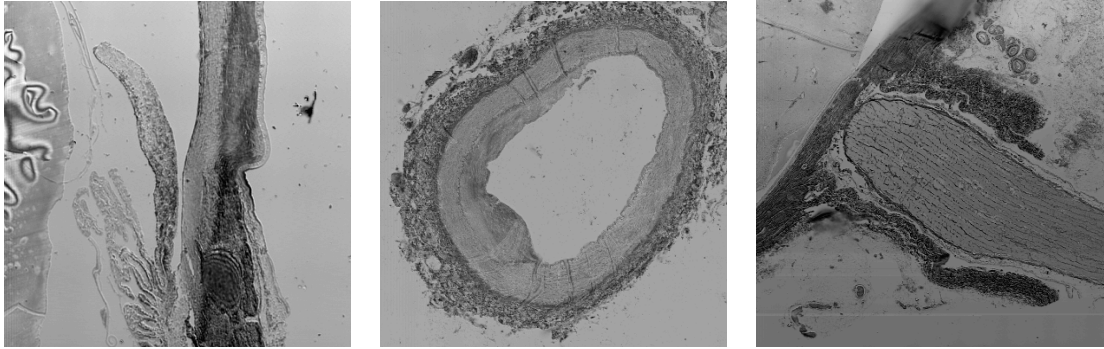
Mikroskop akustyczny (SAM - Scanning Acoustic Microscope) został zbudowany według mojego projektu, przy współpracy z pracownikami kierowanej przeze mnie pracowni Mikroskopii Akustycznej.

Umożliwia on obrazowanie powierzchni i wnętrza próbek (obrazowanie C-scan i B-scan). Do obrazowania może być wykorzystana amplituda lub faza odbitej fali, a także możliwe jest obrazowanie amplitudowo-fazowe. Mikroskop pozwala też na akustyczną charakterystykę materiałów poprzez pomiar i analizę krzywych  $V(z)$ . System wyposażony jest w szereg głowic mikroskopowych przeznaczonych do obrazowania lub pomiarów w zakresie częstotliwości 30MHz – 200MHz. Silniki krokowe zapewniają przesuw próbki w osiach XY z krokiem  $2\mu\text{m}$  i w osi Z z krokiem  $0.6\mu\text{m}$ . Mikroskop posiada kilka cech które czynią go szczególnie przydatnym przy prowadzeniu badań z wykorzystaniem opcji pomiarowej  $V(z)$ .

- Odbiornik mikroskopu zapewnia liniową zależność pomiędzy amplitudą odbieranego sygnału a amplitudą sygnału elektrycznego wykorzystywaną do obrazowania lub pomiarów.
- Amplituda sygnału może być mierzona na dwa sposoby, za pomocą detekcji szczytowej w wybranej bramce lub próbkowania w wybranym punkcie. Bramka podąża automatycznie za położeniem wybranego impulsu, uwzględniając zmiany prędkości fali w ośrodku dopasowującym.
- Opcja amplitudowo-fazowa techniki  $V(z)$  pozwala na dokładniejszy pomiar prędkości fal powierzchniowych (LSW- leaky surface waves) od standardowej opcji amplitudowej.
- Geometria układu przetwornik-soczewka w głowicach mikroskopu została zaprojektowana z uwzględnieniem trybu pracy mikroskopu – obrazowanie powierzchni, obrazowanie podpowierzchniowe lub pomiary  $V(z)$  oraz uwzględnieniem własności mierzonych materiałów, ograniczeń wynikających z aberracji i wewnętrznych odbić w soczewce.

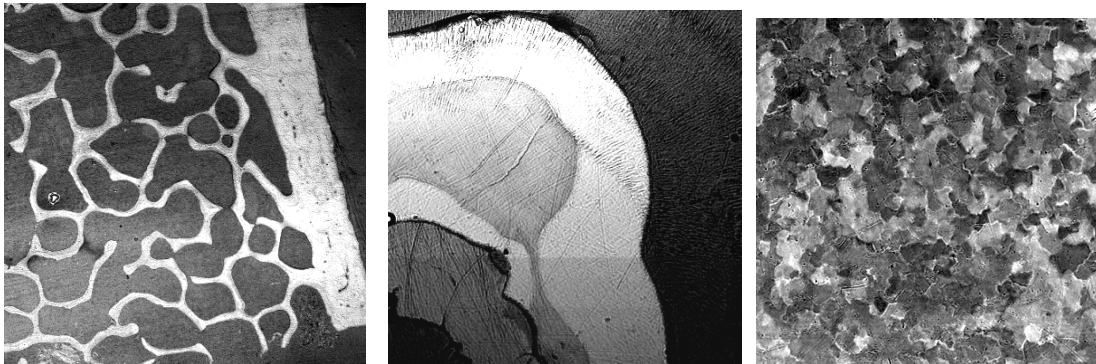
Mikroskop wykorzystywany był zarówno w badaniach biomedycznych przy obrazowaniu i charakterystyce tkanek miękkich i kości jak i w badaniach nieniszczących do obrazowania powierzchni, oceny wnętrza próbek i oceny powierzchni za pomocą pomiarów prędkości i tłumienia fal powierzchniowych.

Przykładowe obrazy uzyskane za pomocą mikroskopu akustycznego



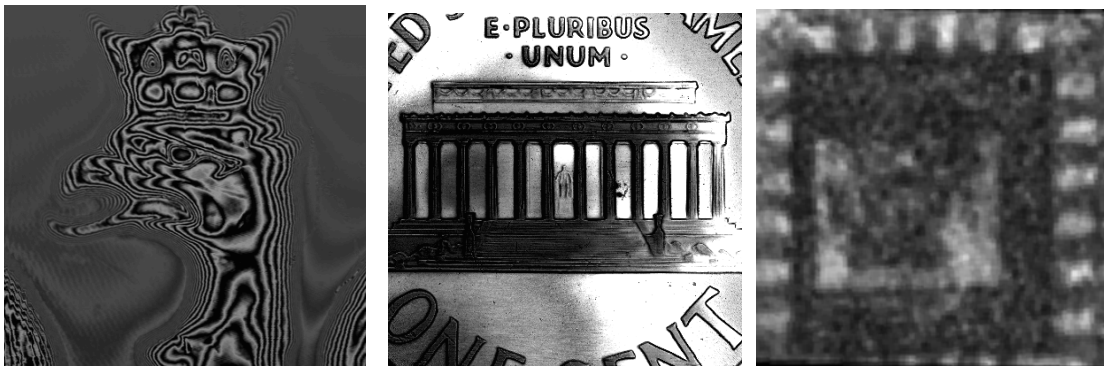
Kolejno:

1. Obraz preparatu oka – od prawej: rogówka, tęczówka, ciało rzęskowe, soczewka
2. Przekrój przez warstwy tętnicy z widocznym złogiem miażdżycowym
3. Nerw oczny



Kolejno:

4. Struktura beleczkowa kości gąbczastej
5. Przekrój przez warstwową strukturę zęba
6. Ziarna stopu ALNICO. Obraz otrzymany techniką wykorzystującą fale powierzchniowe



Kolejno:

7. Powierzchnia monety (5 groszy) – technika fazowa
8. Powierzchnia monety (1 cent) – technika amplitudowa
9. Obrazowanie podpowierzchniowe – układ scalony



## B. Sonografia kości gąbczastej

Od 1996 roku moje badania koncentrowały się na wyznaczeniu własności mikroskopowych i makroskopowych kości gąbczastej. Ich celem było opracowanie metod ultradźwiękowej diagnostyki chorób metabolicznych kości, w szczególności osteoporozy. Tematyką tą zajmuje się do chwili obecnej. Badania wsparte zostały pięcioma grantami KBN, MNiSW oraz NCN. W początkowym okresie prowadzona była analiza obrazów mikroskopowych próbek kości gąbczastej pod kątem wyznaczenia impedancji i współczynnika tłumienia tkanki kostnej. W ich wyniku, opracowana została metoda transformacji obrazu mikroskopowego w obrazy odpowiadające rozkładowi impedancji i rozkładowi tłumienia w beleczkach kości gąbczastej. Rezultaty prac prowadzonych w tym okresie, przedstawiłem w 1997 roku na międzynarodowych konferencjach w Gdańsku, w Warszawie i na Bornholmie (1, 2, 3) oraz w 1998 roku w Halle (4). Równoległe z badaniami mikroskopowymi kości gąbczastej zajmowałem się badaniami makroskopowymi, prowadzonymi na próbkach kości piętowej i in vivo, z wykorzystaniem fal ultradźwiękowych o częstotliwości 0,5MHz-1MHz. Prace te wiązały się z budową aparatury pomiarowej, przeznaczonej do kompleksowego pomiaru własności kości piętowej (w transmisji i w rozproszeniu). Zbudowane zostały trzy układy pomiarowe: układ do badań próbek kości z użyciem wanny pomiarowej i ręcznym przesuwem próbki, układ do pomiarów kości piętowej in vivo za pomocą półautomatycznego systemu pozycjonowania oraz sterowany komputerem i automatycznie zbierający dane, skaner kości piętowej. Badania in vivo prowadzone były na pacjentach Warszawskiego Centrum Osteoporozy i na ochotnikach z IPPT. Pomiarom ultradźwiękowym towarzyszyły pomiary za pomocą aparatu rentgenowskiego DEXA, umożliwiające niezależny pomiar gęstości kości gąbczastej. Do ważniejszych rezultatów tych badań zaliczam potwierdzenie dobrej korelacji pomiędzy współczynnikiem BUA (Broadband Ultrasonic Attenuation) a wartością BMD (Bone Mineral Density). Wyniki badań pokazały również, że zastosowana przeze mnie do charakterystyki kości, wielkość przesunięcia częstotliwości środkowej widma sygnału przepuszczonego przez kość, równie dobrze jak BUA opisuje stan kości, ale jest bardziej odporna na ewentualne błędy pozycjonowania głowic. Rezultaty te przedstawiłem na *Ultrasonics World Congress UI'99/WCU'99* w Lyngby (5) oraz opublikowałem je w uznanym czasopiśmie *Ultrasonics* (B1). Dalsze prace kontynuowałem z wykorzystaniem zarówno fal przepuszczanych przez kość jak i fal rozproszonych w strukturze kości gąbczastej. Ich wyniki przedstawiałem na międzynarodowych konferencjach: DEGA w Bochum i EUROSON w Warszawie (6,7). Pomiary prowadzone z użyciem skanera kości umożliwiły tworzenie parametrycznych obrazów kości piętowej, w których jasność związana jest z wartością współczynnika BUA, wartością współczynnika rozproszenia czy też prędkością fali. Rezultat moich prac nad ultradźwiękową diagnostyką osteoporozy został wysoko oceniony przez KBN (*Przegląd Eureka-5(15), 2003*).

W następnych latach badania tkanki kości gąbczastej prowadzone były z wykorzystaniem jedynie wstecznego rozproszenia fali ultradźwiękowej. Sygnał rozproszony umożliwia bowiem zbieranie informacji o strukturach kostnych położonych głęboko i dostępnych tylko z jednej strony, np. o kości szyjki udowej, głównego miejsca złamań osteoporotycznych. Celem nadrzędnym prowadzonych badań było poznanie i oszacowanie wpływu parametrów struktury kości gąbczastej na własności sondującego sygnału ultradźwiękowego. Całkiem nowym pomysłem było założenie, że choroby kości, w szczególności osteoporoza, zmieniają strukturę kości gąbczastej w taki sposób, że wpływa to na własności statystyczne rozproszonego sygnału. Wyznaczenie zakresu zmian własności statystycznych sygnału rozproszonego w zależności od charakteru struktury pozwoliło na wybór optymalnych parametrów wiązki akustycznej i częstotliwości fali ze względu na

detekcję takich zmian. Parametry struktury kości, które są głównym źródłem tych zmian mogą być użyte do interpretacji wyników pomiarów doświadczalnych (8).

Badania struktury kości gąbczastej prowadziłem z zastosowaniem technik pomiarowych mikroskopowych i makroskopowych oraz modelowania struktury kości i rozpraszanego w niej sygnału ultradźwiękowego.

Znalezione, za pomocą mikroskopu akustycznego (opis w części poświęconej mikroskopii akustycznej) wartości prędkości fali i impedancji dla tkanki kostnej oraz zakresy rozrzutu tych parametrów zastosowałem w modelowaniu struktury kości. Zaproponowany przeze mnie model oddziaływania wiązki fal ultradźwiękowych z beleczkową strukturą kości umożliwia symulację sygnału elektrycznego generowanego przez przetwornik odbiorczy w wyniku padania na niego rozproszonego sygnału ultradźwiękowego. Sygnał taki tworzony jest jako wypadkowa suma fazorów. Amplituda pojedynczego fazora (dla wybranej częstotliwości) zależy głównie od amplitudy współczynnika rozproszenia fali na podstawowym elemencie modelu kości gąbczastej - walcu sprężystym symulującym beleczkę. Faza fazora zależy od położenia beleczki względem przetwornika. Beleczki ułożone są z jednakowym prawdopodobieństwem na drodze wiązki akustycznej, prostopadle do kierunku padania fali. Sygnałem nadawczym, rozpraszonym na takiej strukturze są rzeczywiste przebiegi nadawanych sygnałów ultradźwiękowych a widmo symulowanego, odbieranego sygnału jest ograniczane zgodnie z funkcją przenoszenia częstotliwości przez rzeczywisty przetwornik odbiorczy. Model umożliwia zmiany własności strukturalnych modelowanej kości poprzez zmiany gęstości przestrzennej beleczek (walców), zmiany wartości średniej i wariancji grubości beleczek oraz ich własności mechanicznych (prędkości propagacji fali podłużnej i poprzecznej oraz gęstości). Model kości i model sygnału rejestrowanego przez przetwornik odbiorczy opisany został w *Ultrasonics* (B2)

Równoległe do badań symulowanego sygnału rozproszonego, prowadziłem pomiary rzeczywistych sygnałów rozproszonych w kości piętowej pacjentów i w próbkach kości. W pomiarach korzystałem ze zbudowanego przeze mnie układu do pomiarów *in vivo* wyposażonego w półautomatyczny system pozycjonowania kości piętowej i układu z wanną pomiarową, przeznaczonego do pomiarów próbek. Dla potrzeb wyznaczenia własności statystycznych sygnału rozproszonego opracowałem metodę pomiaru i kompensacji tłumienia pozwalającą na badanie wpływu na charakter rozproszenia w głównej mierze własności zależnych od struktury beleczkowej kości.

Analiza rejestrowanych doświadczalnie sygnałów rozproszonych w kości piętowej wykazała, że amplituda tych sygnałów (opisana ich obwiednią) podlega rozkładowi Rayleigh'a. Wyniki takie otrzymałem przy zastosowaniu warunków pomiaru zbliżonych do warunków występujących przy ultradźwiękowych pomiarach densytometrycznych (częstotliwość 0,5MHz). Otrzymane wyniki pozwoliły stwierdzić, że istnieją techniczne możliwości budowy systemu ultradźwiękowego, umożliwiającego monitorowanie *in vivo* zmian w kości, w zakresie wartości porowatości charakterystycznych dla chorej kości gąbczastej. Opis i wyniki badań mikroskopowych i makroskopowych kości gąbczastej oraz symulacji zamieszczone zostały w mojej pracy habilitacyjnej pt. „Wykorzystanie fal ultradźwiękowych do oceny zmian struktury kości gąbczastej” Prace IPPT 2006 oraz opublikowane (B3, B4).

Zaproponowany w pracy model kości gąbczastej umożliwia symulację sygnału rozproszonego przez strukturę beleczkową kości. Porównanie sygnałów symulowanych i doświadczalnych pokazało, że oba w podobny sposób reagują na zmiany objętości pomiarowej, oraz na zmiany porowatości kości. Okazało się jednak, że wyznaczona z sygnałów symulowanych zależność współczynnika rozproszenia od częstotliwości różni się od wyników doświadczalnych. Nowe modele rozproszeniowe kości gąbczastej uwzględniały dokładniej budowę kości, zakładając istnienie dwóch populacji beleczek, grubych i cienkich. W następnych symulacjach rozważane były i porównywane trzy struktury symulujące kość

gąbczastą. Pierwsza struktura symulowana jako układ równoległych beleczek, z których każda uformowana jest w postaci walca z materiału o właściwościach elastycznych odpowiadających tkance kostnej i umieszczona w wodzie, prostopadle do kierunku padającej fali. Druga struktura kości symulowana była jako układ składający się z dwóch populacji elementów walcowych znacznie różniących się średnią grubością. Takie podejście miało na celu symulację występujących w kości gąbczastej populacji grubych i cienkich beleczek. Trzecia struktura kości symulowana była jako układ składający się z dwóch populacji elementów rozpraszających, elementów walcowych i elementów kulistych. Wybór elementu kulistego jako przybliżenie cienkiej beleczki wynikał z przeprowadzonych obliczeń współczynnika rozproszenia fali na cienkim, skończonym walcu o geometrii odpowiadającej geometrii cienkiej beleczki. Okazało się, że zależność wsp. rozproszenia od częstotliwości, w takim przypadku jest znacznie bliższa rozproszeniu na kuli niż na walcu.

Przeprowadzone symulacje pokazały, że model dwu-populacyjny składający się z elementów walcowych i kulistych najlepiej przybliży sygnał rozproszony w kości gąbczastej (10). Zależność współczynnika rozproszenia od częstotliwości obliczona z użyciem symulowanych ech z takiej struktury z dużą dokładnością zgadza się z wynikami eksperymentalnymi. Jednocześnie stwierdziłem, że wraz ze wzrostem rozrzutu wymiarów elementów rozpraszających rosną odstępstwa histogramów obwiedni modelowanego sygnału od rozkładu Rayleigh'a. Największe odchylenia występowały dla walcowo-kulistego modelu kości gąbczastej.

Równoległe przeprowadziłem pomiary rozproszenia ultradźwięków w kości gąbczastej *in vivo*. Okazało się, że w przypadku zastosowania częstotliwości 1.3 MHz (wyższej od stosowanej powszechnie 0.5 MHz) histogramy obwiedni odbiegają istotnie od rozkładu Rayleigh'a. Analogiczne odstępstwa od tego rozkładu wykazywały histogramy znalezione dla symulowanego sygnału w przypadku gdy w modelu kości gąbczastej przyjęto rozrzuty rozmiarów elementów rozpraszających zgodnie z danymi literaturowymi opisującymi parametry kości gąbczastej.

Otrzymane wyniki są szczególnie istotne gdyż pokazują, że histogramy obwiedni ech z kości gąbczastej mogą służyć do rozróżniania struktur kości gąbczastej o dobrze zdefiniowanej średniej grubości beleczek (co odpowiada kości zdrowej) od struktur o dużym rozrzucie grubości beleczek (charakterystycznym dla kości zmienionej osteoporotycznie). Równocześnie, sygnał rozproszony może być stosowany do wyznaczania współczynnika BUA, który zależny jest od średniej gęstości kości gąbczastej. Tak więc, sygnał rozproszony umożliwia kompletną ocenę stanu kości (ocenę ilościową kości gąbczastej i ocenę zmian struktury kości gąbczastej) i może być użyty do badań kości położonych głęboko, szczególnie ważnych ze względu na zagrożenie osteoporozą.

Zaproponowana przeze mnie nowa metoda badania ultradźwiękowego kości gąbczastej, za pomocą sygnału rozproszonego, jest obecnie jedyną metodą w pełni wykorzystującą informację o własnościach strukturalnych kości. Wyniki prezentowane były na konferencji *IEEE International Ultrasonic Symposium* (9) oraz opublikowane w *J. Acoust. Soc. Am.* (B5) i szeregu innych czasopismach (B6, B7, B8).

Równie ciekawe wnioski wynikają z badań kolejnego modelu kości zbudowanego wspólnie z dr hab. Januszem Wójcikiem. Struktura kości gąbczastej jest tym razem symulowana numerycznie jako kilkadziesiąt elementów cylindrycznych (dwie populacje beleczek) tworzących przestrzenną kratownicę, w której elementy grube i długie (beleczki grube) są łączone elementami cienkimi (beleczki cienkie) o długości odpowiadającej średniej odległości pomiędzy beleczkami w kości gąbczastej. Pole rozproszone przez taką strukturę obliczane jest za pomocą numerycznego rozwiązania osobliwego równania Sturm–Liouville. Model umożliwia obliczanie współczynnika rozproszenia fali ultradźwiękowej w zależności od częstotliwości, w kolejnych rzędach rozproszenia. Wyniki takiego modelowania pokazały, że

można określić zakresy porowatości i zakresy częstotliwości, w których wpływ wyższych rzędów rozproszenia jest mały w porównaniu z całkowitym rozproszeniem. Współczynnik rozproszenia charakteryzował się pikiem dla długości fali bliskiej dwukrotnej średniej odległości pomiędzy beleczkami a jego szerokość i amplituda malała wraz ze wzrostem rozrzutu tej odległości. Wyniki opublikowane zostały w *J. Acoust. Soc. Am.* ( B9) oraz w *Archives of Acoustics* (B10) oraz prezentowane na *IEEE International Ultrasonic Symposium* (13). Obecnie trwają badania doświadczalne nad znalezieniem podobnych związków w sygnale rozproszonym w próbkach kości i modelach fizycznych kości.

Równoległe z badaniami symulacyjnymi i doświadczalnymi *in vitro* trwały prace nad budową skanera kości, urządzenia pozwalającego analogicznie do ultrasonografu na nadawanie i odbieranie sygnałów ultradźwiękowych. Zbudowany skaner pracuje na częstotliwości 1,3MHz i został zastosowany do badania szyjki kości udowej. Skaner opisany został w *IEEE Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control* (B13) Badania przeprowadzone zostały (wspólnie z moją doktorantką mgr Lucyna Cieślik) na ochotnikach a zarejestrowane sygnały przetwarzane były w celu wyznaczenia takich parametrów jak współczynnik tłumienia, współczynnik rozproszenia i histogramy obwiedni. Wyniki zostały opublikowane (B11, B12) oraz prezentowane na konferencjach *IEEE International Ultrasonic Symposium* (11) i *International Symposium on Acoustical Imaging* (12). Analiza otrzymanych wyników pokazała, że podczas gdy pomiary wykonywane na modelach fizycznych kości dają dokładne wyniki to wyniki badań *in vivo* charakteryzują się dużą wariancją, prawdopodobnie spowodowaną dużym błędem pomiaru. Błędy wynikają najprawdopodobniej z powodu niewystarczającej kompensacji efektów propagacji fali przez tkankę miękką i kość zbitą a także dużym tłumieniem i dużą wariancją sygnału rozproszonego w kości. Rozwiązanie tego problemu jest tematem doktoratu mgr L. Cieślik a także prowadzonego przeze mnie obecnie projektu NCN pt. *Ultrasonograficzna diagnostyka osteoporozy - ocena gęstości kości gąbczastej w szyjce kości udowej poprzez wyznaczanie współczynnika tłumienia fali ultradźwiękowej w dziedzinie częstotliwości.*

#### Publikacje przed habilitacją

- B1. J. Litniewski, A. Nowicki, A. Sawicki, Detection of bone disease with ultrasound – comparison with bone densitometry, *Ultrasonics* 38, 2000, 693-697

#### Publikacje po habilitacji

- B2. J. Litniewski, A. Nowicki, P. Lewin, Semi-empirical bone model for determination of trabecular structure properties from backscattered ultrasound, *Ultrasonics* 49, pp.505–513, 2009
- B3. J. Litniewski, Statistical sensitivity of the envelope of pulse-echo signal backscattered in trabecular bone: simulation study, *Revista de Acoustica*, vol.38, cd edition, 2007
- B4. J. Litniewski, Statistical properties of pulse-echo signal backscattered in trabecular bone, *Hydroacoustics, EAA Annual Journal*, vol 11, pp. 253-264, 2008
- B5. J. Litniewski, L. Cieslik, J Wojcik, A. Nowicki, Statistics of the envelope of ultrasonic backscatter from human trabecular bone, *J. Acoust. Soc. Am.* 130 (4), 2224–2232, 2011

- B6. J. Litniewski. Statistics of Envelope of High-Frequency Ultrasonic Backscatter from Trabecular Bone: Simulation Study, *Archives of Acoustics*, 35, 3, 349 – 360, 2010
- B7. J. Litniewski, A. Nowicki, J. Wojcik, Ultrasonic characterization of trabecular bone: Two scatterers' population model, *Physics Procedia*, 3, 707–712, 2010
- B8. J. Litniewski, A. Nowicki, J. Wojcik, Ultrasonic characterization of cancellous bone using three models of trabecular structure, *ASA, Proceedings of Meetings on Acoustics*, vol.9,020002, 2010
- B9. J. Wojcik, J. Litniewski, A. Nowicki, Modeling and analysis of multiple scattering of acoustic waves in complex media: Application to the trabecular bone, *J. Acoust. Soc. Am.* 130 (4), 1908–1918, 2011
- B10. J. Wojcik, J. Litniewski, A. Nowicki, "Example of structure modeling and analysis of ultrasound scattering for trabecular bone", *Archives of Acoustics*, 35, 4, 701-713, 2010
- B11. L. Cieřlik, J. Litniewski, M. Lewandowski, A. Nowicki, Evaluation of trabecular bone properties using ultrasonic scanner, *Hydroacoustics, EAA Annual Journal*, 13, 39 – 52, 2010
- B12. L. Cieřlik, J. Litniewski, Ultrasonic evaluation of deeply located trabecular bones – preliminary results, *Acoustical Imaging*, vol.31, edited by A. Nowicki, J. Litniewski and T. Kujawska, Springer, 2012, pp. 45-54
- B13. J. Litniewski, L. Cieřlik, M. Lewandowski, R. Tymkiewicz, B. Zienkiewicz, A. Nowicki, Ultrasonic Scanner for In Vivo Measurement of Cancellous Bone Properties From Backscattered Data, *IEEE Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control*, 59, 7, 1470-1477, 2012

#### Konferencje

1. J. Litniewski, A. Sawicki, Parametric imaging of a trabecular bone by scanning acoustic microscope, *International Symposium on Hydroacoustics and Ultrasonics-EAA Symposium*, Gdańsk, 1997
2. J. Litniewski, A. Sawicki, Imaging of acoustic properties of trabecula by scanning acoustic microscope, *2nd Baltic Bone Conference*, Bornholm, 1997
3. J. Litniewski, A. Sawicki, Imaging of attenuation and impedance distribution of a trabecular bone by a scanning acoustic microscope, *4 European Conference on Engineering and Medicine*, Warsaw, 1997
4. J. Litniewski, Imaging and measuring of a single trabecula by Scanning Acoustic Microscope, *German-Polish Symposium on Ultrasound*, Halle, 1998
5. J. Litniewski, A. Nowicki, A. Sawicki, Detection of bone disease with ultrasound, *UI99/WCU99*, Lyngby, Denmark, 1999
6. J. Litniewski, A. Nowicki, A. Sawicki, Bones characterization with ultrasound, *DEGA '02, Quantitative Ultrasound in Medicine*, Bochum, 2002
7. J. Litniewski, A. Nowicki, Back Scattering Ultrasounds for Assessment of a Trabecular Bone Status, *EUROSON*, Warszawa, 2002
8. J. Litniewski, Statistical Sensitivity of the Envelope of Pulse-Echo Signal Backscattered in Trabecular Bone: Simulation Study, *International Congress on Acoustics*, Madryt, 2007
9. J. Litniewski, L. Cieřlik, J. Wojcik, A. Nowicki, Statistical properties of trabecular bone backscatter: experimental and simulations results, *2010 IEEE International Ultrasonic Symposium*, 2010

10. J. Litniewski, A. Nowicki, J. Wójcik, Ultrasonic characterization of cancellous bone using three models of trabecular structure, JASA, 159 ASA Meeting, 2010
11. J. Litniewski, L. Cieřlik, M. Lewandowski, R. Tymkiewicz, B. Zienkiewicz, A. Nowicki, Bone scanner for examination of deeply located trabecular bones, IEEE International Ultrasonic Symposium, Orlando, 2011
12. L. Cieřlik, J. Litniewski, Ultrasonic evaluation of deeply located trabecular bones – preliminary results, International Symposium on Acoustical Imaging, Warsaw, 2011
13. J. Litniewski, J. Wójcik, A. Nowicki, Contribution of multiple scattering to the trabecular bone backscatter - dependence on porosity and frequency, 2012 IEEE International Ultrasonic Symposium, Dresden, 2012

### C. Ultrasonografia ilościowa wysokiej częstotliwości (30MHz)

W 1991 roku rozpocząłem pracę jako główny wykonawca w projekcie badawczym, którego celem była konstrukcja ultrasonografu pracującego przy częstotliwości 30MHz a więc znacznie wyższej od częstotliwości pracy standardowych ultrasonografów (2-10MHz). Ultrasonograf, nazywany przez nas mikrosonografem, przeznaczony był do obrazowania *in vivo* skóry i gałki ocznej. Mój udział w projekcie związany był z konstrukcją i oceną jakości głowic ultradźwiękowych jak i całym szeregiem badań prowadzonych na pacjentach za pomocą kolejnych wersji ultrasonografu. Prace inżynierskie związane z ulepszaniem przyrządu i podwyższeniem częstotliwości do 50 MHz oraz naukowe nad optymalizacją sondowania i interpretacją otrzymywanych obrazów, kontynuowane były w następnym projekcie badawczym w latach 1996-1999. Za szczególnie ważne osiągnięcie uważam wyniki badań prowadzonych razem z lekarzami z Centrum Onkologii w Warszawie. Ultrasonograf 30MHz stosowany był do oceny wielkości skórnych zmian nowotworowych, głównie czerniaka. Udało się nam pokazać, że obrazy otrzymywane za pomocą mikrosonografu, pozwalają na ocenę przedoperacyjną grubości nacieku czerniakowego skóry, co umożliwia właściwe zaplanowanie zakresu operacji (wg skali Breslow'a) i chroni pacjenta przed często konieczną powtórną operacją (Nowotwory, 1995 – C1). Nowe rozwiązania techniczne jak i wyniki badań medycznych związane z obrazowaniem za pomocą mikrosonografu opublikowane zostały w *European Journal of Ultrasound* (C2), *Ultrasonografia* (C3) i *Okulistyka* (C4) oraz w wydawnictwie Academic Press: *Acoustical Imaging tom 22* (C5). Mikrosonograf stał się następnie tematem wspólnego projektu wdrożeniowego ZU i firmy ultrasonograficznej Echo-son, w którym również brałem udział.

Tematyka wykorzystująca mikrosonograf powróciła w 2008 roku. Do tej pory przyrząd został zmodernizowany na tyle, że mógł rutynowo być używany przez lekarza dermatologa. Tematem nowych badań była diagnostyka nowotworu podstawnokomórkowego skóry na podstawie analizy zebranych *in vivo* ech ultradźwiękowych. Badanie te prowadziłem wspólnie z moją doktorantką mgr Hanną Piotrkowską oraz przy współpracy dr Elżbiety Szymańskiej, dermatologa w szpitalu MSWiA w Warszawie.

Szacuje się, że na każde trzy zdiagnozowane choroby nowotworowe, jedna dotyczy nowotworu skóry. Nowotwór podstawnokomórkowy (*BCC - Basal Cell Carcinoma*) stanowi 75% przypadków nowotworów skóry. Wystąpienie nowotworu podstawnokomórkowego, często poprzedza wystąpienie tzw. stanu przedrakowego. Badania prowadzone były w celu ilościowej oceny tkanek skóry dotkniętych nowotworem i stanem przedrakowym. Lekarze wybierali i oceniali zmianę. Następnie, sygnały ultradźwiękowe rozproszone w obszarach zmienionych chorobowo były rejestrowane i poddawane analizie. Wyniki porównywane były z analogicznymi parametrami wyznaczonymi dla skóry zdrowej (C6, C7). Analiza polegała na wyznaczeniu parametrów fizycznych tkanki, współczynnika tłumienia i rozproszenia, oraz

własności statystycznych obwiedni ech powracających z tkanki. Pomysł zastosowania histogramów amplitudy ech do oceny zmian zachodzących w tkance wynikał z faktu, że statystyka odebranego sygnału w badaniach ultradźwiękowych zależy od ilości elementów rozpraszających znajdujących się w objętości pomiarowej i rozrzutu wartości ich współczynnika rozproszenia. Objętość pomiarowa w przypadku stosowania częstotliwości 30MHz jest na tyle mała, że o statystyce sygnału decydują elementy o wielkości komórek. Ponieważ zmiany nowotworowe, w przypadku skóry, związane są z pojawieniem się nowych skupisk komórek w strukturze włókien kolagenowych, powinno to być „zauważone” przez sondujący sygnał ultradźwiękowy (C8, C9).

W efekcie wykazaliśmy, że histogramy amplitudy ech ze skóry zdrowej można znacznie lepiej opisać rozkładem K niż rozkładem Rayleiga, charakterystycznym dla standardowych obrazów ultrasonograficznych (C10). Znaleźliśmy znamienne różnice w wartości współczynnika tłumienia i histogramach amplitudy sygnału rozproszonego dla obszarów zmian nowotworowych w stosunku do analogicznych parametrów skóry zdrowej. Okazało się, parametry rozkładu K, zależne od średniej gęstości przestrzennej komórek w tkance mogą służyć do różnicowania tkanek nowotworowych i tkanek zdrowych. Wartości współczynnika tłumienia różniły się istotnie w przypadku BCC i stanów przed rakowych (C11) w porównaniu do wartości otrzymanych dla skóry zdrowej.

Przeprowadziliśmy również symulację fali ultradźwiękowej rozproszonej w modelach numerycznych zmiany nowotworowej i skóry zdrowej. Wyniki pozwalają na interpretację zmian zachodzących w statystyce rozproszenia. Wynikają one ze zmniejszonej gęstości przestrzennej włókien kolagenowych w skórze objętej nowotworem, spowodowanej pojawieniem się klastrów komórek nowotworowych w miejscu włókien (1, 2). Według oceny lekarzy, ilościowa ocena ultradźwiękowa tkanek może być bardzo przydatną w diagnostyce nowotworów skóry. Badania są kontynuowane. Jednocześnie, trwają wstępne prace nad zastosowanie analogicznych metod badawczych dla przypadków zmian nowotworowych w sutku i prostaty, przy wykorzystaniu ech ultradźwiękowych rutynowo rejestrowanych tradycyjnymi ultrasonografiami.

#### Publikacje przed habilitacją

- C1 Z. Nowecki, W. Ruka, A. Nowicki, A. Pęczak, J. Litniewski, J. Liwski, M. Lewandowski, E. Brajta, R. Dardziński, W. Dziewirski, T. Derwinis, Przedoperacyjne badanie grubości skóry USG o częstotliwości 32 MHz, Nowotwory, 3, 1995, 428-436
- C2 E. Szymańska, A. Nowicki, K. Mlosek, J. Litniewski, P. Lewandowski, W. Secomski, R. Tymkiewicz, Skin imaging with high frequency ultrasound-preliminary results, European J. Ultrasound, 12, 2000, 9-16
- C3 K. Mlosek, A. Nowicki, E. Szymańska, W. Jakubowski, W. Secomski, P. Karłowicz, J. Litniewski, M. Lewandowski, Ultradźwiękowy system mikrosonografii skóry: instrumentacja i zastosowanie kliniczne, Ultrasonografia, 2, 1998, 67-76
- C4 T. Kęcik, P. Lewandowski, J. Litniewski, A. Nowicki, W. Secomski, Ocena badań klinicznych wykonanych aparatem ultradźwiękowym wysokiej częstotliwości w wybranych jednostkach chorobowych, Okulistyka, vol.5, 1999, 66-67
- C5 A. Nowicki, J. Litniewski, J. Liwski, W. Secomski, P. Karłowicz, M. Lewandowski, Superficial tissue microsonography, Acoustical Imaging, vol.22, Plenum Press, New York, 1996, 501-507

#### Publikacje po habilitacji

- C6 E. Szymańska, M. Maj, M Majsterek, J. Litniewski, A. Nowicki, L. Rudnicka, The usefulness of high frequency ultrasonography in dermatological practice--ultrasound features of selected cutaneous lesions, *Pol Merkur Lekarski.*, 1, 31,(181), 37-40, 2011
- C7 H. Piotrkowska, J. Litniewski, E. Szymańska, A. Nowicki, Ultrasonic echosignal applied to human skin lesions characterization, *Archives of Acoustics*, **37**, 1, 103-108, 2012
- C8 H. Piotrkowska, J. Litniewski, M. Lewandowski E. Szymańska, A. Nowicki, Use of quantitative ultrasound to measure acoustic properties of human skin, *Archives of Acoustics*, 34, 4, pp.471-480, 2009
- C9 H. Piotrkowska, J. Litniewski, E. Szymańska, M. Lewandowski A. Nowicki, Statistics of envelope of high frequency ultrasound signal backscattered in human dermis , *Hydroacoustics, Annual Journal EAA*, 13, 205 – 214, 2010
- C10 H. Piotrkowska, J. Litniewski, A. Nowicki, E. Szymańska, Statistical analysis of ultrasound echo for skin lesions classification, *Hydroacoustics, Annual Journal EAA*, 15, pp. 171-178, 2012
- C11 H. Piotrkowska, J. Litniewski, A. Nowicki, E. Szymańska, Statistical properties of echosignal obtained from human dermis in vivo, *Acoustical Imaging*, vol. 31, Springer, 2012, pp. 123-134

#### Konferencje

1. H. Piotrkowska, J. Litniewski, E. Szymańska, A. Nowicki, Skin lesions assessment using attenuating and statistical properties of the backscattered ultrasound, *IEEE International Ultrasonic Symposium*, Orlando, 2011
2. H. Piotrkowska., Litniewski J., Nowicki A., Szymańska E., Basal Cell Carcinoma Lesions Characterization With Ultrasound, 2012 *IEEE International Ultrasonic Symposium*, Dresden, 2012

#### **D. Obrazowanie parametryczne tłumienia w tkankach**

Wizualizacja ultradźwiękowa nie zawsze jest narzędziem pozwalającym na jednoznaczny diagnostykę zmian chorobowych. Obrazowaniu różnych zmian patologicznych tkanki towarzyszy często zbliżona jasność obrazu, wynikająca z podobnej echogeniczności tkanek. Bardzo trudne jest na podstawie obrazu USG, różnicowanie zmian nowotworowych łagodnych oraz złośliwych, identyfikacja rodzaju guza, czy też identyfikacja guzów i subnowotworowych nacieków zapalnych. Z drugiej strony wiadomo, z badań tkankowych prowadzonych *in vitro*, że zmiany nowotworowe istotnie różnią się współczynnikiem tłumienia ultradźwięków. Spostrzeżenie to stało się punktem wyjścia do badań na opracowaniu nowej metody obrazowania ultradźwiękowego opartej o estymację zmian współczynnika tłumienia fali ultradźwiękowej w tkance miękkiej. Badania prowadziłem wspólnie z moim doktorantem mgr Ziemowitem Klimonda. Badania wspomagane były dwoma projektami, projektem MNiSW i NCN.

Parametrem mającym umożliwić estymację tłumienia wybrana została częstotliwość średnia paczki ultradźwiękowej sondującej ośrodek, zmieniająca się w funkcji tłumienia i drogi propagacji. Częstotliwość średnia wyznaczana była za pomocą korelacyjnego estymatora częstotliwości średniej a do estymacji trendu zmian tej częstotliwości wzdłuż drogi propagacji i tym samym pomiaru lokalnej wartości współczynnika tłumienia, wykorzystano metody analizy widma osobliwego (SSA). Otrzymane wyniki estymacji



tłumienia uwzględniały wpływ pasma przetwornika oraz rozbieżności między zakładanym rozkładem gaussowskim a ograniczonym rozkładem widma zmierzonego (D1) Opracowane zostały metody kompensacji zmian częstotliwości średniej paczki z powodu ogniskowania fali (D2,1,2,4). Przeanalizowany został wpływ obecności silnych ech na wyniki estymacji częstotliwości i zaproponowano skuteczną metodę jego korekcji. Stosując symulacje numeryczne zbadany został wpływ długości okna danych oraz liczby uśrednianych sąsiadujących linii na odchylenie standardowe oraz błąd maksymalny zastosowanego estymatora tłumienia co pozwoliło określić teoretyczną rozdzielczość obrazów tłumienia.

Przeprowadzone zostały również badania fizycznych modeli tkankowych o zróżnicowanych tłumieniu. Analizowane były różne techniki zbierania danych ultradźwiękowych prowadzące do obniżenie poziomu szumu w danych wejściowych dla estymatora współczynnika tłumienia. Były to : technika *Spatial Compounding*, polegająca na obrazowaniu z uśrednianiem w przestrzeni, technika *Frequency Compounding*, w której przetwarzanie, prowadzące do uzyskania estymatora, odbywało się w wybranych pasmach częstotliwości składających się na pełne pasmo echa oraz technika wykorzystująca do uzyskania danych wejściowych metodę apertury syntetycznej (*SAFT*) (D3,D4,D5,D6, 3,5,6,7).

Największe obniżenie wariancji estymatora tłumienia uzyskano stosując aperturę syntetyczną. Stosując aperturę syntetyczną możliwe jest wykrywanie różnic w tłumieniu o wielkości 0.1dB/cm·MHz z rozdzielczością przestrzenną 10mm. Takie wartości rozdzielczości i dokładności wyznaczania współczynnika tłumienia są interesujące dla diagnostyki medycznej. Temat jest kontynuowany a badania idą w kierunku obrazowania tłumienia w warunkach *in vivo* przy stosowaniu standardowego ultrasonografu.

#### Publikacje po habilitacji

- D1. Z. Klimonda, J. Litniewski, A. Nowicki, Spatial resolution of attenuation imaging, Archives of Acoustics,34,4,461-470, 2009
- D2. J. Litniewski, Z. Klimonda, A. Nowicki, Applying Echoes Mean Frequency Shift for Attenuation Imaging in Tissue, Acoustical Imaging vol.30, Springer, 97-104, 2011
- D3. Z. Klimonda, J. Litniewski, A. Nowicki, Tissue Attenuation Estimation from Backscattered Ultrasound Using Spatial Compounding Technique – Preliminary Results, Archives of Acoustics, 35, 4, 643–651, 2010
- D4. Z. Klimonda, J. Litniewski, A. Nowicki, Synthetic Aperture technique applied to tissue attenuation imaging, Archives of Acoustics, 36, 4, 927–935, 2011
- D5. J. Litniewski, Z. Klimonda, A. Nowicki , Parametric sonographic imaging – application of synthetic aperture technique to imaging attenuation of ultrasound in tissue structures, Hydroacoustics, Annual Journal EAA, 15, 2012, pp. 99-110
- D6. Z. Klimonda, J. Litniewski, A. Nowicki, Enhancing tissue attenuation estimation from backscattered ultrasound using spatial compounding and synthetic aperture techniques, Acoustical Imaging vol.31, Springer, 2012, pp. 181-190

#### Konferencje

- 1. J. Litniewski, A. Nowicki, Z. Klimonda, M. Lewandowski, E. Szymańska, Correcting for Focusing when Estimating Tissue Attenuation from Mean Frequency Shift, IEEE International Ultrasonic Symposium, Rzym, 2009

2. J. Litniewski., Klimonda Z., Nowicki A, Applying echoes' mean frequency shift for attenuation imaging in tissue, 29th International Symposium on Acoustical Imaging, Monterey, 2009
3. Z. Klimonda, J. Litniewski, A. Nowicki., Tissue attenuation estimation from backscattered ultrasound using spatial compounding technique - preliminary results, 57 Open Seminar on Acoustics, 2010
4. J. Litniewski, Z. Klimonda, A. Nowicki., Obrazowanie tłumienia fal ultradźwiękowych w tkance miękkiej, Polski Komitet Inżynierii Biomedycznej SEP, 2010
5. Z. Klimonda, J. Litniewski, A. Nowicki, Enhancing tissue attenuation estimation from backscattered ultrasound using spatial compounding and synthetic aperture techniques, International Symposium on Acoustical Imaging, Warsaw, 2011
6. Z. Klimonda, J. Litniewski, A. Nowicki, Correcting for bounded bandwidth when estimating tissue attenuation from mean frequency downshift, IEEE International Ultrasonic Symposium, Dresden, 2012
7. Z. Klimonda, J. Litniewski, P. Karwat, W. Secomski, A. Nowicki, Tissue attenuation imaging - Synthetic Aperture Focusing versus Spatial Compounding, 2012 IEEE International Ultrasonic Symposium Dresden, 2012

#### **E. Zastosowanie transmisji kodowanej w diagnostyce ultradźwiękowej**

W latach 2002 - 2008 uczestniczyłem (wspólnie z prof. Nowickim) jako główny wykonawca w projektach badawczych, związanych z zastosowaniem do medycznego obrazowania ultradźwiękowego i pomiarów tkankowych, sygnałów złożonych z binarną modulacją fazy. Mój udział, w pierwszej fazie badań, związany był głównie z zastosowaniem sygnałów kodowanych za pomocą par komplementarnych sekwencji Golay'a do sondowania kości gąbczastej. Główne osiągnięcie tych prac to przeprowadzony doświadczalnie dowód pokazujący, że przy stosowaniu kodowania, informacja o tłumieniach własnościach badanej tkanki jest w pełni zachowana. Jednocześnie, wzrost stosunku sygnału do szumu dla sygnałów kodowanych umożliwia wyznaczenie współczynnika BUA dla kości gąbczastej w dwukrotnie szerszym zakresie częstotliwości w porównaniu do sygnałów nie kodowanych. Zalety kodowanej transmisji w badaniach kości prezentowałem w 2003 roku na *IEEE Ultrasonic Symposium* w Honolulu (1). Rezultaty badań sygnałów kodowanych opublikowane zostały w całym szeregu czasopism w tym w *Ultrasonics* (E1) oraz *Ultrasonografia* (E6), *Sensors & Transducers Magazine* (E3), *Archives of Acoustics* (E2, E4) i wydawnictwie Academic Press: *Acoustical Imaging tom 27* (E5). Dalszy mój udział w tym projekcie związany był z pomiarami wpływu kodowania sygnału na charakterystykę pola ciśnienia emitowanego przez przetwornik. Pomiary prowadzone były w wodzie i dla przypadku przejścia przez tkankę miękką. Okazało się, że charakterystyki pola dla sygnałów kodowanych, ale nie kompresowanych są analogiczne do charakterystyk pola otrzymywanych dla długich sygnałów sinusoidalnych. Analogiczne charakterystyki dla sygnałów po kompresji odpowiadają charakterystykom otrzymanym dla krótkich impulsów sinusoidalnych. Okazało się również, że silne tłumienie w tkankach powoduje spłaszczenie charakterystyki pola przetwornika i tym samym pogorszenie rozdzielczości w układach obrazujących. Rezultaty otrzymane dla tkanki prezentowałem na konferencji *IEEE Ultrasonic Symposium* w Rotterdamie (2) a wyniki pomiarów w wodzie dla różnych rodzajów kodowania zostały opublikowane w *Ultrasonics* (E7). Rezultaty otrzymane dla pomiarów w tkankach zamieszczone zostały w *Ultrasound in Medicine and Biology* (E8). Dalsze badania nad technikami kodowania sygnału nadawanego i kompresji sygnału odbieranego dotyczyły wpływu ograniczonego pasma przenoszenia przetwornika na jakość kodowania i metod prowadzących do zwiększenia czasu powtarzania nadawania przy stosowaniu kodu Golay'a (E9).

Technika kodowania wykorzystywana jest obecnie zarówno w badaniach kości jak i w ultrasonografii ilościowej, przy obrazowaniu parametrycznym tłumienia i wyznaczaniu własności skóry przy częstotliwościach powyżej 25MHz.

#### Publikacje przed habilitacją

- E 1 Nowicki A, Litniewski J, Secomski W, Lewin PA, Trots I, Estimation of ultrasonic attenuation in a bone using coded excitation, Ultrasonics 41 (8) , 2003, 615-621
- E 2 Nowicki A., Secomski W., Litniewski J., Trots I., On the Application of Signal Compression Using Golay's Codes Sequences in Ultrasound Diagnostic, Archives of Acoustics 28 (4): 313-324, 2003
- E 3 Trots I., Nowicki A., Litniewski J. Choosing an ultrasonic sensor for ultrasonography. Sensors & Transducers Magazine, vol.36, 10, 2003, 8-15
- E 4 Trots I., Nowicki A., Secomski W. Litniewski J. , Golay sequences – side lobe canceling codes for ultrasonography, Archives of Acoustics, 29, 1, 2004, 87-97
- E 5 Nowicki A, Litniewski J, Secomski W, Lewin P.A, Trots I, Ultrasonic examination of hard tissue using Golay complementary series excitation, Acoustical Imaging , vol 27, 2004, 619-626
- E 6 Litniewski J., Nowicki A. Trots I., Zastosowanie ultradźwięków kodowanych do badania własności kości gąbczastej, Ultrasonografia, 18, , 2004, 17-21
- E 7 Nowicki A., Klimonda Z., Lewandowski M., Litniewski J, Lewin P., Trots I., Comparison of sound fields generated by different coded excitations – Experimental results, Ultrasonics, 44, 2006, 121-129

#### Publikacje po habilitacji

- E 8 Litniewski J, A. Nowicki, Z. Klimonda, M. Lewandowski, Sound Fields for Coded Excitations in Water and Tissue: Experimental Approach, Ultrasound in Medicine and Biology, 33, 4, 601-607, 2007
- E 9 Trots I., Nowicki A., Lewandowski M., Secomski W., Litniewski J., The influence of transducer bandwidth and double pulse transmission on the encoded imaging ultrasound, Hydroacoustics, vol 11, EAA Annual Journal, 2008 pp 419-431.

#### Konferencje

1. Litniewski J., Nowicki A., Secomski W., Lewin P.A., Trots I., „Advantages of Probing the Trabecular Bone with Golay Coded Ultrasound”, IEEE International Ultrasonic Symposium, vol 1, 2004, 462-464
2. Litniewski J., Nowicki A., Klimonda Z., Lewandowski M., Trots I., Sound Fields for Coded Excitations in Water and Tissue, 2005 IEEE International Ultrasonics Symposium, 2005, 2030-2033

Na zakończenie chcę wspomnieć o badaniach leżących poza głównym nurtem moich zainteresowań, takich jak ultradźwiękowa stymulacja błon lipidowych a także pracach prowadzonych od roku wspólnie z mgr Piotrem Karwatem, którego jestem opiekunem naukowym.

W latach 2003-2005 uczestniczyłem we wspólnym z Drexell University, Filadelfia, grantie NRC (USA) pt. The influence of remote mechanical stimulus on viscoelastic properties of biological membranes. Celem grantu było opracowanie ultradźwiękowej metody zwiększania przepuszczalności kapsułek fosfolipidowych. Lekarstwa umieszczone w takich kapsułkach mogły by być uwalniane w kontrolowany sposób w ściśle określonym obszarze ciała pacjenta, za pomocą oddziaływania z falą akustyczną. Wstępnie otrzymane rezultaty były na tyle zachęcające, że wystąpiliśmy o kontynuację grantu i w efekcie wspólne badania kontynuowane były do roku 2007. Moim głównym zadaniem w tym projekcie była budowa układu do nadźwiękawiania próbek z kapsułkami oraz dobór parametrów fali ultradźwiękowej takich jak długość impulsów, ich amplituda, okres powtarzania i modulacja amplitudy. Dla wybranych zakresów parametrów nadźwiękawiania otrzymaliśmy dobrze mierzalne wyniki, świadczące o oddziaływaniu fali ultradźwiękowej z kapsułkami, prowadzącym do uwalniania substancji fluorescencyjnej umieszczonej w kapsułkach. Wyniki badań opublikowane zostały w czasopiśmie *Ultrasonics* (F1) i prezentowane były na konferencji AICHE (1).

Badania prowadzone wspólnie z mgr Karwatem dotyczą pomiaru i parametrycznego obrazowania prędkości fali ultradźwiękowej w tkankach. Temat jest szczególnie istotny ze względu na aberracje obrazu ultrasonograficznego występujące z powodu przyjęcia błędnych wartości prędkości w obrazowanej tkance. Informacja o lokalnej wartości prędkości wyznaczana jest ze zmian fazy sondującej fali ultradźwiękowej. Zmiany prędkości mogą być powodowane np. przez zmiany temperatury tkanki. Nasze wstępne badania dotyczyły wizualizacji rozkładu prędkości/temperatury w tkance podczas punktowego jej nagrzewania za pomocą ultradźwięków dużej mocy. W czasie nagrzewania mierzone były lokalne zmiany prędkości i mierzona była termoparą temperatura w tkance. Otrzymane wyniki pokazują, że budowa ultradźwiękowego „termometru” jest jak najbardziej możliwa (F2, F3).

#### Publikacje

- F1 Pong M., Umchid S., Guarino A., Lewin P., Litniewski J., Nowicki A., Wrenn S., In vitro ultrasound-mediated leakage from phospholipid vesicles, *Ultrasonics* 45, 2006, 133–145
- F2 Karwat P., Litniewski J., Secomski W., Kujawska T., Krawczyk K., Kruglenko E., Gambin B., Non-invasive imaging of thermal fields induced in soft tissues in vitro by focused ultrasound using analysis of ultrasonic echoes displacement, *Proceedings of International Conference Biomedical Engineering - 2012 Kaunas University of Technology*, 66-72, 2012
- F3 Karwat P., Litniewski J., Secomski W., Kujawska T., Krawczyk K., Kruglenko E., Gambin B., Nowicki A., Nieinwazyjne obrazowanie temperatury tkanki miękkiej in vitro metodą analizy przemieszczenia ech ultradźwiękowych, *59th Open Seminar on Acoustics, Boszkowo*, 101-104, 2012

#### Konferencje

1. Pong M., Umchid S., Guarino A., Lewin P., Litniewski J., Nowicki A., Wrenn S., In Vitro Ultrasound-Mediated Leakage from Phospholipid Vesicles, *AICHE 2006, San Francisco*