

Polska Akademia Nauk
Instytut Podstawowych Problemów Techniki
Zakład Ultradźwięków

**Wyznaczanie parametrów skóry
ludzkiej *in vivo* za pomocą
ultradźwięków wysokiej
częstotliwości**

ROZPRAWA DOKTORSKA

Hanna Piotrkowska – Wróblewska

PROMOTOR:
Dr hab. Jerzy Litniewski, prof. IPPT PAN

Warszawa 2013

*Serdecznie dziękuję
Panu Profesorowi Jerzemu Litniewskiemu
za wiele cennych rad i wskazówek,
poświęcony czas i opiekę naukową
w trakcie powstawania niniejszej pracy.*

Realizacja pracy była możliwa dzięki wsparciu finansowemu w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N518 295 140 oraz finansowaniu ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego: POKL 8.2.1 „*Wsparcie przedsiębiorczości naukowców biotechnologii medycznej poprzez stypendia, staże i szkolenia*”.

Realizacja pracy była możliwa dzięki wsparciu finansowemu w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N518 295 140 oraz finansowaniu ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego: POKL 8.2.1 „*Wsparcie przedsiębiorczości naukowców biotechnologii medycznej poprzez stypendia, staże i szkolenia*”.

SPIS TREŚCI

Streszczenie.....	13
Abstract.....	15
ROZDZIAŁ I. CHARAKTERYSTYKA PODJĘTEGO PROBLEMU, CEL I ZAKRES PRACY	17
1.1. Epidemiologia nowotworów skóry.....	17
1.2. Metody diagnozowania tkanek oraz cel pracy.....	18
1.3. Dotychczasowy stan badań.....	23
1.4. Układ pracy.....	27
ROZDZIAŁ II. PODSTAWY TEORETYCZNE	29
2.1. Propagacja fal ultradźwiękowych w ośrodkach biologicznych.....	29
2.2. Tłumienie fal ultradźwiękowych.....	33
2.2.1. Zjawisko absorpcji.....	33
2.2.2. Zjawisko rozproszenia.....	35
2.3. Statystyka obwiedni sygnałów rozproszonych.....	38
2.3.1. Rozkład Rayleigha i Rozkład K.....	39
2.4. Metody wyznaczania parametrów ilościowych.....	43
2.4.1. Metoda wyznaczania współczynnika tłumienia.....	43
2.4.2. Metoda wyznaczania współczynnika rozproszenia wstecznego.....	44

2.4.3. Metoda wyznaczania efektywnej liczby rozpraszaczy.....	46
ROZDZIAŁ III. CHARAKTERYSTYKA UKŁADU POMIAROWEGO I REJESTRACJA DANYCH	47
3.1. Mikrosonograf do obrazowania tkanek skóry.....	47
3.1.1. Ultrasonografia kodowana.....	49
3.1.2. Wpływ działania Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia na jakość uzyskanych obrazów.....	51
3.2. Adaptacja mikrosonografu na potrzeby obrazowania ilościowego.....	52
3.2.1. Rejestracja sygnałów RF oraz ustawień Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia.....	53
3.3. Charakterystyka głowicy.....	54
3.4. Rejestracja sygnałów ze skóry ludzkiej <i>in vivo</i>	54
3.5. Wybór obszarów ROI.....	56
ROZDZIAŁ IV. PORÓWNANIE ROZKŁADÓW K ORAZ RAYLEIGHA Z DANymi EMPIRYCZNYMI - WYBÓR FUNKCJI GĘSTOŚCI PRAWDOPODOBIENSTWA	59
ROZDZIAŁ V. OCENA ILOŚCIOWA SYGNAŁÓW EKSPERYMENTALNYCH – WYNIKI	63
5.1. Przygotowanie zarejestrowanych sygnałów – kompensacja ZRW.....	63
5.2. Wyznaczanie współczynnika tłumienia.....	65
5.2.1. Kompensacja wpływu ogniskowania na kształt widma.....	66
5.2.2. Rozdzielczość przestrzenna	68
5.2.3. Wyniki.....	69
5.3. Wyznaczanie współczynnika rozproszenia wstecznego	71
5.3.1. Rozdzielczość przestrzenna.....	72
5.3.2. Wyniki.....	73
5.4. Ocena statystyczna obwiedni sygnałów.....	75
5.4.1. Przygotowanie sygnałów do oceny statystycznej - kompensacja wpływu tłumienia.....	75
5.4.2. Rozdzielczość przestrzenna	76

5.4.3. Wpływ ogniskowania na wartość efektywnej liczby rozpraszaczy...	78
5.4.4. Wyniki	80
ROZDZIAŁ VI. WPŁYW GĘSTOŚCI PRZESTRZENNEJ	
ROZPRASZACZY NA WARTOŚĆ PARAMETRU M	85
6.1. Wstęp.....	85
6.2. Objętość pomiarowa.....	85
6.3. Wzorce tkankowe – budowa.....	89
6.4. Rejestracja sygnałów RF z wzorców tkankowych.....	90
6.5. Analiza właściwości statystycznych sygnałów zarejestrowanych z wzorców tkankowych.....	91
ROZDZIAŁ VII. MODEL STRUKTURY SKÓRY WŁAŚCIWEJ ORAZ	
POWSTAWANIA SYGNAŁU ROZPROSZONEGO	95
7.1. Wstęp.....	95
7.2. Budowa skóry ludzkiej.....	97
7.3. Budowa skóry dotkniętej nowotworem podstawnocomórkowym.....	99
7.4. Model skóry.....	100
7.4.1. Model skóry zdrowej.....	100
7.4.2. Model skóry dotkniętej nowotworem podstawnocomórkowym...101	
7.4.2.1. Model komórki nowotworowej.....	102
7.4.2.2. Model klastrów nowotworowych.....	103
7.5. Rozproszenie na walcu, dwóch koncentrycznych sferach oraz klastrze.....	105
7.5.1. Rozproszenie na walcu – model pojedynczego włókna kolagenowego.....	105
7.5.2. Rozproszenie na dwóch koncentrycznych sferach – model komórki nowotworowej.....	107
7.5.3. Rozproszenie na klastrze złożonym z komórek	109
7.6. Symulacja sygnału rozproszonego.....	111
ROZDZIAŁ VIII. OCENA ILOŚCIOWA SYGNAŁÓW	
SYMULOWANYCH – WYNIKI	115

ROZDZIAŁ IX. WNIOSKI OCENY ILOŚCIOWEJ	119
ROZDZIAŁ X. PODSUMOWANIE	123
BIBLIOGRAFIA	129

STRESZCZENIE

Praca niniejsza, dotyczy wykorzystania fal ultradźwiękowych o częstotliwości 20-30MHz, w kontekście ilościowej oceny tkanek skóry dotkniętych jednym z najczęściej występujących nowotworów - nowotworem podstawnokomórkowym. Celem jej było opracowanie metod, które obok standardowego obrazu USG, dostarczałyby dodatkowych informacji na temat badanej tkanki w postaci danych parametrycznych, ułatwiając tym samym diagnozowanie jej stanu.

Poza tłem badawczym oraz szkicem obecnego stanu wiedzy, w pracy przedstawiono metody umożliwiające wyznaczanie takich parametrów ilościowych tkanki jak współczynnik tłumienia i współczynnik rozproszenia wstecznego fali ultradźwiękowej oraz sposoby oceny statystycznej amplitudy ech z tkanki. Zaprezentowane metody, wyznaczania współczynników tłumienia oraz rozproszenia wstecznego, oparto na dostępnych w literaturze rozwiązaniach, nie mniej jednak uzupełniono je o techniki umożliwiające kompensowanie wpływu aparatury pomiarowej. Analizę statystyczną sygnałów przeprowadzono przy wykorzystaniu funkcji gęstości prawdopodobieństwa określanej mianem rozkładu K, która jak wykazano, znacznie lepiej estymuje histogramy wartości obwiedni ech, aniżeli stosowany powszechnie w ultrasonografii rozkład Rayleigha. Możliwość wykorzystania parametru rozkładu K, efektywnej liczby rozpraszaczy (M), jako źródła informacji na temat mikrostruktury analizowanego ośrodka, sprawdzono eksperymentalnie poprzez wyznaczenie wartości tego parametru na podstawie sygnałów zarejestrowanych z wzorców tkankowych o różnej koncentracji struktur rozpraszających.

Opracowane metody wykorzystano do analizy sygnałów zarejestrowanych przez lekarzy dermatologów, od pacjentów z nowotworem podstawnokomórkowym oraz rogowaceniem posłonecznym, za pomocą specjalnie przystosowanego, na potrzeby realizacji niniejszej pracy mikrosonografu.

Otrzymane wyniki potwierdziły słuszność hipotezy o możliwości różnicowania stanu tkanek na podstawie ich oceny ilościowej. Wykazano, że wartość współczynnika tłumienia zmienia się istotnie zarówno w przypadku zmian nowotworowych oraz zmian przednowotworowych w stosunku do wartości wyznaczanych dla skóry zdrowej. Zmiany wartości współczynnika rozproszenia wstecznego występują wyłącznie w przypadku tkanek ze zmianami

nowotworowymi. Wartości parametru M , wyznaczone w wyniku oceny statystycznej, również wykazały istotne różnice w przypadku skóry zdrowej oraz skóry ze zdiagnozowanym stanem przedrakowym w stosunku do wartości otrzymanych dla rozproszenia w zmianach nowotworowych.

Interpretacja otrzymanych wyników, stała się możliwa poprzez opracowanie numerycznego modelu skóry, który umożliwił symulację sygnałów rozproszonych w tkance w różnym stadium zaawansowania choroby nowotworowej. Zasymulowane sygnały poddane zostały analizie statystycznej. Otrzymane wyniki wykazały, że obserwowany doświadczalnie, w przypadku zmian nowotworowych, spadek parametru M jest z dużym prawdopodobieństwem związany z zastąpieniem włókien kolagenowych przez komórki nowotworowe. Potwierdza to tym samym hipotezę, że wartości wyznaczanych parametrów powiązane są z mikrostrukturą analizowanej tkanki i mogą stanowić one dodatkowe źródło informacji na temat jej stanu.

ABSTRACT

The dissertation concerns the use of the ultrasonic waves at the frequency of 20-30 MHz in order to quantitatively characterize the skin tissues affected by one of the most common types of skin cancer - the basal cell carcinoma. The aim of the thesis was developed the methods which will provide besides the standard USG image, some additional information about the examined tissue in the form of the parametric data, thereby facilitating the diagnosis.

In the thesis the methods of the determination of the attenuation coefficient and the backscatter coefficient and also the techniques of the statistical analysis of the envelope of the echoes from the tissues are presented. The presented methods for determination of the attenuation and backscattering are based on the solutions which are presented in the literature, however they are completed with the techniques of the compensation of the impact of the measuring scanning system. The statistical analysis was conducted with the use of the probability density function which is defined as the K distribution. It has been shown that this distribution more adequately estimates the histograms of the envelope of echoes from the skin tissues than the Rayleigh distribution which commonly used in the ultrasonic analysis. The possibility of applying of the parameter of the K distribution, so called the effective number of scatterers (M), as a source of the information about the microstructure of the analyzed medium, was verified experimentally by determining the value of the M parameter. The experiment was conducted on the phantoms with various spatial density of scatterers.

The developed methods were applied to analyze the RF signals which were recorded by dermatologists, in examination of the patients who were diagnosed with basal cell carcinoma and actinic keratosis. The signals were recorded by use of the scanning system which was adapted for the needs of the project. The obtained results confirm the hypothesis on the possibility of distinguishing the tissues on the basis parameters.

It has been presented that the value of the attenuation coefficient for precancerous and cancerous tissues varies significantly from healthy skin. The changes in the value of the backscatter coefficient are observed only for skin tissues with the diagnosed cancer.

The interpretation of the obtained results was made due to the development of the model of dermis, which has enabled the simulation of signals coming from

ABSTRACT

the tissues at different stages of cancer. The simulated signals were subjected to statistical analysis.

The obtained results showed that the, decrease of the M parameter in the case of cancerous lesions observed experimentally, is probably related to the replacement of the collagen fibers by tumor cells. It confirms the hypothesis that the values of the determined parameters are connected with the microstructure of the analyzed fragments of dermis and they can provide some additional information about the condition of tissues.

ROZDZIAŁ I

CHARAKTERYSTYKA PODJĘTEGO PROBLEMU, CEL I ZAKRES PRACY

1.1. EPIDEMIOLOGIA NOWOTWORÓW SKÓRY

Statystyki zachorowalności na nowotwory skóry wskazują, że liczba notowanych każdego roku na świecie nowych przypadków wzrasta. W chwili obecnej przekracza ona już 3 miliony. Szacuje się, że na każde trzy zdiagnozowane choroby nowotworowe, jedna dotyczy nowotworu skóry. Wśród nich 90% stanowią trzy najczęściej występujące schorzenia, określane wspólnym mianem „raka skóry”: nowotwór podstawnocomórkowy (*Basal Cell Carcinoma*), nowotwór kolczystocomórkowy (*Squamous Cell Carcinoma*) oraz czerniak złośliwy (*Malignant Melanoma*). Dominującym schorzeniem w tej grupie jest nowotwór podstawnocomórkowy, który to stanowi 75% przypadków [1].

W niniejszej pracy, skupiono uwagę na najczęściej występującym nowotworze - raku podstawnocomórkowym – *Carcinoma Basocellulare*, *Basal Cell Carcinoma* (*BCC*), określanym również, jako *basalioma*.

Za główny powód wzrostu zachorowalności na ten typ nowotworu, szacowany na poziomie około 3-6% każdego roku, uważany jest spadek grubości warstwy ozonu, a tym samym wzrost poziomu promieniowania UV, na jakie narażona zostaje skóra. Szacuje się, że 1% spadek grubości warstwy ozonowej, powoduje prawie 3% wzrost zachorowalności na *BCC*. Fakt ten, w połączeniu z wysokim zagrożeniem wystąpienia *BCC* u osób zamieszkujących szerokości geograficzne blisko równika, jak i z panującą w społeczeństwie modą na opalanie powoduje, że liczba diagnozowanych nowotworów podstawnocomórkowych nie tylko wzrasta, ale również przyczynia się do tego, że są one diagnozowane u coraz młodszych osób.

W Polsce dokładny wskaźnik zachorowalności na nowotwory skóry nie jest znany. W 2005 roku, zarejestrowano około 9300 nowych przypadków, różnego typu nowotworów skóry, zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Dane te wydają się jednak znacznie zaniżone. Dla porównania bowiem w Stanach

Zjednoczonych łączna zachorowalność u kobiet i u mężczyzn w 2002 roku wyniosła ponad milion nowych przypadków [2].

Wystąpienie nowotworu podstawnokomórkowego, często poprzedza wystąpienie tzw. stanu przedrakowego. Jednym z takich stanów jest rogowacenie posłoneczne (*Actinic Keratosis, AK*). Niebezpieczeństwo związane z występowaniem tego typu zmiany, wiąże się w głównej mierze z trudnym do przewidzenia kierunkiem rozwoju schorzenia. Może ono przez długi okres czasu nie stanowić zagrożenia dla życia i zdrowia pacjenta, a następnie ulec remisji, nie mniej jednak szacuje się, że około 65% zdiagnozowanych przypadków raka kolczystokomórkowego oraz ponad 35 % zdiagnozowanych przypadków nowotworu podstawnokomórkowego rozwija się właśnie na podłożu AK [3]. W związku z tym, istotną kwestią u osób, u których zdiagnozowano rogowacenie posłoneczne stanowi monitorowanie choroby tak, aby w przypadku stwierdzenia obecności komórek nowotworowych podjąć odpowiednie leczenie. Konsultacje, które zostały przeprowadzone z dermatologami, w trakcie realizacji badań zaprezentowanych w rozprawie, wskazują jednak, że wychwycenie momentu nowotworzenia, na podstawie dostępnych nieinwazyjnych metod diagnostycznych, stanowi bardzo poważny problem. Diagnozę oraz decyzję o konieczności podjęcia odpowiedniej terapii, ustala się w obecnej chwili na podstawie wyników biopsji, która to w przypadku konieczności wykonywania jej regularnie, w trakcie badań kontrolnych, staje się dużym obciążeniem dla pacjenta.

Obok wysokiego poziomu zachorowalności na *BCC* oraz problemów związanych z odpowiednio wczesnym rozpoznaniem, niepokojący jest również fakt związany z tym, że nowotwór podstawnokomórkowy należy do schorzeń, wśród których obserwuje się bardzo częsty nawrót choroby. Szacuje się, że około 2/3 wyleczonych przypadków powtórzy się w przeciągu 3 lat, a wśród 18% nawrót schorzenia nastąpi w okresie 5-10 letnim [1].

Biorąc pod uwagę szereg przytoczonych powyżej faktów, poszukiwanie nowoczesnych metod diagnostycznych w dermatologii, nabiera szczególnego znaczenia. Konieczne staje się zatem opracowywanie technik, które umożliwią przeprowadzanie odpowiednich badań w sposób szybki, tani i przyjazny pacjentowi na każdym etapie, tzn.: począwszy od badań profilaktycznych, poprzez diagnostykę, okres leczenia jak i obserwację po zakończeniu terapii.

1.2. METODY DIAGNOZOWANIA TKANEK ORAZ CEL PRACY

Do końca XIX w. nieznane były techniki pozwalające na nieinwazyjne badanie wnętrza żywych organizmów. Dopiero odkrycie w 1895r przez Wilhelma

Konrada Roentgena promieni X zmieniło diametralnie sytuację: rozpoczęła się era metod obrazowania wewnętrznych organów organizmów, w tym również człowieka, bez konieczności naruszania ciągłości tkanek. Obecnie techniki obrazowania wykorzystują nie tylko promienie X, ale również szeroki zakres widma promieniowania elektromagnetycznego, cząstki elementarne, czy też fale akustyczne o częstotliwościach od setek kiloherców do gigaherców. Ogromna popularność metod wizualizacji tkanek *in vivo* wynika z możliwości stosowania ich w diagnostyce medycznej. To dzięki obrazowaniu, możliwa jest zarówno wstępna identyfikacja zmian patologicznych w tkance, ocena wielkości obszaru tkanki zmienionej chorobowo, czy też śledzenie zmian zachodzących w organizmie pod wpływem stosowanej terapii.

Jednym z obszarów medycyny, w którym wykorzystuje się techniki obrazowania, jest dermatologia. Ze względu na budowę skóry ludzkiej, będącej warstwowym organem, którego całkowita grubość zazwyczaj nie przekracza 2mm, ten dział medycyny, stawia szereg wymagań stosowanym narzędziom wizualizacyjnym. Powinny one bowiem, aby skutecznie obrazować mikrostrukturę skóry, charakteryzować się rozdzielczością nie mniejszą od 100 μ m i zakresem penetracji rzędu kilku milimetrów.

Powszechnie stosowane techniki obrazowania tkanek, takie jak badania z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego, tradycyjna ultrasonografia (w zakresie częstotliwości od 1-10MHz), czy też prześwietlenie rentgenowskie, w przypadku stosowania ich w diagnostyce dermatologicznej, nie spełniają swojego zadania. Rozdzielczość obrazów, uzyskanych powyższymi metodami, uniemożliwia wizualizację struktur tak małych jak poszczególne warstwy skóry. Istnieje oczywiście szereg metod, zapewniających uzyskanie rozdzielczości wystarczającej do obrazowania mikrostruktury tkanek skóry. Są to między innymi mikroskopia konfokalna, czy też tomografia optyczna z użyciem światła częściowo spójnego, które to techniki zapewniają rozdzielczość na poziomie kilku mikronów. Umożliwiają one, zatem obrazowanie struktur na poziomie komórkowym. Niestety, ze względu na ograniczony zasięg penetracji, nie przekraczający kilku dziesiątych części milimetra, czyli w przypadku skóry odpowiadający wyłącznie grubości naskórka, są to narzędzia mało przydatne w diagnostyce dermatologicznej gdzie istotna jest ocena głębiej położonych warstw [4-6].

Wymagania związane zarówno z zasięgiem obrazowania jak i z rozdzielczością, spełnia obrazowanie ultradźwiękowe, wykorzystujące fale o częstotliwości wyższej od stosowanych w tradycyjnej ultrasonografii (>20MHz) [7-8]. Powstające obrazy ultradźwiękowe, tworzone są w sposób analogiczny do obrazowania ultrasonograficznego wykorzystującego fale o niższych częstotliwościach (USG). Źródłem fali jest przetwornik piezoelektryczny (kryształ

lub ceramika), który w wyniku działania pola elektrycznego zmienia nieznacznie swoje wymiary. Naprzemienna różnica potencjałów wywołująca jego naprzemienne kurczenie i rozszerzanie powoduje powstawanie fali ultradźwiękowej. Ultradźwięki są wytwarzane i emitowane w odstępach czasowych w postaci krótkich impulsów. Pomiędzy nadawaniem kolejnych impulsów przetwornik pełni rolę odbiornika. Wówczas to powracające echo, powstające w wyniku odbicia fali ultradźwiękowej na granicy ośrodków o różnej impedancji, pobudza przetwornik do drgań, który zamienia je na sygnał elektryczny. Odbierane echa mogą być prezentowane na kilka sposobów, m.in. jako prezentacje A, B, M. Nie mniej jednak, najczęściej stosowaną metodą wizualizacji organów wewnętrznych, jest dwuwymiarowa prezentacja typu B. W tym trybie obrazowania, amplitudzie powracających ech ultradźwiękowych przypisywana jest jasność punktów na ekranie monitora. Echa pochodzące od jednego nadanego impulsu tworzą jedną linię obrazu. Krok po kroku zbierane są kolejne linie i w ten sposób budowany jest obraz wybranego obszaru tkanki.

Rozdzielczość podłużna, tak uzyskanego obrazu, zależy od długości wytwarzanych impulsów ultradźwiękowych, zaś rozdzielczość poprzeczna wynika z szerokości wiązki emitowanej fali. Zarówno rozdzielczość poprzeczną jak i podłużną można zwiększyć podwyższając częstotliwość fali ultradźwiękowej. Optymalnym rozwiązaniem byłoby więc stosowanie jak najwyższych częstotliwości. Niestety, wyższej częstotliwości towarzyszy wzrost tłumienia ultradźwięków w tkance, co prowadzi do zmniejszenia zasięgu obrazowania. W związku z tym, stosowanie przetworników wysokiej częstotliwości do obrazowania struktur leżących na większych głębokościach, wymaga zwiększenia mocy akustycznej. Poziomy nadźwiękowania nie mogą jednak przekraczać wartości, które gwarantują zachowanie bezpieczeństwa przeprowadzonych badań. W chwili obecnej, według normy określonej przez FDA (*Food and Drug Administration*), maksymalna wartość natężenia wyjściowego, w aktualnie rozwijanej aparaturze, nie może przekraczać 720mW/cm^2 [9]. Parametr ten, nie pozwala jednak na dokładną ocenę poziomu nadźwiękowania tkanek, a tym samym utrudnia określenie prawdopodobieństwa wystąpienia niepożądanych efektów biologicznych. Z tego względu wprowadzono dwa dodatkowe wskaźniki: termiczny (*TI*) oraz mechaniczny (*MI*). Wybór jednego z nich uzależniony jest od rodzaju stosowanego przetwornika i typu wykonywanego badania. W przypadku obrazowania typu B, gdzie stosowane są krótkie impulsy, wykorzystywany jest indeks mechaniczny. Wskaźnik ten, zdefiniowany w obecnej chwili jako:

$$MI = \frac{P_{r,a}}{\sqrt{f}} \cdot C \quad (1.2.1)$$

dostarcza względnego wskazania o możliwości wystąpienia w tkance efektów mechanicznych m.in. kawitacji. W równaniu powyższym (1.2.1), $P_{r,a} = P_r \cdot 10^{-0,015 \cdot f \cdot z}$, P_r oznacza szczytową wartość ujemnej amplitudy ciśnienia, wyrażoną w *MPa*, f - częstotliwość środkową wyrażoną w MHz, zaś współczynnik $C = \sqrt{1\text{MHz}/1\text{MPa}}$.

Apfel i Holland [10] wykazali, że w przypadku gdy wartość powyższego współczynnika nie przekracza wartości 1,9 prawdopodobieństwo wystąpienia bioefektów jest minimalne. W związku z tym, przyjmuje się, że maksymalna wartość *MI*, zapewniająca bezpieczeństwo prowadzonych badań, nie może przekraczać poziomu 1,9 we wszystkich rodzajach badań poza okulistycznymi, gdzie jest ona znacznie niższa i wynosi 0,23 [11].

W przypadku obrazowania ultradźwiękowego wysokiej częstotliwości, stosowanego w dermatologii, wymagany zasięg penetracji wynosi kilka milimetrów. Wartość taką, wystarczającą nawet w przypadku wzrostu grubości skóry w wyniku zmian patologicznych, można uzyskać w sposób bezpieczny dla pacjenta, przy zastosowaniu częstotliwości z zakresu 20 - 40MHz. Częstotliwości te umożliwiają uzyskanie rozdzielczości wystarczającej do wizualizacji mikrostruktury tkanek skóry (ok. 100 μm). Ponadto, dzięki zastosowaniu kodowania, możliwe staje się zwiększenie stosunku sygnału do szumu dla odbieranych ech (patrz rozdział 3.1.1). W konsekwencji więc, bez potrzeby zwiększania amplitudy nadawanego sygnału, możliwe jest zwiększenie zasięgu badania przy jednoczesnym stosowaniu częstotliwości zapewniających odpowiednią rozdzielczość, niezbędną dla obrazowania struktur skóry.

Niestety wizualizacja ultradźwiękowa, nawet w przypadku stosowania technik wysokiej częstotliwości, nie zawsze jest narzędziem pozwalającym na jednoznaczną diagnostykę chorobowych zmian skórnych. Obrazowaniu różnych zmian towarzyszy często zbliżona jasność obrazu, wynikająca z podobnej echogeniczności tkanek. Problem taki występuje np. w przypadku szeregu guzów nowotworowych, które w obrazie USG charakteryzują się hypoechogenicznością w stosunku do normalnej tkanki skóry, ale nie wykazują różnic powiązanych z typem guza. Bardzo trudne staje się więc na podstawie obrazu USG, różnicowanie zmian nowotworowych łagodnych oraz złośliwych [7-8], identyfikacja rodzaju guza [7], czy też identyfikacja guzów i sub-nowotworowych nacieków zapalnych [12].

Obecnie, stosowaną powszechnie procedurą oceny zmian skórnych jest biopsja cienkoigłowa, czyli pobranie materiału biologicznego, z przypuszczalnie zmienionych chorobowo tkanek i następnie jego ocena histologiczna. Jest to badanie bardzo efektywne ale inwazyjne i w konsekwencji nieprzyjemne dla pacjenta. Rozwiązaniem, które mogłoby ograniczyć ilość przeprowadzanych biopsji jest ilościowa ocena ultradźwiękowa (*Quantitative Ultrasounds*). Opiera

się ona na analizie ech ultradźwiękowych, powracających z tkanek, rejestrowanych w postaci sygnałów wielkiej częstotliwości (RF- *Radio Frequency*). Charakter tych sygnałów, jest ściśle powiązany z mikrostrukturą ośrodka, opisywaną poprzez rozmiar, kształt i właściwości fizyczne zlokalizowanych w nim struktur rozpraszających. Cechy te natomiast są charakterystyczne dla rodzaju oraz stanu tkanki. Tradycyjny obraz ultradźwiękowy, tworzony jest wyłącznie na podstawie amplitudy zarejestrowanych sygnałów RF. Szereg informacji powiązanych z mikrostrukturą, czy też właściwościami mechanicznymi tkanki, jest traconych. Techniki ilościowej oceny tkanek, poprzez wykorzystanie w pełnijszy sposób danych ultrasonograficznych, mają na celu dostarczenie obok obrazów organów również informacji na temat budujących je tkanek. W szczególności dotyczy to takich cech tkanki jak jej własności absorpcyjne i rozproszeniowe. Pierwsza z wielkości charakteryzowana jest przez współczynnik tłumienia, który w przypadku tkanki miękkiej i rozważanego zakresu częstotliwości, zależy od stopnia absorpcji energii akustycznej przez tkankę, wynikającą z jej lepkości oraz zachodzących w niej procesów relaksacyjnych. Druga z cech, jest reprezentowana przez współczynnik rozproszenia wstecznego, który opisuje odbicie fali na niejednorodnościach ośrodka o rozmiarach mniejszych od długości fali. Wartość tego parametru uzależniona jest więc zarówno od gęstości przestrzennej rozpraszaczy jak i od ich kształtu, rozmiaru oraz właściwości fizycznych.

Obok wymienionych powyżej parametrów, na szczególną uwagę zasługuje analiza statystyczna obwiedni sygnału ultradźwiękowego, rozproszonego w tkance skóry. Analiza taka, obejmuje zarówno dobór odpowiedniej funkcji rozkładu, opisującej histogramy amplitudy sygnałów mierzonych w skórze jak i wyznaczenie, z danych doświadczalnych, charakterystycznych parametrów takich rozkładów. Teoretycznie parametry te powiązane są z własnościami ośrodka rozpraszającego, takimi jak gęstość przestrzenna i jednorodność struktur rozpraszających. Mogą więc potencjalnie odzwierciedlać zmiany struktury ośrodka wynikające, w przypadku skóry np. ze zmian chorobowych.

Wydaje się, że zastosowanie analizy ilościowej, w przypadku ultradźwiękowych badań skóry, w tym równoległe wyznaczenie jej własności fizycznych i własności statystycznych sygnału rozproszonego posiada duży potencjał diagnostyczny. Przy stosowanych częstotliwościach, długość fali ultradźwiękowej porównywalna jest z wielkością podstawowych struktur składowych skóry takich jak włókna kolagenowe jak i struktur pojawiających się w wyniku wystąpienia zmian patologicznych, takich jak klastry komórek nowotworowych. Dlatego też, oddziaływanie fali ze zmianami zachodzącymi w takich strukturach powinno być na tyle silne, aby można było rejestrować wpływ tych zmian na mierzone własności tkanki.

Celem niniejszej pracy było opracowanie metody pozwalającej na ocenę *in vivo* zmian zachodzących w strukturze skóry właściwej człowieka w przypadku zmian nowotworowych, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworu podstawnocomórkowego. W szczególności w pracy wyróżnić można trzy zagadnienia podjęte dla realizacji tego celu:

- wybór i zastosowanie metod analizy sygnału rozproszonego w skórze, pozwalających na różnicowanie skóry zdrowej i skóry zmienionej chorobowo
- budowa numerycznego modelu skóry zdrowej i skóry w przypadku wystąpienia nowotworu podstawnocomórkowego, pozwalającego na symulacje odbieranego sygnału ultradźwiękowego rozproszonego w skórze
- analiza wpływu zmian zachodzących w strukturze skóry na zmiany parametrów odbieranych ech ultradźwiękowych.

1.3. DOTYCHCZASOWY STAN BADAŃ

Zalety technik ultradźwiękowych, wynikają z niejonizującego charakteru promieniowania oraz względnie niskich kosztów aparatury. Poszerzenie możliwości diagnostycznych tradycyjnej ultrasonografii, możliwe jest do osiągnięcia poprzez wyznaczenie parametrów ilościowych tkanek, zarówno w oparciu o rejestrowane sygnały RF jak i obrazy B-mod.

Próby parametryzacji, a w konsekwencji zwiększenie możliwości diagnostycznych, przeprowadzali nie tylko naukowcy pracujący nad nowymi rozwiązaniami, lecz również odbiorcy powstałych rozwiązań – lekarze dermatolodzy. Podjęli oni m.in. próbę wykorzystania średniego poziomu echogeniczności obrazu do oceny stopnia poziomu reakcji alergicznej i podrażnienia skóry [13], czy też obserwacji fotostarzenia się skóry [14].

Próby oceny ilościowej tkanek, bazujące wyłącznie na obrazach ultradźwiękowych, niosą w sobie jednak ograniczony potencjał diagnostyczny ze względu na dużą ilość czynników mogących wywoływać zmianę amplitudy rejestrowanych ech. Dlatego też, znacznie częściej podejmowano próbę charakteryzowania tkanek na podstawie analizy sygnałów RF. Jednym z parametrów wykorzystywanych do oceny ośrodka była prędkość propagacji fali w tkance [15-16]. Parametr ten jednak, ze względu na ograniczenia wynikające ze sposobu wyznaczania, wykorzystywany mógł być wyłącznie w trakcie badań *in vitro*. Ponadto jego wartości, wyznaczone dla większości tkanek miękkich, w zakresie różnych częstotliwości, przyjmowały zbliżone wartości, oscylujące

wokół 1500m/s, czyniąc go tym samym parametrem mało przydatnym w diagnostyce.

Jednymi z najczęściej analizowanych ilościowych parametrów ultradźwiękowych, wyznaczanych na podstawie sygnału rozproszonego w tkance *in vivo*, są wielkości związane z takimi cechami tkanki, jak jej własności absorpcyjne (współczynnik tłumienia), wynikające w głównej mierze z lepkości ośrodka oraz właściwości rozproszeniowe (współczynnik rozproszenia wstecznego), powiązane z mechanizmami występującymi w wyniku interakcji propagującej fali z niejednorodnościami ośrodka. Parametry te, stanowiąc mogą więc źródło informacji o mikrostrukturze ośrodka, a tym samym być przydatne w ocenie stanu tkanki.

Poważnym utrudnieniem, towarzyszącym wyznaczaniu wartości zarówno współczynnika tłumienia jak i współczynnika rozproszenia wstecznego, na podstawie zarejestrowanego sygnału RF jest fakt, że na jego charakter, obok właściwości tkanki, wpływ ma również aparatura pomiarowa. Problem ten, dostrzeżony został przez szereg grup zajmujących się analizą sygnałów ultradźwiękowych. W wyniku tego, w literaturze odnaleźć można dużą liczbę prac dotyczących metod umożliwiających kompensację wpływu „czynników aparaturowych”. Wśród nich, znajdują się m.in. prace dotyczące kompensacji wpływu ogniskowania, metod normalizacji widm sygnałów, czy też sposobów niwelowania wpływu zasięgowej regulacji wzmocnienia [17-20].

Innym podejściem, służącym charakteryzowaniu tkanek, jest metoda zakładająca, że sygnał ultradźwiękowy może być modelowany jako sygnał stochastyczny, ponieważ informacje na temat struktur rozpraszających w tkance, nie są znane *a priori* [21-26]. Sygnał ultradźwiękowy, może być modelowany jako proces losowy, którego fluktuacje statystyczne uzależnione są przede wszystkim od liczby struktur rozpraszających w objętości pomiarowej (zdefiniowanej przez długość impulsu oraz przekrój poprzeczny wiązki) jak i stopnia ich heterogeniczności. W konsekwencji więc, statystyka amplitudy echosygnału może być opisana przy użyciu funkcji gęstości prawdopodobieństwa, której to zarówno rodzaj jak i parametry mogą być pomocne w opisie struktury tkanek.

Próby wykorzystania jednej, bądź kilku z powyższych metod przy wykorzystaniu częstotliwości poniżej 10MHz, jako dodatkowego źródła informacji służącego diagnozowaniu stanu m.in. takich organów jak: serce [27-29], krew [30], piersi [31], wątroba [32-34] czy śledziona[35] są raportowane w literaturze.

O'Donnel i wsp. [28] wykazali, możliwości wykorzystania współczynnika rozproszenia, jako narzędzia pomocnego w ocenie tkanek mięśnia sercowego po zawale. Stwierdzili oni bowiem znaczny wzrost współczynnika rozproszenia

wstecznego w obszarach serca objętych niedokrwionym uszkodzeniem po upływie kilku tygodni od okluzji (zamknięciu światła naczynia krwionośnego). Suwa i wsp. [36] podjęli natomiast próbę zastosowania rozproszenia, jako źródła informacji w kardiomiopatii. Stwierdzili oni, że zintegrowany współczynnik rozproszenia może zostać wykorzystany w rozróżnianiu obszarów zdrowych mięśnia sercowego od obszarów objętych zwłóknieniem. Worthington i wsp. [37] wykorzystali zaś tłumienie oraz rozproszenie w celu wykorzystania oceny ilościowej, jako narzędzia umożliwiającego monitorowanie wpływu zastosowanych metod leczenia w postaci inwazyjnej terapii cieplnej na stan tkanek. Możliwości współczynnika tłumienia oraz współczynnika rozproszenia sprawdzone zostały na tkance nerek. Otrzymane wyniki, wykazały wzrost wartości tych parametrów wraz ze wzrostem temperatury, potwierdzając tym samym możliwość zastosowania oceny ilościowej, w celu monitorowania w czasie rzeczywistym stosowanej terapii cieplnej. Tłumienie i rozproszenie wykorzystywane były również w celu rozróżniania obszarów tkanek objętych nowotworem od tkanek zdrowych. Badania takie, w przypadku tkanek piersi, przeprowadzili m.in. D'Astous'a i wsp [31]. Zaprezentowane wyniki pokazały, że wartość współczynnika tłumienia homogenicznych regionów tkanki nowotworowej jest wyższa niż wartość wyznaczona dla tkanki tłuszczowej i jednocześnie mniejsza od wartości wyznaczonych dla włóknistych tkanek miększu. Jednocześnie wartość współczynnika rozpraszania otrzymana dla obszarów objętych nowotworem przyjmuje wartość zbliżoną do wartości otrzymanych dla tkanki tłuszczowej, lecz dużo niższą od wartości współczynnika rozproszenia wstecznego wyznaczoną z tkanki śródmiąższowej. Obok właściwości związanych z tłumieniem czy rozproszeniem w tkance, wykorzystywano również właściwości statystyczne zarejestrowanych sygnałów. Dla piersi badania takie przeprowadzili Shankar i wsp. [38], którzy to wykorzystali rozkłady K oraz Nakagami. Wykorzystanie parametrów obydwu rozkładów, przyniosło zadowalające rezultaty, potwierdzające możliwość wykorzystania badań USG, jako badań uzupełniających mammografię w diagnostyce raka piersi, w kierunku umożliwiającym klasyfikację tkanek.

Rozkłady, wykorzystywane w ocenie tkanek piersi, znalazły swoje zastosowanie również w próbie oceny stanu wątroby i innych tkanek. Przydatność parametrów rozkładu Nakagami jako narzędzia uzupełniającego tradycyjny B-mod w ocenie obecności zwłóknień występujących w tym narzędzie, potwierdziły wyniki zaprezentowane przez Ho i wsp. [39], natomiast Shankar i wsp.[40] zaprezentowali ogólniejsze spojrzenie na możliwość charakteryzowania stanu tkanek różnych narządów w oparciu o rozkład K

W przypadku publikacji, na temat wykorzystania wysokoczęstotliwościowych technik oceny ilościowej, szereg prac dotyczy

analizy ech zarejestrowanych ze zmian patologicznych, powstałych w wyniku wszczepienia komórek nowotworowych zwierzętom (szczurom, myszom). Ich autorzy analizowali możliwość wykorzystania technik ilościowych m.in. w celu rozróżniania guzów litych [41], czy też określania granic między guzami sutka oraz tkanką zdrową [42]. Obok prób rozróżniania zmian chorobowych, ocena ilościowa stosowana była również w celu śledzenia apoptozy komórek nowotworowych, zachodzącej w wyniku zastosowania terapii. Prace takie prowadzili m.in. Czarnota i wsp. [43], którzy obserwowali zachowanie komórek nowotworowych (białaczki) pod wpływem zastosowania chemioterapii, czy też Vlad i wsp. [44] badający reakcję komórek nowotworowych na zastosowaną radioterapię.

Ilość publikacji, na temat wykorzystania wysokoczęstotliwościowych technik ilościowych, do oceny stanu tkanek ludzkich, takich jak np. tkanki skóry jest niewielka. Ponadto, duża część prezentowanych wyników, dotyczy badań prowadzonych *in vitro*, na fragmentach tkanek skóry, pozyskanych pośmiertnie od ludzi bądź zwierząt. Badania, które przeprowadzone były do tej pory, pokazały m.in., że zarówno prędkość jak i tłumienie ultradźwięków są bezpośrednio związane z koncentracją kolagenu i odwrotnie proporcjonalne do zawartości wody w tkance [45]. Sugerują one również, że na wartość współczynników ilościowych wpływa także zmiana w organizacji kolagenu w skórze. Wnioski takie nasuwają się po analizie związku jaki zachodzi między wartościami współczynnika tłumienia i współczynnika rozproszenia wstecznego a poziomem zastosowanego mechanicznego obciążenia, powodującego odkształcanie badanego fragmentu skóry [46]. Zmiany, odnotowywane w wartościach współczynników, zachodzące w wyniku rozciągania skóry właściwej, są prawdopodobnie rezultatem zmian następujących w strukturze macierzy kolagenowej.

Z diagnostycznego punktu widzenia, większą wartość niosą w sobie oczywiście badania prowadzone *in vivo*. Opublikowane do tej pory wyniki badań skóry, otrzymane w wyniku wykorzystania systemów pracujących na częstotliwościach około 20 MHz, dotyczyły rezultatów otrzymanych w wyniku analizy zmian w postaci guzów [47], czy też prób wykorzystania pomiaru grubości tkanki w diagnostyce twardziny [48]. Analiza amplitudy ech, wykazała m.in. możliwość rozróżniania tkanek, na których obserwowano znamiona i blizny będące następstwem wystąpienia nowotworu oraz nabłoniaka. Pomiary grubości skóry sugerują zaś, że jest to parametr posiadający potencjał diagnostyczny w ocenie twardziny na bardzo wczesnym etapie choroby, jeszcze przed widocznymi zmianami powierzchniowymi skóry. Ponadto odnaleźć można informacje na temat możliwości wykorzystania współczynnika tłumienia w ocenie głębokości poparzeń [49], nasilenia kontaktowego zapalenia skóry wywołanego reakcją

alergiczną na podstawie pomiaru grubości [50], czy też, jako narzędzia przydatnego w ocenie fotostarzenia się skóry [14],[51]. Obok zastosowań diagnostycznych, podejmowane były również próby wykorzystania ilościowej oceny ultradźwiękowej do oceny efektywności stosowanych leków bądź terapii. Próby takie podjęli m.in. Wong i wsp. [52], którzy to wykorzystali pomiary grubości skóry do oceny jej stanu po zastosowaniu radioterapii czy też Huang i wsp. [53] stosujący parametry związane z tłumieniem i rozproszeniem w celu wychwycenia ubocznych efektów radioterapii w postaci pojawiających się zwłóknień.

Obok publikacji zaprezentowanych powyżej, można odnaleźć również kilka prac, w których wykorzystywane były systemy pracujące na częstotliwościach wyższych aniżeli 20 MHz [54-59], których zaletą było m.in. to, że umożliwiały one wizualizację bardzo małych struktur, takich jak naczynia włosowate czy cebulki włosów. Ich autorzy wykazali m.in. tendencję spadkową wartości współczynnika tłumienia postępującą wraz z wiekiem wolontariuszy [56], brak wpływu skórnej reakcji alergicznej, w postaci zwiększonej grubości tkanek skórnych, na wartości parametrów wynikających z analizy statystycznej [57], czy też możliwość wykorzystania zarówno obrazowania jak i pomiaru grubości skóry w ocenie zaawansowania łuszczycy [58-59].

1.4. UKŁAD PRACY

Szczegółowe informacje, dotyczące poszczególnych etapów i zakresu przeprowadzonych prac, mających na celu realizację zamierzonych celów, przedstawione zostały w niniejszej rozprawie w następujący sposób:

Celem rozdziału 1 było przybliżenie motywów uzasadniających podjęcie prezentowanej w pracy tematyki. Przedstawiono, potrzebę poszukiwania metod diagnostycznych zarówno w świetle stosowanych obecnie metod diagnostycznych jak i w świetle potrzeb wynikających z zachorowalności na nowotwory skóry. Przedstawiono również obecny stan wiedzy z zakresu wykorzystania ilościowej oceny ultradźwiękowej do oceny stanu tkanek, ze wskazaniem na niewielką ilość prób wykorzystania tego typu metod w dermatologii. Na koniec sprecyzowano cele, których realizację podjęto w rozprawie, jak również przedstawiono pokrótce układ pracy oraz jej zawartość.

W rozdziale 2 przybliżono podstawy teoretyczne interakcji zachodzących między ośrodkiem biologicznym a propagującą się w nim falą ultradźwiękową. Zaproponowano również metody umożliwiające wyznaczenie takich parametrów ilościowych jak współczynnik tłumienia, współczynnik rozproszenia wstecznego oraz efektywna liczba rozpraszaczy.

Rozdział 3 poświęcony został rejestracji danych empirycznych. W pierwszej jego części zaprezentowano wykorzystywany w tym celu układ pomiarowy, w drugiej zaś przedstawiono informacje na temat rejestracji sygnałów *in vivo*.

Rozdział 4 dotyczy analizy statystycznej rejestrowanych sygnałów. Sprawdzone zostały możliwości modelowania statystyki obwiedni sygnałów zarejestrowanych ze skóry ludzkiej *in vivo* przez dwa rozkłady Rayleigha i K oraz wykorzystując metodę bazującą na użyciu średniego błędu kwadratowego (*Mean Square Error, MSE*) wybrany został rozkład, który w lepszym stopniu spełnia to zadanie.

W rozdziale 5 przedstawiono wyniki oceny ilościowej sygnałów zarejestrowanych od osób ze schorzeniami w postaci nowotworu podstawnokomórkowego oraz rogowacenia postłonecznego.

W rozdziale 6 podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób ilość rozpraszaczy wpływa na wartości parametrów statystycznych. Wykorzystano w tym celu fantomy tkankowe o różnym stopniu koncentracji struktur rozpraszających, z których to zarejestrowane sygnały poddano analizie statystycznej, przeprowadzanej w taki sam sposób jak w przypadku danych pozyskanych *in vivo*.

Rozdział 7 przybliży tematykę związaną z opracowaniem modeli skóry zdrowej oraz objętej stanami chorobowymi, jak również sposób symulacji rozproszonych sygnałów ultradźwiękowych z tak zamodelowanych tkanek.

Wyniki, uzyskane poprzez ocenę statystyczną symulowanych sygnałów, przedstawiono w rozdziale 8.

Wnioski, płynące z wyników otrzymanych na podstawie analizy sygnałów zarejestrowanych doświadczalnie ze skóry pacjentów oraz wzorców tkankowych jak również analizy sygnałów symulowanych, zaprezentowano w rozdziale 9.

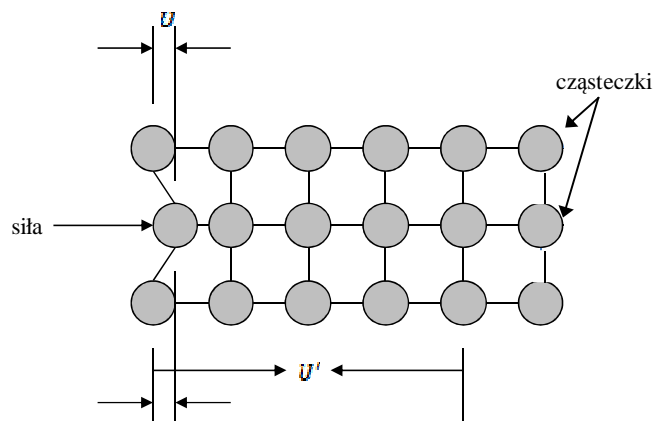
Na zakończenie (rozdział 10) przedstawiono podsumowanie wykonanych prac oraz wskazano o ewentualne kierunki dalszych badań.

ROZDZIAŁ II

PODSTAWY TEORETYCZNE

2.1. PROPAGACJA FAL ULTRADŹWIĘKOWYCH W OŚRODKACH BIOLOGICZNYCH

Ośrodek, w którym propaguje się zaburzenie w postaci fali ultradźwiękowej, może być rozpatrywany jako trójwymiarowa macierz elementów modelujących cząstki takie jak np. atomy czy molekuly, połączone doskonale elastycznymi sprężynami, które reprezentują oddziaływania między tymi cząsteczkami (Rys. 2.1). Zachwianie położenia któregoś z elementów, czyli wybicie go z neutralnej pozycji powoduje, że zaburzenie to, na zasadzie reakcji łańcuchowej, przenoszone jest na kolejne, sąsiadujące ze sobą cząstki.

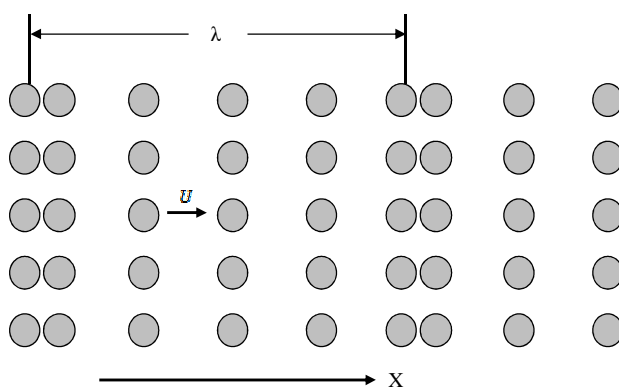


Rys. 2.1. Dwuwymiarowa macierz cząstek, reprezentująca przekrój ośrodka, w którym to w wyniku działania zewnętrznej siły propaguje się zaburzenie.

Dystans U , który pokonują cząstki, w wyniku zmiany położenia, określany jest jako przemieszczenie ośrodka bądź cząstki. Odległość ta np. w wodzie, nie przekracza wielkości rzędu kilku dziesiątych części nanometra. Prędkość u , z

jaką cząstki oscylują, określana jest jako prędkość cząstek bądź ośrodka. Wielkość ta wynosi około kilku centymetrów na sekundę. Prędkości tą należy jednak odróżnić od prędkości propagacji fali ultradźwiękowej c , która w wodzie wynosi około 1500m/s. Cząsteczki w ośrodku, w wyniku przyłożonej zewnętrznej siły, ulegają przesunięciu. Powstałe zaburzenia przenoszone są na odległość U' , znacznie większą od przemieszczenia pojedynczej cząstki U [60].

Jeżeli, propagujące zaburzenie ma charakter sinusoidalny, wówczas to zaburzenie takie będzie powodowało naprzemienne zagęszczenie oraz rozrzedzenie ośrodka (Rys. 2.2).



Rys. 2.2. Obszary zagęszczenia oraz rozrzedzenia powstające w ośrodku w wyniku propagacji sinusoidalnej fali.

Propagację, powstałego w ośrodku zaburzenia, opisać można za pomocą pojęć: naprężeń i odkształceń oraz zależności pomiędzy nimi.

Naprężenie zdefiniowane jest, jako wewnętrzna siła powstająca w ośrodku pod wpływem sił zewnętrznych. Ośrodek, w postaci jednostkowego sześcianu, na który działają siły zewnętrzne, przedstawiony został na rysunku (Rys. 2.3). Zgodnie ze schematem, naprężenie oddziaływujące na jednostkę powierzchni, ustawioną prostopadle do osi Z (powierzchni Z), podzielone może zostać na trzy składowe:

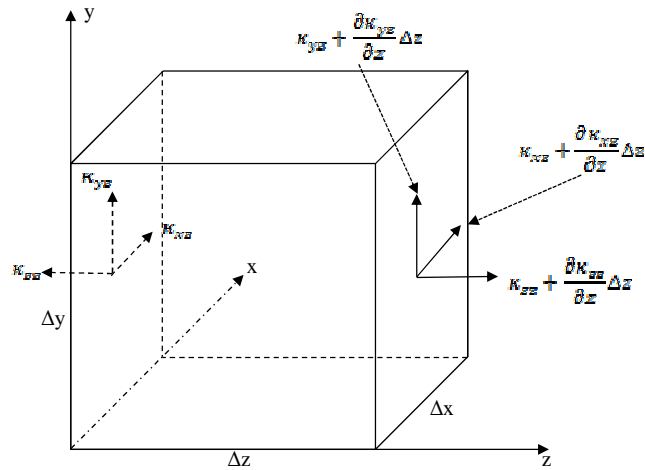
κ_{zz} – naprężenie podłużne w kierunku Z

κ_{yz} – naprężenie ścinające w kierunku Y

κ_{xz} – naprężenie ścinające w kierunku X

W podobny sposób κ_{zy} , κ_{yy} , κ_{xy} , κ_{zx} , κ_{yx} , κ_{xx} , oznaczać mogą naprężenia działająca na płaszczyznę Y oraz X.

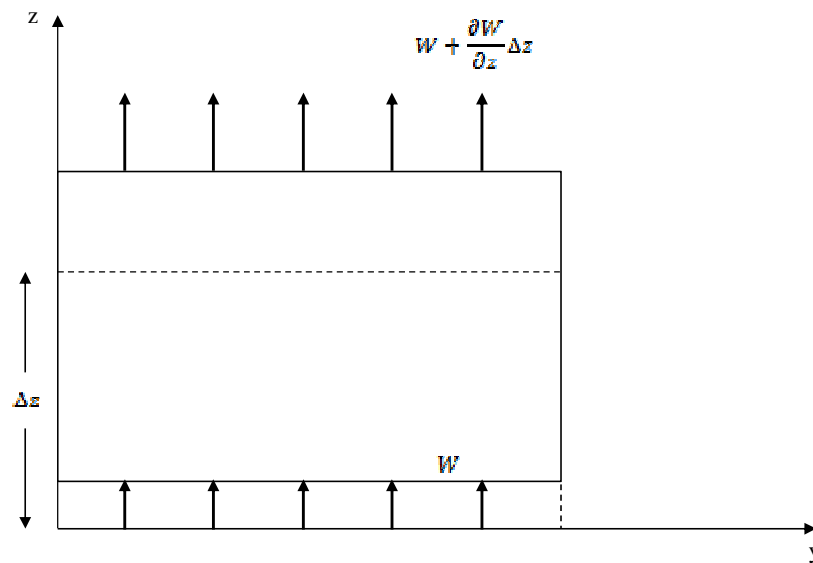
Odkształcenie, jest natomiast definiowane, jako deformacja ośrodka, spowodowana przez zewnętrzną siłę. W zależności od kierunku deformacji rozważane mogą być odkształcenia wzdłużne oraz ścinające.



Rys. 2.3. Naprężenia działające na sześcian jednostkowy.

Odształcenie wzdłużne (Rys. 2.4) płaszczyzny Z, powstałe w kierunku Z, może zostać przedstawione jako:

$$\varepsilon_{zz} = \frac{\partial W}{\partial z} \quad (2.1.1)$$



Rys. 2.4. Odształcenie wzdłużne płaszczyzny w kierunku Z.

Odształcenia ścinające płaszczyzny Z, w kierunku X oraz Y mogą zostać zapisane natomiast odpowiednio jako:

$$\varepsilon_{xz} = \frac{\partial U}{\partial z} \quad (2.1.2)$$

$$\varepsilon_{yz} = \frac{\partial V}{\partial z} \quad (2.1.3)$$

gdzie W , U , V oznaczają przemieszczenia w kierunku Z , X , Y .

W przypadku niewielkich przemieszczeń, naprężeniowo-odkształceniowe relacje są liniowe i mogą zostać przedstawione jako [61]:

$$\kappa_{zz} = (\nu + 2\mu) \frac{\partial W}{\partial z} = (\nu + 2\mu) \varepsilon_{zz} \quad (2.1.4)$$

$$\kappa_{yz} = \mu \frac{\partial V}{\partial z} = \mu \varepsilon_{yz} \quad (2.1.5)$$

$$\kappa_{xz} = \mu \frac{\partial U}{\partial z} = \mu \varepsilon_{xz} \quad (2.1.6)$$

gdzie ν oraz μ to stałe Lamego. Stałe te, wyrażone za pomocą stałych materiałowych, takich jak moduł Younga (E), współczynnik sprężystości (B) oraz współczynnik Poissona (ξ) przyjmują postać:

$$E = \frac{\mu(3\nu+2\mu)}{\nu+\mu} \quad (2.1.7)$$

$$B = \nu + \frac{2\mu}{3} \quad (2.1.8)$$

$$\xi = \frac{\nu}{2(\nu+\mu)} \quad (2.1.9)$$

Równanie ruchu w kierunku Z , dla sześcianu przedstawionego na rysunku (Rys. 2.3), może zostać wyrażone za pomocą drugiego prawa Newtona, poprzez znalezienie siły wypadkowej, działającej na ten sześcian, w kierunku Z :

$$\frac{\partial \kappa_{zz}}{\partial z} + \frac{\partial \kappa_{zy}}{\partial y} + \frac{\partial \kappa_{zx}}{\partial x} = \rho \frac{\partial^2 W}{\partial t^2} \quad (2.1.10)$$

gdzie ρ oznacza gęstość ośrodka, a t czas. Lewa strona równania, opisuje całkowitą siłę oddziaływującą w kierunku Z , prawa strona równania jest natomiast produktem masy oraz przyspieszenia wytworzonego przez tą siłę.

W przypadku, gdy naprężenia ścinające nie występują, tzn. κ_{zy} oraz $\kappa_{zx} = 0$, równanie (2.1.10) upraszcza się do postaci:

$$\frac{\partial \kappa_{zz}}{\partial z} = \rho \frac{\partial^2 W}{\partial t^2} \quad (2.1.11)$$

i wykorzystując zależność (2.1.4) przyjmuje formę:

$$\frac{\partial^2 W}{\partial z^2} = \frac{\rho}{\nu+2\mu} \frac{\partial^2 W}{\partial t^2} \quad (2.1.12)$$

Jest to równanie różniczkowe drugiego rzędu, określane mianem równania falowego. Jego rozwiązania przyjmują formę $f(z \pm ct)$. W zależności czy fala propaguje w kierunku $+Z$ czy też $-Z$ przyjmuje ono odpowiednio wartości $f(z - ct)$ oraz $f(z + ct)$. Kierunek przemieszczenia W , jest zgodny z

kierunkiem propagacji fali, tak więc propagująca fala określana jest mianem fali podłużnej. Sinusoidalne rozwiązanie dla powyższego równania przyjmuje postać:

$$W^{\mp}(z, t) = W_0 e^{j(\omega t \pm kz)} \quad (2.1.13)$$

gdzie W^- oraz W^+ oznaczają odpowiednio przemieszczenia zgodne oraz odwrotne względem kierunku propagacji fali, ω częstotliwość kątową $=2\pi f$, natomiast $k = \omega/c$ jest liczbą falową.

2.2. TŁUMIENIE FAL ULTRADŹWIĘKOWYCH

W trakcie propagacji w ośrodku, energia fali ultradźwiękowej ulega osłabieniu. Przyczyną tego zjawiska jest zarówno przekierowanie energii (rozproszenie), jak również absorpcja energii przez ośrodek.

Oslabienie ciśnienia monochromatycznej fali, propagującej się w kierunku Z, wyrażone może zostać jako eksponentyjalna funkcja zmiennej z:

$$p(z) = p(z = 0) e^{-\alpha_0 z} \quad (2.2.1)$$

gdzie $p(z = 0)$ oznacza ciśnienie w punkcie $z = 0$, zaś α_0 jest współczynnikiem tłumienia, wyrażonym w neperach/cm, którego wartość uzależniona jest zarówno od występującego w ośrodku rozproszenia jak i absorpcji. Po przekształceniu równania (2.2.1):

$$\alpha_0 = \frac{1}{z} \ln \left[\frac{p(z=0)}{p(z)} \right] \quad (2.2.2)$$

Ilościowy wpływ rozproszenia i absorpcji na wartość tłumienia fal ultradźwiękowych, propagujących się w tkankach, zależy od budowy tkanki i częstotliwości fali. Wyniki dotychczasowych badań sugerują, że w zakresie częstotliwości stosowanych w diagnostyce ultradźwiękowej, wkład rozproszenia w tłumienie dla tkanki miękkiej nie przekracza kilku procent [62].

2.2.1. ZJAWISKO ABSORPCJI

Absorpcja jest zjawiskiem związanym z przekształcaniem energii w inną formę energii, najczęściej cieplną. W tkankach biologicznych mechanizm ten jest procesem bardzo złożonym. Nie mniej jednak, w chwili obecnej, zakłada się, że w głównej mierze wynika ona z lepkości ośrodka oraz zachodzących w nim procesów relaksacyjnych.

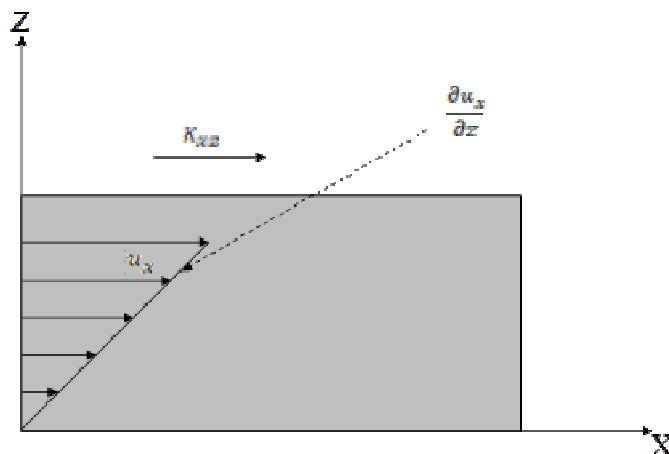
Odształcenie ścinające w kierunku X wzdłuż osi Z, zostało zdefiniowane, zgodnie z równaniem (2.1.2) jako:

$$\varepsilon_{xz} = \frac{\partial U}{\partial z} \quad (2.2.3)$$

Szybkość odkształcenia, dana jest jako:

$$\frac{\partial \varepsilon_{xz}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial U}{\partial z} = \frac{\partial u_x}{\partial z} \quad (2.2.4)$$

gdzie u_x jest prędkością cząstki w kierunku X, zaś $\frac{\partial u_x}{\partial z}$ jest gradientem prędkości wzdłuż osi Z.



Rys. 2.5. Napięcia ścinające na płaszczyźnie Z w kierunku X, wywołujące powstanie gradientu prędkości wzdłuż kierunku Z.

Współczynnik lepkości, może zostać zdefiniowany, jako stosunek naprężenia ścinającego do gradientu prędkości:

$$\eta = \frac{\kappa_{xz}}{\frac{\partial u_x}{\partial z}} \quad (2.2.5)$$

Dla ośrodków jednorodnych, takich jak np. woda, współczynnik absorpcji fal ultradźwiękowych o częstotliwości ω , jest proporcjonalny do lepkości oraz częstotliwości zgodnie z zależnością [60]:

$$\alpha_a = \frac{2\omega^2\eta}{3\rho c} \quad (2.2.6)$$

Jak można zauważyć, współczynnik absorpcji jest proporcjonalny do ω^2 . W przypadku wielu homogenicznych ośrodków, zależność taka występuje. Nie mniej jednak, w przypadku tkanek miękkich, związek taki nie jest obserwowany. Znacznie częściej odnotowywana, jest zależność liniowa tłumienia od częstotliwość. Sugeruje to, że absorpcja w tkankach biologicznych uzależniona jest w znacznym stopniu od procesów relaksacyjnych.

Jeżeli cząstki elementarne w medium ulegają przemieszczeniu w wyniku działających na nie sił, w chwili zwolnienia oddziaływania, w pewnym

skończonym czasie, cząstki te wracają do pozycji neutralnej. Czas ten, określany jest mianem czasu relaksacji cząstki. Jeśli czas relaksacji jest krótki, w porównaniu do okresu fali, jego wpływ na falę jest znikomy. Jeśli jednak czas relaksacji jest porównywalny bądź dłuższy do okresu fali, cząstki nie są w stanie powrócić stanu neutralnego przed „nadejściem” kolejnej fali. Dochodzi wówczas do zjawiska, w wyniku którego, fala porusza się w jednym kierunku, a cząsteczki poruszają się w kierunku przeciwnym. W konsekwencji, znacznie więcej energii traconej jest na skutek konieczności nadania cząstkom kierunku ruchu zgodnego z kierunkiem fali [60].

Wkład procesów relaksacyjnych w absorpcję powiązany jest z częstotliwością. Jeżeli jest ona wystarczająco wysoka, tzn. cząsteczki nie są w stanie śledzić ruchu falowego, wówczas to efekty relaksacyjne można uznać za pomijalne. Sytuacja odwrotna tzn. maksymalny wkład w absorpcję, występuje wówczas, gdy przemieszczenia cząstek wywołwane przez procesy relaksacyjne, są całkowicie niesynchronizowane z ruchem falowy. Z tego też względu, procesy relaksacyjne charakteryzowane są przez częstotliwość relaksacyjną.

Matematycznie, procesy relaksacyjne, zachodzące przy częstotliwości f przedstawione mogą zostać za pomocą wyrażenia [60]:

$$\alpha_r = \frac{Bf^2}{1+(\frac{f}{f_R})^2} \quad (2.2.7)$$

gdzie α_r jest składnikiem opisującym procesy relaksacyjne, wpływające na absorpcję, f_R jest częstotliwością relaksacyjną = $1/T_R$ (T_R – czas relaksacji), zaś B stałą określoną dla procesu.

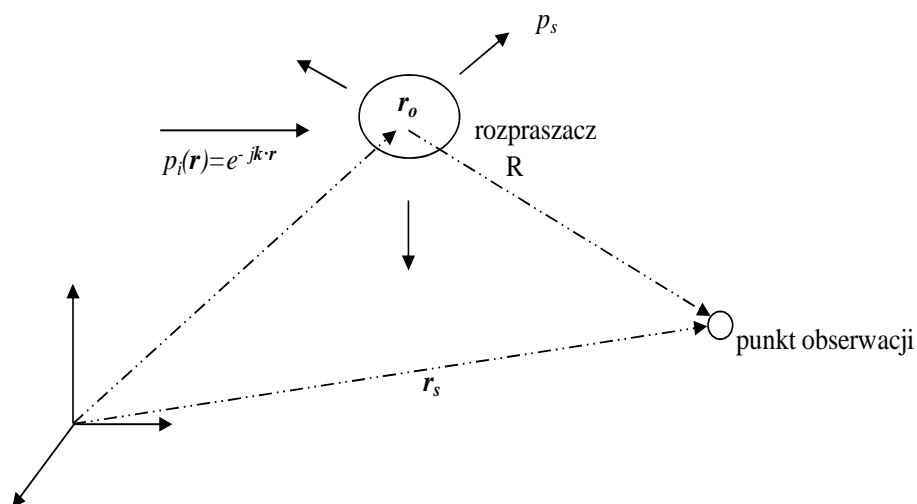
Ośrodek, taki jak tkanka biologiczna, złożony jest z wielu różnych rodzajów cząstek, w którym to występuje wiele częstotliwości relaksacyjnych. W konsekwencji więc, współczynnik absorpcji w tkankach, przedstawiony może zostać jako:

$$\alpha_a/f^2 = A + \sum_i \frac{B_i}{1+(\frac{f}{f_{R_i}})^2} \quad (2.2.8)$$

gdzie A jest stałą opisującą część absorpcji wynikającą m.in. z lepkości, natomiast B_i oraz f_{R_i} to odpowiednio stałe relaksacyjne oraz częstotliwości relaksacyjne różnych cząstek wchodzących w skład tkanki [63].

2.2.2. ZJAWISKO ROZPROSZENIA

Jeżeli fala pada na obiekt, o wymiarach mniejszych od jej długości, wówczas to, tak jak pokazano to na rysunku (Rys. 2.6), część jej energii ulega rozproszeniu, część zaś zostaje pochłonięta przez strukturę rozpraszającą.



Rys. 2.6. Fala płaska padająca na rozpraszacz.

Zakładając, że padająca fala jest monochromatyczną falą płaską, $p_i(\mathbf{r}) = e^{-j\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}$ gdzie $\mathbf{k} = k\mathbf{i}$ (\mathbf{i} oznacza wektor jednostkowy o kierunku padania fali) i \mathbf{r} są wektorami reprezentującymi liczbę falowa oraz pozycję, wówczas to fala rozproszona w \mathbf{r}_s , przez niejednorodność znajdującą się w pozycji \mathbf{r}_o opisana jest przez:

$$p_s(\mathbf{r}_s) = \frac{e^{-j\mathbf{k} \cdot \mathbf{R}}}{R} p_i(\mathbf{r}_o) f(\mathbf{o}, \mathbf{i}) \quad (2.2.9)$$

gdzie \mathbf{o} jest wektorem jednostkowym w kierunku obserwacji przy założeniu, że punkt obserwacji znajduje się w polu dalekim rozpraszacza, gdzie $R = |\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_o|$ i $kR \gg 1$. Wyrażenie $f(\mathbf{o}, \mathbf{i})$ określane jest jako funkcja rozproszenia amplitudy, opisująca właściwości rozproszeniowe obiektu i uzależniona jest zarówno od kierunku padania jak i obserwacji.

Natężenie fali padającej I_i oraz rozproszonej I_s w ośrodku o impedancji Z dane są odpowiednio jako:

$$I_i = \frac{1}{2} \frac{|p_i|^2}{Z} \quad (2.2.10)$$

oraz

$$I_s = \frac{1}{2} \frac{|p_s|^2}{Z} \quad (2.2.11)$$

Podstawiając równania (2.2.9) oraz (2.2.10) do (2.2.11):

$$I_s = \frac{1}{2} \frac{|f(\mathbf{o}, \mathbf{i})|^2}{R^2} I_i \quad (2.2.12)$$

i po przekształceniu:

$$\sigma_d(\mathbf{o}, \mathbf{i}) = |f(\mathbf{o}, \mathbf{i})|^2 = \frac{I_s R^2}{I_i} \quad (2.2.13)$$

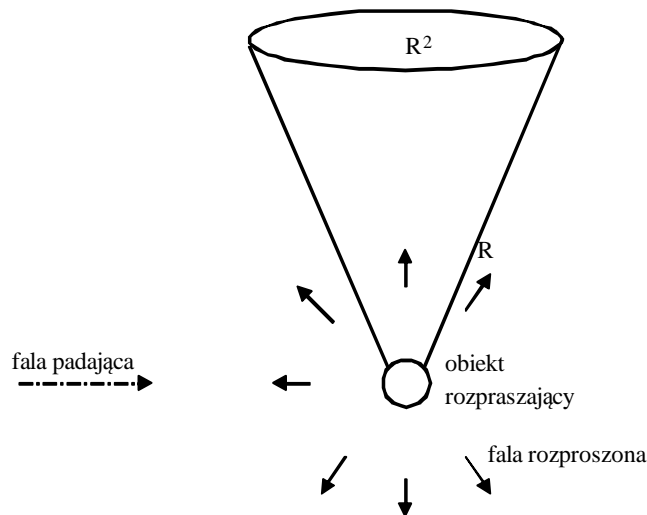
gdzie wyrażenie $\sigma_d(\mathbf{o}, \mathbf{i}) = |f|^2$ jest definiowane jako różnicowy poprzecznik rozproszenia (*differential scattering cross-section*), który określa stosunek mocy rozproszonej w kierunku \mathbf{o} , przy kierunku padania \mathbf{i} , zawartej w jednostkowym kącie bryłowym, do natężenia fali padającej. Jego graficzne przedstawienie zostało zobrazowane na poniższym rysunku (Rys. 2.7).

Jeżeli między kierunkiem padania fali oraz kierunkiem obserwacji zachodzi zależność $\mathbf{o} = -\mathbf{i}$, wówczas to wielkość $\sigma_d(\mathbf{i}, -\mathbf{i})$ określana jest jako poprzecznik rozproszenia wstecznego (*backscattering cross-section*).

Poprzez scałkowanie $\sigma_d(\mathbf{o}, \mathbf{i})$, względem pełnego kąta bryłowego równego 4π , możliwe staje się wyznaczenie poprzecznika rozproszenia (*scattering cross-section*), który to jest definiowany jako stosunek mocy rozproszonej przez obiekt do natężenia fali padającej:

$$\sigma_s = \int \sigma_d d\Omega = \int |f(\mathbf{o}, \mathbf{i})|^2 d\Omega \quad (2.2.14)$$

gdzie $d\Omega$ jest różnicowym kątem bryłowym.



Rys. 2.7. Różnicowy poprzecznik rozproszenia (*differential scattering cross-section*) reprezentujący moc rozproszoną przez rozpraszacz zawartą w kącie bryłowy (Steradianie obejmującym obszar R^2).

W podobny sposób rozważać można poprzecznik absorpcji (*absorption cross-section*) σ_a , który to może być zdefiniowany, jako moc absorbowana przez obiekt. Z tego też względu, tłumienie natężenia fali, w wyniku obecności struktury rozpraszającej, może zostać opisane jako:

$$2\alpha = \sigma_a + \sigma_s \quad (2.2.15)$$

Jeżeli koncentracja rozpraszaczy obecnych w analizowanej objętości ośrodka jest równa n , wówczas to:

$$2\alpha = n(\sigma_a + \sigma_s) \quad (2.2.16)$$

Zależność ta, jest jednak prawdziwa wyłącznie, gdy ilość struktur rozpraszających jest niewielka. W przeciwnym wypadku, znaczące stają się oddziaływania zachodzące między poszczególnymi rozpraszaczami tzn. konieczne staje się uwzględnienie rozprożeń wielokrotnych.

Tkanka jest ośrodkiem niehomogenicznym, który może być rozważany jako medium, zawierające wiele rozpraszaczy, stanowiących źródło rozproszenia. Moc rozproszona przez fragment tkanki, jest ściśle powiązana z kształtem, rozmiarem oraz właściwościami akustycznymi zawartych w niej struktur rozpraszających. Zależność ta stanowi więc potencjalne źródło informacji na temat mikrostruktury tkanki. Może ono zostać wykorzystane poprzez zastosowanie parametru określanego mianem współczynnika rozproszenia wstecznego (*backscattered coefficient*), który to jest zdefiniowany jako stosunek mocy wstecznie rozproszonej przez jednostkę objętości zawierającą struktury rozpraszające zawartą w kącie bryłowym do natężenia fali padającej.

2.3. STATYSTYKA OBWIEDNI SYGNAŁÓW ROZPROSZONYCH

Obrazy ultradźwiękowe, nawet jednorodnych narządów, charakteryzują się specyficzną teksturą, określaną mianem „speckles”. Tekstura ta jest wynikiem interferencji cząstkowych fal, które powstają w wyniku rozproszenia części energii nadanej fali na lokalnych niejednorodnościach, obecnych w objętości pomiarowej. Pomimo tego, że „speckles” przypomina niepożądany szum, w rzeczywistości nie jest to wzór przypadkowy, lecz wzór wynikający ściśle z mikrostruktury tkanki tzn. ilości, wielkości oraz właściwości fizycznych struktur rozpraszających oraz z własności aparatury ultradźwiękowej. Może on więc zostać każdorazowo odtworzony, jeżeli tylko głowica ultradźwiękowa zostanie umieszczona w tej samej pozycji, a co za tym idzie, wiązka ultradźwiękowa propagowała będzie się w tym samym fragmencie tkanki.

Jak do tej pory „speckles” okazały się przydatne w badaniach mających na celu śledzenie przemieszczeń obrazowanych organów np. serca w trakcie echokardiografii. Nie mniej jednak, ich potencjał diagnostyczny wydaje się być znacznie większy. Ocena tekstury „speckles” może bowiem, posłużyć nie tylko jako źródło informacji na temat zachowania badanych narządów, lecz również może zostać zastosowana w celu charakteryzowania i klasyfikacji budujących je tkanek. Jeden ze sposobów wykorzystania ich potencjału stanowi analiza statystyczna obwiedni sygnałów RF zarejestrowanych z tkanki. Statystyka

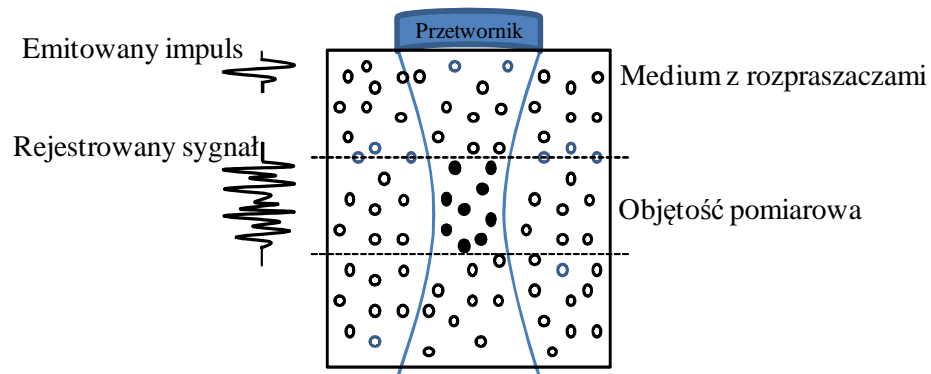
amplitudy ech ultradźwiękowych rozproszonych w tkance była opisywana za pomocą różnych rozkładów statystycznych. W literaturze znaleźć można próby zastosowania m.in.: rozkładu Rayleigha, Riciana, Nakagami, czy też rozkładu K [39-40], [64-65]. Zastosowanie wszystkich tych rozkładów oraz ich charakterystycznych parametrów, jako narzędzia charakteryzującego stan tkanek skóry, jest poza zakresem tej pracy. Dlatego też, w niniejszej rozprawie podjęto próbę zastosowania dwóch z nich. Stosowanego powszechnie, w opisie obrazów ultrasonograficznych tkanki, rozkładu Rayleigha oraz rozkładu K, którego dodatkową zaletę stanowi parametr określany jako „efektywna liczba rozpraszaczy”.

2.3.1. ROZKŁAD RAYLEIGHA I ROZKŁAD K

Tkanka, w której propaguje się fala ultradźwiękowa, może być modelowana jako ośrodek, w którym znajdują się punktowe niejednorodności, określane mianem rozpraszaczy.

Echo, odbierane przez przetwornik w danej chwili czasu t_0 , jak przedstawia to rysunek (Rys. 2.10), stanowi sumę wielu pojedynczych sygnałów, których źródłem są struktury rozpraszające znajdujące się w objętości pomiarowej (zdefiniowanej szczegółowo w rozdziale 6.2).

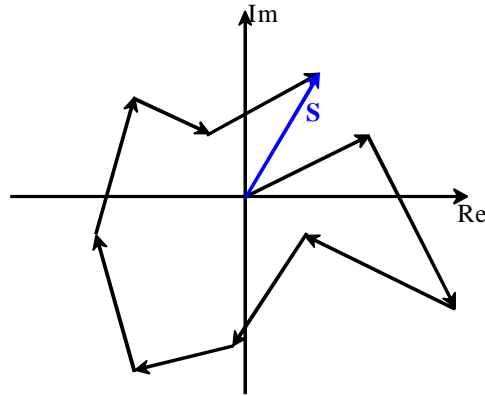
Każdy z echosygnaliów, pochodzący od pojedynczego rozpraszacza, może zostać przedstawiony na płaszczyźnie zespolonej za pomocą fazora. Długość fazora, reprezentującego pojedynczy sygnał, odpowiada jego amplitudzie natomiast kierunek fazie.



Rys. 2.10. Schemat ośrodka z rozpraszaczami stanowiącymi źródło powracających do przetwornika ech.

Zarówno długość fazora jak i jego kierunek, czyli amplituda i faza sygnału, powiązane są ściśle z właściwościami struktury rozpraszającej. Wielkość amplitudy wynika z takich właściwości źródła rozpraszającego jak jego wielkość,

kształt czy też właściwości fizycznych, opisywanych gęstością i prędkością propagacji fali, faza natomiast powiązana jest z jego położeniem.



Rys. 2.11. Fazor wynikowy, reprezentujący odbierane przez przetwornik echo (fazor niebieski), wyznaczony za pomocą metody błędzenia losowego.

Sygnał odbierany przez przetwornik, znaleziony w procesie tzw. błędzenia losowego, gdzie każdemu pojedynczemu sygnałowi odpowiada jeden krok, reprezentowany przez pojedynczy fazor, może więc zostać przedstawiony na płaszczyźnie zespolonej w sposób jaki przedstawia to rysunek (Rys. 2.11).

Echo \mathbf{S} , odbierane przez przetwornik, stanowiące wypadkową N przyczynkowych sygnałów, może zostać zdefiniowane jako suma:

$$\mathbf{S} = \mathbf{s}e^{j\theta} = \sum_{k=1}^N a_k e^{j\varphi_k} \quad (2.3.1)$$

gdzie każdemu z sumowanych sygnałów, odpowiada losowa amplituda a_k oraz faza φ_k .

Przy założeniach, że ilość centrów rozpraszających jest dostatecznie duża ($N \rightarrow \infty$), a_k i φ_k są statystycznie niezależne, zarówno względem siebie, jaki i względem faz i amplitud pozostałych elementarnych fazorów, oraz zmienna losowa φ_k ma rozkład równomierny w przedziale $(-\pi; \pi)$, wówczas wartość oczekiwana zarówno części rzeczywistej $\mathbf{S}_r = \sum_{k=1}^N a_k \cos \varphi_k$ jaki i urojonej $\mathbf{S}_i = \sum_{k=1}^N a_k \sin \varphi_k$ wyrażenia (2.3.1) jest równa zero. Łączna funkcja gęstości prawdopodobieństwa, dla części rzeczywistej \mathbf{S}_r oraz urojonej \mathbf{S}_i , na mocy twierdzenia o Centralnym Rozkładzie Granicznym, dąży natomiast do rozkładu normalnego i przyjmuje postać:

$$p_{\mathbf{S}_r, \mathbf{S}_i}(\mathbf{S}_r, \mathbf{S}_i) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} \exp\left(-\frac{\mathbf{S}_r^2 + \mathbf{S}_i^2}{2\sigma^2}\right) \quad (2.3.2)$$

gdzie σ stanowi wariancję rozkładu [66].

Obwiednia oraz faza sygnału \mathbf{S} , zdefiniowane są odpowiednio jako:

$$S = \sqrt{\mathbf{S}_r^2 + \mathbf{S}_i^2} \quad (2.3.3)$$

oraz

$$\theta = \tan^{-1} \frac{S_i}{S_r} \quad (2.3.4)$$

Korzystając zależności (2.3.3) oraz (2.3.4), przekształcona do współrzędnych biegunowych, łączna funkcja gęstości prawdopodobieństwa, zdefiniowana jest jako:

$$p_{S,\theta}(S, \theta) = \frac{S}{2\pi\sigma^2} \exp\left(-\frac{S^2}{2\sigma^2}\right) \quad \text{dla } \begin{cases} S > 0 \\ -\pi < \theta \leq \pi \end{cases} \quad (2.3.5)$$

Wyznaczenie funkcji gęstości prawdopodobieństwa obwiedni $p_S(S)$ wiąże się z wyznaczeniem funkcji brzegowej, którą to otrzymuje się poprzez scałkowanie wyrażenia (2.3.5) po θ w zakresie $\langle -\pi; \pi \rangle$:

$$p_S(S) = \int_{-\pi}^{\pi} p_{S,\theta}(S, \theta) d\theta \quad (2.3.6)$$

W rezultacie rozkład funkcji gęstości prawdopodobieństwa obwiedni sygnału S przyjmuje postać:

$$p_S(S) = \frac{S}{\sigma^2} \exp\left(-\frac{S^2}{2\sigma^2}\right) \quad \text{dla } S > 0 \quad (2.3.7)$$

która, to postać określana jest mianem rozkładu Rayleigha [66].

Rozkład prawdopodobieństwa fazy $p_\theta(\theta)$, wyznaczony zostaje w sposób analogiczny, poprzez wyznaczenie funkcji brzegowej w wyniku scałkowania równania (2.3.5) względem S , w zakresie $\langle 0; \infty \rangle$. Przyjmuje on postać rozkładu równomiernego $1/2\pi$ w przedziale $\langle -\pi, \pi \rangle$.

Istotną cechą rozkładu Rayleigha jest wartość *MSD* (*Mean-to-Standard Deviation*), zdefiniowana jako stosunek wartości średniej do odchylenia standardowego. Wartość ta, pozostaje wartością stałą, równą 1.913, jeżeli założenia dotyczące ilości oraz równomiernego rozłożenia struktur rozpraszających pozostają spełnione. W przeciwnym wypadku, obserwowany jest spadek wartości *MSD* poniżej wymienionej wartości.

W przypadku tkanek, ilość i rozłożenie źródeł rozpraszających, zawartych w objętości pomiarowej, bardzo często nie spełnia założeń Centralnego Twierdzenia Granicznego. W konsekwencji stosowanie rozkładu Rayleigha, w celu modelowania statystyki obwiedni sygnałów nie jest możliwe. Sytuacja taka zachodzi, jak wykazane zostanie w rozdziale (4), w przypadku modelowania statystyki obwiedni sygnałów zarejestrowanych ze skóry ludzkiej. Powodem takiego stanu rzeczy jest najprawdopodobniej mikrostruktura tkanki. W przypadku skóry właściwej główne źródło rozproszenia stanowią włókna

kolagenowe, których średnica przyjmuje wartości z zakresu od kilku do kilkunastu mikrometrów. Tak duża zmienność w średnicy struktur rozpraszających powoduje, że rozważyć należy efektywność rozpraszania, czyli uwzględnić fakt, że ilość rozpraszaczy nie zawsze jest jednoznaczna z ilością struktur rozpraszających, mających wpływ na kształt sygnału.

Podobną sytuację należy uwzględnić w przypadku analizy tkanek skóry objętych nowotworem podstawnokomórkowym, którego pojedyncze komórki rakowe, łączą się w większe skupiska, stanowiące klastry rozpraszające.

Analizę mikrostruktury tkanki należy więc przeprowadzać pod kątem ilości centrów rozpraszających, stanowiących źródło sygnału, uwzględniając nie tylko ilość pojedynczych rozpraszaczy lecz również ich jednorodność.

W przypadku gdy sytuacja taka zachodzi, funkcja gęstości prawdopodobieństwa \mathbf{S} , przyjmuje postać [67]:

$$p(\mathbf{S}) = \frac{1}{2\pi} \left(\frac{S}{2}\right)^{M-1} \frac{b^{M+1}}{\Gamma(M)} K_{M-1}(bS) \quad (2.3.8)$$

gdzie $b = \sqrt{\frac{4M}{E[S^2]}}$, $K_\beta(\cdot)$ jest zmodyfikowaną funkcją Bessl'a drugiego rodzaju rzędu β , a $\Gamma(\cdot)$ funkcją Gamma. Parametr M natomiast, charakteryzujący obecność dominujących rozpraszaczy, to tzw. „efektywna liczba rozpraszaczy”.

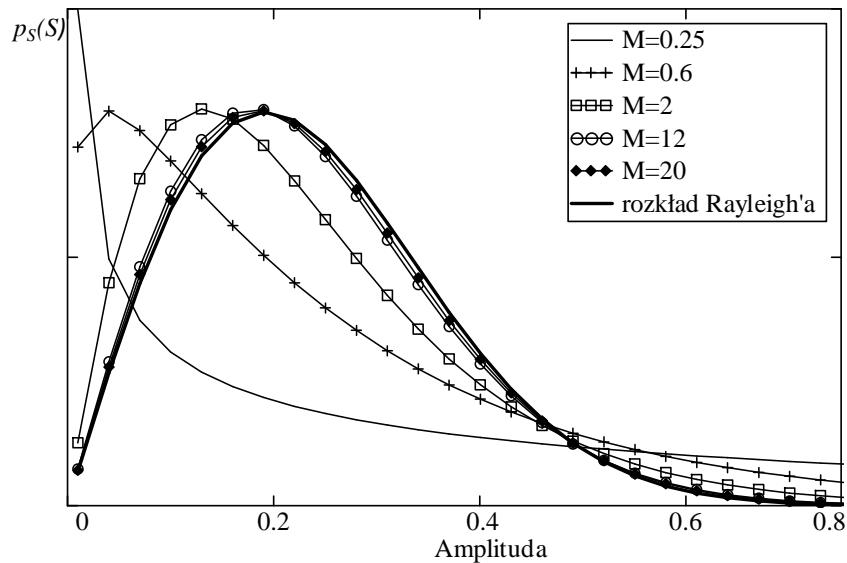
Funkcja gęstości rozkładu obwiedni $p_S(S)$, sygnału reprezentowanego przez fazor \mathbf{S} , znaleziona zostaje, przez wyznaczenie funkcji brzegowej $p(\mathbf{S})$ tak, że:

$$p_S(S) = \int_0^\pi Sp(\mathbf{S})d\theta \quad (2.3.9)$$

i w rezultacie:

$$p_S(S) = 2 \left(\frac{S}{2}\right)^M \frac{b^{M+1}}{\Gamma(M)} K_{M-1}(bS) \quad (2.3.10)$$

Powyższy rozkład określany jest mianem rozkładu K. Jego zaletą, jest możliwość modelowania statystyki, zarówno w przypadku wystąpienia warunków koniecznych dla rozkładu Rayleigha jak i w przypadku ich braku, tzn. może on przyjmować cechy różnych rozkładów w zależności od wartości „efektywnej liczby rozpraszaczy”. Cecha ta została zobrazowana na poniższym rysunku (Rys. 2.12), gdzie zaobserwować można „elastyczność” omawianego rozkładu. W zależności od wartości parametru M , przebieg funkcji $p_S(S)$, zdefiniowanej przez rozkład K, ulega modyfikacjom, przyjmując kształt rozkładu logarytmicznego przy najniższej wartości parametru M , po rozkład Rayleigha przy $M \rightarrow \infty$, (a w rzeczywistości już przy wartościach M wyższych od 12).



Rys. 2.12. Funkcja gęstości rozkładu K dla kilku wartości parametru M .

Obok „elastycznego charakteru” rozkładu K, jego zaletą jest obecność parametru M zdefiniowanego jako „efektywna liczba rozpraszaczy”, użytecznego przy charakteryzowaniu mikrostruktury ośrodka. Parametr ten, wyrażony jest przez zależność:

$$M = N_s(1 + \nu) \tag{2.3.11}$$

gdzie N_s to rzeczywista liczba rozpraszaczy analizowanych w danej chwili czasu (obecnych w objętości pomiarowej), natomiast parametr ν charakteryzuje stopień ich niejednorodności [64]. Modeluje on zatem „efektywną” liczbę rozpraszaczy, czyli ilość struktur rozpraszających, które faktycznie wpływają na sygnał.

2.4. METODY WYZNACZANIA PARAMETRÓW ILOŚCIOWYCH

2.4.1. METODA WYZNACZANIA WSPÓŁCZYNNIKA TŁUMIENIA

Widmo mocy $S(f, z_i)$, rozproszonego sygnału zarejestrowanego z głębokości z_i , przedstawione może zostać jako iloczyn funkcji [68-69]:

$$S(f, z_i) = H(f, z_i)B(f, z_i)e^{-4\alpha(f)z_i} \tag{2.4.1}$$

gdzie $H(f, z_i)$ odpowiada za elektromechaniczną odpowiedź przetwornika oraz efekty dyfrakcyjne, $B(f, z_i)$ modeluje właściwości rozproszeniowe ośrodka, zaś człon $e^{-4\alpha(f)z_i}$ odpowiada za jego właściwości tłumiące.

W analogiczny sposób, definiując widmo mocy dla głębokości $z_i + \Delta z$:

$$S(f, z_i + \Delta z) = H(f, z_i + \Delta z)B(f, z_i + \Delta z)e^{-4\alpha(f)(z_i + \Delta z)} \quad (2.4.2)$$

Przy założeniu, że mikrostruktura ośrodka jest homogeniczna w całej objętości, właściwości rozproszeniowe pozostają identyczne i $B(f, z_i)$ oraz $B(f, z_i + \Delta z)$ upraszczają się do postaci:

$$B(f, z_i) \cong B(f) \quad (2.4.3)$$

$$B(f, z_i + \Delta z) \cong B(f) \quad (2.4.4)$$

W podobny sposób, jeżeli efekty dyfrakcyjne zostaną uznane za pomijalne, bądź odpowiednio skompensowane:

$$H(f, z_i) \cong H(f) \quad (2.4.5)$$

$$H(f, z_i + \Delta z) \cong H(f) \quad (2.4.6)$$

wówczas zależności (2.4.1) oraz (2.4.2) upraszczają się do postaci:

$$S(f, z_i) = H(f)B(f)e^{-4\alpha(f)z_i} \quad (2.4.7)$$

oraz

$$S(f, z_i + \Delta z) = H(f)B(f)e^{-4\alpha(f)(z_i + \Delta z)} \quad (2.4.8)$$

Podstawiając (2.4.7) do równania (2.4.8):

$$S(f, z_i + \Delta z) = S(f, z_i)e^{-4\alpha(f)\Delta z} \quad (2.4.9)$$

Po przekształceniu, zależności tłumienia od częstotliwości, wyrażona może zostać jako:

$$\alpha(f) = -\frac{\ln \frac{S(f, z_i + \Delta z)}{S(f, z_i)}}{4\Delta z} \quad (2.4.10)$$

2.4.2. METODA WYZNACZNIA WSPÓŁCZYNNIKA ROZPROSZENIA WSTECZNEGO

Znormalizowane widmo mocy $S_0(f)$, czyli widmo, w którym skompensowano wpływ aparatury pomiarowej na jego kształt, zdefiniowane jest jako iloraz widma mocy $S(f)$, wyznaczonego na podstawie sygnałów rozproszonych zarejestrowanych z ośrodka oraz widma referencyjnego $S_r(f)$:

$$S_0(f) = \frac{S(f)}{S_r(f)} \quad (2.4.11)$$

Insana i wsp. [70] wykazali, że $S_0(f)$ może zostać przedstawione jako iloczyn funkcji:

$$S_0(f) = \frac{4\pi^2 D^2 f^6 \bar{n}}{F_1^4} B_H B_g \Gamma^2(2f) \quad (2.4.13)$$

gdzie B_H oznacza funkcję autokorelacji kierunkowości przetwornika nadawczo-odbiorczego, B_g funkcję autokorelacji zakresu funkcji czasowej użytej do wydzielenia fragmentu sygnału zlokalizowanego w przedziale $\langle F_1, F_2 \rangle$ (gdzie F_1 oraz F_2 oznaczają odległość między przetwornikiem oraz odpowiednio bliższą oraz dalszą granicą wydzielonego fragmentu sygnału), \bar{n} to średnia gęstość przestrzenna rozpraszaczy w analizowanym medium, zaś Γ^2 jest funkcją widmowej gęstości mocy fluktuacji ośrodka.

Ueda i wsp. [71] wykazali, że przy założeniu $kr \gg 1$ (gdzie r oznacza promień przetwornika, a k to liczba falowa):

$$B_H = \frac{0.46}{D} (2\pi F_1 / f)^2 \quad (2.4.14)$$

gdzie $D = \pi r^2$ oznacza powierzchnię apertury przetwornika.

Postać B_g uzależniona jest od rodzaju zastosowanej funkcji czasowej, służącej wydzieleniu fragmentu echa zarejestrowanego z analizowanego fragmentu ośrodka. W przypadku zastosowania okna Hanning lub okna prostokątnego przyjmuje ona odpowiednio postać $0.375\Delta x$ oraz Δx , gdzie $\Delta x = F_2 - F_1$, oznacza długość okna czasowego [70,72].

Korzystając z zależności (2.4.13) i (2.3.14) oraz przy założeniu, że fragment sygnału wydzielony został za pomocą funkcji czasowej w postaci okna Hanninga:

$$S_0(f) = \frac{0.34D\Delta x}{F_1^2} \cdot (2\pi f)^2 \cdot \bar{n}\Gamma^2(2f) \quad (2.4.15)$$

Insana i wsp. [70] wykazali również, że:

$$\Gamma^2(2f) = \frac{\sigma_{sc}(f)}{\bar{n} \cdot 4 \cdot \pi^2 \cdot f^2} \quad (2.4.16)$$

gdzie σ_{sc} oznacza współczynnik rozproszenia wstecznego.

W konsekwencji więc, znormalizowane widmo mocy, określone może zostać za pomocą zależności:

$$S_0(f) = \frac{0.34D\Delta x}{F_1^2} \cdot \sigma_{sc}(f) \quad (2.4.17)$$

Wartości współczynnika rozproszenia wstecznego jak i jego zależności częstotliwościowe, wyznaczone mogą zostać po przekształceniu zależności (2.4.17), na podstawie widma sygnału zarejestrowanego z analizowanego ośrodka, przy znajomości podstawowych informacji na temat geometrii stosowanego przetwornika.

Wyrażenie (2.4.17) potwierdza, że częstotliwościowa zależność znormalizowanego widma mocy uzależniona jest wyłącznie od współczynnika rozproszenia wstecznego. Wartości parametrów D , Δx oraz F_1 wynikające z warunków przeprowadzanego eksperymentu, skalują wyłącznie amplitudę $S_0(f)$,

nie dokonując jakichkolwiek modyfikacji zależności częstotliwościowych, wynikających wyłącznie z cech ośrodka.

2.4.3. METODA WYZNACZANIA EFEKTYWNEJ LICZBY ROZPRASZACZY

Określenie wartości parametru M , na podstawie zależności (2.3.11) nie jest możliwe. W praktyce, nie znana jest bowiem ani rzeczywista ilość rozpraszaczy, ani wartości parametru modulującego ich „efektywność”. Z tego względu konieczne jest zastosowanie innych metod umożliwiających wyznaczenie „efektywnej liczby rozpraszaczy”. Jednym ze sposobów jest tzw. metoda momentów statystycznych.

Ogólna postać η -ego momentu statystycznego dla obwiedni S rozkładu K zdefiniowana jest jako:

$$E[S^\eta] = \left(\frac{E[S^2]}{M}\right)^{\frac{\eta}{2}} \frac{\Gamma(\frac{\eta}{2}+M)\Gamma(\frac{\eta}{2}+1)}{\Gamma(M)} \quad (2.4.18)$$

gdzie $E[.]$ oznacza średnią, zaś $\Gamma(.)$ funkcję Gamma [64].

W niniejszej pracy, wartości M wyznaczona została na podstawie drugiego ($\eta = 2$) i czwartego ($\eta = 4$) momentu statycznego. Bazując na ogólnej postaci wyrażenia (2.4.18), czwarty znormalizowany moment przyjmuje postać [64, 73]:

$$r_4 = \frac{E[S^4]}{[E[S^2]]^2} = 2 \left(1 + \frac{1}{M}\right) \quad (2.4.19)$$

i po przekształceniu:

$$M = \frac{2}{r_4 - 2} = \frac{2}{\frac{E[S^4]}{[E[S^2]]^2} - 2} \quad (2.4.20)$$

CHARAKTERYSTYKA UKŁADU POMIAROWEGO I REJESTRACJA DANYCH

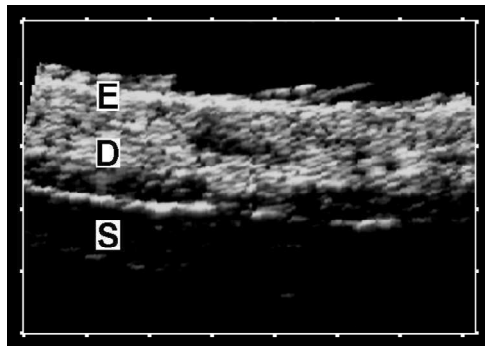
3.1. MIKROSONOGRAF DO OBRAZOWANIA SKÓRY

Urządzenia, umożliwiające wizualizację tkanek skóry, stanowią w dermatologii jedno z podstawowych narzędzi diagnostycznych. Świadomość ta, oraz współpraca ze środowiskiem medycznym, przyczyniły się do tego, że już w latach 1990–2000 w Zakładzie Ultradźwięków Instytutu Podstawowych Problemów Techniki PAN prowadzone były prace nad skonstruowaniem urządzenia ultrasonograficznego, pracującego w zakresie wysokich częstotliwości, umożliwiającego obrazowanie zarówno tkanek skóry jak i oka. W efekcie powstał skaner, określany mianem mikrosonografu, umożliwiający obrazowanie tkanek w czasie rzeczywistym z prędkością około 3 obrazów/s, dysponujący zasięgiem penetracji sięgającym około 5mm.

Na rysunku (Rys. 3.1), przedstawiono obraz ultrasonograficzny skóry, uzyskany za pomocą tego aparatu, zaczerpnięty z pracy Szymańskiej i wsp. [74]. Charakteryzował się on niestety niską rozdzielczością oraz słabą dynamiką dla głębiej położonych warstw skóry. Ograniczenia te spowodowały, iż mimo prób wykorzystania mikrosonografu, w badaniach nad nowotworem skóry w postaci czerniaka, identyfikacja schorzenia na podstawie uzyskanych obrazów była bardzo ograniczona.

Zebrane doświadczenia oraz rozwój technik związany z możliwością stosowania transmisji kodowanej, przyczyniły się do tego, iż zaprojektowano i wykonano kolejną generację urządzenia. Powstał mikrosonograf, który dzięki zastosowaniu ultrasonografii kodowanej oraz wyposażeniu go w funkcję Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia (ZRW) umożliwił pozyskiwanie obrazów o wyższym kontraście, mniejszych szumach oraz o znacznie lepszych możliwościach wizualizacyjnych struktur położonych w głębszych warstwach skóry. Ponadto wysoka częstotliwość (25MHz) umożliwiła podwyższenie

rozdzielczości, czyli w konsekwencji polepszenie wykrywalności szczegółów [75].



Rys. 3.1. Obraz skóry otrzymany za pomocą mikrosonografu opracowanego w 2000 r. Zaznaczono warstwy skóry: E - naskórek, D - skóra właściwa, S - tkanka podskórna (podziałka co 1mm).

Powstały układ, przedstawiony na rysunku (Rys. 3.2), składał się z trzech modułów:

- głowicy ultradźwiękowej
- modułu nadawania i akwizycji

oraz

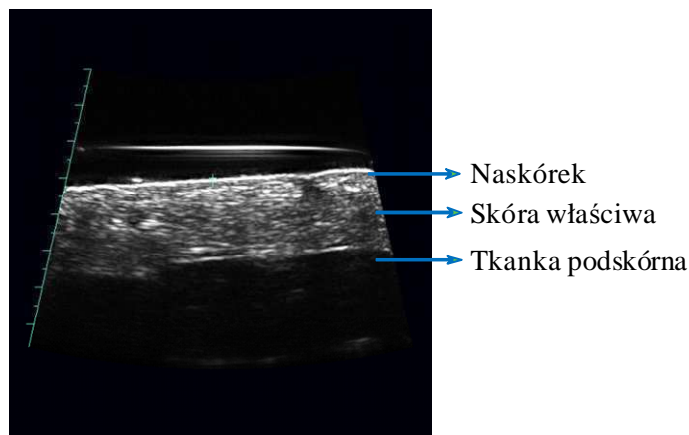
- komputera PC realizującego funkcje sterujące oraz wyświetlania.



Rys. 3.2. Mikrosonograf – zaprojektowany i zbudowany w Zakładzie Ultradźwięków IPPT PAN, stosowany do obrazowania skóry.

Głowica ultradźwiękowa, podłączona została do modułu elektronicznego, który pełnił funkcję generatora sygnałów nadawanych oraz digitizera odbieranych ech ultradźwiękowych. Powracające echa przesyłane były w czasie rzeczywistym do komputera PC. W trakcie jednego cyklu pracy głowicy, odbieranych było 200 ech, które to następnie poddawane były dalszemu przetwarzaniu softwarowemu

polegającym m.in. na wyznaczeniu obwiedni sygnałów oraz wyświetleniu ich w skali szarości na ekranie.



Rys. 3.3. Obraz skóry otrzymany za pomocą mikrosonografu opracowanego w 2010 r. Zaznaczono widoczne poszczególne warstwy skóry: naskórek, skórę właściwą oraz tkankę podskórną (podziałka co 1mm).

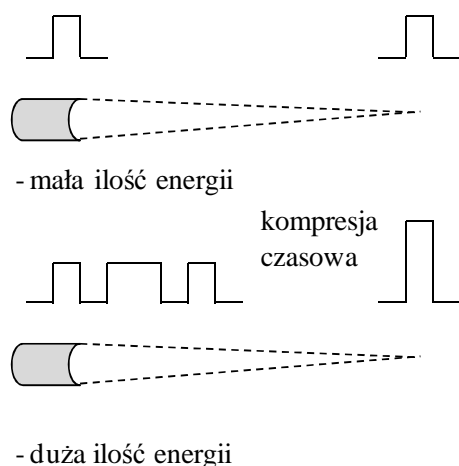
3.1.1. ULTRASONOGRAFIA KODOWANA

Uzyskanie obrazów ultradźwiękowych, umożliwiających jak najwcześniejsze wykrywanie zmian w tkankach, możliwe jest poprzez zwiększenie stosunku sygnał-szum. Przy określonym poziomie szumów odbiornika, uzyskanie takiego efektu wiąże się ze zwiększenia energii nadawanego sygnału. Efekt taki możliwy jest do osiągnięcia poprzez zwiększanie szczytowej amplitudy sygnałów nadawczych. Maksymalne wartości amplitudy stosowanych ciśnień ograniczone są jednak przez wprowadzone normy bezpieczeństwa. W konsekwencji więc, jedynym możliwym w praktyce rozwiązaniem, zwiększenia nadawanej energii, jest wydłużenie impulsu.

Pożądana cechą, wizualizacji ultradźwiękowej, jest uzyskiwanie obrazów o jak najwyższej rozdzielczości podłużnej ΔRp . Cecha ta szczególnie istotna jest w przypadku zastosowań dermatologicznych, gdzie obrazowaniu poddawane są małe struktury, położone bardzo blisko siebie. Możliwość ich rozróżnienia zachodzi tylko wtedy gdy $\Delta Rp \leq \frac{c}{2BW_{-6dB}}$, gdzie c oznacza prędkość propagacji fali w ośrodku, a BW pasmo impulsu mierzona na poziomie $-6dB$ (dla klasycznie stosowanych krótkich impulsów istnieje bezpośredni związek między czasem trwania impulsu τ a szerokością pasma $BW = 1/\tau$). Zobrazowane mogą, więc być wyłącznie te echa, które przesunięte są względem siebie o czas większy aniżeli długość impulsów sondujących.

Zapewnienie przez system ultradźwiękowy, jednocześnie jak najwyższego poziomu wykrywalności oraz jak najwyższej rozdzielczości prowadzi więc do dwóch przeciwstawnych wymagań.

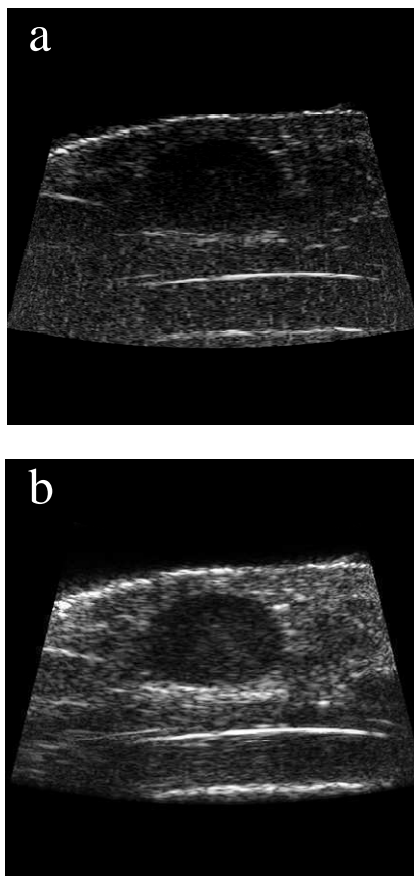
Odpowiedź na powyższe ograniczenia stanowić może stosowanie ultradźwiękowej transmisji kodowanej. Polega ona na zastosowaniu specjalnie wybranych sekwencji sygnałów nadawanych, dzięki czemu możliwa staje się kompresja czasowa powracających ech za pomocą szeroko pojętej klasy filtrów dopasowanych lub inaczej, za pomocą korelacji ech z repliką sekwencji nadanej [9], [76]. W konsekwencji prowadzi to do zwiększenia stosunku sygnał/ szum, czyli do polepszenia jakości/głębokości obrazowania, bez konieczności stosowania dużych mocy szczytowych.



Rys. 3.4. Schemat obrazujący zasadę działania tradycyjnego nadawania oraz stosowania ultrasonografii kodowanej, umożliwiającej zwiększenie nadawanej energii bez konieczności stosowania dużych mocy szczytowych.

W omawianym skanerze zaimplementowano możliwość wykorzystywania zarówno kodów algebraicznych w postaci kodów Barkera oraz kodów Golaya, jak i możliwość pobudzania za pomocą krótkich impulsów [77]. Wybór zastosowanego rozwiązania pozostawiono operatorowi, który w łatwy sposób mógł dokonywać przełączeń między sposobami transmisji również w trakcie przeprowadzania badania.

Pozytywny wpływ stosowania ultrasonografii kodowanej na jakość obrazów uzyskanych za pomocą mikrosonografu, zaobserwować można na poniżej zaprezentowanych skanach, wizualizujących przekrój naczynia w nadgarstku. Subiektywna ocena B-modów, obrazujących ten sam fragment tkanki, pozwala stwierdzić że zarówno zasięg penetracji jak i kontrast obrazu uzyskanego wyniku zastosowania 16-bitowego kodu Golaya (Rys. 3.5b), jest znacznie lepszy aniżeli w przypadku stosowania pobudzenia w postaci funkcji sinus (Rys. 3.5a).



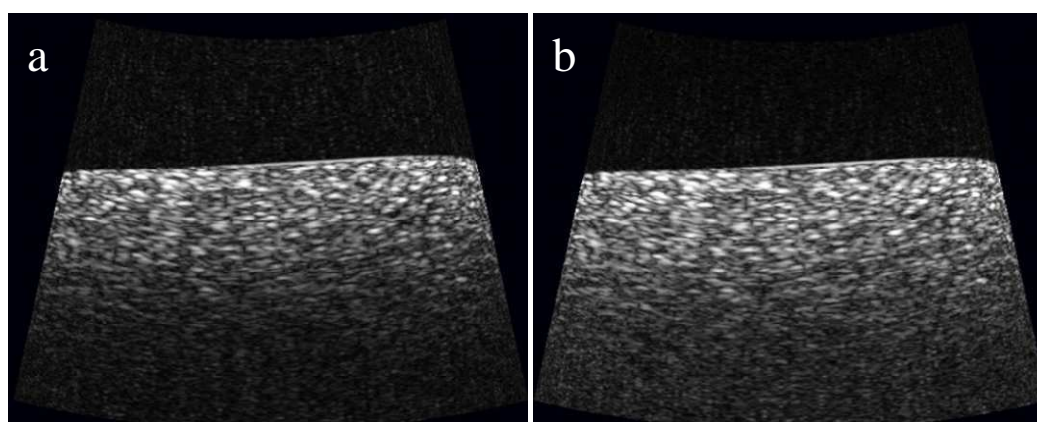
Rys. 3.5. Obrazy w prezentacji B — przekrój poprzeczny naczynia w nadgarstku. a) Sinus 2 okresy 25 MHz b) Golay 16-bit 25 MHz.

3.1.2. WPŁYW DZIAŁANIA ZASIĘGOWEJ REGULACJI WZMOCNIENIA (ZRW) NA JAKOŚĆ UZYSKANYCH OBRAZÓW

Występujące w tkance tłumienie powoduje, że energia wiązki ultradźwiękowej ulega osłabieniu, co konsekwencji przyczynia się do ograniczonych możliwości wizualizacji położonych głębiej struktur. Efekt ten staje się możliwy do zminimalizowania poprzez zastosowanie Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia (ZRW). Kompensacja ta, odbywa się poprzez stopniowe zwiększanie wzmocnienia sygnałów wraz z zakresem penetracji. Dzięki temu, możliwe staje się uzyskanie obrazu o jednolitej jasności w całym zakresie. Ze względu na to, że występujące w tkankach tłumienie jest wielkością zmienną, różną dla każdego pacjenta, zastosowanie uniwersalnego wzmocnienia jest niemożliwe. Ustawienia Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia muszą więc być dobierane indywidualnie, w trakcie wykonywania każdego skanowania.

Rozwiązanie takie zastosowane zostało również w mikrosonografie. Optymalny dobór ZRW, dokonywany przez operatora, odbywał się poprzez regulację zarówno poziomu ZRW, poprzez określenie początkowego poziomu tłumienia z którego startuje, jak również przez określenie głębokości, na której ma zacząć działać.

Pozytywny efekt jego zastosowania, na jakość uzyskanych obrazów, zobrazowany został na poniższych B-modach fantomu tkankowego. Prezentowane skany, wykonane zostały dla dwóch ustawień aplikacji ZRW (pierwszy bez użycia omawianej funkcji (Rys. 3.6a), drugi zaś z wykorzystaniem ZRW (Rys. 3.6b)), pozostałe ustawienia dla obydwu przypadków, pozostawały bez zmian.



Rys. 3.6. Obrazy B-mod fantomu tkankowego wykonane: a) bez zastosowania funkcji ZRW oraz b) z zastosowaniem ustawień ZRW.

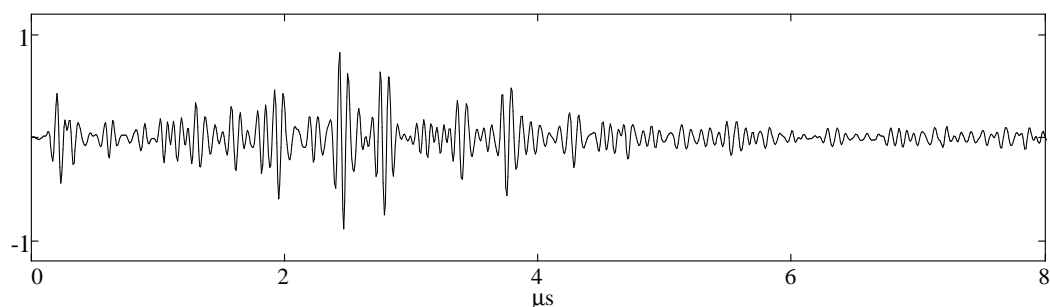
3.2. ADAPTACJA MIKROSONOGRAFU NA POTRZEBY OCENY ILOŚCIOWEJ

Ultradźwiękowa ocena ilościowa tkanek, wymaga dostępu zarówno do sygnałów RF, jak i do zapisu zastosowanych ustawień ZRW, w celu przeprowadzenia kompensacji jej wpływu na odbierane echa. Mikrosonograf, służący pierwotnie obrazowaniu tkanek skóry, został zaadaptowany w taki sposób aby umożliwiał nie tylko wizualizację ale również jednoczesny zapis sygnałów RF oraz ustawień Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia.

W wyniku przeprowadzonej modyfikacji, w trakcie każdego z pomiarów możliwa stała się jednoczesna rejestracja trzech rodzajów danych, tj.: obrazu B-mod (Rys. 3.3), przebiegów sygnałów RF (Rys. 3.7) oraz zapisu ustawień ZRW (Rys. 5.1a).

3.2.1. REJESTRACJA SYGNAŁÓW RF ORAZ USTAWIEŃ ZASIĘGOWEJ REGULACJI WZMOCNIENIA

Każdemu z rejestrowanych obrazów B-mod, odpowiadało 200 linii ech, o długości 2048 próbek każda. Echa te zapisywane były w postaci sygnałów RF (Rys. 3.7), które to rejestrowane były z częstotliwością próbkowania równą 200 MHz oraz rozdzielczością 12bitów/s. Przy przyjęciu prędkości propagacji fali w tkance równej 1540m/s, odpowiadało to głębokości penetracji równej około 8mm.



Rys. 3.7. Pojedyncza linia sygnału RF, zarejestrowana ze skóry ludzkiej *in vivo*.

Poprawa jakości obrazu, wynikająca z zastosowania funkcji Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia, spowodowana jest odpowiednim wzmocnieniem sygnału. Wzmocnienie to nie jest jednak stałe w całym zakresie sygnału, lecz wynika z zastosowanych, indywidualnych ustawień, które powodują, że początkowe wartości amplitud wzmacniane są w mniejszym stopniu aniżeli amplitudy sygnału pochodzące z głębszych warstw ośrodka. W konsekwencji więc, przebieg sygnału ulega modyfikacji, w porównaniu do przebiegu sygnału rejestrowanego z tego samego fragmentu ośrodka, bez użycia ustawień ZRW.

Obecność zaistniałych zmian powoduje, że przed przystąpieniem do analizy ilościowej, konieczne jest zastosowanie odpowiednich kompensacji, których celem jest usunięcie wpływu Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia na przebieg rejestrowanych sygnałów RF. Przeprowadzenie odpowiedniej korekty możliwe było dzięki dostępowi do danych dotyczących zastosowanych ustawień ZRW, zapisywanych w trakcie każdego pomiaru w dodatkowo generowanym pliku. Na ich podstawie dokonywano rekonstrukcji krzywej, reprezentującej poziom zastosowanych na poszczególnych głębokościach wzmocnień oraz wykorzystującą jej przebieg przeprowadzano kompensację.

3.3. CHARAKTERYSTYKA GŁOWICY

W trakcie rejestracji danych wykorzystano jednoelementową, 25MHz głowicę sektorową. W głowicy zastosowano przetwornik o średnicy 3mm, który pracował przez kąpiel wodną oraz zabezpieczającą ją warstwę folii spożywczej. Przetwornik wykonany został technologią tzw. grubych warstw (*ang. thick-film*), polegającą na nakładaniu kolejnych warstw piezoelektrycznego materiału PZT na warstwę ceramiki.

Zastosowany układ mechaniczny, umożliwiał wykonywanie przez przetwornik ruchu wahadłowego. W trakcie jednego cyklu pracy, przetwornik pracował w sektorze o kącie 27° , co odpowiadało odbiorowi 200 linii ech.

Ognisko głowicy, zlokalizowane 8.7 mm od powierzchni przetwornika, zrealizowano za pomocą krzywizny powierzchni przedniej. Dobrane zostało ono w taki sposób, aby w trakcie pomiarów znajdowało się w warstwie skóry właściwej tj. około 1.6mm pod powierzchnią skóry, czyli w obszarze, z którego sygnały poddawano analizie ilościowej.

Tab. 3.1. Właściwości przetwornika użytego w trakcie rejestracji sygnałów.

Częstotliwość	25MHz
F-number	2.9
Średnica	3mm
Ogniskowa	8.7mm



Rys. 3.8. Przetwornik zamocowany w głowicy współpracującej z mikrosonografem.

3.4. REJESTRACJA SYGNAŁÓW ZE SKÓRY LUDZKIEJ *IN VIVO*

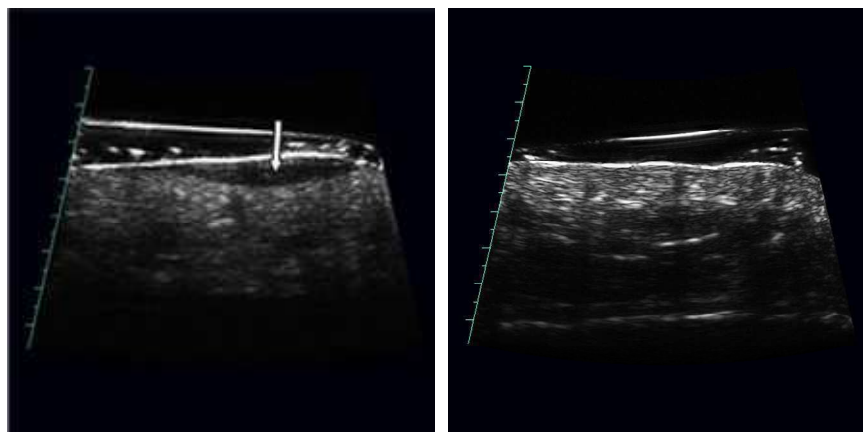
W pracy podjęto próbę oceny stanu skóry ludzkiej *in vivo*, na podstawie analizy ech ultradźwiękowych, w oparciu o opracowane metody ilościowe.

Sprawdzenie ich przydatności w diagnostyce dermatologicznej, wymaga dostępu do danych zarejestrowanych *in vivo* od osób, u których zdiagnozowano zmiany patologiczne skóry w postaci schorzeń, na których zdecydowano się skupić uwagę, w wyniku przeprowadzonych konsultacji dermatologicznych tj. na nowotworze podstawnocomórkowym (*BCC – Basal Cell Carcinoma*) oraz poprzedzającym go stanie przedrakowym – rogowaceniu posłonecznym (*AK – Actinic Keratosis*).

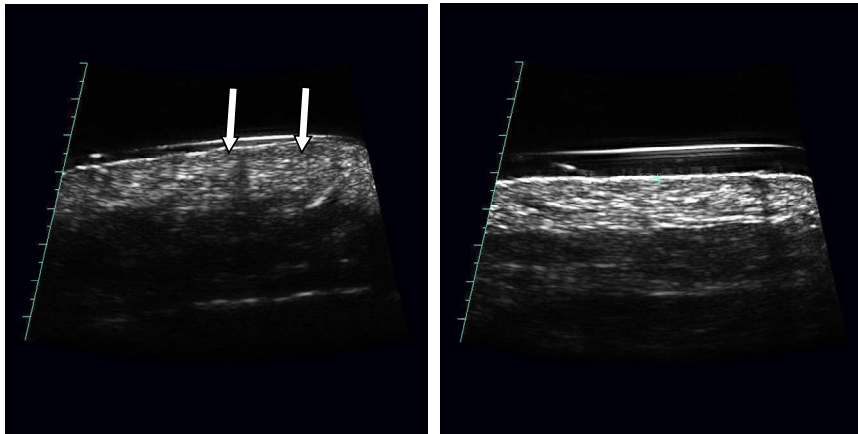
Rejestracja danych, od pacjentów z takimi schorzeniami, możliwa była dzięki współpracy nawiązanej z Kliniką Dermatologii Szpitala MSWiA w Warszawie. Zaprezentowany powyżej mikrosoneograf, został przekazany do użytku klinicznego, gdzie wykorzystywany był, jako tradycyjny ultrasonograf służący wizualizacji tkanek skórnych oraz jednocześnie umożliwiając rejestrację sygnałów RF wraz z zapisem ustawień ZRW.

Dane (B-mod + sygnały RF + zapis ustawień ZRW), które poddawane były dalszej analizie, rejestrowane były przez lekarzy dermatologów. Dokonywali oni zarówno wyboru odpowiednich przypadków medycznych jak i wyboru fragmentów skóry. W badaniach udział wzięło 21 pacjentów ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnocomórkowym oraz 14 u których wystąpiło rogowacenie posłoneczne. Od każdej z osób, biorących udział w badaniach, obok sygnałów z obszarów skóry objętej *BCC* bądź *AK*, zapisywano jednocześnie dane pochodzące z fragmentów skóry zdrowej.

Przykładowe obrazy B-mod, zarejestrowane od pacjenta ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnocomórkowym (Rys. 3.9) oraz rogowaceniem posłonecznym (Rys. 3.10) przedstawiono poniżej.



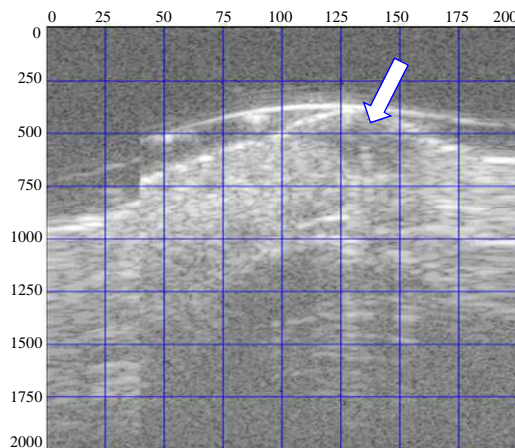
Rys. 3.9. Obrazy B-mod zarejestrowane od pacjenta ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnocomórkowym. Po prawej stronie obraz skóry zdrowej, po lewej obraz skóry zmienionej patologicznie. Obszar zmiany wskazuje strzałka.



Rys. 3.10. Obrazy B-mod zarejestrowane od pacjenta ze zdiagnozowanym rogowaceniem postłonecznym. Po prawej stronie obraz skóry zdrowej, po lewej obraz skóry zmienionej patologicznie. Obszar zmiany wskazują strzałki.

3.5. WYBÓR OBSZARU ROI (*REGION OF INTEREST*)

Wskazany przez lekarzy obszar tkanki zmienionej patologicznie *ROI* (*Region of Interest*), obejmuje wyłącznie fragment zarejestrowanych obrazów B-mod. Każdemu z takich fragmentów, odpowiada pewien zakres linii ech, który przed przystąpieniem do ultradźwiękowej ocen ilościowej, wymaga dokładnego określenia. Identyfikacja odpowiednich fragmentów sygnałów RF, pokrywających się z analizowanym fragmentem tkanki, obejmuje więc wybór zarówno odpowiednich przebiegów sygnałów RF jak i zakresu próbek, w każdej z wybranych linii.



Rys. 3.11. Obraz skóry, z widoczną zmianą w postaci nowotworu podstawno-komórkowego (obszar wskazany przez strzałkę), wygenerowany w środowisku Mathcad[®], na podstawie obwiedni sygnałów RF wyświetlonych w skali szarości.

Precyzyjny wybór danych, wyłącznie na podstawie B-modu, jest niemożliwy. Z tego też względu zdecydowano o wygenerowaniu pomocniczego obrazu, na podstawie zarejestrowanych sygnałów RF. Obrazy takie powstawały w środowisku Mathcad[®], poprzez wyznaczenie obwiedni zarejestrowanych ech za pomocą transformaty Hilberta i następnie wyświetlenie ich w skali szarości. Przykładowy obraz, przedstawiony został na rysunku (Rys. 3.11). Ilustruje on fragment skóry, z widoczną zmianą w postaci nowotworu podstawnokomórkowego. Na obraz naniesiona została siatka, umożliwiająca precyzyjny wybór danych, poddawanych analizie ilościowej.

PORÓWNANIE ROZKŁADÓW K ORAZ RAYLEIGHA Z DANYMI EMPIRYCZNYMI - WYBÓR FUNKCJI GĘSTOŚCI PRAWDOPODOBIENSTWA

Informacje prezentowane w literaturze sugerują, że stosowany w ultrasonografii rozkład Rayleigha, w przypadku modelowania statystyki obwiedni sygnałów rejestrowanych z tkanek ludzkich nie zawsze jest właściwym wyborem [78-80]. Fakt ten potwierdzili m.in. Raju i wsp. [81], poprzez poddanie analizie sześciu różnych funkcji rozkładu gęstości prawdopodobieństwa i wykazanie, że rozkładem, który umożliwia modelowanie statystyki obwiedni sygnałów zarejestrowanych ze skóry ludzkiej jest rozkład K.

W celu potwierdzenia tej hipotezy, zdecydowano o sprawdzeniu, która z funkcji gęstości prawdopodobieństwa: rozkład Rayleigha czy rozkład K, umożliwia w dokładniejszy sposób modelowanie statystyki obwiedni sygnałów zarejestrowanych ze skóry ludzkiej, za pomocą przedstawionego w poprzednim rozdziale mikrosonografu.

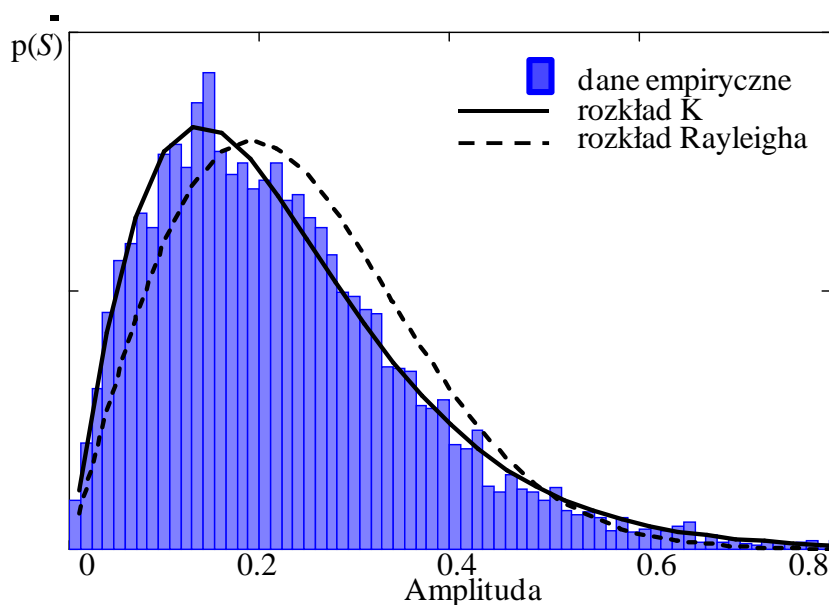
Przed oddaniem urządzenia do użytku klinicznego, dokonano rejestracji danych (obraz B-mod + sygnały RF + ustawienia ZRW), ze skóry z okolic szyi oraz przedramienia 10 zdrowych wolontariuszy. Na podstawie obrazów B-mod wybrano homogeniczne obszary wielkości około 2mm^2 skóry właściwej. Następnie, odpowiadające tym fragmentom skóry sygnały RF, poddano procedurom mającym na celu usunięcie wpływu tłumienia oraz ZRW na kształt ich przebiegu, tak jak opisano to rozdziale (5.4.1). Za pomocą transformaty Hilberta wyznaczono obwiednię skompensowanych sygnałów a następnie skonstruowano histogramy reprezentujące ich statystykę.

Kształt histogramów, estymowano teoretycznymi funkcjami, danymi rozkładem Rayleigha oraz rozkładem K, w sposób jaki przedstawiono na rysunku (Rys. 4.1). Dokładność modelowania statystyki obwiedni przez wymienione

rozkłady przeprowadzono w oparciu parametr określany jako błąd średniokwadratowy MSE (*Mean Squared Error*) [82]. Parametr ten, zdefiniowany jest jako:

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\hat{Y}_i - Y_i)^2 \quad (4.1.1)$$

gdzie \hat{Y}_i oznacza prognozowane wartości (wartości przyjmowane przed funkcję gęstości prawdopodobieństwa, wyznaczone na podstawie wyrażenia (3.2.10) dla rozkładu K oraz na podstawie zależności (3.2.7) dla rozkładu Rayleigha), zaś Y_i wartości reprezentowane przez histogramy, otrzymane w wyniku analizy statystycznej danych zarejestrowanych doświadczalnie. Wartości parametrów M i $b = \sqrt{\frac{4M}{E[S^2]}}$ dla rozkładu K oraz $\sigma^2 = \frac{E[S^2]}{2}$ dla rozkładu Rayleigha, wyznaczono na podstawie zarejestrowanych doświadczalnie sygnałów. Mniejsza wartość parametru MSE wskazuje na lepsze przybliżenie kształtu histogramu przez funkcję rozkładu gęstości prawdopodobieństwa.



Rys. 4.1. Histogram wyznaczony dla danych empirycznych, zarejestrowanych ze skóry właściwej oraz wyznaczone funkcje gęstości prawdopodobieństwa (rozkład K – linia ciągła oraz rozkład Rayleigha linia przerywana).

Otrzymane, dla 10 analizowanych przypadków wartości MSE , przedstawiono w poniższej tabeli (Tab. 4.1). Jak można zaobserwować, wartości błędu średniokwadratowego, we wszystkich przypadkach, przyjmowały wartości mniejsze w wyniku porównania rozkładu K oraz danych empirycznych, aniżeli w przypadku porównania dane empiryczne – rozkład Rayleigha. Średnia wartość MSE , wyznaczona w przypadku analizy opartej na rozkładzie K wyniosła 0.012 i

PORÓWNANIE ROZKŁADÓW K ORAZ RAYLEIGHA Z DANYMI EMPIRYCZNYMI -
WYBÓR FUNKCJI GĘSTOŚCI PRAWDOPODOBIENSTWA

była prawie siedmiokrotnie mniejsza od wartości średniej uzyskanej w przypadku porównywania danych doświadczalnych z rozkładem Rayleigha.

Tak duża różnica pozwala stwierdzić, że w przypadku oceny statystycznej sygnałów pochodzących ze skóry ludzkiej, stosowanie rozkładu K umożliwia modelowanie statystyki obwiedni w znacznie dokładniejszy sposób aniżeli ma to miejsce w przypadku wyboru rozkładu Rayleigha.

Tab. 4.1. Wartości *MSE*, wyznaczone dla 10 przypadków, w wyniku porównania rozkładu K (K) oraz rozkładu Rayleigha (R) z danymi empirycznymi.

Zdrowa skóra właściwa											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Średnia
K	0.014	0.011	0.013	0.009	0.011	0.013	0.011	0.008	0.014	0.021	0.012
R	0.087	0.085	0.09	0.084	0.076	0.081	0.087	0.089	0.073	0.078	0.083

OCENA ILOŚCIOWA SYGNAŁÓW ZAREJESTROWANYCH EKSPERYMENTALNIE - WYNIKI

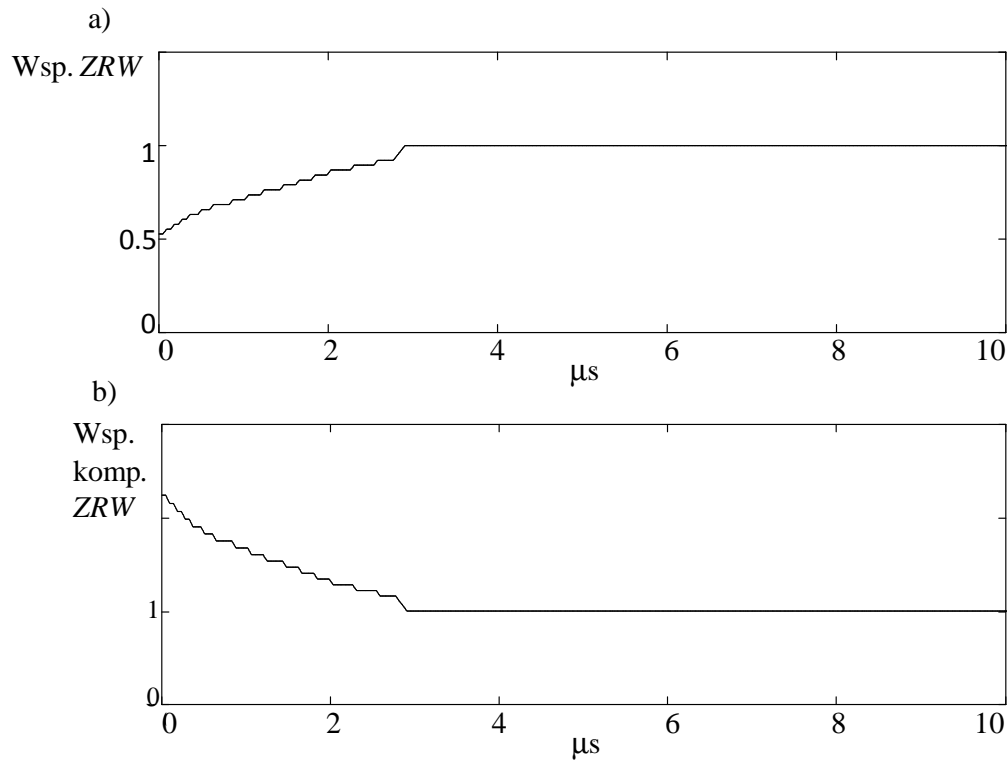
W badaniach uczestniczyły dwie grupy pacjentów: osoby ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnocomórkowym (*Basal Cell Carcinoma* - *BCC*) (21 przypadków) oraz osoby, u których zdiagnozowano zmiany przednowotworowe, w postaci rogowacenia posłonecznego (*Actinic Keratosis* *AK*) – 14 przypadków. Sygnały, zarejestrowane od pacjentów za pomocą mikrosonografu, poddawano ocenie ilościowej, za pomocą metod opisanych w rozdziale 2, poprzez wykorzystanie parametrów ilościowych takich jak: współczynnik tłumienia, współczynnika rozproszenia wstecznego oraz parametr rozkładu *K*, efektywną liczbę rozpraszaczy (*M*).

5.1. PRZYGOTOWANIE ZAREJESTROWANYCH SYGNAŁÓW DO OCENY ILOŚCIOWEJ – KOMPENSACJA *ZRW*

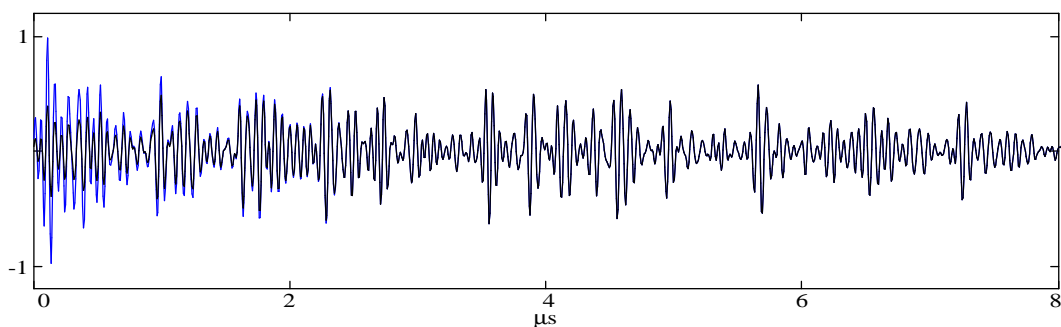
W trakcie rejestracji sygnałów, ustawienia funkcji Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia, zapisywane były w postaci danych, na podstawie których możliwe było generowanie krzywej (Rys. 5.1.a), obrazującej poziom zastosowanego na poszczególnych głębokości wzmocnienia. Na podstawie jej przebiegu konstruowano następnie krzywą korekty (Rys. 5.1.b). Echa, wolne od wpływu *ZRW*, wyznaczano jako iloczyn wartości współczynników reprezentowanych przez tą krzywą oraz amplitudy poddawanego kompensacji sygnału.

Działanie metody przedstawiono na przykładowym przebiegu sygnału RF (Rys. 5.2). Prezentowane, unormowane echo (linia czarna) zarejestrowano z fragmentu fantomu tkankowego przy włączonej funkcji *ZRW*. Linia niebieska przedstawia ten sam przebieg po zastosowaniu kompensacji wpływu Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia, wyrównującej poziom wzmocnienia w całym zakresie

przebiegu. Pozostałe ustawienia, w obydwu przypadkach, pozostawały identyczne.



Rys. 5.1. Krzywa ZRW (a) oraz krzywa korekty (b) stosowana w celu usunięcia wpływu Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia na rejestrowane echa.



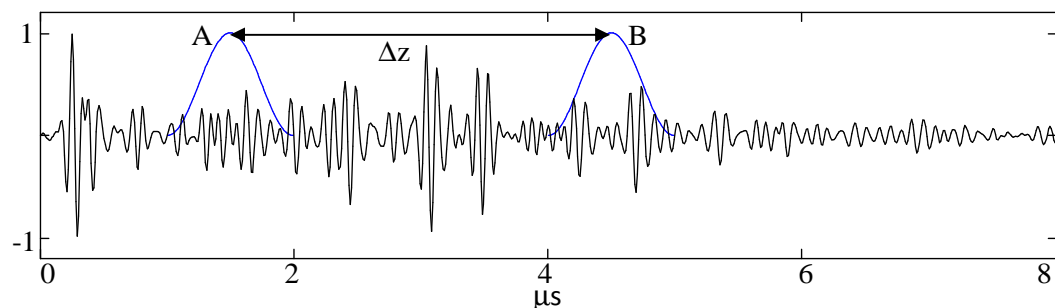
Rys. 5.2. Unormowane linie sygnału RF, zarejestrowane z fantomu tkanego przy włączonej funkcji ZRW (linia czarna) oraz po skompensowaniu jej wpływu (linia niebieska).

Metoda ta, stosowana była *a priori*, dla wszystkich zarejestrowanych ech, przed przystąpieniem do ich analizy ilościowej. Dla każdego przypadku generowano indywidualną krzywą ZRW oraz odpowiadającą jej krzywą korekty.

5.2. WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKA TŁUMIENIA

Wartość współczynnika tłumienia obliczano zgodnie z metodą zaprezentowaną w rozdziale (2.4.1), polegającą na porównywaniu widm mocy sygnałów zarejestrowanych z dwóch głębokości.

Dwa fragmenty A i B sygnału RF wydzielano za pomocą okna czasowego w postaci funkcji Hanninga. Długość okna odpowiadała półtorej długości czasu trwania nadawanego impulsu. Dla każdego, z wydzielonych fragmentów sygnału, oddalonych o dystans Δz , za pomocą algorytmu szybkiej transformaty Fouriera obliczano amplitudowe widmo sygnału, a następnie widmo mocy. Wyznaczone widma, poddawano następnie korekcie, mającej na celu eliminację wpływu użycia ogniskującego przetwornika (patrz rozdział 5.2.1).



Rys. 5.3. Sygnały rozproszony wraz wydzielonymi za pomocą okna Hanninga fragmentami sygnału, oddalonymi o dystans równy Δz .

Widma mocy, wyznaczone dla N linii sygnału RF z tej samej głębokości uśredniano, a następnie korzystając z zależności (2.4.10) wyznaczano tłumienie w funkcji częstotliwości jako:

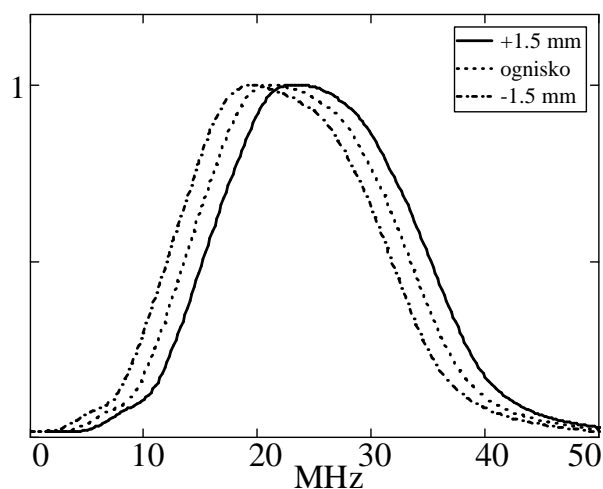
$$\alpha(f) = - \frac{\ln\left(\frac{\left|\frac{1}{N}\sum_{i=1}^N S_{B_i}(f)\right|}{\left|\frac{1}{N}\sum_{i=1}^N S_{A_i}(f)\right|}\right)}{4\Delta z} \quad (5.2.1)$$

gdzie S_{A_i} , S_{B_i} to widma mocy wydzielonych fragmentów sygnałów, i - numer linii RF.

Poszukiwana wartość współczynnika tłumienia α_0 (wyrażona w Np/(cm·MHz)), stanowi tangens kąta nachylenia prostej $\alpha(f) = \alpha_0 \cdot f$, wyznaczonej za pomocą metody regresji liniowej, przybliżającej zależność $\alpha(f)$. Między tłumieniem wyrażonym w neperach (Np) i decybelach (dB) zachodzi relacja $1\text{Np}/(\text{cm}\cdot\text{MHz})=8.686\text{ dB}/(\text{cm}\cdot\text{MHz})$.

5.2.1. KOMPENSACJA WPŁYWU OGNISKOWANIA NA KSZTAŁT WIDMA

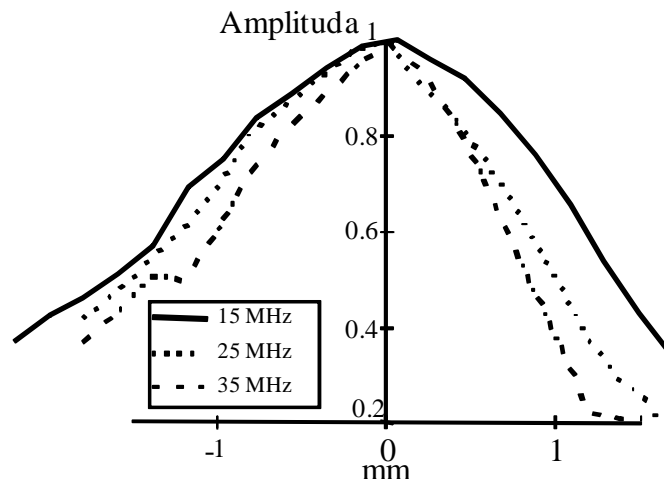
Analizowane sygnały, rejestrowane były za pomocą przetwornika ogniskującego. Stosowanie takiego rozwiązania wiąże się z koniecznością uwzględnienia efektu, związanego ze zmianą kształtu widma wraz ze zmianą położenia *ROI* względem ogniska przetwornika. Efekt ten wywołany jest tym, że w trakcie zbliżania się impulsu do ogniska, amplitudy składowych impulsu wyższych częstotliwości wzrastają szybciej od składowych niższych częstotliwości. W konsekwencji, zaobserwować można pozorne przesunięcie widma impulsu. Zjawisko to widoczne jest na poniższym rysunku (Rys. 5.4), na którym przedstawiono trzy unormowane do wartości maksymalnej widma impulsu odbitego od reflektora umieszczonego prostopadle względem głowicy w trzech lokalizacjach: ognisku oraz w odległości ± 1.5 mm od niego. W przypadku widma wyznaczonego dla impulsu odbitego od reflektora umieszczonego 1.5 mm przed ogniskiem obserwuje się przesunięcie średniej częstotliwości widma w kierunku niższych częstotliwości względem średniej częstotliwości widma impulsu zarejestrowanego w ognisku, dla reflektora umieszczonego w takiej samej odległości za ogniskiem widoczny jest efekt odwrotny.



Rys. 5.4. Unormowane widma mocy impulsów odbitych od reflektora umieszczonego w ognisku głowicy oraz w odległości ± 1.5 mm o od niego.

Pominięcie wpływu opisanego efektu, na kształt widm wykorzystanych w trakcie wyznaczania współczynnika tłumienia, stanowiłoby przyczynę otrzymania nieprawdziwych wyników. Wartości współczynnika tłumienia, wyznaczone dla obszarów *ROI*, zlokalizowanych przed ogniskiem byłyby zaniżone, natomiast wartość współczynnika tłumienia wyznaczone dla *ROI* znajdujących się za ogniskiem przetwornika miałyby wartość zawyżoną.

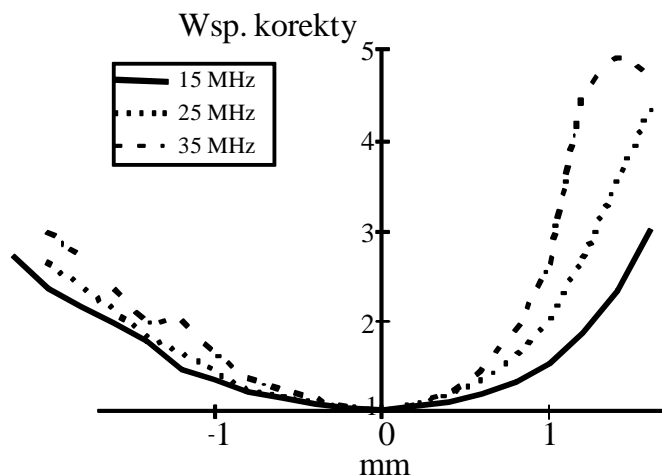
W celu opracowania metody, umożliwiającej kompensację opisanego powyżej efektu, posłużono się widmami mocy impulsów, zarejestrowanych od reflektora umieszczonego w wodzie, przemieszczanego w zakresie $\pm 1.5\text{mm}$ względem ogniska z krokiem 0.25mm . Wybór wody jako ośrodka, w którym propagował się impuls, wynikał z faktu, iż występujące w wodzie tłumienie jest bardzo małe w porównaniu do tłumienia występującego w tkance, w konsekwencji na widmo sygnału wpływ ma wyłącznie zjawisko ogniskowania. Jednocześnie, raportowana w literaturze prędkość propagacji fali w skórze, równa 1500m/s jest prędkością zbliżoną do prędkości propagacji fali w wodzie, która to wynosi 1490m/s . Tak małe różnice w prędkości propagacji, pozwalają założyć, że wyznaczone w kolejnych etapach krzywe korekty obarczone będą znikomym błędem wynikającym z różnych prędkości propagacji, a tym samym umożliwią skuteczną kompensację efektu wpływu ogniskowania na kształt widm sygnałów zarejestrowanych ze skóry.



Rys. 5.5. Amplituda trzech składowych częstotliwościowych widm nadawanego impulsu (15MHz, 25MHz oraz 35MHz), w funkcji położenia względem ogniska. Wartości normowane względem wartości amplitudy w ognisku.

Dla poszczególnych składowych częstotliwościowych widm sygnału, wyznaczono krzywe, obrazujące zmiany wartości ich amplitudy w funkcji odległości od ogniska (Rys. 5.5)

Na podstawie krzywych uzyskanych dla poszczególnych składowych częstotliwościowych, wyznaczono krzywe korekty. Trzy z nich, dla częstotliwości 15MHz, 25MHz oraz 35MHz przedstawiono na rysunku (Rys. 5.6). Na osi odciętych, zaznaczono odległość od ogniska (ognisko umieszczono w punkcie 0), natomiast na osi rzędnych odpowiadającą danej głębokości wartość współczynnika korekty.



Rys. 5.6. Krzywe korekty wyznaczone dla trzech przykładowych częstotliwości 15MHz, 25MHz oraz 35MHz wykorzystywane do kompensacji wpływu ogniskowania na widmo impulsu.

Widma mocy, wolne od wpływu ogniskowania, wyznaczano jako iloczyn poszczególnych składowych częstotliwościowych widma oraz odpowiadających im współczynników korekcji.

5.2.2. ROZDZIELCZOŚĆ PRZESTRZENNA WYZNACZANIA WSPÓŁCZYNNIKA TŁUMIENIA

Wyznaczenie wartości współczynnika tłumienia, wymaga określenia tzw. „rozdzielczości przestrzennej”, czyli minimalnego obszaru, z którego zebrane dane, umożliwiają wyznaczenie wartości parametru, niezależnej od przypadkowych fluktuacji sygnału.

Wielkość takiego obszaru, a tym samym ilość poddawanych analizie danych, wyznaczono na podstawie sygnałów zarejestrowanych z homogenicznego obszaru *ROI*, tkanki skóry właściwej. Sygnały RF poddano kompensacji wpływu *ZRW*, a następnie dla wydzielonych fragmentów sygnałów oddalonych o dystans $\Delta z=1\text{mm}$ wyznaczano widma mocy. Widma mocy wyznaczone z tej samej głębokości uśredniano, uwzględniając różną ilość przebiegów w zakresie od 5 do 40, z krokiem równym 5. Korzystając z zależności (5.2.1) określano wartość współczynnika tłumienia.

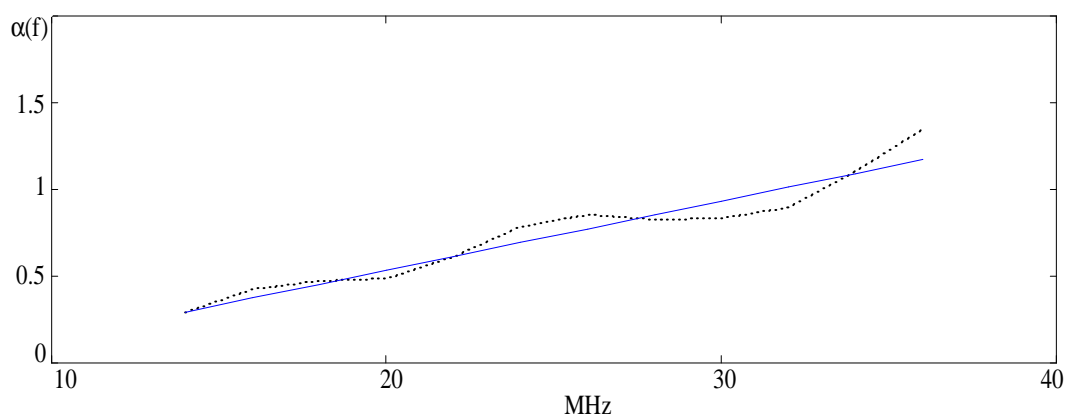
Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że minimalna ilość przebiegów, uwzględnionych w trakcie obliczeń, umożliwiająca wyznaczenie poprawnej wartości współczynników tłumienia wynosi 25. Wówczas to

analizowany parametr osiągał wartość równą $1.86\text{dB}/(\text{cm}\cdot\text{MHz})$, a dalsze powiększanie obszaru *ROI* nie przyczyniało się do zmian przekraczających $\pm 5\%$ wymienionej wielkości.

W związku z tym, w trakcie wyznaczania wartości współczynnika tłumienia, dla wszystkich analizowanych przypadków przyjęto, że minimalna ilość przebiegów jaką należy uwzględnić w trakcie obliczeń współczynnika wynosi 25, co odpowiada zarejestrowaniu danych z obszaru *ROI* równego około 1mm^2 .

5.2.3. WYNIKI

Przykładową zależność tłumienia w funkcji częstotliwości, wyznaczoną na podstawie sygnałów zarejestrowanych ze skóry pacjenta ze zdiagnozowanym rogowaceniem posłonecznym, przedstawiono na poniższym rysunku (Rys. 5.7). W tabelach (5.1) oraz (5.2) przedstawiono zaś wartości współczynnika tłumienia wyrażone w $\text{dB}/(\text{cm}\cdot\text{MHz})$, wyznaczone dla wszystkich analizowanych przypadków odpowiednio rogowacenia posłonecznego oraz nowotworu podstawnokomórkowego.



Rys. 5.7. Tłumienie w funkcji częstotliwości, wyznaczone dla obszaru skóry właściwej, objętej nowotworem podstawnokomórkowym (linia przerywana), wraz z prostą znajdzoną metodą regresji liniowej (linia ciągła) dla zakresu częstotliwości 15-35MHz. Tangens kąta nachylenia prostej wyznacza wartość współczynnika tłumienia α_0 .

Tab. 5.1. Wartości współczynnika tłumienia, wyznaczone dla fragmentów skóry pacjentów ze zdiagnozowanym rógowaceniem posłonecznym (AK) oraz obszarów skóry zdrowej.

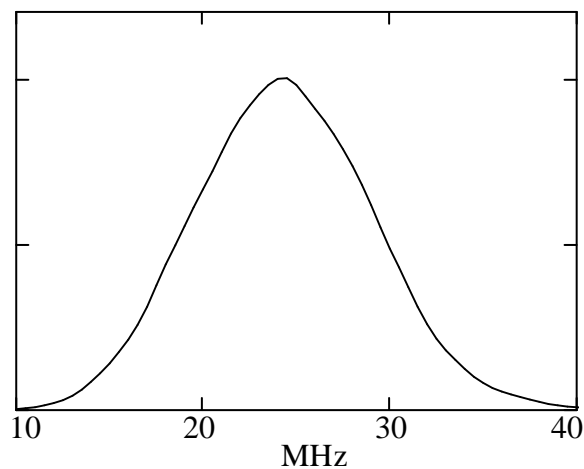
AK dB/(cm·MHz)	Skóra zdrowa dB/(cm·MHz)
3.13	2.78
2.34	1.91
2.94	2.08
2.98	2.14
3.3	2.41
3.02	2.13
3.47	2.57
3.13	2.41
3.43	2.2
3.1	1.89
2.76	2.04
2.39	1.95
3.9	1.86
3.18	2.31
Średnia =3.07 Odch. Stand.=0.39	Średnia =2.19 Odch. Stand.=0.26

Tab. 5.2. Wartości współczynnika tłumienia, wyznaczone dla fragmentów skóry pacjentów ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnokomórkowym (BCC) oraz obszarów skóry zdrowej.

BCC dB/(cm·MHz)	Skóra zdrowa dB/(cm·MHz)
3.12	
3.9	2.25
3.9	2.25
3.5	2.2
3.2	1.9
2.9	2.17
3.3	2.04
2.86	1.76
2.6	1.98
3.42	2.15
2.81	1.97
2.96	2.04
3.01	1.78
3.7	2.4
2.8	1.73
3.4	2.01
2.9	1.88
2.68	2.2
3.12	2.3
3.82	1.97
2.74	2.23
Średnia=3.17 Odch. Stand.=0.4	Średnia =2.06 Odch. Stand.=0.19

5.3. WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKA ROZPROSZENIA WSTECZNEGO

Wartość współczynnika rozproszenia wstecznego obliczano bazując na metodzie zaproponowanej przez Insana i wsp. [70] i wykorzystywanej m.in. przez Lavarello i wsp.[72] oraz Topp K.A. i wsp.[83], polegającej na wykorzystaniu widma referencyjnego $S_r(f)$ w celu eliminacji wpływu aparatury pomiarowej na wyznaczone na podstawie sygnałów zarejestrowanych z tkanki widmo $S(f)$. Widmo mocy $S_r(f)$, wyznaczano jako kwadrat transformaty Fouriera, impulsu odbitego od reflektora umieszczonego w wodzie w ognisku przetwornika.



Rys. 5.8. Widmo impulsu odbitego od reflektora umieszczonego w ognisku głowicy.

Widmo $S(f)$ wyznaczano na podstawie N fragmentów sygnałów RF, odpowiadających wybranemu obszarowi tkanki ROI , którego centrum znajdowało się w ognisku głowicy. Fragmenty sygnału wydzielano za pomocą funkcji czasowej w postaci okna Hanninga. Długość Δx zastosowanego okna Hanninga, odpowiadała półtorej długości czasu trwania nadawanego impulsu. Dla każdego z wydzielonych fragmentów wyznaczano widmo mocy, które następnie uśredniono.

Na podstawie widm $S(f)$ oraz $S_r(f)$ znormalizowane widmo mocy $S_0(f)$, wolne od „wpływów aparaturowych”, zdefiniowano jako:

$$S_0(f) = \frac{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N S_i(f)}{S_r(f)} \quad (5.3.1)$$

Zależność współczynnika rozproszenia wstecznego w funkcji częstotliwości, wyznaczano na podstawie zależności:

$$\sigma_{sc}(f) = \frac{0.36\gamma^2 F^2}{D\Delta x} \cdot S_0(f) \cdot I(f) \quad (5.3.2)$$

gdzie $D = \pi r^2$ oznacza powierzchnię apertury przetwornika o promieniu r , γ jest współczynnikiem odbicia (w trakcie obliczeń przyjęto $\gamma = 1$), zaś F jest odległością między przetwornikiem a bliżej zlokalizowana powierzchnią *ROI*. Funkcja $I(f)$ jest zależnością, kompensującą występujące w ośrodku tłumienie, określoną jako:

$$I(f) = e^{\alpha(f) \cdot (R + \Delta x/2)} \quad (5.3.3)$$

gdzie α jest wartością tłumienia, wyznaczoną na podstawie zależności (5.2.1), natomiast R określa odległość głowica-*ROI*.

Zależność rozproszenia wstecznego w funkcji częstotliwości, wyznaczoną na podstawie wyrażenia (5.3.2), przybliżano funkcją wykładniczą w postaci $y(f) = af^n$. Analizie poddano wartości wykładnika n , określającego zależność częstotliwościową, wynikającą z właściwości mikrostruktur rozpraszających znajdujących się w badanym ośrodku.

5.3.1. ROZDZIELCZOŚĆ PRZESTRZENNA WYZNACZANIA WSPÓŁCZYNNIKA ROZPROSZENIA WSTECZNEGO

Prawidłowe wyznaczenie wartości współczynnika rozproszenia wstecznego, podobnie jak w przypadku współczynnika tłumienia wymaga określenia rozdzielczości przestrzennej.

Wielkość tą określono, na podstawie sygnałów zarejestrowanych z homogenicznego obszaru tkanki skóry właściwej, zlokalizowanego w ognisku głowicy. Wartość współczynnika rozproszenia wstecznego wyznaczano na podstawie zależności (5.3.2) oraz korzystając z wyznaczonej w rozdziale (5.2.2) wartości współczynnika tłumienia. W celu wyznaczenia zarejestrowanego z tkanki widma $S(f)$, uśredniano widma wyznaczone dla różnej ilości przebiegów tj. uśredniano widma wyznaczone dla ilości przebiegów z zakresu od 10 do 60 z krokiem równym 5. Wyznaczone zależności, współczynnika rozproszenia wstecznego w funkcji częstotliwości, przybliżano za pomocą krzywej wykładniczej. Analizie poddano wartość wykładnika n .

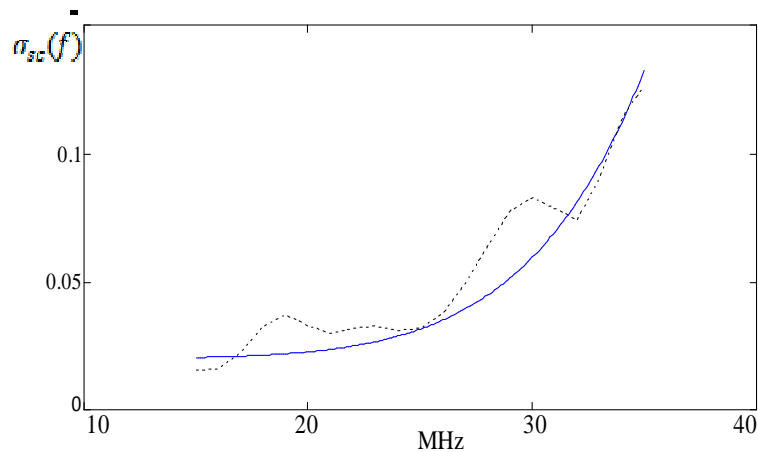
Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że wartość współczynnika n stabilizuje się przy uśrednieniu w trakcie obliczeń 35 widm. Wówczas to n osiąga wartość równą 1.71, a kolejne przyjmowane przez niego wartości, wyznaczone dla stopniowo zwiększanej ilości uwzględnianych przebiegów, nie wpływają znacząco na wartość parametru tzn. nie zmieniają się o wartość większą jak około $\pm 5\%$ wartości 1.71.

Rozdzielczość przestrzenna, jaką należy uwzględnić w celu wyznaczenia współczynnika n , jest obszarem mniejszym od wielkość rozdzielczości

przestrzennej wymaganej w celu wyznaczenia wartości współczynnika tłumienia. Nie mniej jednak, uwzględniając fakt, że podczas obliczeń współczynnika rozproszenia wstecznego, w trakcie kompensacji wpływu tłumienia, wykorzystywana jest wartość współczynnika tłumienia przyjęto, za minimalną wielkość rozdzielczości przestrzennej, umożliwiającej wyznaczanie wymienionych parametrów obszar *ROI* równy około 1mm².

5.3.2. WYNIKI

Na rysunku 5.9 przedstawiono przykład współczynnika rozproszenia wstecznego w funkcji częstotliwości, wyznaczony na podstawie zależności (5.3.2) dla obszaru skóry objętego stanem przedrakowym. W tabelach (5.3) oraz (5.4) zebrano natomiast wartości współczynnika *n*, wyznaczone dla wszystkich analizowanych przypadków, odpowiednio dla skóry zdrowej, skóry objętej stanem przedrakowym oraz skóry ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnokomórkowym.



Rys. 5.9. Współczynnik rozproszenia wstecznego w funkcji częstotliwości, wyznaczony dla obszaru skóry właściwej objętej stanem przednowotworowym (linia przerywana) wraz z krzywą wykładniczą $\sigma_{sc}(f) = af^n$ (linia ciągła), dla zakresu częstotliwości 15-35MHz.

Tab. 5.3. Wartość wykładnika n funkcji wykładniczej przybliżającej przebieg wsp. rozproszenia wstecznego wyznaczonego dla fragmentów skóry pacjentów ze zdiagnozowanym rogowaceniem posłonecznym (AK) oraz obszarów skóry zdrowej.

AK	Skóra zdrowa
n	n
1.77	1.94
1.76	1.65
1.62	2.09
1.82	1.82
2.11	1.91
1.65	2.04
2.01	1.97
1.87	1.78
1.64	1.83
1.61	1.95
1.69	1.89
1.73	1.87
2.13	1.68
1.56	1.66
Średnia =1.77	Średnia =1.86
Odch. Stand.=0.17	Odch. Stand.=0.13

Tab. 5.4. Wartość wykładnika n funkcji wykładniczej przybliżającej przebieg wsp. rozproszenia wstecznego wyznaczonego dla fragmentów skóry pacjentów ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnokomórkowym (BCC) oraz obszarów skóry zdrowej.

BCC	Skóra zdrowa
n	n
2.72	-
3.11	2.25
3.05	2.25
2.86	2.2
2.67	1.9
2.65	2.17
2.86	2.04
2.97	1.76
3.02	1.98
2.83	2.15
2.71	1.97
2.95	2.04
2.59	1.78
2.76	2.4
3.08	1.73
2.99	2.01
2.77	1.88
2.68	2.2
2.96	2.3
3.4	1.97
2.89	2.23
Średnia=2.88	Średnia = 2.06
Odch. Stand.=0.19	Odch. Stand.= 0.18

5.4. OCENA STATYSTYCZNA SYGNAŁÓW

5.4.1. PRZYGOTOWANIE SYGNAŁÓW ROZPROSZONYCH DO WYZNACZANIA ICH WŁAŚCIWOŚCI STATYSTYCZNYCH

Charakter sygnału rozproszonego, odbieranego z tkanki przez przetwornik, wynika zarówno z cech ośrodka jak i z zastosowanych ustawień aparatury pomiarowej. W związku z tym, w celu przeprowadzenia analizy statystycznej, mającej na celu charakteryzowanie mikrostruktury badanego medium, konieczne jest zastosowanie procedur, których zadaniem jest usunięcie z zarejestrowanych sygnałów wpływu tłumienia ośrodka oraz wpływu zastosowanych ustawień Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia (ZRW). Sposób przeprowadzania kompensacji wpływu ZRW, na kształt sygnału opisany został w rozdziale (5.1.1), dotyczącym przygotowania sygnałów do oceny ilościowej.

Kompensacja wpływu tłumienia w sygnale przeprowadzona została według następujących procedur. W pierwszym kroku, za pomocą algorytmu szybkiej transformaty Fouriera, wyznaczono widmo poddawanego kompensacji sygnału (FS). Następnie nowy, skompensowany sygnał otrzymywany był przez syntezę z harmonicznymi składowymi sygnałami (FS_k), których amplituda poddana została procesowi odwrotnemu do tłumienia tzn. amplituda zwiększana była wraz ze wzrostem głębokości penetracji oraz wartością współczynnika tłumienia α_0 . Procedura ta może zostać przedstawiona, jako:

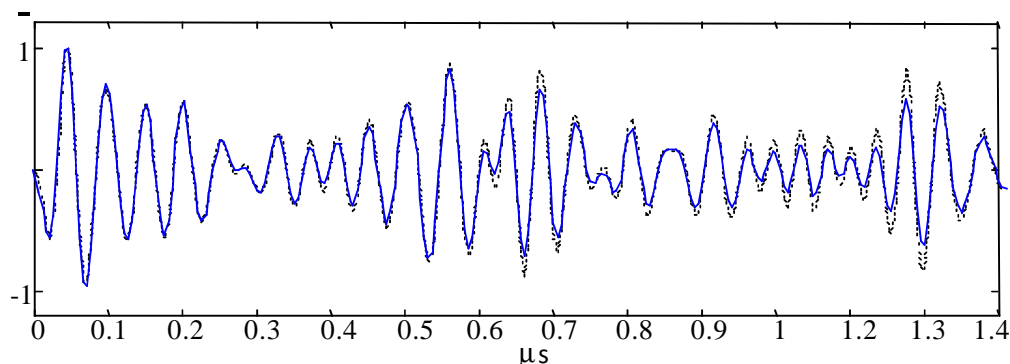
$$F(t_i) = \sum_{k=0}^N FS_k \cdot e^{\alpha_0 \cdot f_k \cdot t_i \cdot v} \cdot e^{-j \cdot 2 \cdot \pi \cdot f_k \cdot t_i} \quad (5.4.1)$$

Część rzeczywista funkcji $F(t_i)$, odpowiada poszukiwanemu sygnałowi rozproszonemu, w którym to skompensowano wpływ tłumienia. W wyrażeniu powyższym, k oznacza kolejne numery prążka widma kompensowanego sygnału, f_k odpowiadającą im częstotliwość, natomiast FS_k to amplituda i faza k -tego prążka widma. Symbol v oznacza prędkość (przyjęto, że $v=1540\text{m/s}$), zaś $t_i = i \cdot \delta t$, gdzie δt to długość kroku wynikająca z częstotliwości próbkowania sygnału.

Użytą, w trakcie kompensacji wartość współczynnika tłumienia α_0 , wyznaczano każdorazowo dla poszczególnie analizowanych przypadków, według procedur opisanych w rozdziale (5.2).

Działanie metody zostało zilustrowane na rysunku (Rys. 5.10). Linia ciągłą przedstawiony został przebieg zarejestrowanego sygnału natomiast linią przerywaną przedstawiono ten sam sygnał po przeprowadzeniu kompensacji wpływu ZRW oraz tłumienia.

Dla tak przygotowanych sygnałów, za pomocą transformaty Hilberta, wyznaczono ich obwiednię, a następnie statystykę przyjmowanych przez nią wartości, przedstawiono za pomocą histogramów.



Rys. 5.10. Fragment sygnału, zarejestrowanego w trakcie pomiarów ze skóry ludzkiej *in vivo* (linia ciągła) oraz ten sam sygnał (linia przerywana) po zastosowaniu kompensacji wpływu ZRW oraz tłumienia.

5.4.2. ROZDZIELCZOŚĆ PRZESTRZENNA

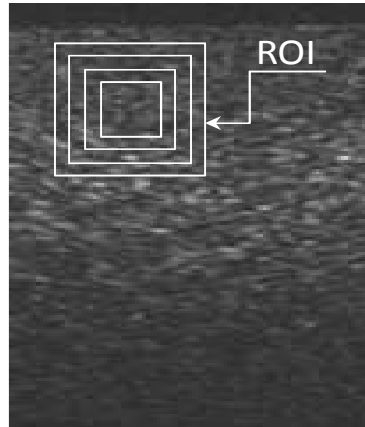
Przeprowadzenie analizy statystycznej, obwiedni zarejestrowanych ech, wymaga, tak jak to miało miejsce w przypadku wyznaczania współczynników tłumienia oraz rozproszenia wstecznego, określenia tzw. „rozdzielczości przestrzennej”. Wielkość takiego obszaru, a tym samym ilość poddawanych analizie danych, wyznaczono na podstawie sygnałów zarejestrowanych z homogenicznego fantomu. Sygnały RF poddane zostały kompensacji wpływu ZRW oraz tłumienia, a następnie wyznaczono ich obwiednię. Wartości obwiedni posłużyły do wyznaczenia efektywnej liczby rozpraszaczy zgodnie z zależnością (2.4.20).

Minimalna wielkości *ROI*, umożliwiającą poprawne wyznaczenie wartości parametru *M*, została wyznaczona w następujący sposób. W pierwszym kroku wyznaczono wartość „efektywnej liczby rozpraszaczy” dla obszaru wielkości około 0.1mm^2 , zlokalizowanego w ognisku przetwornika. Następnie, kolejne, powiększane obszary *ROI* wybierane był w sposób, jaki ilustruje to rysunek (Rys. 5.11) tj. poprzez koncentryczne zwiększanie obszaru z krokiem równym około 0.1mm^2 do momentu, gdy jego wielkość odpowiadała powierzchni około 1.4mm^2 .

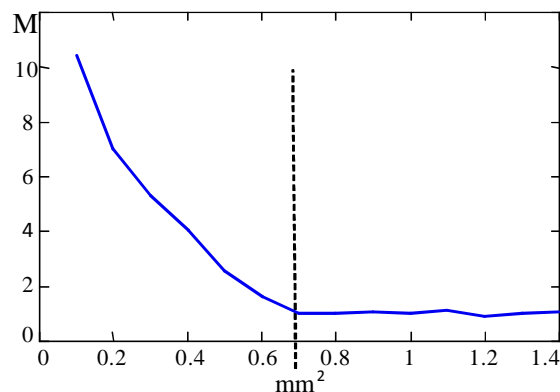
Wyznaczone, dla każdego z analizowanych fragmentów fantomu, wartości „efektywnej liczby rozpraszaczy”, w funkcji wielkości obszaru *ROI*, przedstawiono na poniższym wykresie (Rys. 5.12).

Analiza otrzymanych wyników wykazała, że w zakresie wielkości analizowanego obszaru $0.1 - 0.6\text{mm}^2$ wartość parametru *M*, ulega znacznym zmianom. Stabilizacja jego wartości zauważalna jest, gdy wielkość *ROI* osiąga wielkość około 0.7mm^2 . Efektywna liczba rozpraszaczy osiąga wówczas wartość 1.05. Powierzchnia taka odpowiada 20 liniom RF, z których każda odpowiada

około 1mm ośrodka. Zwiększanie powyżej tej wielkości powierzchni analizowanego obszaru, czyli analizowanie większej ilości danych, nie przyczynia się do zmian w wyznaczonej wartości parametru (wahania wartości M nie przekraczają $\pm 5\%$ wartości 1.05).



Rys. 5.11. Schemat koncentrycznego zwiększania obszaru ROI , wykorzystywany w trakcie wyznaczania rozdzielczości przestrzennej.



Rys. 5.12. Wartość parametru M w funkcji wielkości obszaru ROI .

Wyznaczona w powyższy sposób wielkość ROI , określa poszukiwaną wielkość rozdzielczości przestrzennej, stanowiąc najmniejszy z możliwych obszarów, którego mikrostruktura może być charakteryzowana za pomocą omawianej w niniejszym rozdziale analizy statystycznej.

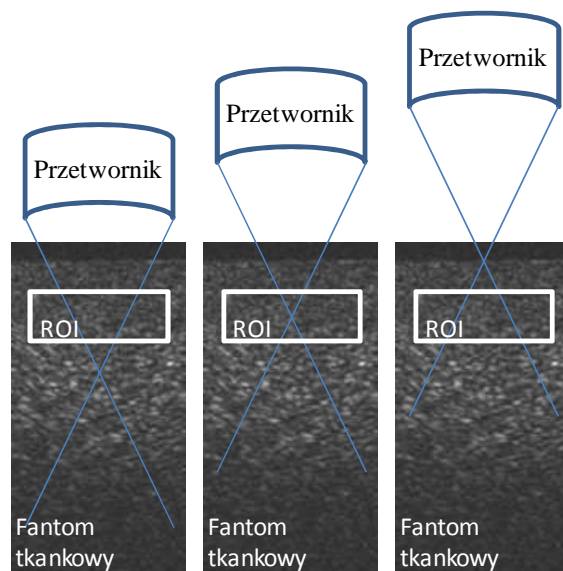
Uwzględnić należy jednak fakt, iż przed przystąpieniem do oceny statystycznej, konieczne jest przeprowadzenie wpływu kompensacji tłumienia, czyli również określenie wartości współczynnika tłumienia ośrodka. W rozdziale (5.2.2) wykazano, że dla współczynnika tłumienia minimalny obszar ROI , z którego dane umożliwiają wyznaczenie wartości parametru wynosi $1mm^2$.

Wielkość tą należy więc uwzględnić również w trakcie wyznaczania rozdzielczości przestrzennej oceny statystycznej sygnałów.

5.4.3. WPŁYW OGNISKOWANIA NA WARTOŚĆ PARAMETRU M

Wiązka ultradźwiękowa, generowana przez ogniskujący przetwornik, charakteryzuje się tym, że wzdłuż jej drogi propagacji, dochodzi do zmian w jej kształcie i w konsekwencji do zmian wielkości objętości pomiarowej. Fakt ten, ma kluczowe znaczenie w przypadku wyznaczania parametru M , którego wartość zdefiniowana jest przez zależność (2.3.11). Zmiany objętości pomiarowej powodują, że w ognisku, gdzie objętość pomiarowa osiąga wartość najmniejszą, rzeczywista ilość struktur rozpraszających, wpływających na wartość „efektywnej liczby rozpraszaczy” jest najmniejsza i ulega zwiększeniu wraz ze wzrostem odległości od ogniska, czyli zwiększeniem wielkości objętości pomiarowej. W konsekwencji zjawisko to przyczynia się to zmiany wartości parametru M nie pod wpływem zmian w mikrostrukturze ośrodka, lecz w wyniku zmian objętości pomiarowej.

Stosowanie „efektywnej liczby rozpraszaczy”, jako parametru charakteryzującego mikrostrukturę tkanki, wiąże się więc z koniecznością określenia strefy, w zakresie której to zmiany w kształcie propagującej wiązki są na tyle małe, że mogą zostać uznane za pomijalne.

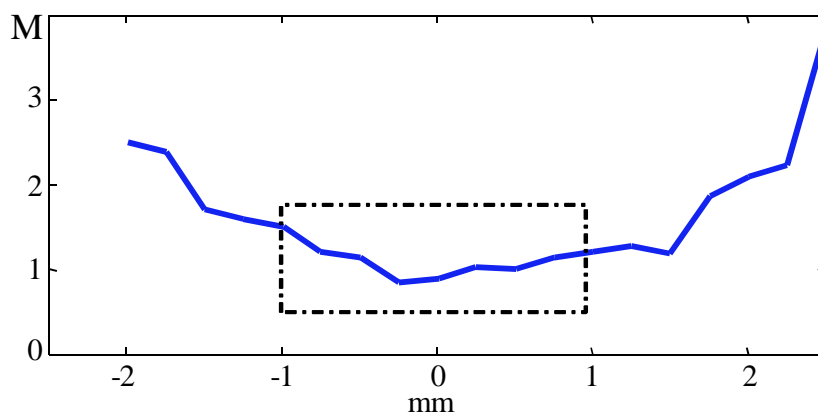


Rys. 5.13. Schemat układu pomiarowego, wykorzystanego w trakcie eksperymentu mającego na celu określenie wpływu ogniskowania na wartość parametru M . Dane rejestrowane były z tego samego obszaru ROI zlokalizowanego w różnej odległości od ogniska.

Wyznaczenie takiego obszaru, określone zostało za pomocą pomiarów z wykorzystaniem jednorodnego fantomu tkankowego. Przetwornik ten sam, który wykorzystywano do rejestracji danych ze skóry *in vivo*, przemieszczany był wzdłuż osi pionowej z krokiem równym 0.25mm. W wyniku tych przemieszczeń, wybrany obszar fantomu *ROI*, z którego to sygnały poddawano analizie statystycznej, w celu wyznaczenia wartości „efektywnej liczby rozpraszaczy”, umiejscawiany był w 20 różnych lokalizacjach względem ogniska. Diagram, obrazujący ustawienia układu pomiarowego, wykorzystanego w trakcie eksperymentu, przedstawiony został na rysunku (Rys. 5.13).

Zarejestrowane z fantomów sygnały, przed przystąpieniem do analizy statystycznej, poddane zostały procedurom mającym na celu kompensację wpływu tłumienia oraz *ZRW*. Wartość współczynnika tłumienia, wykorzystana w trakcie przeprowadzenia kompensacji tłumienia, wyznaczona została za pomocą metody opisanej w rozdziale (5.2).

Wartości parametru *M*, zostały wyznaczone za pomocą metody momentów, wykorzystującej czwarty oraz drugi moment statystyczny, zgodnie z zależnością (2.4.20). Otrzymane wyniki, w funkcji odległości *ROI* od ogniska, przedstawione zostały na poniższym wykresie (Rys. 5.14).



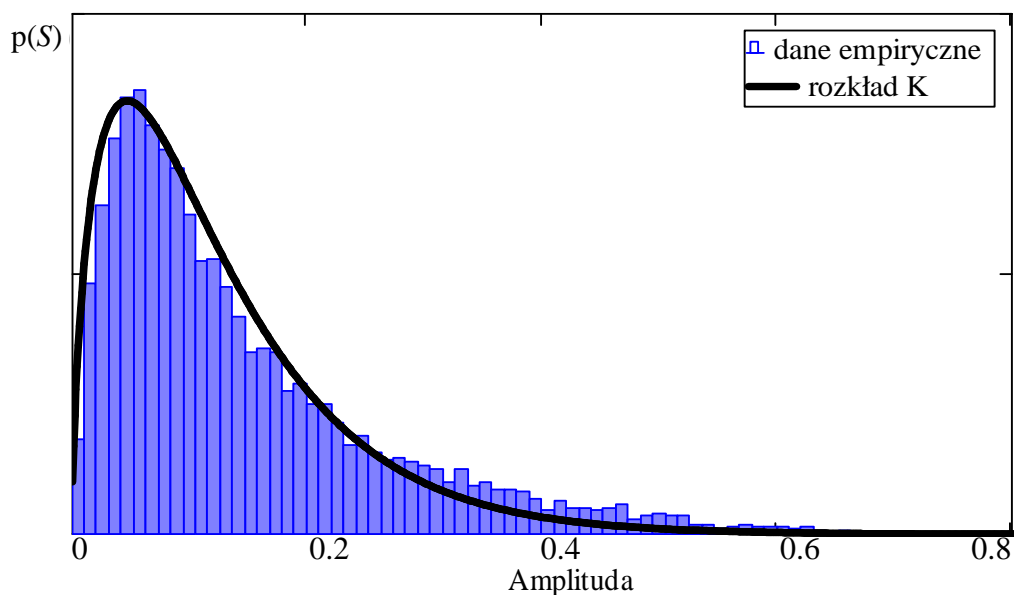
Rys. 5.14. Krzywa, ilustrująca zmiany w wartości „efektywnej liczby rozpraszaczy” w funkcji odległości od ogniska (ognisko oznaczone jako 0), wraz z zaznaczonym obszarem (linia przerywana) uznanym za strefę, w której wpływ ogniskowania na wartości *M* został uznany za pomijalny.

Na podstawie otrzymanych wartości, określono strefę w zakresie, której wpływ ogniskowania na wartość *M* uznano za pomijalny. Za obszar taki uznano 2mm strefę, zlokalizowaną ± 1 mm od ogniska. W zakresie tym, wahania w wielkości „efektywnej liczby rozpraszaczy”, nie przekraczały $\pm 5\%$ średniej wartości parametru *M* wyznaczonego dla tego obszaru.

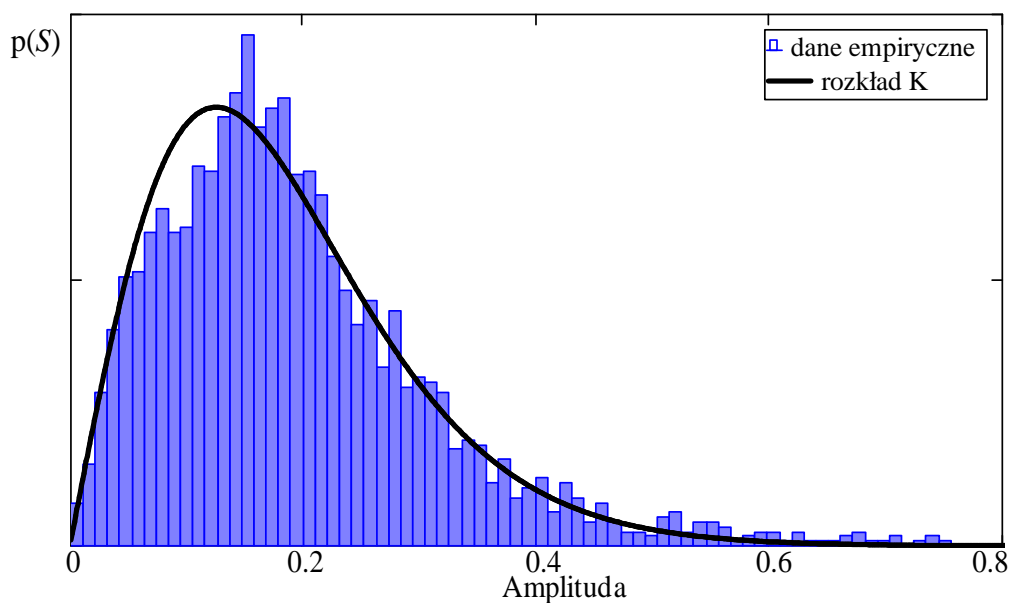
5.4.4. WYNIKI

Wartości efektywnej liczby rozpraszaczy (M), dla każdego z analizowanych przypadków, wyznaczono za pomocą drugiego i czwartego momentu statystycznego rozkładu K , zgodnie z zależnością (2.4.20). Wyniki, otrzymane w wyniku oceny sygnałów zarejestrowanych z fragmentów skóry zdrowej oraz dotkniętej rogowaceniem posłonecznym (AK) przedstawiono w tabeli (Tab. 5.5), natomiast skóry zdrowej oraz zmienionej w wyniku wystąpienia nowotworu podstawnkomórkowego (BCC) w tabeli (5.6).

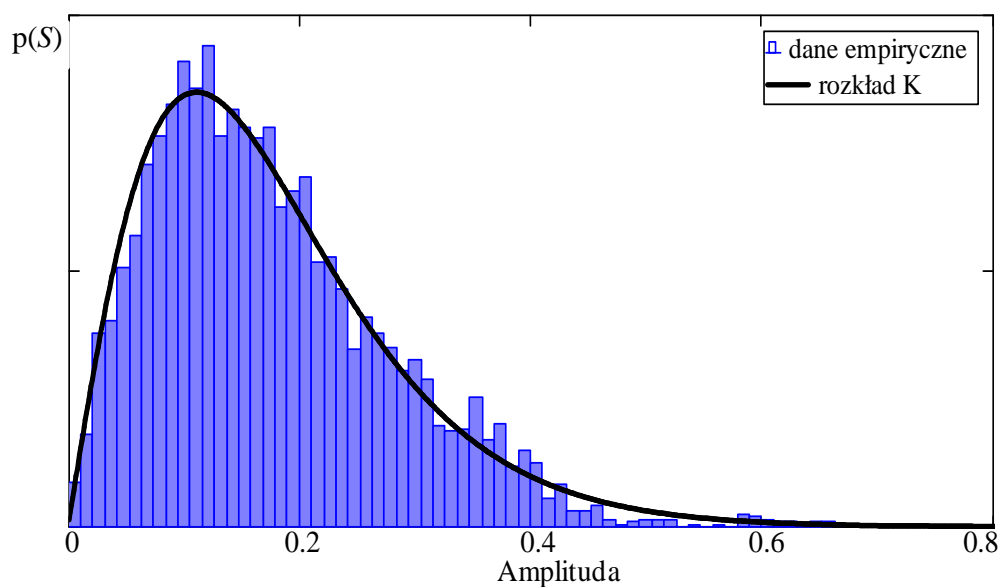
Przykładowe histogramy wraz z estymującymi je funkcjami gęstości prawdopodobieństwa, wyznaczone na podstawie danych zebranych od pacjenta z obszarów skóry dotkniętej nowotworem podstawnkomórkowym oraz fragmentów skóry zdrowej przedstawiono na rysunkach poniżej (odpowiednio Rys. 5.15 oraz Rys. 5.16) oraz od pacjenta z fragmentów skóry objętej rogowaceniem posłonecznym oraz obszarów zdrowych (odpowiednio Rys. 5.17 oraz Rys. 5.18).



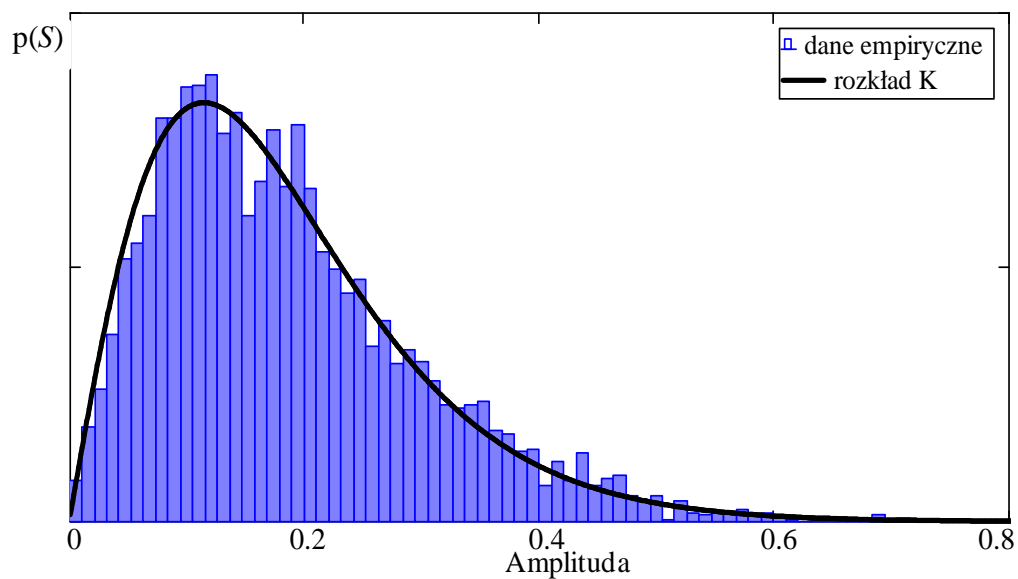
Rys. 5.15. Histogram, reprezentujący statystykę sygnałów zarejestrowanych ze skóry objętej nowotworem podstawnkomórkowym, wraz z modelującą statystykę funkcją rozkładu gęstości prawdopodobieństwa daną rozkładem K .



Rys. 5.16. Histogram, reprezentujący statystykę sygnałów zarejestrowanych ze skóry zdrowej, wraz z modelującą statystykę funkcją rozkładu gęstości prawdopodobieństwa daną rozkładem K.



Rys. 5.17. Histogram, reprezentujący statystykę sygnałów zarejestrowanych z obszarów skóry dotkniętej rogowaceniem posłonecznym, wraz z modelującą statystykę funkcją rozkładu gęstości prawdopodobieństwa daną rozkładem K.



Rys. 5.18. Histogram, reprezentujący statystykę sygnałów zarejestrowanych ze skóry zdrowej, wraz z modelującą statystykę funkcją rozkładu gęstości prawdopodobieństwa daną rozkładem K.

Tab. 5.5. Wartości efektywnej liczby rozpraszaczy (M) wyznaczone dla fragmentów skóry pacjentów ze zdiagnozowanym rogowaceniem posłonecznym (AK) oraz obszarów skóry zdrowej.

AK	Skóra zdrowa
M	M
1.91	1.84
1.84	2.03
1.78	1.93
1.65	1.75
1.86	1.97
2.08	2.01
2.03	1.83
1.82	2.13
2.13	1.91
2.1	1.94
2.04	2.03
1.87	2.07
1.79	2.01
1.64	1.76
Średnia =1.89	Średnia =1.94
Odch. Stand.=0.15	Odch. Stand.=0.11

Tab. 5.6. Wartości efektywnej liczby rozpraszaczy (M) wyznaczone dla fragmentów skóry pacjentów ze zdiagnozowanym nowotworem podstawnocomórkowym (BCC) oraz obszarów skóry zdrowej.

BCC	Skóra zdrowa
M	M
1.12	
1.16	1.61
0.92	1.61
1.19	1.93
0.8	1.98
1.12	2.07
0.91	1.86
1.02	1.93
1.17	2.07
1.21	1.68
1.14	1.78
1.02	1.97
1.14	1.64
0.87	1.76
0.91	2.12
0.8	1.93
1.04	1.87
1.06	2.02
1.3	2.3
0.86	1.97
1.21	0.76
Średnia=1.04	Średnia =1.84
Odch. Stand.=0.14	Odch. Stand. = 0.31

WPLYW GĘSTOŚCI PRZESTRZENNEJ ROZPRASZACZY NA WARTOŚĆ PARAMETRU M W ROZKŁADZIE K

6.1. WSTĘP

Wyniki, przeprowadzonej analizy statystycznej sygnałów zarejestrowanych *in vivo* ze skóry ludzkiej sugerują, że zachodzące procesy chorobowe, powodujące zmiany w mikrostrukturze tkanki, wpływają na wartości parametru rozkładu K - efektywną liczbę rozpraszaczy (M). Teoretycznie wiążą się one ze zmianami w ilości struktur rozpraszających obecnych w objętości pomiarowej.

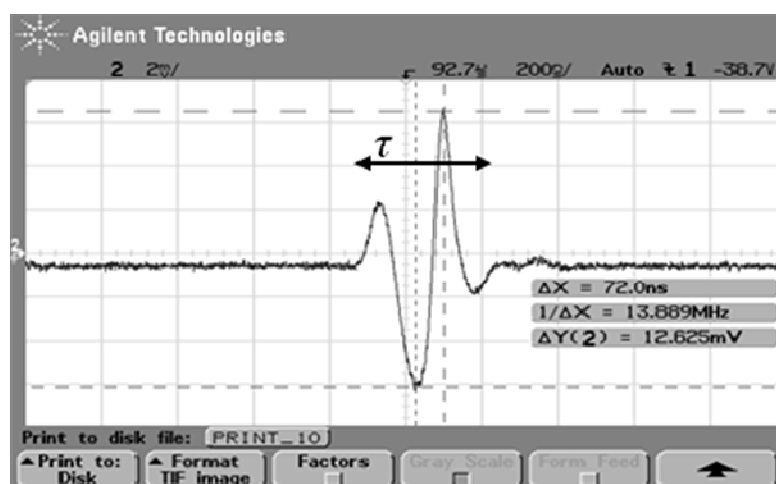
Niestety, określenie ilości rozpraszaczy w badanej tkance nie jest możliwe tak, aby w konsekwencji potwierdzić doświadczalnie wpływ zmiany ich ilości na wartość M . Z tego też względu, aby ocenić zależność parametru M od koncentracji rozpraszaczy wykorzystano wzorce tkankowe, wewnątrz których równomiernie umieszczono identyczne szklane kulki, które stanowiły główne źródło rozproszenia fali ultradźwiękowej. Rejestracja, a następnie analiza sygnałów pochodzących z wzorców, o różnej gęstości przestrzennej rozpraszaczy, umożliwiła śledzenie wpływu ilości struktur rozpraszających, obecnych w objętości pomiarowej, na wartość parametru M .

6.2. OBJĘTOŚĆ POMIAROWA

W trakcie rejestracji sygnałów, pochodzących ze skóry, użyto układu pracującego z częstotliwością 25MHz, zapewniającego uzyskanie rozdzielczości pozwalającej na obrazowanie mikrostruktury tkanki. Wysoka rozdzielczość, pożądana w przypadku obrazowania, stanowi jednak poważny problem w próbie określenia wpływu ilości rozpraszaczy na wartość efektywnej liczby rozpraszaczy. Trudność ta wynika z małej objętości pomiarowej. Mała objętość

pomiarowa, stanowi bowiem duży problem przy konstrukcji wzorców, które charakteryzowałyby się równomiernym rozmieszczeniem, określonej ilości rozpraszaczy w objętości pomiarowej. Ponadto, obok kłopotów związanych z rozmieszczeniem rozpraszaczy, poważne utrudnienie stanowi również dostęp do struktur rozpraszających, które w przypadku zastosowania ultrasonografu użytego do badania skóry, powinny mieć wymiary rzędu kilku mikronów.

Przedstawione utrudnienia przyczyniły się do tego, że zdecydowano o zastosowaniu układu pomiarowego, wykorzystującego przetwornik o niższej częstotliwości. Pozwoliło to na uzyskanie większej objętości pomiarowej, a tym samym umożliwiło zastosowanie rozpraszaczy, których wielkość, ilość oraz rozmieszczenie mogły podlegać kontroli. W doświadczeniu starano się zachować stosunek a/λ (gdzie a to wymiar rozpraszacza, a λ - długość fali), analogiczny do przypadku wysokoczęstotliwościowego i rozpraszaczy w postaci włókien kolagenowych. Zmiana skali w doświadczeniu nie wpływała na interpretację otrzymanych wyników. Wynika to z faktu, że przy badaniu statystyki sygnału powstającego na przetworniku, przy zachowaniu stosunku a/λ , istotna jest jedynie ilość elementów w objętości pomiarowej.



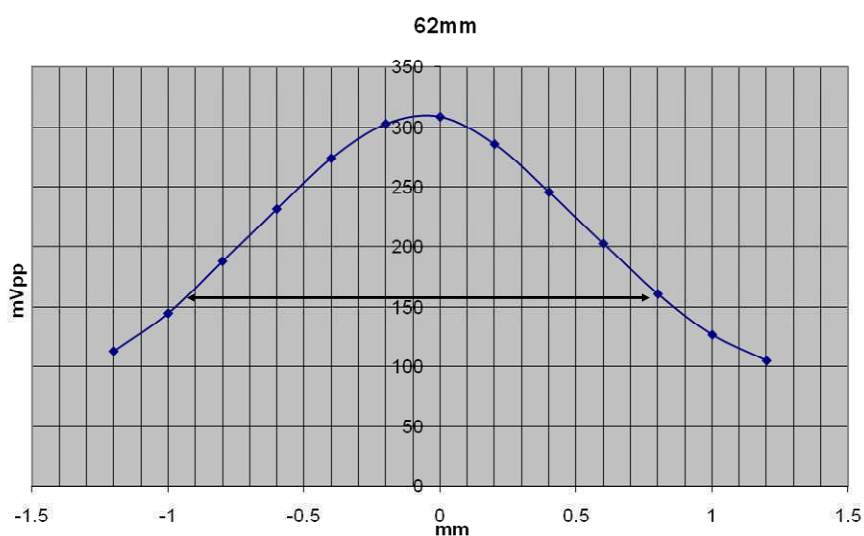
Rys. 6.1. Przebieg czasowy generowanego impulsu wraz oznaczonym czasem trwania $\tau=380\text{ns}$.

Tab. 6.1. Właściwości przetwornika wykorzystanego w trakcie rejestracji sygnałów pochodzących z wzorców.

Częstotliwość środkowa	6MHz
Średnica	10mm
Ogniskowa	62mm

Układ pomiarowy, zastosowany do rejestracji sygnałów rozproszonych z wzorców wykorzystywał 6MHz-ową, jednoelementową głowicę ogniskującą, której parametry zostały przedstawione w powyższej tabeli (Tab. 6.1).

Parametry akustyczne przetwornika wyznaczono w trakcie wcześniejszych pomiarów z wykorzystaniem hydrofonu cienkoigłowego o średnicy 0.5mm. Zaprezentowane rysunki przedstawiają dwie, charakterystyczne wielkości, tj.: przebieg czasowy zarejestrowanego impulsu (Rys. 6.1) oraz przekrój poprzeczny pola głowicy w ognisku (Rys. 6.2)



Rys. 6.2. Rozkład ciśnienia zmierzony w ognisku głowicy (62 mm od powierzchni głowicy) wraz z zaznaczonym poziomem -6dB, określającym szerokość wiązki (18 mm).

Na podstawie wyników pomiarów oszacowano wielkość objętości pomiarowej RC (*Resolution Cell*), zdefiniowanej jako:

$$RC = S_p \cdot \frac{\tau \cdot c}{2} \quad (6.2.1)$$

gdzie S_p to przekrój wiązki sondującej w obszarze pomiaru, c - prędkość fali w badanym materiale, natomiast τ jest czasem trwania impulsu.

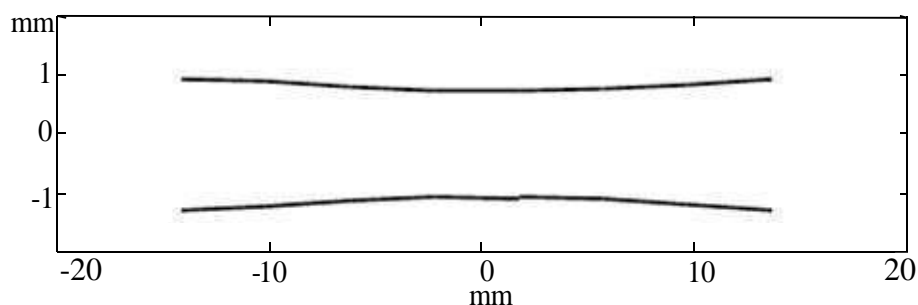
Czas trwania impulsu τ , określono na podstawie zarejestrowanego przebiegu czasowego generowanego impulsu i wyniósł on 380ns. Jako prędkość propagacji fali przyjęto wartość równą 1500m/s.

Za obszar, odpowiadający przekrojowi poprzecznemu wiązki S_p przyjęto obszar równy polu koła o promieniu 0.9mm. Promień koła wyznaczono na podstawie pomiaru szerokości wiązki w ognisku głowicy, mierzonej na poziomie spadku amplitudy ciśnienia fali do połowy jej maksymalnej wartości tj. dla spadku o -6dB.

Na podstawie wymienionych wielkości oraz korzystając z zależności (6.2.1) oszacowano, iż wartość objętości pomiarowej RC w ognisku wynosi 0.72 mm^3 .

Wyznaczona objętość pomiarowa nie jest wartością stałą na całej drodze propagacji wiązki. Zmiany jej wielkości wynikają z faktu, iż przekrój poprzeczny wiązki zmienia się wraz z odległością od przetwornika. Spowodowane jest to w głównej mierze ogniskowaniem wiązki. Objętość pomiarowa osiąga swoją najmniejszą wartość w ognisku i rośnie wraz ze wzrostem odległości od niego.

W przypadku analizy wpływu ilości rozpraszaczy obecnych w objętości pomiarowej na wartość parametru M , zmiany jej wielkości mają istotne znaczenie. Z tego też względu, przeprowadzono pomiary szerokości wiązki w zakresie $\pm 15 \text{ mm}$ od ogniska, z krokiem równym 0.2 mm . Szerokości wiązki wyznaczano w sposób identyczny jak w przypadku określania jej wartości w ognisku, tj. na podstawie spadku poziomu amplitudy ciśnienia fali do połowy maksymalnej wartości (wyznaczonej na osi propagacji) tj. dla spadku o -6 dB , a otrzymane wyniki, obrazujące zmiany szerokości wiązki wzdłuż drogi propagacji przedstawiono na rysunku (Rys. 6.3).



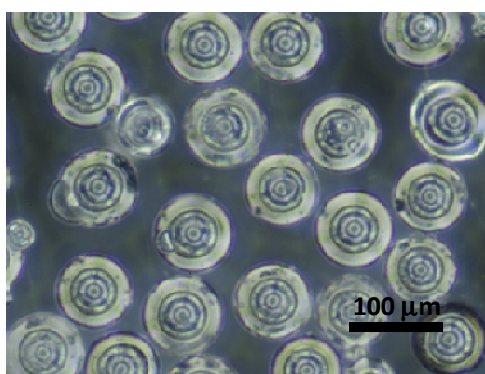
Rys. 6.3. Średnica wiązki ultradźwiękowej, wyznaczona na podstawie pomiarów rozkładu ciśnienia zmierzona w zakresie $\pm 15 \text{ mm}$ od ogniska głowicy (ognisko oznaczone jako 0).

Jak można zauważyć, promień przekroju poprzecznego wiązki ulega zmianom w zakresie od 0.9 mm (w ognisku) do 1.15 mm w odległości $\pm 15 \text{ mm}$ od ogniska. Ogniskowanie wpływa, więc w istotny sposób na wartość objętości pomiarowej. W celu zminimalizowania tego efektu, wyznaczono strefę o długości 20 mm położoną centralnie względem ogniska, w której to zmiany wielkości promienia przekroju wiązki sondującej nie przekraczały 7% wartości 0.9 mm , co odpowiadało zmianie wielkości objętości pomiarowej o około 10% . W zakresie tym, wpływ zmiany objętości pomiarowej, na wartość wyznaczanego parametru M uznano za pomijalny.

6.3. WZORCE TKANKOWE – BUDOWA

W eksperymencie posłużono się czterema wzorcami tkankowymi o średniej ilości rozpraszaczy w objętości pomiarowej równej 5, 8, 15 oraz 20. Ilość ta odpowiadała odpowiednio 9, 14, 26 oraz 35 rozpraszaczom w objętości 1mm^3 .

Wzorce zbudowano z agaru (1.5 g proszku agarowego na 100 mL wody destylowanej) i rozpraszaczy w postaci szklanych kulek o średnicy $75\pm 5\mu\text{m}$ (Model 59200U, Supelco, Bellefonte, PA, USA). Obraz mikroskopowy oraz dokładne parametry elementów wykorzystanych jako struktury rozpraszające, przedstawione zostały na poniższym rysunku (Rys. 6.4.) oraz w tabeli (Tab. 6.2).



Rys. 6.4. Obraz mikroskopowy szklanych kulek (Model 59200U, Supelco, Bellefonte, PA, USA).

Tabela 6.2 Właściwości fizyczne rozpraszaczy (szklanych kulek) użytych do budowy wzorców.

Średnica	$75\pm 5\mu\text{m}$
Gęstość	3g/cm^3
Prędkość rozchodzenia się dźwięku	5300m/s

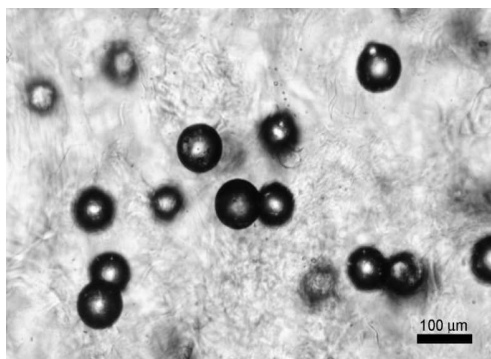
W celu określenia koncentracji rozpraszaczy (SC) w poszczególnych fantomach wykorzystano zależność:

$$SC = \frac{M_s}{\frac{4}{3}\pi \cdot r_s^3 \cdot \rho_s \cdot V} \quad (6.3.1)$$

gdzie M_s oznacza masę szklanych kulek wykorzystanych w trakcie wykonywania wzorca o całkowitej objętości V ; r_s , ρ_s to odpowiednio promień pojedynczego rozpraszacza oraz jego gęstość materiałowa.

Podstawowym założeniem, towarzyszącym przygotowywaniu wzorców, było uzyskanie fantomów o równomiernym przestrzennym rozmieszczeniu

struktur rozpraszających. Efekt taki uzyskano poprzez zastosowanie mieszadełka magnetycznego.



Rys. 6.5. Obraz mikroskopowy fragmentu fantomu o grubości około 1mm o koncentracji 15 rozpraszaczy w objętości pomiarowej. W obrazie widoczne równomiernie rozmieszczone szklane kulki.

Skuteczność zastosowanej metody została sprawdzona poprzez obserwację pod mikroskopem rozmieszczenia rozpraszaczy w cienkich, o grubości 1mm, warstwach agaru wyciętych z fantomów. Obraz mikroskopowy fragmentu fantomu o koncentracji 15 rozpraszaczy w objętości pomiarowej przedstawiono na rysunku (Rys. 6.5). Potwierdza on słuszność zastosowanej metody, rozpraszacze rozmieszczone są w całej objętości obserwowanego fragmentu (zaobserwować można zarówno struktury zlokalizowane na pierwszym planie położone blisko powierzchni obserwowanego fragmentu jak również położone w jego głębszych warstwach).

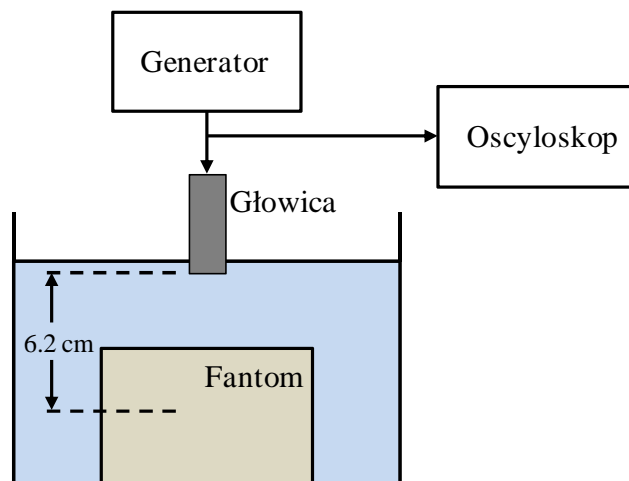
6.4. REJESTRACJA SYGNAŁÓW ROZPROSZONYCH Z WZORCÓW TKANKOWYCH

W celu rejestracji sygnałów rozproszonych, pochodzących z zaprezentowanych w poprzednim podrozdziale wzorców, wykorzystano układ pomiarowy, którego schemat przedstawiono na rysunku (Rys. 6.6). Fantomy umieszczano w kąpeli wodnej, w taki sposób, aby ognisko przetwornika zlokalizowane było w jego centrum.

Zarejestrowana, pojedyncza A-linia odpowiadała długości około 20mm. Długość ta równa była grubości wzorca i zgodnie z ustawieniami układu pomiarowego obejmowała obszar oddalony od ogniska w zakresie ± 10 mm, w którym to jak wykazano zmiany w wielkości objętość pomiarowej uznać można za pomijalne.

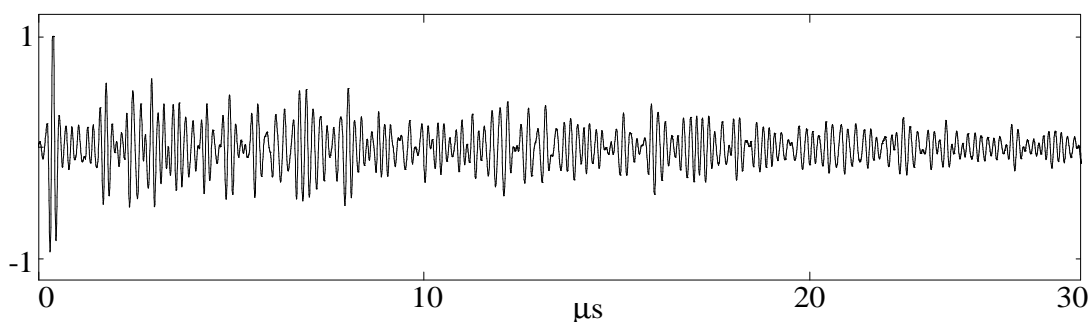
Dla każdego wzorca, zarejestrowano 20 linii RF z częstotliwością próbkowania równą 500MHz. W celu rejestracji danych statystycznie

niezależnych, odległość pomiędzy poszczególnymi rejestrowanymi liniami była większa aniżeli szerokość wiązki i wynosiła 2.5mm.



Rys. 6.6. Schemat układu skanującego wykorzystanego w trakcie rejestracji sygnałów RF rozproszonych w fantomach o różnej koncentracji rozpraszaczy.

Przykład pojedynczego, zarejestrowanego przebiegu sygnału rozproszonego, uzyskanego z fantomu o koncentracji 20 rozpraszaczy/RC, przedstawiony został na poniższym rysunku (Rys. 6.7).



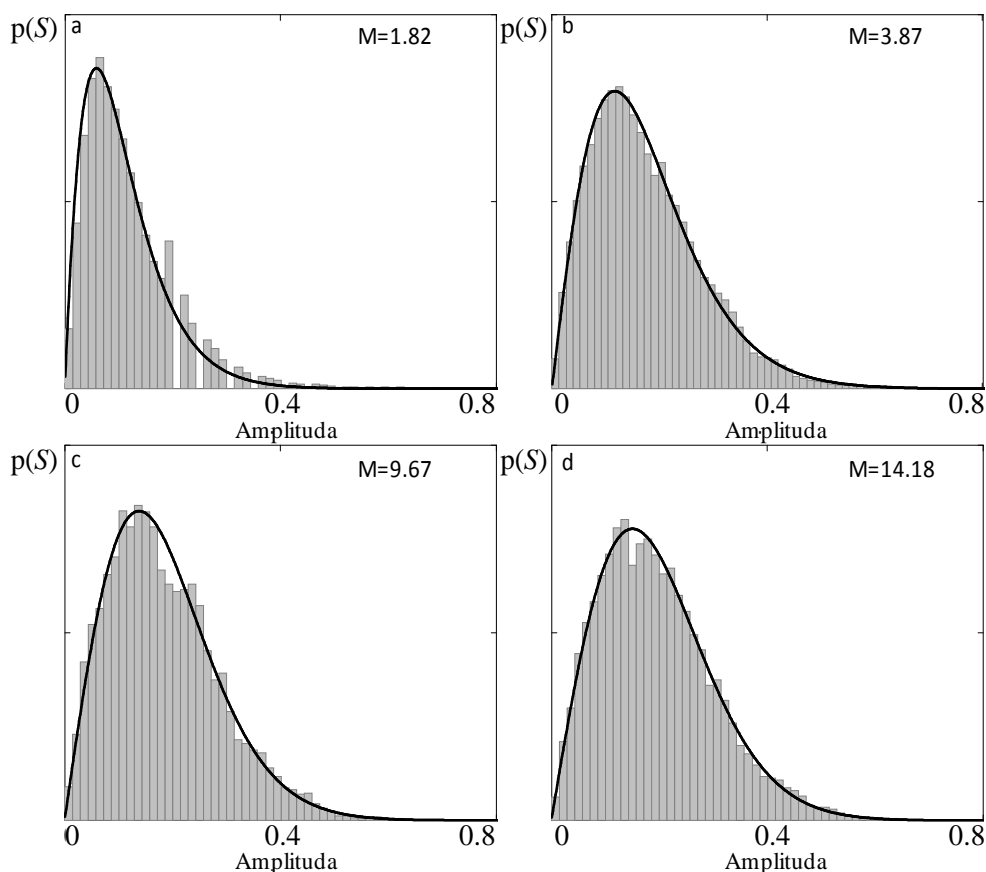
Rys. 6.7. Rozproszony sygnał RF zarejestrowany z fantomu o koncentracji 20 rozpraszaczy/RC.

6.5. ANALIZA STATYSTYCZNA SYGNAŁÓW ZAREJESTROWANYCH Z WZORCÓW TKANKOWYCH

Zarejestrowane, rozproszone sygnały RF, przed przystąpieniem do ich analizy statystycznej, poddane zostały kompensacji wpływu tłumienia, w sposób identyczny jak miało to miejsce w przypadku analizy danych zarejestrowanych *in vivo*. Wartość współczynnika tłumienia, użyta w trakcie kompensacji została

wyznaczona indywidualnie dla każdego z wzorców. Obwiednię skompensowanych ech wyznaczono za pomocą transformaty Hilberta, a następnie jej statystykę przedstawiono w postaci histogramów.

Dla każdego z powstałych histogramów wyznaczono krzywą, przybliżającą jego kształt, daną rozkładem K (2.3.10), oraz wykorzystując zależność (2.4.20), na podstawie wartości obwiedni sygnałów zarejestrowanych z poszczególnych wzorców, wyznaczono charakterystyczny parametr rozkładu K – efektywną liczbę rozpraszaczy (M).

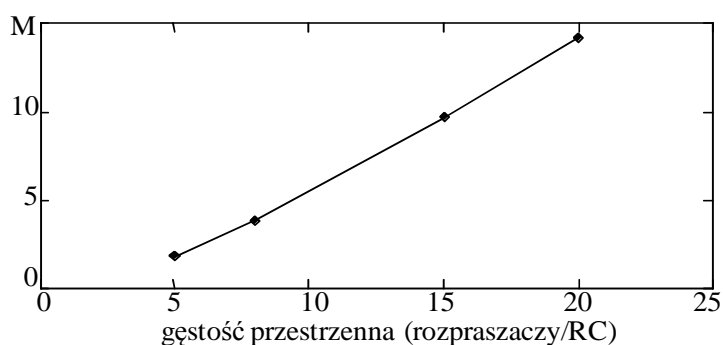


Rys. 6.8. Histogramy reprezentujące statystykę obwiedni sygnałów zarejestrowanych dla czterech fantomów o koncentracji 5, 8, 15, 20 rozpraszaczy/RC wraz z wykreślonymi funkcjami gęstości prawdopodobieństwa $p(S)$ (rozkład K).

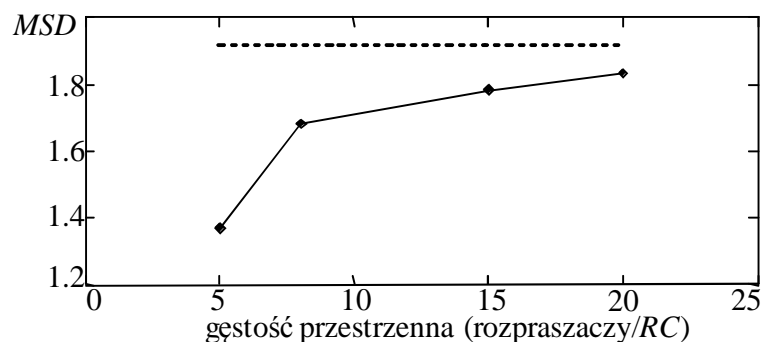
Wartości efektywnej liczby rozpraszaczy, otrzymane dla poszczególnych wzorców przedstawiono w tabeli (Tab. 6.2) oraz na wykresie przedstawiającym wartość parametru M w funkcji gęstości przestrzennej rozpraszaczy (Rys. 6.9). Analiza wyników potwierdza hipotezę, że ilość elementów rozpraszających, znajdujących się w objętości pomiarowej powiązana jest z wartością parametru M .

Tab. 6.2. Wartości efektywnej liczby rozpraszaczy (M) wyznaczone dla wzorców o czterech różnych koncentracjach rozpraszaczy.

Fantom	M
Fantom 1 [5 rozpraszaczy/RC]	1.82
Fantom 2 [8 rozpraszaczy/RC]	3.87
Fantom 3 [15 rozpraszaczy/RC]	9.67
Fantom 4 [20 rozpraszaczy/RC]	14.18



Rys. 6.9. Wartości parametru M w funkcji koncentracji rozpraszaczy w objętości pomiarowej.



Rys. 6.10. Wartości parametru MSD w funkcji koncentracji rozpraszaczy w objętości pomiarowej (linia ciągła). Zaznaczono również poziom $MSD=1.913$ (linia przerywana), odpowiadający rozkładowi Rayleigha.

Warto zwrócić uwagę również na to, że początkowy wzrost ilości rozpraszaczy powoduje znaczne zmiany w kształcie histogramów (Rys. 6.8), a w konsekwencji również w kształcie modelujących je funkcji gęstości prawdopodobieństwa. Tendencja ta ulega zmianie wraz ze wzrostem ilości struktur rozpraszających. W przypadku histogramów przedstawionych na rysunkach (6.8c) oraz (6.8d) (odpowiednio $M = 9.67$ oraz 14.18) kształt histogramów przyjmuje zbliżoną formę. Fakt ten wynika najprawdopodobniej z

tego, że ilość struktur rozpraszających osiąga poziom wartość na tyle wysoki, że rozkład K , modelujący statystykę obwiedni, przyjmuje charakter rozkładu Rayleigha. Potwierdza to również wartość wyznaczonego parametru MSD (*Mean-to-Standard Deviation*), czyli stosunku wartości średniej obwiedni sygnału do odchylenia standardowego (Rys. 6.10).

MODEL STRUKTURY SKÓRY WŁAŚCIWEJ ORAZ POWSTAWANIA SYGNAŁU ROZPROSZONEGO

7.1. WSTĘP

Zrozumienie związków zachodzących między budową tkanki, propagacją fali ultradźwiękowej oraz wyznaczonymi parametrami ultradźwiękowymi stanowi kluczowe zagadnienie przy charakteryzowaniu tkanek w oparciu o ilościowe techniki ultradźwiękowe (*QUS – Quantitative Ultrasounds*). Dotychczasowe wyniki analiz sygnałów zarejestrowanych *in vivo* pokazały, iż korelacje między stanem tkanki oraz charakterem sygnału zachodzą m.in. w przypadku analizy tkanek zdrowych oraz patologicznych wątroby [84] czy też piersi [85]. Przy wyjaśnieniu zjawisk, zachodzących podczas badań tkanki za pomocą ultradźwięków, pomocne jest zastosowanie metod symulacji obejmujących zarówno modelowanie tkanki w oparciu o jej charakterystyczne cechy anatomiczne jak i modelowanie rejestrowanych doświadczalnie sygnałów rozproszonych w tkance z uwzględnieniem wpływu aparatury pomiarowej.

Niniejsza praca w dużej części dotyczy wykorzystania ilościowych ultradźwiękowych metod charakteryzowania tkanek zastosowanych do oceny skóry zdrowej jak i objętej schorzeniem w postaci nowotworu podstawnokomórkowego (*BCC*). W celu interpretacji otrzymanych wyników, zastosowano modelowanie, którego zadaniem była symulacja echa ultradźwiękowych pochodzących z tkanki skóry właściwej zdrowej jak i dotkniętej *BCC* w różnym stadium zaawansowania. Skoncentrowanie uwagi na symulacji sygnałów pochodzących ze skóry właściwej wynika z faktu, że to głównie ten obszar skóry narażony jest na występowanie nowotworów.

Przeprowadzone symulacje miały na celu zarówno określenie wpływu zmian zachodzących w strukturze tkanki na rejestrowane echa ultradźwiękowe, jak i odpowiedź na pytanie jak duże zmiany muszą nastąpić w mikrostrukturze

tkanki, aby możliwe stało się wykrywanie ich za pomocą analizy statystycznej tzn. za pomocą charakterystycznego parametru rozkładu K – efektywnej liczby rozpraszaczy.

Opracowany oraz wykorzystany w niniejszej pracy model ech ultradźwiękowych uwzględniał zarówno wpływ mikrostruktury ośrodka, w którym propaguje się fala (ilość oraz charakterystyczne wielkości struktur rozpraszających) jak i wpływ układu nadawczo-odbiorczego, co zrealizowano poprzez wprowadzenie do modelu danych empirycznych, w postaci zarejestrowanego ultradźwiękowego impulsu nadawczego i kształtu wiązki sondującej.

Metoda symulacji ech tkankowych zakładała, że sygnał elektryczny rejestrowany na przetworniku powstaje w wyniku padania na niego fali ultradźwiękowej rozproszonej na elementach struktury tkanki. Widmo sygnału generowanego na przetworniku ($R_n(f)$), przez echo pochodzące od pojedynczego elementu struktury (rozpraszacza), zlokalizowanego w odległości r_n od powierzchni przetwornika i z_n od osi wiązki, można przedstawić jako iloczyn funkcji opisujących wpływ właściwości ośrodka i aparatury pomiarowej:

$$R_n(f) = P(f) \cdot T(r_n, z_n, f) \cdot H(f, r_n) \cdot B(f) \cdot U(f) \quad (7.1.1)$$

gdzie $P(f)$ to widmo sygnału nadawczego, $B(f)$ oznacza funkcję opisującą właściwości rozproszeniowe elementu, zależną od jego kształtu, rozmiaru oraz właściwości materiałowych. $H(f, r_n)$ określa zależność zmian amplitudy i fazy widma echosygnału wynikającą z właściwości ośrodka tj. z tłumienia oraz dyspersji prędkości. W przypadku, gdy rozważany ośrodek jest niedispersyjny oraz nietłumiący, funkcja ta opisuje jedynie zmiany fazy, wynikające z propagacji fali na drodze przetwornik-rozpraszacz-przetwornik. $T(r_n, z_n, f)$ modeluje ilościowy wkład, wynikający z położenia rozpraszacza w polu emitowanej wiązki, w odbierany echosygnał. $U(f)$ określa zaś funkcję przenoszenia częstotliwości przetwornika.

Przy założeniu, że w ośrodku, jakim jest tkanka miękka, wielokrotne rozproszenia mogą zostać pominięte, całkowite rozproszone pole można wyznaczyć, jako sumę przyczynków, których źródło stanowią poszczególne struktury rozpraszające. Wówczas, widmo sygnału generowanego na przetworniku, może zostać przedstawione jako:

$$R(f) = \sum_n R_i(f) = \sum_n P(f) \cdot T(r_n, z_n, f) \cdot H(f, r_n) \cdot B(f) \cdot U(f) \quad (5.1.2)$$

gdzie sumowanie odbywa się po wszystkich n elementach rozpraszających.

W symulacji przyjęto, że fala propaguje się w ośrodku bezstratnym. Założenie to umożliwiło ocenę wpływu struktury tkanki na statystykę sygnału

rozproszonego. W przypadku danych empirycznych, zmiany amplitudy sygnału wynikające z tłumienia mają również wpływ na otrzymane wyniki oceny statystycznej. Dlatego też, w trakcie analizy statystycznej sygnałów zarejestrowanych doświadczalnie, wpływ tłumienia jest kompensowany.

Na podstawie powyższych założeń oraz równań (7.1.1) oraz (7.1.2) wynika, że w celu modelowania sygnału rozproszonego w tkance konieczne są informacje na temat współczynnika rozproszenia charakterystycznych struktur skóry oraz ich rozmieszczenia przestrzennego, jak również dane na temat kształtu nadawanego impulsu oraz rozkładu emitowanego pola. W pomiarach użyty został przetwornik szerokopasmowy. Jego funkcja przenoszenia częstotliwości w niewielkim stopniu wpływa na pasmo generowanego i odbieranego impulsu. Dlatego też w symulacjach przyjęto, że $U(f) = const$.

7.2. BUDOWA SKÓRY LUDZKIEJ

Skóra ludzka jest wielowarstwowym organem z dobrze wyodrębnionymi poszczególnymi regionami anatomicznymi. Warstwę zewnętrzną stanowi warstwa najcieńsza - naskórek, pełniący w głównej mierze funkcję ochronną. Tuż pod nim zlokalizowana jest warstwa znacznie grubsza tzw. skóra właściwa, wewnątrz której wyróżnić można dwie podwarstwy: cieńszą, zlokalizowaną tuż pod naskórkiem – brodawkową, oraz położoną głębiej tzw. podwarstwę siateczkową, stanowiącą 90 % grubości skóry właściwej.

Obydwie podwarstwy skóry właściwej zbudowane są w głównej mierze z włókien kolagenowych, których procentowy udział w objętości tkanki, według wyników badań stereologicznych, waha się w granicach od 66 do 69% [86].

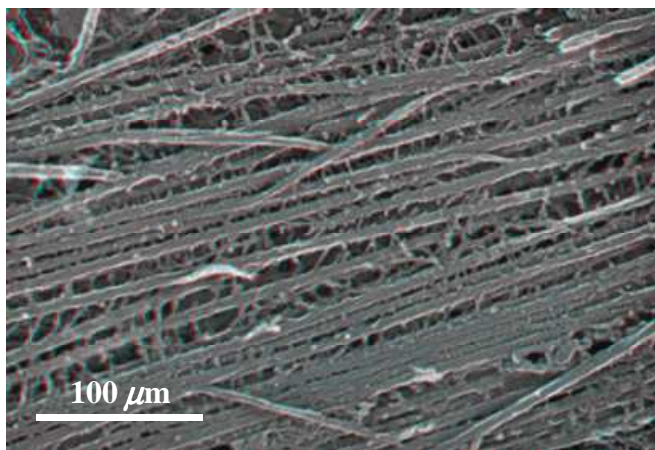
Wśród włókien kolagenowych wyróżnić można dwa ich rodzaje: włókna zbudowane z kolagenu typu I oraz włókna powstałe z kolagenu typu III. Grupę dominującą stanowią włókna kolagenu typu I, które to w pierwszej podwarstwie – brodawkowej, stanowią około 80-90% wszystkich włókien, natomiast w podwarstwie siateczkowej ich procentowy udział w ogóle występujących włókien osiąga wartość prawie 100% [87].

Pojedyncze włókno kolagenowe, którego schemat budowy przedstawiony został na rysunku (Rys. 7.1), powstaje w wyniku szeregowego oraz równoległego połączenie wielu mikrowłókien. W wyniku tych połączeń, w przypadku włókien kolagenowych typu I powstają struktury, o gęstości 1250 kg/m^3 oraz prędkości propagującej się w nich fali podłużnej $v=1730 \text{ m/s}$, które przyjmują wartości średnicy z zakresu od $5\mu\text{m}$ do $15\mu\text{m}$, a długość których osiąga wartości o kilka rzędów wyższe [88].



Rys. 7.1. Schemat budowy włókna kolagenowego. Trzy łańcuch polipeptydowe tworzą potrójne helisy. Częsteczki te ulegają szeregowemu połączeniu wzdłuż osi helisy tworząc pojedyncze mikrowłókna. To właśnie te struktury w wyniku zarówno połączeń szeregowych jak i równoległych tworzą włókna kolagenu o średnicy od $5\mu\text{m}$ do $15\mu\text{m}$.

Kierunek ułożenia włókien kolagenowych różni się w zależności od podwarstwy. W warstwie brodawkowej ułożone są one w sposób losowy, natomiast w dominującej warstwie siateczkowej, obserwuje się włókna kolagenowe, które w stosunku do powierzchni skóry przebiegają prawie równoległe, co można zaobserwować na poniższym rysunku (Rys. 7.2), przedstawiającym obraz mikroskopowy włókien kolagenowych skóry właściwej – warstwy siateczkowej [89].



Rys. 7.2. Obraz włókien kolagenowych zlokalizowanych w ludzkiej skórze właściwej (warstwa siateczkowa).

Bazując na danych, dotyczących objętościowego udziału kolagenu w skórze właściwej (w trakcie obliczeń przyjęto wartość pośrednią = 68%) oraz wykorzystując informacje związane zarówno z kierunkiem ułożenia włókien jak i dane umożliwiające wyznaczenie objętości pojedynczego włókna kolagenowego

przecinającego wiązkę ultradźwiękową, wyznaczono przestrzenną ilość włókien kolagenowych. Oszacowano, że przez powierzchnię 1mm^2 , prostopadłą względem kierunku ułożenia włókien, przechodzi około 1400 włókien kolagenowych.

7.3. BUDOWA SKÓRY OBJĘTEJ NOWOTWOREM PODSTAWNO-KOMÓRKOWYM

Przedstawiona powyżej struktura skóry, która zawiera głównie włókna kolagenowe, w wyniku wystąpienia zmian patologicznych ulega modyfikacjom. W przypadku pojawienia się nowotworu podstawnocomórkowego typu guzkowego, którego obraz histopatologiczny przedstawiony został na rysunku (Rys. 7.3), obok włókien kolagenowych, występują nowe struktury, różniące się zarówno pod względem kształtu, rozmiaru jak i właściwości fizycznych. Nowe struktury, związane są z obecnością komórek nowotworowych, które to połączone w grupy tworzą klastry o zaokrąglanych kształtach i różnych rozmiarach [90].

Procentowa zawartość komórek nowotworowych, obecnych w obszarze tkanki objętej schorzeniem, powiązana jest ściśle ze stadium zaawansowania schorzenia. W okresie transformacji stanu przedrakowego w nowotwór zajmują one tylko niewielki procent objętości tkanki. Wraz z rozwojem stanu patologicznego ich objętościowy udział w tkance wzrasta, osiągając w przypadku zaawansowanego stadium chorobowego poziom około 60-70% objętości tkanki (dane uzyskane w wyniku konsultacji medycznych).



Rys. 7.3. Histologiczny obraz nowotworu podstawnocomórkowego typu guzkowego z widocznymi komórkami nowotworowymi pogrupowanymi w klastry o różnych rozmiarach. Obraz zaadaptowany z [91].

W literaturze brakuje niestety dokładnych danych dotyczących rozmiarów klastrów. Z przeprowadzonej analizy obrazów histopatologicznych skóry

zmienionej w wyniku obecności nowotworu podstawnocomórkowego wynika, że promień tych struktur przyjmuje wartości z przedziału od około 20 μ m do 50 μ m.

7.4. MODEL SKÓRY

Na wstępie niniejszego rozdziału wspomniano, iż rozproszony sygnał ultradźwiękowy, odbierany przez przetwornik, może zostać przedstawiony jako suma ech pochodzących od poszczególnych źródeł rozpraszających. Kluczowym zagadnieniem w trakcie modelowania, najpierw struktury medium, w którym sygnał jest rozpraszany, a następnie w trakcie symulacji sygnału rozproszonego jest więc wybór i opis struktur mających główny wkład w końcowy, rejestrowany echosygnał.

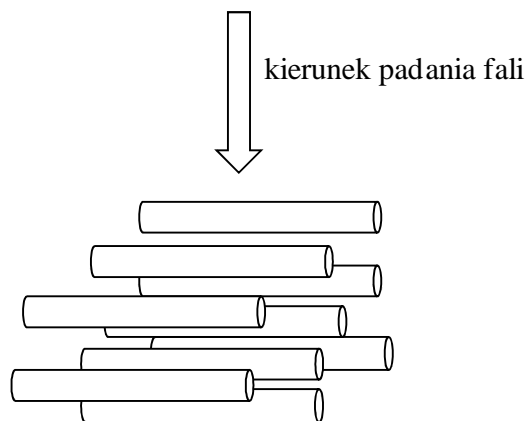
7.4.1. MODEL SKÓRY ZDROWEJ

Opracowany model skóry zdrowej, oparty został na dwóch założeniach. Przyjęto, zgodnie danymi literaturowymi, że włókna kolagenowe w skórze stanowią główne źródło rozproszenia [92]. Drugie założenie wiązało się z kierunkiem ułożenia włókien kolagenowych w skórze. Ponieważ warstwa siateczkowa stanowi 90% grubości skóry właściwej przyjęto, że włókna kolagenowe w modelu przyjmą orientację włókien znajdujących się właśnie w tej warstwie, czyli kierunek równoległy do powierzchni skóry.

W wyniku powyższych założeń, struktura skóry zdrowej przybliżona została przez układ równoległych włókien kolagenowych, które zostały uformowane w postaci nieskończenie długich walców o średnicy i właściwościach fizycznych odpowiadających właściwościom włókien kolagenowych. Przybliżenie włókien, za pomocą nieskończenie długich walców wynika z faktu, że długość włókien kolagenowych jest o kilka rzędów wielkości większa aniżeli ich średnica oraz przekracza średnicę wykorzystanej w modelu wiązki sondującej. Tak uformowana struktura zanurzona została w cieczy o parametrach odpowiadających parametrom wody (gęstość $\rho=1000$ kg/m³, prędkość propagacji fali 1500m/s). Przyjęto, że fala ultradźwiękowa pada prostopadle do kierunku ułożenia włókien kolagenowych, tak jak przedstawia to schemat zamieszczony na rysunku (Rys. 7.4).

W literaturze, według wiedzy autora, nie są niestety dostępne dane mówiące jakiemu rozkładowi podlega średnica włókien kolagenu. Fakt ten wynika najprawdopodobniej z tego, iż główny wpływ na stan skóry mają mikrowłókna kolagenowe i to właśnie na nich skupiona jest główna uwaga przeprowadzanych analiz. Z tego względu przyjęto, że w modelu średnica

włókien kolagenowych podlegała będzie rozkładowi analogicznemu do rozkładu, jakiemu podlega średnica budujących je mikrowłókien, tzn. rozkładowi normalnemu [93], ze średnią równą $10\mu\text{m}$ oraz odchyleniem standardowym równym 0.52.



Rys. 7.4. Schemat modelu włókien kolagenowych obecnych w skórze właściwej, wykorzystany w trakcie modelowania sygnału rozproszonego wraz z zaznaczonym kierunkiem padania fal.

Obok danych dotyczących wymiarów włókien kolagenowych, nie mniej istotne z punktu widzenia opracowanego modelu, są informacje na temat ich właściwości materiałowych. Przyjęto, że walcom reprezentującym włókna, przypisane zostaną cechy materiałowe kolagenu tj.: gęstość $\rho = 1250 \text{ kg/m}^3$ oraz prędkość propagacji fali podłużnej równa 1730 m/s [89]. Ze względu na brak, według wiedzy autora, danych w literaturze na temat wartości współczynnika Poissona wyznaczonego bezpośrednio dla kolagenu, przyjęto wartości tego parametru wyznaczoną dla skóry właściwej [94], co pozwala na wyznaczenie prędkości fali poprzecznej w pojedynczym włóknie kolagenowym, równej 300 m/s .

Ilość walców, reprezentujących włókna kolagenowe, umieszczanych w modelu wyznaczono, bazując na danych dotyczących procentowego, objętościowego udziału kolagenu w skórze właściwej (przyjęto wartość = 68%) oraz wykorzystując informacje umożliwiające wyznaczenie objętości zajmowanej przez pojedyncze włókno kolagenowe, w sondującej wiązce. Na tej podstawie oszacowano, że 1 mm^2 przekroju wiązki ultradźwiękowej, w kierunku prostopadłym względem kierunku jej propagacji, przecina około 1400 włókien.

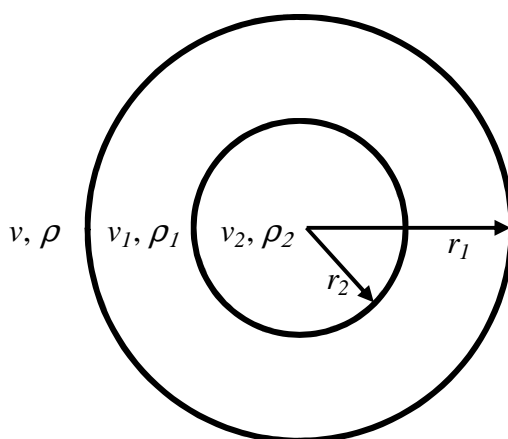
7.4.2. MODEL SKÓRY DOTKNIĘTEJ NOWOTWOREM PODSTAWNOKOMÓRKOWYM

Zmiany zachodzące w mikrostrukturze skóry, wynikają z pojawienia się ognisk nowotworowych, czyli nowych struktur rozpraszających. Z tego też

względu, w trakcie modelowania struktury tkanki objętej stanem rakowym, a następnie symulacji sygnałów rozproszonych w skórze zmienionej chorobowo wprowadzono do opisanego powyżej modelu modyfikacje umożliwiające uwzględnienie nowopowstałych struktur, stanowiących dodatkowe źródło rozproszenia padającej fali.

7.4.2.1. MODEL KOMÓRKI NOWOTWOROWEJ

W zmodyfikowanym modelu, komórka nowotworowa przybliżona została za pomocą dwóch płynnych koncentrycznych sfer, z których wewnętrzna reprezentowała jądro komórkowe, natomiast zewnętrzna cytoplazmę (Rys. 7.5).



Rys. 7.5. Model pojedynczej komórki zanurzonej w medium o gęstości ρ oraz prędkości propagacji fali v , reprezentowany przez dwie koncentryczne sfery, z których wewnętrzna reprezentuje jądro komórkowe o gęstości ρ_2 oraz prędkości propagacji fali v_2 natomiast zewnętrzna cytoplazmę o analogicznych do wcześniej wspomnianych parametrów v_1 oraz ρ_1 .

W wyniku konsultacji przeprowadzonych w ramach współpracy z lekarzami przyjęto, że parametry modelowanej pojedynczej komórki nowotworowej odpowiadały będą parametrom wykorzystanym przez Han i wsp. [95]. Przypisanie komórkom nowotworu podstawnokomórkowego cech fizycznych komórek analizowanych w powyższej pracy wynikało z obserwowanych w kształcie oraz rozmiarze podobieństw obu rodzajów komórek. Przyjęto również, w wyniku analizy obecnych w literaturze informacji [96-97], że właściwości materiałowe jądra oraz cytoplazmy dla różnego rodzaju komórek ulegają niewielkim zmianom. Na tej podstawie, dla sfery wewnętrznej, reprezentującej jądro komórkowe za prędkość rozchodzenia się fali v_2 przyjęto wartość równą 1543m/s natomiast gęstość $\rho_2 = 1430\text{kg/m}^3$ oraz dla sfery

zewnątrznej odpowiadającej cytoplazmie $v_1 = 1550\text{m/s}$ oraz gęstość $\rho_1 = 1010\text{kg/m}^3$.

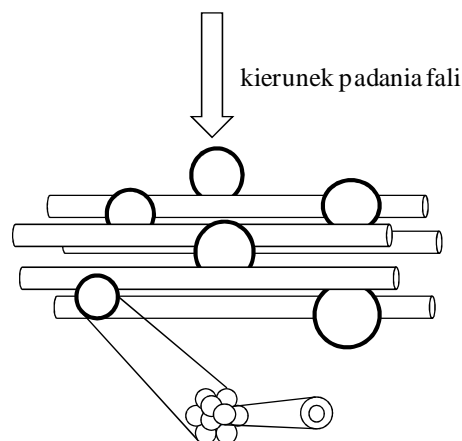
Uwzględnienie zmiany rozmiarów zarówno jądra jak i całej komórki oparte zostały na danych dotyczących wielkości komórek uzyskanych przez Han'a A. [98]. Zaprezentowane przez autora powyższej pracy wyniki wskazały, iż wielkość promienia jądra komórki podlega rozkładowi normalnemu, ze średnią $3.3\mu\text{m}$ oraz odchyleniem standardowym równym 0.63 . W pracy tej wykazano również, że temu samemu rozkładowi podlega wielkość promienia komórki oraz że dwie powyższe wielkości powiązane są ze sobą zależnością liniową taką, że:

$$r_1 = 1.04r_2 + 3.26\mu\text{m} \quad (7.4.1)$$

gdzie r_1 oznacza promień komórki, zaś r_2 promień jądra. Na podstawie powyższej zależności (7.4.1) wyznaczono średnią wartość promienia komórki (dla średniego promienia jądra $= 3.3\mu\text{m}$) wynoszącą $6.7\mu\text{m}$.

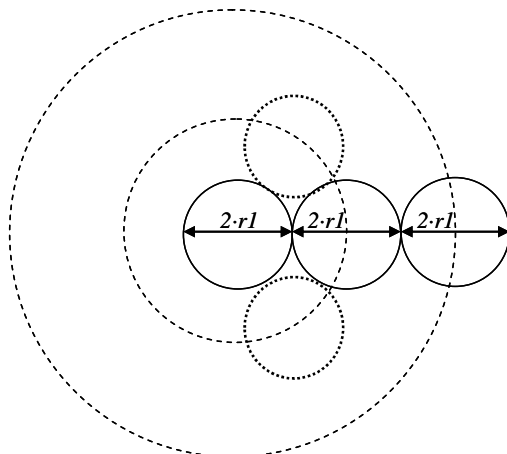
7.4.2.2. MODEL KLASTRÓW NOWOTWOROWYCH

W obrębie tkanek zaatakowanych przez nowotwór, obok pierwotnie występujących włókien kolagenowych obserwuje się kuliste struktury o zróżnicowanych gabarytach, złożone z komórek nowotworowych. Z tego względu, modyfikacja zaproponowanego modelu, polegała na wprowadzeniu obok równoległe zlokalizowanych włókien, reprezentowanych przez walce, gniazd komórek nowotworowych, w sposób jaki zostało to zobrazowane na rysunku (Rys. 7.6).



Rys. 7.6. Model struktury tkanek skóry z obecnymi skupiskami komórek nowotworowych. Włókna kolagenowe reprezentowane przez elastyczne walce o właściwościach włókien kolagenowych. Klastry komórek nowotworowych przybliżone przez kuliste struktury zbudowane z komórek nowotworowych przybliżonych przez dwie koncentryczne płynne sfery.

Ilość komórek, które w wyniku połączenia tworzą klastery, uzależniona jest zarówno od jego rozmiaru jak również od wielkości pojedynczych komórek. W celu zamodelowania klastra komórek nowotworowych, tworzących większy obiekt rozpraszający (przyjęto, iż promienie klastrow przyjmują wartości z przedziału od $20\mu\text{m}$ do $50\mu\text{m}$) i wyznaczenia ilości tworzących go komórek założono, że struktura taka reprezentowana będzie przez skupisko komórek, rozmieszczonych według poniższego schematu (Rys. 7.7).



Rys. 7.7. Uproszczony schemat ułożenia komórek budujących pojedynczy klastery. W celu polepszenia przejrzystości na schemacie uwzględniono przekrój poprzeczny, z zaznaczonymi kilkoma komórkami zlokalizowanymi kolejno w centrum oraz na kolejnych sferach, których średnicę określała wielokrotność promienia pojedynczej komórki.

Przyjęto, iż w centrum struktury umiejscowiona zostanie pojedyncza komórka, natomiast pozostałe rozmieszczone zostaną na powierzchniach kolejnych sfer, których promień wyznacza wielokrotność promienia średniej pojedynczej komórki ($6.7\mu\text{m}$).

Powyższy schemat budowy klastrow, definiuje długości promieni, jakie mogą przyjmować modelowane struktury w przedziale od $20\mu\text{m}$ do $50\mu\text{m}$. Wyznaczono, że promienie klastrow przyjmują wartości $20\mu\text{m}$, $35.5\mu\text{m}$ oraz $47\mu\text{m}$. Określono również, że ilość budujących je komórek wynosi odpowiednio 47, 110 oraz 247. Przyjęto, że średnice jąder komórek budujących poszczególne klastry, podlegają wspomnianemu w czasie omawiania modelu pojedynczej komórki, rozkładowi normalnemu. Wymiary komórek zaś, wyznaczono na podstawie zależności (7.4.1).

W mikrostrukturze tkanki zmienionej chorobowo jednocześnie występują skupiska komórek nowotworowych o różnych rozmiarach. Z tego względu, w trakcie modelowania tkanek patologicznych założono, że przestrzeń zajmowana przez struktury nowotworowe wypełniona zostanie w równej mierze przez każdy

rodzaj struktur o wyznaczonych powyżej rozmiarach tzn. procentowy udział każdego rodzaju z klastrów stanowił będzie 33% objętości komórek nowotworowych.

7.5. ROZPROSZENIE NA WALCU, DWÓCH KONCENTRYCZNYCH SFERACH ORAZ KLASTRZE

7.5.1. ROZPROSZENIE NA WALCU – MODEL POJEDYNCZEGO WŁÓKNA KOLAGENOWEGO

Z punktu widzenia przedstawionych powyżej modeli, zarówno skóry zdrowej jak i zmienionej chorobowo, kluczowe zagadnienie stanowi wyznaczenie echosygnalów pochodzących od poszczególnych elementów. Z tego względu, kwestię podstawową stanowi wyznaczenie rozproszenia w funkcji częstotliwości dla pojedynczego elementu rozpraszającego. W przypadku obydwu modeli elementem wspólnym, będącym źródłem rozproszenia, jest włókno kolagenowe przybliżone za pomocą nieskończenie długiego walca.

W niniejszej pracy rozproszenie na pojedynczym walcu wyznaczano w oparciu o teorię rozproszenia fali na sprężystym walcu [99-100], przy założeniach pola dalekiego tzn. odległość r w jakiej obliczane jest rozproszenie jest znacznie większa od wymiarów walca (średnicy d). Założenie to, jest zgodne z sytuacją jaka ma miejsce w trakcie odbioru echosygnalów w trakcie pomiarów *in vivo*. Wówczas to elementy rozpraszające (włókna kolagenowe obecne w skórze), znajdują się w odległości około 8.7 ± 1 mm od przetwornika, która to w porównaniu do wymiarów włókien (średnica rzędu kilku μ m) jest odległością znacznie większą.

W przypadku symulacji sygnałów rozproszonych, odbieranych przez przetwornik, istotna jest tylko część sygnału rozproszona wstecznie, czyli pod kątem 180° , w stosunku do kierunku fali padającej. Wówczas to, ciśnienie fali rozproszonej p_s , można przedstawić jako [100]:

$$p_s = p_p e^{ikr} \left(\frac{2}{i\pi kr} \right)^{1/2} \sum_{n=0}^{\infty} \varepsilon_n (-1)^n R_n(x) \quad (7.5.1)$$

gdzie p_p oznacza ciśnienie fali padającej, natomiast współczynnik ε_n określany jest mianem współczynnika Neumann'a, którego wartość jest równa 2 dla $n = 0$ oraz 1 w przypadku $n > 0$.

Funkcja $R_n(x)$ określona jest zależnością:

$$R_n(x) = - \frac{J_n(x) F_n - x J_n'(x)}{H_n^{(1)}(x) F_n - x H_n^{(1)'}(x)} \quad (7.5.2)$$

gdzie $J_n(x)$ oraz $J_n'(x)$ oznaczają odpowiednio funkcję Bessel'a oraz jej pochodną, natomiast $H_n^{(1)}(x)$ oraz $H_n^{(2)}(x)$ analogicznie funkcję Hankel'a pierwszego rodzaju oraz jej pochodną. Wartość F_n jest natomiast wyznaczana na podstawie wzoru:

$$F_n(x) = \frac{\rho_w}{\rho_k} x_T^2 \frac{D_n^{(1)}(x)}{D_n^{(2)}(x)} \quad (7.5.3)$$

w którym to ρ_w oraz ρ_k oznaczają odpowiednio gęstość ośrodka w którym zanurzony jest walec oraz gęstość samego walca. $D_n^{(1)}(x)$ oraz $D_n^{(2)}(x)$ określone są przez wartości wyznaczników poniższych macierzy:

$$D_n^{(1)}(x) = \begin{vmatrix} x_L J_n'(x_L) & n J_n(x_T) \\ 2n[J_n(x_L) + x_L J_n'(x_L)] & (x_T^2 - 2n^2)J_n(x_T) + 2x_T J_n'(x_T) \end{vmatrix} \quad (7.5.4)$$

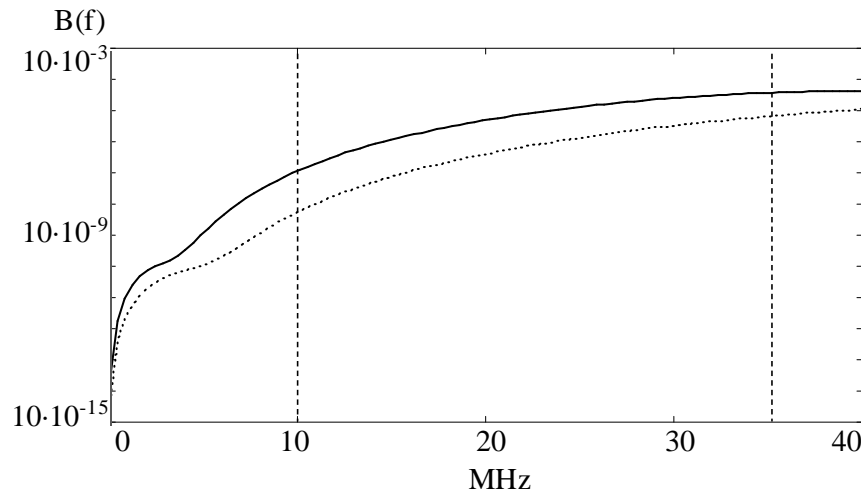
$$D_n^{(2)}(x) = \begin{vmatrix} (x_T^2 - 2n^2)J_n(x_L) + 2x_L J_n'(x_L) & 2n[J_n(x_T) + x_T J_n'(x_T)] \\ 2n[J_n(x_L) + x_L J_n'(x_L)] & (x_T^2 - 2n^2)J_n(x_T) + 2x_T J_n'(x_T) \end{vmatrix} \quad (7.5.5)$$

Argumentami funkcji Bessel'a oraz Hankel'a, które obecne są w równaniu (7.5.2) umożliwiającym wyznaczenie wartości funkcji $R_n(x)$, jest $x = kd = \frac{2\pi f}{v_w} d$, gdzie v_w oznacza prędkość fali w wodzie, natomiast d jest średnicą walca. W analogiczny sposób wyznaczone zostały argumenty funkcji Bessel'a obecne w macierzach (7.5.4) oraz (7.5.5), tak więc $x_L = kd = \frac{2\pi f}{v_L} d$ natomiast $x_T = kd = \frac{2\pi f}{v_T} d$, gdzie x_L oraz x_T to odpowiednio prędkości fali podłużnej oraz poprzecznej w walcu.

Zależności od (7.5.1) do (7.5.5) wskazują, iż wartość ciśnienia fali wstecznie rozproszonej powiązana jest ściśle zarówno z właściwościami materiałowymi walca jak również z jego średnicą. Na początku niniejszego rozdziału przyjęto, że gęstość oraz prędkości rozchodzenia się fal we włóknach kolagenowych pozostają wartościami niezmiennymi. Uwzględnione zostały natomiast zmiany występujące w średnicy włókien kolagenowych.

W celu analizy wpływu wymiarów walca na wartość współczynnika rozproszenia, będącego stosunkiem wartości ciśnienia fali wstecznie rozproszonej p_s do ciśnienia fali padającej p_p ($B=p_s/p_p$), na podstawie powyższych zależności określono wartości amplitudy współczynnika rozproszenia w funkcji częstotliwości dla dwóch wartości średnicy włókien kolagenowych tj.: 10 μ m oraz 15 μ m.

Wyniki otrzymane dla dwóch wymienionych średnic włókna kolagenowego przedstawia poniższy wykres (Rys. 7.8), gdzie krzywą kropkowaną oznaczono zależność współczynnika rozproszenia od częstotliwości dla walca o średnicy $10\mu\text{m}$, natomiast krzywa ciągła określa omawianą zależność dla walca o średnicy $15\mu\text{m}$.



Rys. 7.7. Zależność współczynnika rozproszenia w funkcji częstotliwości wyznaczona dla dwóch wartości średnicy walca: krzywa kropkowana- $10\mu\text{m}$, krzywa ciągła $15\mu\text{m}$ wraz z zaznaczonym zakresem częstotliwości (10-35 MHz), wynikającym z zakresu pomiarowego.

Na podstawie powyższych wykresów (Rys. 7.7), gdzie zobrazowano omawianą zależność dla szerokiego zakresu częstotliwości wraz z zaznaczonym zakresem częstotliwości wynikającym z zakresu pomiarowego tj. częstotliwości w zakresie od 10MHz do 35MHz, zauważyć można istotny wpływ średnicy walca, na którym padająca fala ulega rozproszeniu, na otrzymany wynik. Wynik taki potwierdza tym samym poprawność założenia o konieczność uwzględnienia różnic w średnicach walców, reprezentujących włókna kolagenowe, umieszczanych w modelu.

7.5.2. ROZPROSZENIE NA DWÓCH KONCENTRYCZNYCH SFERACH – MODEL KOMÓRKI NOWOTWOROWEJ

W podrozdziale, omawiającym budowę histologiczną skóry objętej nowotworem wspomniano, że obok pierwotnie występujących włókien kolagenowych obserwowane są komórki nowotworowe. Komórki te, pogrupowane w klastry, tak samo jak włókna kolagenowe stanowią źródło rozproszenia, a tym samym wpływają na charakter rejestrowanego sygnału. Z tego też względu, w

proponowanym modelu skóry zmienionej przez nowotwór podstawnokomórkowy, obecność komórek została przybliżona przez dwie koncentryczne płynne sfery, z których to wewnętrzna reprezentuje jądro komórkowe, zewnętrzna zaś cytoplazmę.

Zależność rozproszenia w funkcji częstotliwości dla pojedynczej komórki znaleziono w oparciu o teorię rozpraszania fali na dwóch koncentrycznych sferach, zaproponowaną przez J.McNew'a [101]. Zakładając warunki identyczne jak w przypadku analizy rozpraszania fali padającej na walec tzn. na element rozpraszający pada fala płaska a rozproszenie (rozważany tylko sygnał rozproszony pod kątem $\varphi=180^\circ$) liczone jest dla pola dalekiego w odległości r , wówczas ciśnienie fali rozproszonej p_s można opisać jako:

$$p_s = p_p \sum_{m=0}^{\infty} A_m P_m(\mu) H_m^{(1)}(x) \quad (7.5.6)$$

gdzie p_p , analogicznie jak w przypadku równania (7.5.1) oznacza ciśnienie fali padającej, $P_m(\cdot)$ jest wielomianem Legendre'a, $\mu = \cos(\varphi)$, $H_m^{(1)}(\cdot)$ oznacza natomiast sferyczną funkcję Hankel'a pierwszego rodzaju, której argumentem jest $x = k_0 r = \frac{2\pi f}{v} r$. Wartość współczynnika A_m zostaje zaś wyznaczona z równania:

$$A_m = p_p (2m + 1) \mathcal{L}_m \quad (7.5.7)$$

$$\begin{aligned} & \{ [Z_{r2} J_m(x_{12}) J'_m(x_2) - Z_{r1} J'_m(x_{12}) J_m(x_2)] \\ & \times [Z_{r1} H'_m(x_1) J_m(x_{01}) - H_m(x_1) J'_m(x_{01})] \\ & \times [J_m(x_1) J'_m(x_{01}) - Z_{r1} J'_m(x_1) J_m(x_{01})] \} \\ & \div \{ [Z_{r1} H'_m(x_{12}) J_m(x_2) - Z_{r2} H'_m(x_{12}) J'_m(x_2)] \\ & \times [H'_m(x_{01}) J_m(x_{11}) - Z_{r1} H_m(x_{01}) J'_m(x_1)] \\ & - [Z_{r1} J'_m(x_{12}) J_m(x_2) - Z_{r2} J_m(x_{12}) J'_m(x_2)] \\ & \times [H'_m(x_{01}) H_m(x_1) - Z_{r1} H_m(x_{01}) H'_m(x_1)] \} \end{aligned}$$

gdzie $H_m^{(1)}(\cdot)$, $H_m^{(1)'}(\cdot)$, $J_m(\cdot)$ oraz $J'_m(\cdot)$ oznaczają odpowiednio sferyczne funkcje Hankel'a oraz Bessel'a oraz ich pochodne. Ich argumentami są natomiast:

$$x_1 = k_1 r_1 = \frac{2\pi f}{v_1} r_1 \quad (7.5.8)$$

$$x_2 = k_2 r_2 = \frac{2\pi f}{v_2} r_2 \quad (7.5.9)$$

$$x_{12} = k_1 r_2 = \frac{2\pi f}{v_1} r_2 \quad (7.5.10)$$

$$x_{01} = k_0 r_1 = \frac{2\pi f}{v} r_1 \quad (7.5.11)$$

Ponadto $\mathcal{L}_m = (-1)^m$, zaś Z_{r1} dane jest wzorem:

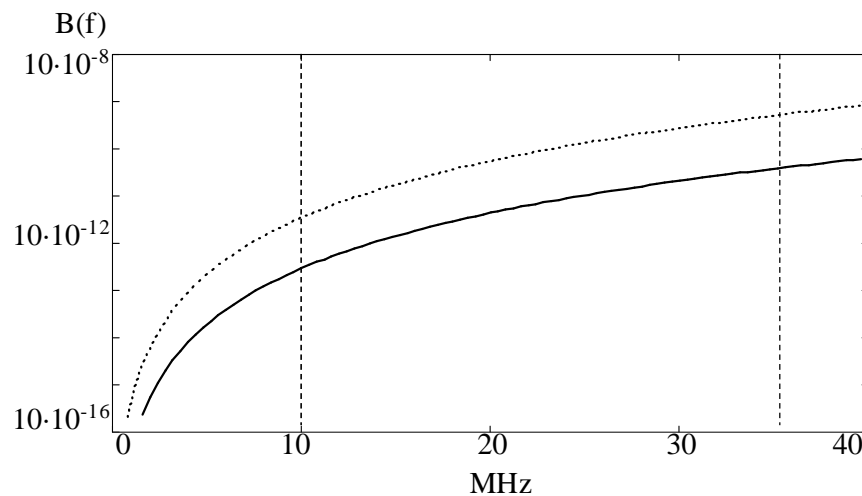
$$Z_{r1} = \frac{\rho v}{\rho_1 v_1} \quad (7.5.12)$$

a

$$Z_{r2} = \frac{\rho v}{\rho_2 v_2} \quad (7.5.13)$$

Z zależności (7.5.6) - (7.5.13) wynika, że wartość rozproszenia uzależniona jest zarówno od właściwości materiałowych komórki jak i jej wielkości. Tak, jak w przypadku wyznaczania współczynnika rozproszenia dla włókien kolagenowych, również w tym przypadku założono, że gęstość oraz prędkość propagacji fali zarówno dla jądra jak i cytoplazmy pozostają wartościami stałymi.

Wahaniom ulegają natomiast wymiary zarówno jądra jak i całej komórki. Z tego względu, w celu analizy wpływu zmiany gabarytów komórki na charakter rozproszenia, dokonano porównania wartości współczynnika rozproszenia w funkcji częstotliwości dla dwóch wielkości promienia jądra komórkowego tj.: $r_2=4\mu\text{m}$, oraz $r_2=2\mu\text{m}$, co na podstawie zależności (7.4.1) odpowiadało promieniom komórki równym odpowiednio $r_1=7.4\mu\text{m}$ oraz $r_1=5.3\mu\text{m}$. Otrzymane wyniki przedstawiono na rysunku (Rys. 7.9).



Rys. 7.9. Współczynnik rozproszenia w funkcji częstotliwość, wyznaczony dla dwóch wartości promienia jądra komórkowego: krzywa kropkowana - $4\mu\text{m}$, krzywa ciągła $2\mu\text{m}$, wraz z zaznaczonym zakresem częstotliwości wynikającym za zakresu pomiarowego.

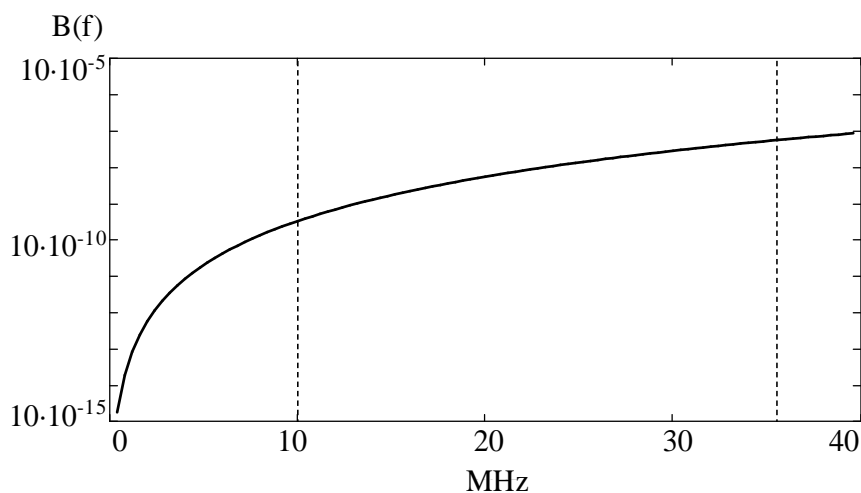
7.5.3. ROZPROSZENIE NA KLASTRZE ZŁOŻONYM Z KOMÓREK

Współczynnik rozproszenia dla pojedynczego klastra wyznaczony został w oparciu o teorię dotyczącą rozproszenia na pojedynczej komórce oraz w

oparciu o schemat ułożenia komórek w strukturze zaprezentowany w rozdziale (7.4.2.2).

Echosygnal pochodzący od każdej z komórek, został wyznaczony, na podstawie zależności (7.6.1), jako iloczyn widma impulsu padającego (wykorzystano zarejestrowany impuls sondujący użyty w trakcie badań *in vivo*, omówiony szczegółowo w rozdziale (7.6)) oraz współczynnika rozproszenia, wyznaczonego przy użyciu zależności (7.5.6) - (7.5.13). Przebiegi sygnałów, uzyskane w powyższy sposób, od wszystkich komórek wchodzących w skład klastra zostały zsumowane, z uwzględnieniem różnic w fazie wynikających z odległości między przetwornikiem oraz rozpraszaczem (komórką), dając tym samym echosygnal pochodzący od pojedynczego klastra.

Wyznaczając odległości między komórkami budującymi klastr a przetwornikiem przyjęto, iż komórka zlokalizowana w centrum klastra znajduje się w odległości r_0 od przetwornika. Dla komórek zlokalizowanych na kolejnych sferach przyjęto, że dystans ten podlega rozkładowi jednorodnemu i przyjmuje wartości z przedziału $(d_1 - n \cdot r_l, d_1 + n \cdot r_l)$, (gdzie d_1 oznaczono odległość przetwornik-centrum klastra, r_l średni promień komórki, n zaś wielokrotność). Współczynnik n w zależności od analizowanej sfery przyjmuje wartości 2 lub 4.



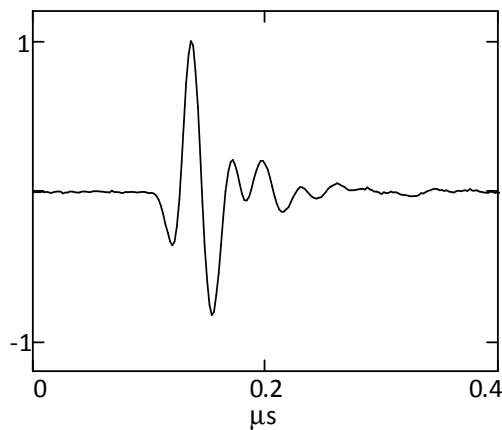
Rys. 7.10. Współczynnik rozproszenia w funkcji częstotliwości, wyznaczony dla klastra zbudowanego z 247 komórek wraz z zaznaczonym zakresem częstotliwości wynikającym z zakresu pomiarowego.

Poszukiwana zależność współczynnika rozproszenia w funkcji częstotliwości, dla pojedynczego klastra, wyznaczona została ze stosunku widma echosygnalu uzyskanego dla omawianej struktury komórek oraz widma referencyjnego. Za widmo referencyjne przyjęto widmo impulsu padającego.

Uzyskaną w powyższy sposób zależność, wyznaczoną dla klastra zbudowanego z 247 komórek, przedstawiono na rysunku (Rys. 7.10)

7.6. SYMULACJA SYGNAŁU ROZPROSZONEGO

W trakcie opracowywania modelu, jedno z założeń stanowiło o konieczności uwzględnienia danych empirycznych, co miało na celu jak najdokładniejsze przybliżenie sytuacji zaistniałej w trakcie pomiarów przeprowadzanych *in vivo*. Z tego też względu wszystkie symulacje przeprowadzone zostały z wykorzystaniem impulsu nadawczego identycznego jak ten, który wykorzystany został w trakcie rejestracji danych empirycznych, tzn. impulsu emitowanego przez przetwornik o częstotliwości środkowej 25MHz, średnicy 3mm oraz ogniskowej 89mm. Kształt impulsu (przebieg czasowy), zarejestrowany został za pomocą hydrofonu szerokopasmowego w odległości przetwornik – hydrofon równej ogniskowej, a jego przebieg zaprezentowany został na poniższym rysunku (Rys. 7.11).

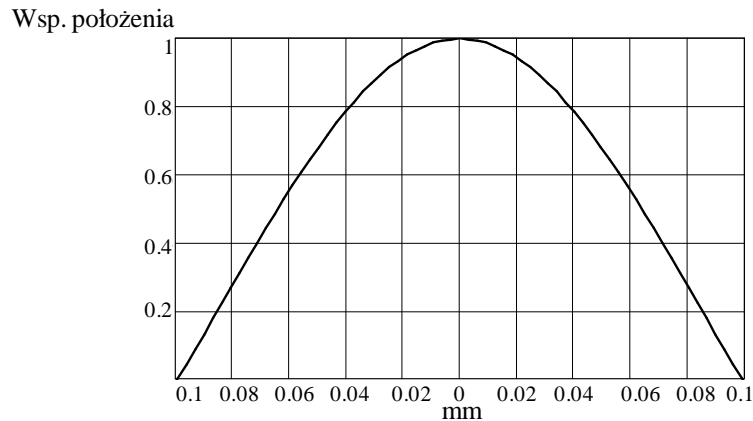


Rys. 7.11. Impuls ultradźwiękowy, zarejestrowany za pomocą hydrofonu w odległości 87 mm od przetwornika, wykorzystany w modelu, jako impuls sondujący – za czas trwania impulsu przyjęto 0.12 μs .

Wkład poszczególnych struktur rozpraszających w rejestrowane echo, związany jest nie tylko z właściwościami poszczególnych elementów, lecz również z ich lokalizacją tzn.: położeniem względem osi propagacji wiązki. Największy udział w powstawaniu sygnału należy do elementów rozpraszających znajdujących się bezpośrednio na osi wiązki i maleje wraz ze wzrostem odległości od niej. Z tego względu, w celu uwzględnienia tego zjawiska, w trakcie symulacji wprowadzono odpowiedni współczynnik położenia, którego wartość szacowana dla poszczególnych rozpraszaczy, uzależniona była od lokalizacji elementu.

Wyznaczając jego wartości, opierano się na danych pomiarowych szerokości wiązki ultradźwiękowej zaprezentowanych w rozdziale (5.4.3), tzn. uwzględniono, iż spadek maksymalnej wartości ciśnienia o -6dB następuje na odległości 0.1 mm od osi propagacji wiązki w każdą ze stron oraz przyjęto, iż

propagująca wiązka przyjmuje kształt Gaussowski. Wyznaczoną w powyższy sposób krzywą, reprezentującą poszczególne wartości współczynników położenia przedstawiono na rysunku (Rys.7.12). Wartości 0 na osi odciętych odpowiada położeniu na osi wiązki, tak więc wartość współczynnika położenia (oś rzędnych) osiąga w tym miejscu wartość maksymalną równą 1, która to wartość maleje wraz ze wzrostem odległości od osi propagacji.



Rys. 7.12. Krzywa reprezentująca wartości współczynnika położenia, wyznaczona z uwzględnieniem danych empirycznych, dotyczących szerokości przekroju wiązki.

Symulacja sygnału rozproszonego, odbywała się, poprzez sumowanie sygnałów cząstkowych pochodzących od poszczególnych rozpraszaczy obecnych w objętości pomiarowej [102]. W trakcie symulacji założono, że rejestrowany, rozproszony wstecznie sygnał ultradźwiękowy, pochodzi bezpośrednio od rozpraszaczy i nie jest on w żaden sposób zakłócany przez wielokrotne odbicia. Założono, że fale rozproszone docierają bezpośrednio do przetwornika, a ich faza zależy jedynie od odległości między przetwornikiem a elementem rozpraszającym oraz od fazy jego współczynnika rozproszenia.

Symulowany sygnał, którego to część rzeczywista odpowiada przebiegom rejestrowanym doświadczalnie, wyznaczany był według następującej reguły:

$$S_j = \sum_n \sum_k B_{n,k} T_{n,k} Amp_k \cdot e^{i\Phi_k} \cdot e^{2i\pi f_k \frac{2r_n}{v}} e^{2\pi \cdot f_k \cdot j \cdot \delta t} \cdot e^{-2 \cdot \alpha_0 \cdot r_n \cdot f_k} \quad (7.6.1)$$

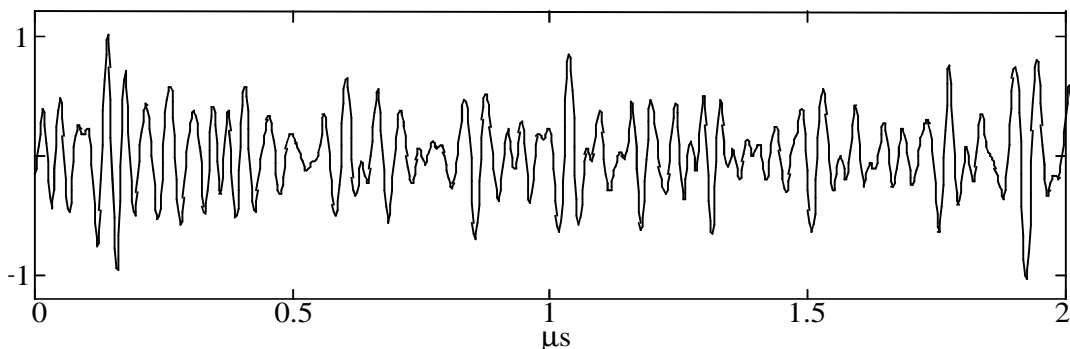
Sumowanie odbywało się po wszystkich elementach rozpraszających (n) oraz w całym zakresie widma impulsu padającego na próbkę (gdzie k oznacza numer prążka widma). Jako B oznaczono wartość współczynnika rozproszenia, którego wartość uzależniona jest od wymiarów i właściwości elementu rozpraszającego. Symbol T oznacza wartość współczynnika położenia związanego z lokalizacją elementu, r_n określa dystans pomiędzy elementem

rozpraszającym a przetwornikiem, natomiast v to prędkość rozchodzenia się fali w ośrodku, w którym zanurzony jest rozpraszacz, Amp_k oraz Φ_k to amplituda i faza widma impulsu padającego na próbkę, f - częstotliwość, a α_0 - współczynnik tłumienia w próbce (zgodnie z poczynionym założeniem przyjęto, że $\alpha_0=0$). Indeks j określa krok bieżącej współrzędnej, zaś δt oznacza krok próbkowania w czasie.

Interpretacja wpływu mikrostruktury na charakter otrzymywanych sygnałów, wymagała przeprowadzenia szeregu symulacji zarówno dla modelu uwzględniającego obecność wyłącznie włókien kolagenowych, jak również w przypadku obecności klastrów komórek nowotworowych. W obydwu przypadkach w trakcie pojedynczego procesu symulowano przebieg sygnału RF długości 2mm. Długość ta odpowiadała długości sygnału zarejestrowanego z tkanek skóry właściwej *in vivo*. Symulacje w obydwu przypadkach przebiegały w sposób zbliżony. W przypadku sygnału pochodzącego ze skóry zdrowej, którego przykładowy przebieg został przedstawiony na rysunku (Rys. 7.13), w formule (7.6.1) uwzględniono obecność wyłącznie włókien kolagenowych, reprezentowanych przez walce o właściwościach przedstawionych w poniższej tabeli (Tab. 7.1).

Tab. 7.1. Właściwości kolagenu wykorzystane w trakcie symulacji sygnału.

Właściwości	Zakres
Procentowy udział kolagenu w objętości tkanek skóry właściwej	66-69%
Średnica włókna kolagenowego	5-15 μ m
Prędkość fali podłużnej propagującej we włóknie kolagenowym	1730m/s
Prędkość fali poprzecznej propagującej we włóknie kolagenowym	300m/s
Gęstość kolagenu	1250 kg/m ³



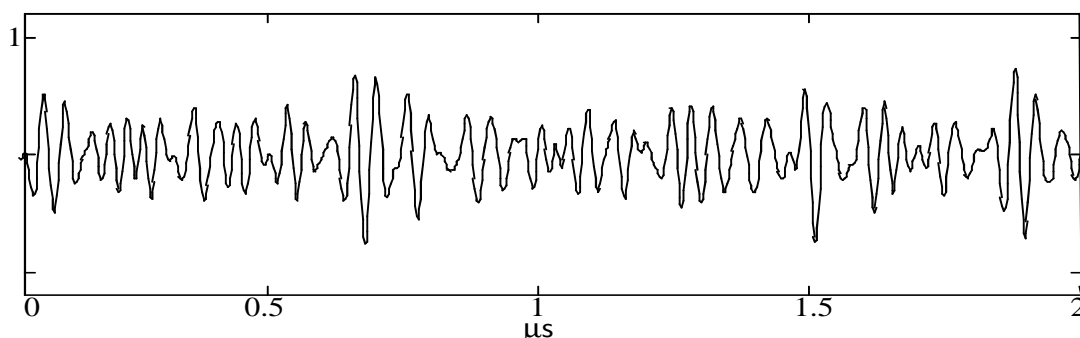
Rys. 7.13. Przebieg sygnału zasymulowanego dla modelu reprezentującego skórę zdrową.

W trakcie symulacji sygnałów pochodzących ze skóry objętej nowotworem proces symulacji przebiegł dwuetapowo. W pierwszym, tak jak w przypadku skóry zdrowej, uwzględniając procentowy spadek ilości włókien kolagenowych, zasymulowano sygnał powstały wyłącznie w wyniku rozproszenia na walcach. Do tak otrzymanego przebiegu, dodano sygnał, który symulowano jako sygnał powstały w wyniku rozproszenia wyłącznie na klastrach komórek nowotworowych. Podobnie, jak w przypadku modelu reprezentującego strukturę skóry zdrowej, w poniższej tabeli zebrane zostały parametry wykorzystane w przypadku obecności dodatkowych obok włókien kolagenowych struktur rozpraszających w postaci klastrów komórek nowotworowych (Tab. 7.2).

Tab. 7.2. Właściwości klastrów komórek nowotworowych wykorzystane w trakcie symulacji sygnału.

Właściwości	Zakres
Procentowy udział klastrów w miejscu włókien kolagenowych	30-80%
Średnica klastra/komórki/jądra komórkowego	20-40 μm /2-4 μm /5.3-7,4 μm
Prędkość fali podłużnej propagującej w cytoplazmie	1556m/s
Prędkość fali poprzecznej propagującej jądrze komórkowym	1543m/s
Gęstość cytoplazmy/jądra komórkowego	1010 kg/m ³ /1340 kg/m ³

Otrzymany w ten sposób przebieg sygnału, stanowiący sumę sygnałów pochodzących od włókien kolagenowych oraz skupisk komórek nowotworowych, przedstawiony został na rysunku (Rys. 7.14). Symulacja przeprowadzona została dla przypadku 30% redukcji ilości włókien kolagenowych miejsce, których zajęły klastry patologicznych komórek.



Rys. 7.14. Przebieg sygnału zasymulowanego dla modelu reprezentującego skórę objętą nowotworem, przy 30% udziale struktur patologicznych.

OCENA ILOŚCIOWA SYMULOWANYCH SYGNAŁÓW - WYNIKI

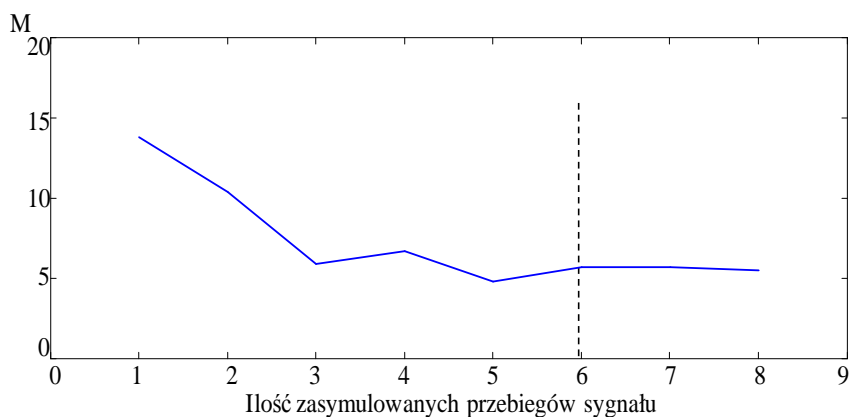
Symulację sygnałów rozproszonych ze skóry zdrowej oraz objętej nowotworem podstawnokomórkowym przeprowadzono w oparciu o model opisany w rozdziale 7, przybliżający mikrostrukturę skóry właściwej zdrowej oraz zmienionej chorobowo na skutek wystąpienia nowotworu podstawnokomórkowego, jak i interakcje zachodzące między nią i propagującą się falą. W trakcie symulacji, generowano przebiegi sygnałów pochodzące ze struktury o długości 2mm. Każdorazowo uwzględniano zmiany zarówno w rozmieszczeniu przestrzennym poszczególnych struktur rozpraszających jak i zmiany w ich właściwościach geometrycznych.

Wygenerowane przebiegi, poddawano ocenie statystycznej, tak jak miało to miejsce w przypadku analizy sygnałów zarejestrowane *in vivo* ze skóry. Za pomocą transformaty Hilberta wyznaczono ich obwiednię, a statystykę przyjmowanych przez nią wartości przedstawiono za pomocą histogramów (Rys. 8.2). Kształt histogramów, estymowano następnie za pomocą rozkładów K danych zależnością (2.3.10), dla których na podstawie wartości obwiedni sygnałów, korzystając z zależności (2.4.20), wyznaczano wartości poszukiwanego parametru M .

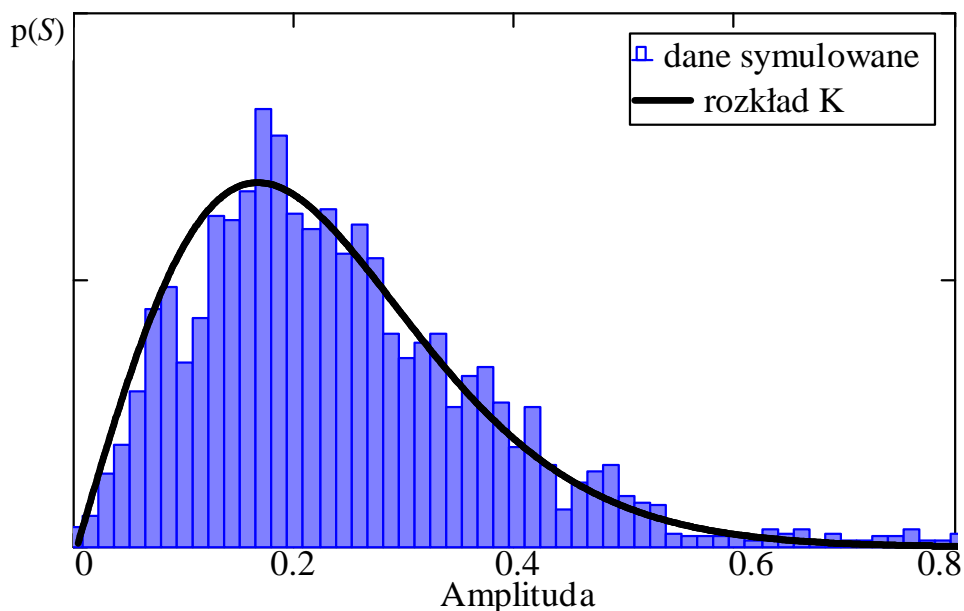
Ocenę statystyczną wygenerowanych sygnałów poprzedzono wyznaczeniem minimalnej ilości przebiegów (punktów pomiarowych), jaką należy uwzględnić w trakcie obliczeń parametru M , w celu otrzymania wyników, na które wpływu nie mają przypadkowe fluktuacje. Wielkość tą, wyznaczono na podstawie sygnałów symulowanych ze skóry zdrowej. Wartość efektywnej liczby rozpraszaczy wyznaczano przy uwzględnieniu różnej ilości przebiegów (punktów pomiarowych). Otrzymane wyniki, obrazujące zmiany w wartości obliczanego parametru, w funkcji ilości przebiegów uwzględnionych w trakcie jego wyznaczania, przedstawiono na poniższym wykresie (Rys. 8.1). Na ich podstawie

stwierdzono, że wartość parametru M , ulega stabilizacji, gdy w trakcie obliczeń uwzględnionych zostanie sześć przebiegów. Zwiększanie ilości analizowanych linii sygnału powyżej tej ilości, nie przyczynia się do istotnych zmian w wyznaczonej wartości parametru.

Na tej podstawie przyjęto, że własności statystyczne symulowanych sygnałów określane będą każdorazowo na podstawie sześciu wygenerowanych przebiegów.



Rys. 8.1. Wartości parametru M , w funkcji ilości przebiegów uwzględnionych w trakcie obliczeń parametru.



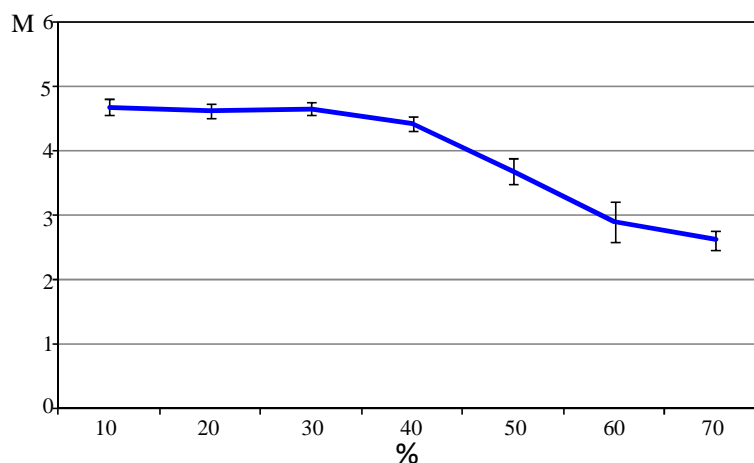
Rys. 8.2. Histogram, reprezentujący statystykę sygnałów zasymulowanych ze skóry zdrowej (w obecności wyłącznie włókien kolagenowych) wraz z modelującą statystykę funkcją rozkładu gęstości prawdopodobieństwa daną rozkładem K

W trakcie rozwoju choroby nowotworowej włókna kolagenowe zostają zastąpione przez komórki nowotworowe. Ilość poszczególnych struktur rozpraszających (włókien kolagenowych oraz klastrów komórek rakowych), wpływających na charakter sygnału, uzależniona jest od poziomu zaawansowania choroby nowotworowej. W trakcie przeprowadzania symulacji, ilościowy udział włókien kolagenowych oraz klastrów biorących udział w powstawaniu sygnału zmieniano. Przyjęto, po przeprowadzeniu konsultacjach dermatologicznych, że procentowy udział komórek nowotworowych przyjmował będzie wartości z zakresu od 10% do 70%.

Wartości parametru M , wyznaczone w wyniku oceny statystycznej sygnałów zasymulowanych z tkanek o różnym poziomie zaawansowania choroby nowotworowej zebrano w tabeli (Tab. 8.1) oraz zobrazowano na wykresie przedstawionym na rysunku (Rys. 8.3)

Tab. 8.1. Wartości parametru M wyznaczone na podstawie sygnałów symulowanych z tkanek skóry, przy różnym procentowym udziale klastrów komórek nowotworowych.

	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%
M	4.58	4.49	4.63	4.36	3.41	2.62	2.47
	4.82	4.72	4.78	4.56	3.76	2.91	2.53
	4.64	4.66	4.46	4.52	3.48	2.76	2.73
	4.51	4.32	4.69	4.28	3.56	3.58	2.65
	4.63	4.61	4.57	4.31	3.62	3.01	2.82
	4.38	5.52	4.64	4.54	3.89	2.75	2.38
	4.71	4.38	4.73	4.37	3.69	2.83	2.77
	4.57	4.67	4.68	4.44	4.01	2.6	2.49
Średnia	4.61	4.67	4.64	4.42	3.67	2.88	2.6
Odch. St.	0.13	0.37	0.09	0.10	0.20	0.31	0.16



Rys. 8.3. Zmiany w wartości parametru M , w funkcji procentowego udziału klastrów komórek nowotworowych w objętości analizowanej tkanki.

WNIOSKI OCENY ILOŚCIOWEJ

Rezultaty, otrzymane w wyniku przeprowadzonej oceny ilościowej sygnałów zarejestrowanych ze skóry zdrowej oraz objętej zmianą chorobową w postaci nowotworu podstawnkomórkowego oraz stanu przedrakowego w postaci rogowacenia posłonecznego, potwierdzają hipotezę o możliwości wykorzystania ultradźwiękowej oceny ilościowej tkanek w celu charakteryzowania ich stanu.

Otrzymane wartości współczynnika tłumienia wykazały różnice zarówno w przypadku tkanek zmienionych w wyniku obecności nowotworu jak i w przypadku występowania stanu przedrakowego, w porównaniu do wartości referencyjnych, wyznaczonych dla tkanek skóry zdrowej. We wszystkich analizowanych przypadkach, poziom współczynnika tłumienia dla tkanek patologicznych osiągał wartości wyższe, średnio o 40% i 53%, odpowiednio dla tkanek objętych zmianą przednowotworową oraz nowotworową, w porównaniu od wartości średnich, równych odpowiednio $2.19/(\text{cm}\cdot\text{MHz})$ oraz $2.06/(\text{cm}\cdot\text{MHz})$, wyznaczonych dla skóry zdrowej.

Różnice odnotowano także w przypadku wartości potęgi n , opisującej zależność współczynnika rozproszenia wstecznego od częstotliwości. Osiągała on wartości istotnie różne wyłącznie w przypadku wyników otrzymanych dla tkanek objętych nowotworem podstawnkomórkowym oraz tkanek zdrowych. Wartość średnia, dla skóry nowotworowej wyniosła 2.88 ± 0.19 , natomiast dla tkanek zdrowych 2.06 ± 0.18 . W przypadku porównania wyników otrzymanych dla tkanek przednowotworowych i zdrowych otrzymane, wartości współczynnika n przyjmowały zbliżone wartości wynoszące średnio odpowiednio 1.77 ± 0.17 oraz 1.86 ± 0.13 .

Obiecujące wyniki otrzymano również w przypadku analizy statystycznej. Wartości efektywnej liczby rozpraszaczy przyjmowały istotnie różne wartości dla tkanek zdrowych oraz objętych nowotworem. Średnia wartość parametru M , dla tkanek nowotworowych wyniosła 1.04 ± 0.14 podczas gdy dla tkanek zdrowych wartość ta była o około 77% procent wyższa i wyniosła 1.84 ± 0.31 . Podobnie, jak

w przypadku wartości współczynnika rozproszenia wstecznego, wartości parametru M , wyznaczone dla tkanek dotkniętych stanem przedrakowym i tkanek zdrowych przyjmowały wartości zbliżone, średnio równe odpowiednio 1.89 ± 0.15 oraz 1.94 ± 0.11 .

Zależność pomiędzy wartością przyjmowaną przez parametr M , a gęstością przestrzenną rozpraszaczy, potwierdziły wyniki eksperymentu przeprowadzonego z wykorzystaniem wzorców tkankowych. Wraz ze wzrostem koncentracji rozpraszaczy w badanych wzorcach obserwowano w przybliżeniu liniowy wzrost wartości parametru M . Wynik ten nie jest sprzeczny z hipotezą zakładającą, że to zmiany w ilości elementów rozpraszających w skórze są powodem obserwowanych różnic w wartości parametru M , wyznaczanego *in vivo*, w przypadku skóry zdrowej i skóry zmienionej przez nowotwór podstawnocomórkowy.

Uzupełnienie analizy statystycznej sygnałów zarejestrowanych *in vivo* o wyniki oceny symulowanych sygnałów okazało się pomocne przy interpretacji zmian zachodzących w skórze i ich wpływu na statystykę odbieranych sygnałów. Wykazały one bowiem, że zmiany symulowane w mikrostrukturze tkanki, w wyniku wystąpienia nowotworu, znajdują odzwierciedlenie w wartości efektywnej liczby rozpraszaczy. Powiązanie otrzymanych wyników oraz cech histologicznych tkanki sugeruje, że powodem spadku parametru M wraz ze wzrostem poziomu zaawansowania choroby nowotworowej jest spadek ilości włókien kolagenowych, które zastąpione zostają klastrami komórek nowotworowych. Spadek wartości efektywnej liczby rozpraszaczy wynika najprawdopodobniej z faktu, że włókna kolagenowe, stanowiące główne źródło rozproszenia zostają zastąpione strukturami, w postaci klastrów nowotworowych, które to charakteryzują się słabszymi właściwościami rozproszeniowymi. W konsekwencji więc, w przypadku nowotworu podstawnocomórkowego skóry, ilość rozpraszaczy spada, co znajduje swoje odzwierciedlenie w wartości parametru M .

Przeprowadzone symulacje umożliwiły również określenie poziomu zmian, jakie muszą nastąpić w mikrostrukturze tkanki, aby znalazło to odzwierciedlenie w wartościach parametru M . Analiza zmian wartości efektywnej liczby rozpraszaczy obserwowana przy stopniowym zwiększaniu procentowego udziału klastrów nowotworowych w objętości analizowanej tkanki wykazała, że wartość ta wynosi około 40%. Wówczas to obserwowany jest pierwszy, zauważalny spadek wartości parametru M , wskazujący na wystąpienie w mikrostrukturze tkanki zmian spowodowanych toczącym się procesem chorobowym

Całościowe spojrzenie na otrzymane wyniki pozwala stwierdzić, że podjęty w pracy cel został zrealizowany. Otrzymane, wyniki potwierdzają, że

wartości wyznaczanych parametrów ilościowych są powiązane z mikrostrukturą tkanki i ulegają zmianie wraz z procesami chorobowymi zachodzącymi w przypadku nowotworu podstawnokomórkowego.

Warto zauważyć, że zmiany wywołane w tkance przez badany nowotwór prowadziły do zmiany wartości wszystkich rozważanych parametrów analizy ilościowej. Obszar tkanki nowotworowej charakteryzował się zwiększonym współczynnikiem tłumienia fali, wzrostem wykładnika n opisującego zależność współczynnika rozproszenia od częstotliwości oraz spadkiem wartości parametru M . Tłumienie w tkance skóry zależy głównie od jej lepkości i stopnia rozpraszania fali, zależność współczynnika rozproszenia od częstotliwości jest głównie funkcją stosunku rozmiarów rozpraszaczy do długości fal. Z kolei na wartość parametru M ma głównie wpływ efektywna ilość rozpraszaczy w objętości pomiarowej. Można wnioskować, że zmiany w tkance mają zarówno charakter materiałowy i stąd wzrost tłumienia jak i strukturalny związany z powstawaniem nowych obiektów rozpraszających. Podobne wnioski można wyciągnąć z wyników badań histopatologicznych jak i przeprowadzonych w pracy symulacji. Otrzymane wyniki potwierdzają, że analiza ech ultradźwiękowych, prowadzona pod kątem wielu parametrów ilościowych, może być przydatna w diagnostyce dermatologicznej.

ROZDZIAŁ X

PODSUMOWANIE

W pracy podjęto problematykę ilościowej oceny ultradźwiękowej tkanek, przy stosowaniu fal ultradźwiękowych o częstotliwości 20-30MHz, jako narzędzia pomocnego w diagnostyce medycznej, szczególnie dermatologii. Zaproponowane metody umożliwiły pozyskanie dodatkowych, ilościowych informacji na temat analizowanej tkanki, ułatwiając tym samym ocenę jej stanu. W wyniku przeprowadzenia analizy literaturowej oraz konsultacji medycznych ocenę ilościową zastosowano do diagnostyki nowotworu podstawnokomórkowego, jednego z najczęściej występujących nowotworów skóry.

W ramach realizacji tej tematyki podjęto szereg zadań. Opracowano, bazując na rozwiązaniach opisanych w literaturze, metody umożliwiające wyznaczenie wartości współczynnika tłumienia oraz współczynnika rozproszenia wstecznego na podstawie zarejestrowanych *in vivo* sygnałów rozproszonych. Ze względu na konieczność uwzględnienia wpływu aparatury pomiarowej na odbierany sygnał, zaproponowano rozwiązania służące kompensacji wpływu Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia jak również metody umożliwiające korektę wpływu ogniskowania wiązki. Przeanalizowano i sprawdzono możliwość wykorzystania rozkładów statystycznych pod kątem zastosowania ich jako narzędzia umożliwiającego modelowanie statystyki obwiedni sygnałów zarejestrowanych ze skóry właściwej. Zdecydowano o wyborze rozkładu K, który obok modelowania statystyki dostarczał parametru ilościowego, efektywnej liczby rozpraszaczy, M . Możliwości wykorzystania parametru M , w ocenie ilościowej tkanek, przetestowano za pomocą wzorców tkankowych o zadanej koncentracji rozpraszaczy sferycznych.

W rezultacie opracowano procedury numeryczne, umożliwiające wyznaczenie współczynnika tłumienia, współczynnika rozproszenia wstecznego oraz ocenę statystyczną z uwzględnieniem wyznaczenia wartości parametru M . Procedury zaimplementowane zostały w środowisku Mathcad®. Analizie

poddano również ograniczenia zaproponowanych rozwiązań pod kątem wymagań związanych z rozdzielczością przestrzenną, określając jednocześnie minimalny obszar tkanki, który poddany ocenie ilościowej umożliwia uzyskanie poprawnych wartości parametrów.

Weryfikacja oraz interpretacja wyników otrzymanych na podstawie analizy danych empirycznych możliwa była poprzez opracowanie modelu mikrostruktury tkanki skóry zdrowej i zmienionej chorobowo oraz przeprowadzeniu symulacji interakcji zachodzących między tak zamodelowaną strukturą a propagującą się w niej falą ultradźwiękową.

Poniżej wyodrębnione zostały główne osiągnięcia prezentowanej rozprawy i wynikające z nich wnioski:

- Wykazano, że mikrosonograf pracujący przy częstotliwości 25MHz dobrze nadaje się do oceny tkanki skóry. Przeprowadzono adaptację aparatu dla potrzeb analizy ilościowej ech ultradźwiękowych polegającą na optymalizacji ogniskowania ultradźwięków w skórze, rozbudowie oprogramowania o opcje umożliwiające rejestrację linii obrazowych w postaci sygnału RF oraz ustawień Zasięgowej Regulacji Wzmocnienia. W czasie ponad rocznej pracy aparatu w klinice dermatologicznej umożliwił on rejestrację danych ultradźwiękowych *in vivo*, w ilości pozwalającej na ocenę przydatności prezentowanych w pracy metod analizy ilościowej w diagnostyce dermatologicznej.
- Opracowano metody ilościowej analizy ech ultradźwiękowych rozproszonych w tkance skóry, polegające na wyznaczaniu współczynnika tłumienia i rozproszenia fali. Na szczególną uwagę zasługuje tu przygotowanie danych pomiarowych do analizy, w szczególności opracowanie metody kompensacji wpływu ogniskowania fali na skład częstotliwościowy widma sygnału.
- Przeprowadzono analizę ilościową sygnałów ultradźwiękowych rozproszonych w skórze zdrowej i zmienionej nowotworowo. Wykazano, że wartość współczynnika tłumienia zmienia się istotnie w przypadku zmian nowotworowych i zmian przednowotworowych w stosunku do wartości wyznaczanych dla skóry zdrowej. Współczynnik rozproszenia przyjmował natomiast różne wartości wyłącznie w przypadku porównania tkanek nowotworowych i zdrowych pozostając na zbliżonym poziomie w przypadku oceny sygnałów pochodzących ze skóry objętej stanem przedrakowym i skóry nie zmienionej chorobowo.

- Zastosowano analizę statystyczną obwiedni sygnałów rozproszonych w skórze i wykazano, że histogramy wartości obwiedni są znacznie lepiej estymowane przez rozkład K niż przez stosowany powszechnie w ultrasonografii rozkład Rayleigha. Eksperymentalnie określono niezbędną, minimalną ilość danych poddawanych analizie, taką aby wyniki analizy nie były zależne od tej ilości. Ilość ta odpowiadała powierzchni obrazu skóry równej około 1mm^2 i określała rozdzielczość przestrzenną analizy.
- Wykazano, że parametr M rozkładu K, związany z efektywną liczbą rozpraszaczy w objętości pomiarowej, pozwala w przypadku nowotworu podstawnokomórkowego skóry, na rozróżnienie tkanki nowotworowej i tkanki zdrowej. Wyznaczone wartości parametru M były istotnie większe w przypadku skóry zdrowej od wartości otrzymanych dla rozproszenia w zmianach nowotworowych.
- Wykazano eksperymentalnie, że wartość parametru M rośnie wraz z ilością rozpraszaczy w objętości pomiarowej. W tym celu zbudowano wzorce rozproszeniowe o różnej gęstości przestrzennej elementów rozpraszających, zarejestrowano rozproszone w nich fale ultradźwiękowe, które następnie użyto do wyznaczenia histogramów amplitudowych i wartości parametru M .
- Przeprowadzono symulację sygnałów odbieranych przez przetwornik pobudzany falami rozproszonymi w skórze zdrowej i zmienionej chorobowo. W tym celu zbudowano numeryczne modele skóry zdrowej i skóry ze zmianami w formie klastrów komórek nowotworowych. Symulację przeprowadzono z uwzględnieniem wpływu aparatury pomiarowej w tym parametrów wiązki sondującej przetwornika nadawczo-odbiorczego.
- Wykazano za pomocą symulacji, że obserwowany doświadczalnie, w przypadku zmian nowotworowych, spadek parametru M może być związany z zastąpieniem włókien kolagenowych przez komórki nowotworowe. Jako, że włókna kolagenowe są głównym źródłem rozpraszania fali ultradźwiękowej to spadek ich ilości w tkance prowadzi do spadku wartości parametru M , analogicznie do wyników otrzymanych przy badaniu wzorców rozproszeniowych.

Reasumując, postawiony na wstępie niniejszej pracy cel został zrealizowany, a otrzymane wyniki potwierdzają słuszność założeń o możliwości

wykorzystania ultradźwiękowej oceny ilościowej, jako narzędzia wspomagającego nowotworową diagnostykę dermatologiczną. Jednocześnie osiągnięte wyniki wyznaczają kierunki dalszych prac nad rozwojem i doskonaleniem zaprezentowanych technik przetwarzania sygnałów RF jak i metod oceny parametrycznej. W tym celu warto rozważyć:

- uzupełnienie prezentowanych metod o dalsze wielkości parametryczne
- rozszerzenie zaproponowanej oceny ilościowej o obrazowanie parametryczne, umożliwiające wizualizację rozkładu wartości wyznaczanych parametrów w tkance
- przystosowanie oraz zaimplementowanie opracowanych procedur, służących ocenie ilościowej, w systemach skanujących w kontekście wyznaczania wartości parametrów w czasie rzeczywistym.

BIBLIOGRAFIA

- [1]. Bień S., Żyłka S., Klimas A., Kamiński B., Okła S., Postuła S., Ziółkowska M., *Nowotwory złośliwe skóry głowy i szyi charakterystyka epidemiologiczna i kliniczna*, Studia Medyczne Akademii Świętokrzyskiej, T.3, Kielce, 2006.
- [2]. Telfer N.R., Colver G.B., Morton C.A., *Guidelines for the management of basal cell carcinoma*, British Journal of Dermatology, vol.159, pp.35-48, 2008.
- [3]. Criscione V., Weinstock M., Naylor M., Luque C., Eide M., Bingham S., *Actinic keratosis: Natural history and risk of malignant transformation in the veterans affairs topical tretinoin chemoprevention trial*, Cancer, vol. 115, pp.2523-2530, 2009.
- [4]. Huang D., Swanson E., Lin C.P., Shuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Flotte T., *Optical Coherence Tomography*, Science, vol. 254, pp. 1178-1181, 1991.
- [5]. Welzel J., Lankenau E., Birnguber R., Engelhard R., *Optical coherence tomography of the human skin*, Journal of the American Academy of Dermatology, vol. 37, pp. 958-963, 1997.
- [6]. Rajadhyaksha M., Grossman M, Esterowitz D., Webb R. H., Anderson R., *In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast*, Journal of Investigative Dermatology, vol. 104, pp.946-952, 1995.
- [7]. Cammatorra T., Pinto F., Magliaro S., Sarno A., *Current uses of diagnostic high-frequency US in dermatology*, European Journal of Radiology, vol. 27, pp. 215-221, 1998.
- [8]. Fornage B.D., McGavran M.H., Duvic M., Waldron C.A., *Imaging of the skin with 20 MHz US*, Radiology, vol. 189, pp. 69-76, 1993.
- [9]. Nowicki A., *Ultradźwięki w medycynie*, Warszawa, 2010.
- [10]. Apfel R.E., Holland C.K., *Gauging the likelihood of cavitation from short-pulse low duty cycle diagnostics ultrasound*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 17, pp.179-185, 1991.
- [11]. Miller D.L., *A review of the ultrasonic bioeffects of microsonation: Gas-body activation and related cavitation-like phenomena*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 13, pp.443,1987.
- [12]. Hoffman K., Jung J., El Gammal S., Altmeyer P., *Malignant melanoma in 20 MHz B scan sonography*, Dermatology, vol. 185, pp 49-55, 1992.

- [13]. Seidenari S., Belletti, *The quantification of patch test responses: A comparison between echographic and methods*, Acta Dermatovenereologica, vol. 78, pp.364-366, 1998.
- [14]. Gniadecka M. Jemec G.B.E., *Quantitative evaluation of chronological ageing and photoaging in vivo: studies on skin echogenicity and thickness*, British Journal of Dermatology, vol. 139, pp 815-821, 1998.
- [15]. Turnbull D.H., Starkosky B.G., Harasiewicz, K.A., Semple J.I., From L. Gupta A.K., Sauder N., Foster F.S., *A 40-100 B-scan ultrasound backscatter microscope for skin imaging*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 21, pp.79-88, 1995.
- [16]. Moran C.M., Bush N.L., Bamber J.C., *Ultrasonic propagation properties of excised human skin*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 21, pp.1177-1190, 1995.
- [17]. Campbell J.A., Waag R.C., *Normalization of ultrasonic scattering measurements to obtain average differential scattering cross sections for tissues*, Journal of the Acoustical Society of America, vol. 74, pp. 393 – 399, 1983.
- [18]. Hall T., Madsen E.L. Zagrzebski J.A., Boote E.V., *Accurate depth-independent determination of acoustic backscatter coefficients with focused transducer*, Journal of the Acoustical Society of America, vol. 85, pp. 2410 – 2416, 1989.
- [19]. Yuan Y.W., Shung K.K., *The effect of focusing on ultrasonic backscatter measurements*, Ultrasonic Imaging, vol. 8, pp.121-30, 1986.
- [20]. Chen J.F., Zagrzebski J.A., Madsen E.L., *Test of backscatter coefficient measurement using broadband pulses*, IEEE Transaction on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, vol. 40, pp.603-607, 1993.
- [21]. Burchard C.B., *Speckle in ultrasound B-mode scans*, IEEE Transaction on Sonics and Ultrasonics, vol. SU-25, pp.1-6, 1978.
- [22]. Abbott J., Thurstone F., *Acoustic speckle: Theory and experimental analysis*, Ultrasonic Imaging, vol. 1, pp.303-324, 1979.
- [23]. Sleaf G.E., Lele P.P., *Tissue characterization based on scatterers number density estimation*, IEEE Transaction on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, vol. 35, pp.749-757, 1988.
- [24]. Wagner R.F., Insana M., Brown D., *Unified approach to the detection and classification of speckle texture in diagnostic ultrasound*, Optical engineering, vol. 25, pp. 738-742, 1986.
- [25]. Wear K.A., Wagner R.F., Brown D.G., Insana M.F., *Statistical properties of estimates of signal-to-noise ratio and number of scatterers per resolution cell*, Journal of the Acoustical Society of America, vol. 102, pp.635-641, 1997.

- [26]. Rao N.A.H.K., Venkataraman S., Helguera M., *On understanding the relationship between ultrasound speckle and scattering microstructure*, *Acoustical Imaging*, vol. 23, pp.391-398, 1997.
- [27]. Miller J., *Backscatter imaging and myocardial tissue characterization*, *IEEE Ultrasonics Symposium*, pp. 1373-1383, 1998
- [28]. O'Donnell M., Mibs J.W., Miller J.G., *Relationship between collagen and ultrasonic backscatter in myocardial tissue*, *Journal of the Acoustical Society America*, vol. 69, pp.580-588, 1981.
- [29]. Hoffmeister B.K., Verdonk E.D., Wickline S.A., Miller J.G., *Effect of collagen on the anisotropy of quasi-longitudinal mode ultrasonic velocity in fibrous soft tissues: A comparison of fixed myocardium*, *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 96, pp. 1957-1964, 1994.
- [30]. Kuo I.Y., Shung K.K., *High frequency ultrasonic backscatter from erythrocyte suspension*, *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*, vol. 41, pp.29-34, 1994.
- [31]. D'Astous F.T., Foster F.S., *Frequency dependence of ultrasound attenuation and backscatter in breast tissue*, *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 12, pp. 795-808, 1986.
- [32]. Bamber J.C., Hill C.R., *Acoustic properties of normal and cancerous human liver – Dependence on pathological condition*, *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 7, pp. 121-133, 1981.
- [33]. Cambell J.A., Waag R.C., *Measurement of calf liver ultrasonic differential and total scattering cross sections*, *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 96, pp. 1957-1964, 1994.
- [34]. Kuc R., Schwartz M., *Estimating the acoustic attenuation coefficient slope for liver reflected ultrasound signals*, *IEEE Transactions on Sonics and Ultrasonics*, vol. SU-26, pp. 353-363, 1979.
- [35]. Fellingham L.L., Sommer F.G., *Ultrasonic characterization of tissue in the In Vivo human liver and spleen*, *IEEE Transactions on Sonics and Ultrasonics*, vol. SU-31, pp.418-428, 1984.
- [36]. Suwa M, Ito T, Kobashi A, Yagi H, Terasaki F, Hirota Y, Kawamura K., *Myocardial integrated ultrasonic backscatter in patients with dilated cardiomyopathy: prediction of response to beta-blocker therapy*, *American Heart Journal*, vol. 139, pp. 905-912, 2000.
- [37]. Worthington A. E., Sherar M. D., *Changes in ultrasound properties of porcine kidney tissue during heating*, *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 27, pp. 673-682, 2001.
- [38]. Shankar P.M., Reid J.M., Ortega H, Piccoli C.W., Goldberg B.B., *Use non-Rayleigh statistics for the identification of tumors in ultrasonic B-scan of the breast*, *IEEE Transaction on Medical Imaging*, vol. 12, pp. 687-692, 1993.

- [39]. Ho M-C. , Lin J-J. , Shu Y-C. , Chiung-Nien Ch., King-Jen Ch., *Using ultrasound Nakagami imaging to assess liver fibrosis in rats*, Ultrasonics, vol. 52, pp.215-222, 2012.
- [40]. Shankar P.M., *A model for ultrasonic scattering from tissues based on the K distribution*, Physics in Medicine and Biology, vol.40, pp.1633-1649, 1995.
- [41]. Oelze L., O'Brien W., Zachary J, *High frequency quantitative ultrasound imaging of solid tumors in mice*, Acoustical Imaging, Springer 2007.
- [42]. Oelze L., Zachary J., O'Brien W., *Characterization of tissue microstructure using ultrasonic backscatter: Theory and technique for optimization using a Gaussian form factor*, Journal of the Acoustical Society of America, vol. 112, pp. 1202-1211, 2002.
- [43]. Czarnota G.J., Kolios M.C., Abraham J., Portnoy M., Ottensmeyer F.P., Hunt J.W., Sherar M.D., *Ultrasound imaging of apoptosis: high-resolution non-invasive monitoring of programmed cell death in vitro, in situ and in vivo*, British Journal of Cancer, vol. 81, pp.520-527, 1999.
- [44]. Vlad R. M., Brand S., Giles A., Kolios M., Czarnota G., *Quantitative Ultrasound Characterization of Responses to Radiotherapy in Cancer Mouse Models*, Clinical Cancer Research, vol. 15, pp.2067-2075, 2009.
- [45]. Olerud J.E., O'Brien W.D. Jr, Riederer-Henderson M.A., Steiger D.L., Debel J.R., Odland G.F., *Correlation of tissue constituents with the acoustic properties of skin and wound*, Ultrasound in Medicine and Biology", vol. 16, pp. 2067-2075, 1990.
- [46]. Pan L., Zan L., Foster .F.S., *Ultrasonic and viscoelastic properties of skin under transverse mechanical stress in vitro*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol.24, pp. 995-1007, 1998.
- [47]. Edwards C., Al-Aboosi M., Marks R., *The use of A-scan ultrasound in the assessment of small skin tumors*, British Journal of Dermatology, vo. 121, pp.297-304, 1989.
- [48]. Ihn H., Shimozuma M., Fujimoto Mm., Sato S., Kikuchi K, Igarashi A., *Ultrasound measurement of skin thickness in systemic sclerosis*, British Journal of Rheumatology, vol. 34, pp.535-538, 1995.
- [49]. Cartrell J.H., Goans R.E., Roswell R.L., *Acoustic impedance variations at burn-nonburn interfaces in porcine skin*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 64, pp. 731-735, 1978.
- [50]. Raju B.I., Srinivasan M.A. Gonzalez S., Srinivasan M., *Quantitative ultrasonic methods for characterization of skin lesions in vivo*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 29, pp. 825-838, 2003.
- [51]. Rigal J., Escoffier C., Querleux B., Faivre B., Agache P, Laveque J.L., *Assessment of aging of the human skin by in vivo ultrasonic imaging*, Journal of Investigative Dermatology, vol. 93, pp. 621-625, 1989.

- [52]. Wong S., Kaur A., Back M., Lee K., Baggarley S., Lu J., *An ultrasonographic evaluation of skin thickness in breast cancer patients after postmastectomy radiation therapy*, Radiation Oncology, vol. 24, pp. 6-9, 2011.
- [53]. Huang Y.P., Zheng Y.P., Leung S.F., Choi A.P., *High frequency assessment of skin fibrosis: clinical results*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 33, pp. 1191-1198, 2007.
- [54]. Passmann C. Ermert H, *A 100 MHz ultrasound imaging system for dermatologic and ophthalmologic diagnostic*, IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control vol. 43, pp. 545-552, 1996.
- [55]. Foster F.K., Olerud J.E., Holmes A.W., *Ultrasonic assessment of skin and surgical wounds utilizing backscatter acoustic techniques to estimate attenuation*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 16, pp. 43-53, 1990.
- [56]. Guittet C., Ossant F., Vaillant L., Berson M., *In vivo high frequency ultrasonic characterization of human dermis*, IEEE Transactions on Biomedical Engineering, vol. 46, pp. 740-746, 1999.
- [57]. Raju B.I., Srinivasan M.A., *Ultrasound backscatter microscope for in vivo imaging of human fingertip*, MIT Research laboratory of Electronics Technical Report-631, 1999.
- [58]. Vaillant L., Berson M., Machet L., Callens, Pourcelot L., Lorette G., *Ultrasound imaging of psoriatic skin: A noninvasive techniques to evaluate treatment of psoriasis*, International Journal of Dermatology, vol.33, pp.786-790, 1994.
- [59]. Gupta A.K., Turnbull D.H., Harasiewicz K.A., Shun D.T., Watteel G.N., Foster F.S., Sauder D.N., *The use of high-frequency ultrasound as method of assessing the severity of plaque of psoriasis*, Archives of Dermatology, vol.33, pp.786-790, 1994.
- [60]. Shung K.K., *Diagnostic ultrasound. Imaging and Blood Flow Measurement*, Taylor&Francis Grup, 2007.
- [61]. Malecki I., *Physical Foundations of technical acoustics*, McGraw-Hill, 1968.
- [62]. Shung, K.K. and Thieme, G.A., *Ultrasonic Scattering by Biological Tissues*, CRC Press, 1993.
- [63]. Dunn, F. and Goss, S.A., *Tissue Characterization with Ultrasound*, CRC Press, 1986.
- [64]. Dutt V., *Statisticat Analyzis of Ultrasound Echo Envelope*, The Mayo Graduate School, 1995.
- [65]. Shankar P.M., Dumane V.A., Reid J.M., Genis V., Forsberg F., Piccoli C.W., Goldberg B.B., *Use of the K-distribution for classification of breast masses*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 26, pp. 1503-1510, 2000.
- [66]. Goodman J.W., *Statistical Optics*, Wiley Classics Library, 2000.

- [67]. Jakeman E., Tough R.J.A., *Generalized K distribution: a statistical model for weak scattering*, Journal of the Optical Society of America A, vol. 4, pp.1764-1772, 1987.
- [68]. Baddour R.E., Sherar M.D., Hunt J.W., *High frequency ultrasound scattering from microspheres and single cells*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 117, pp. 934-943, 2005.
- [69]. Thijssen J.M., *Ultrasonic speckle formation, analysis and processing applied to tissue characterization*, Pattern Recognition Letters, vol. 24, pp. 659-675, 2003.
- [70]. Insana M. F., Wagner R. F., Brown D. G., Hall J., *Describing small-scale structure in random media using pulse-echo ultrasound*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 87, pp. 179-192, 1990.
- [71]. Ueda M, Ozawa Y., *Spectral analysis of echoes for backscattering coefficient measurement*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 77, pp.38-47, 1985.
- [72]. Lavarello R., Ghoshal G., Oelze M., *On the estimation of backscatter coefficients using single-element focused transducers*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 129, pp. 2903-2911, 2011.
- [73]. Weng L., Reid J., Shankar M., Soetanto K., *Ultrasound speckle analysis based on the K distribution*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 89, pp.2992-2995, 1991.
- [74]. Szymańska E, Nowicki A., Mlosek K., Litniewski J., M. Lewandowski, W. Secomski, R. Tymkiewicz, *Skin imaging with high frequency ultrasound—preliminary results*, European Journal of Ultrasound, vol. 12, pp.9-16, 2000.
- [75]. Lewandowski M., Nowicki A., *High frequency imaging system with coded excitation*, IEEE Transaction on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, vol. 8, pp.1878-1882, 2008.
- [76]. Robinson E.A., Treitel S., *Geophysical signal analysis*, Prentice Hall, 1980.
- [77]. Lewandowski M., *Ultrasonografia kodowana: transmisja i kompresja w czasie rzeczywistym*, IPPT PAN, Warszawa 2009.
- [78]. Shankar P.M., Moltheln R., Narayanan V.M., Reid J.M., Genis V., Forsberg F., Piccoli C.W., Lindenmayer A.E., Goldberg J., *Studies on the use of non-Rayleigh statistics for ultrasonic tissue characterization*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 7, pp. 873-882, 1996.
- [79]. Shankar P.M., Moltheln R., Reid J.M., *Characterization of ultrasonic B-scans using non-Rayleigh statistics*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 21, pp. 161-170, 1995.
- [80]. Moltheln R., Shankar P.M., Reid J.M., Forsberg F., Halpern E.J., Piccoli C.W., Goldberg, *Comparison of the Rayleigh and K-distribution models using in*

- vivo breast and liver tissues*, *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 24, pp. 93-100, 1998.
- [81]. Raju B. I., Srinivasan M.A., *Statistics of envelope of high-frequency ultrasonic backscatter from human skin in vivo*, *IEEE Transaction on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, vol. 49, pp.871-882, 2007.
- [82]. Koronacki J., Ćwik J., *Statystyczne systemy uczące się*, Exit, Warszawa 2008.
- [83]. Topp K., Zachary D. , O'Brien W., *Quantifying B-Mode Images of In Vivo Rat Mammary Tumors by the Frequency Dependence of Backscatter*. *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol. 20, pp. 605–612, 2001.
- [84]. Ghoshal G, Lavarello RJ, Kemmerer JP, Miller RJ, Oelze ML, *Ex vivo study of quantitative ultrasound parameters in fatty rabbit livers* *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 38, pp.2238-2248, 2012.
- [85]. Oelze M., O'Brien W. , Zachary J., *Quantitative ultrasound assessment of breast cancer using a multiparameter approach*, *IEEE Ultrasonic Symposium*, New York, 2007.
- [86]. Silver F., Seehra G, Freeman J., De Vore D., *Viscoelastic properties of human skin and processed dermis*, *Skin research and technology*, vol. 7, 18-23, 2001.
- [87]. Silver F., Seehra G, Freeman J., De Vore D., *Viscoelastic Properties of Young and Old Human Dermis:A Proposed Molecular Mechanism for Elastic Energy Storage in Collagen and Elastin*, *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 86, pp. 1978–1985, 2002
- [88]. Weber L., Kirsch E., Müller P., Krieg T., *Collagen Type Distribution and Macromolecular Organization of Connective Tissue in Different Layers of Human Skin*, *Journal of Investigative Dermatology* vol. 82, pp.156–160, 1984.
- [89]. Maev R., *Acoustic Microscopy: Fundamentals and Applications*, Weinheim, 2008.
- [90]. Hakverdi S., Balci D., Dogramaci C., Toprak S., Yaldiz M., *Retrospective analysis of basal cell carcinoma*, *Indian Journal of Dermatology*, vol. 77, pp. 251-259, 2011.
- [91]. Stoff B., Salisbury C., Parker D., O'Reilly F., *Dermatopathology of skin cancer in solid organ transplant recipients*, *Transplantation Reviews*, vol. 24, pp.172-189, 2010.
- [92]. Pohlhammer J., O'Brien W., *Dependence of the ultrasonic scatter coefficient on collagen concentration in mammalian tissue*, *Journal of Acoustic Society of America*, vol. 69, pp.283–285, 1981.
- [93]. Junqueira L., Montes G., Martinus J., Joazeiro P., *Dermal collagen distribution a histochemical and ultrastructural study*, *Histochemistry*, vol.79, pp.397-403, 1983.

- [94]. Delalleau A., Josse G., Lagarde J-M., Zahouani H., Bergheau J-M., *Characterization of the mechanical properties of skin by inverse analysis combined with the indentation test*, Journal of Biomechanics, vol. 39, pp.1603–1610, 2006.
- [95]. Han A., Abuhabsah R., Blue J. P., Sarwate S., and O'Brien W., *Ultrasonic backscatter coefficient quantitative estimates from Chinese hamster ovary cell pellet biophantoms*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 6, pp.4139–4147, 2011.
- [96]. Taggart L., Baddour R. E., Giles A., Czarnota G., Kolios M., *Ultrasonic characterization of whole cells and isolated nuclei*, Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 33, pp. 384-401, 2007.
- [97]. Baddour R. E., Sherar M. D., Hunt J. W., Czarnota G. J., and Kolios M. C., *High-frequency ultrasound scattering from microspheres and single cells*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 117, pp. 934–943, 2005.
- [98]. Han A., *Ultrasonic backscatter coefficient quantitative estimates from Chinese hamster ovary and BALB/3T3 cell pellet biophantoms*, University of Illinois, Urbana-Champaign, 2011.
- [99]. Flax L., Neubauer W., *Reflection of elastic waves by cylindrical cavity in an absorptive medium*, Journal of Acoustic Society of America, vol.63, pp. 675–680, 1978.
- [100]. Flax L., Gaunaurd G., Uberall H., *Theory of resonance scattering*, Physical Acoustics, New York 1981.
- [101]. McNew J., *Sound scattering by two concentric fluid spheres*, Journal of Acoustic Society of America, vol. 125, pp. 1-4, 2009.
- [102]. Litniewski J., *Wykorzystanie fal ultradźwiękowych do oceny zmian struktury kości gąbczastej*, Prace IPPT PAN, Warszawa 2006.