МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»**

**А.В. Клемина,**

**И.Ю. Демин,**

**Н.В. Прончатов-Рубцов**

**МЕДИЦИНСКАЯ АКУСТИКА: УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД**

Учебно-методическое пособие

Рекомендовано методической комиссией радиофизического факультета   
для студентов ННГУ, обучающихся по направлениям 011800 «Радиофизика» (профили подготовки «Радиофизические методы по областям применения (экология, медицина, биофизика, геофизика и др.)» и «Физическая акустика») и 010300 «Фундаментальная информатика и информационные технологии» (профиль подготовки «Автоматизация научных исследований»)

Нижний Новгород

2011

УДК 534

ББК 22.3

МЕДИЦИНСКАЯ АКУСТИКА: УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД. Авторы: Клемина А.В., Демин И.Ю., Прончатов-Рубцов Н.В. Учебно-методическое пособие. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2011. – 103 с.

Рецензент: к.ф.-м.н., доцент В.В. Черепенников

Учебно-методическое пособие (УМП) соответствует тематике учебно-научного инновационного комплекса УНИК-2 – «Разработка методов получения, обработки, хранения и передачи информации, включая диагностику природных сред, искусственных материалов и живых систем». Комплекс УНИК-2 развивается в рамках приоритетного направления развития ННГУ как национального исследовательского университета «Информационно-телекоммуникационные системы: физические и химические основы, перспективные материалы и технологии, математическое обеспечение и применение», представляющего интерес для развития системы образования и повышения качества подготовки специалистов в ННГУ.

УМП знакомит с новейшими методами и подходами в медицинской акустике с целью применения их в медицинской диагностике. В пособии будут представлены основы медицинской акустики, а также современные методы ультразвуковой диагностики биологических жидкостей и тканей, рассмотрено применение ультразвука в медицине и биологии, представлены акустические исследования в биологии.

Настоящее УМП предназначено для студентов старших курсов, бакалавров, магистрантов и аспирантов Радиофизического факультета ННГУ. УМП дополнит знания, даваемые студентам в рамках обучения бакалавров и магистров по направлениям 011800 «Радиофизика» (профили подготовки «Радиофизические методы по областям применения (экология, медицина, биофизика, геофизика и др.)» и «Физическая акустика») и 010300 «Фундаментальная информатика и информационные технологии» (профиль подготовки «Автоматизация научных исследований»), для которых на кафедре Акустики Радиофизического факультета ННГУ читаются следующие дисциплины Б3.В1 «Общая акустика», М2.В4 «Акустические методы исследования в биологии и медицине», Б3.В2 «Применение ультразвуковых методов в медицинской диагностике (аналитическое, физическое и численное описание)» и Б3.В3 «Численное моделирование в акустике».

Оглавление

[Введение 4](#_Toc312410855)

[Глава 1. Основы линейной акустики и введение в медицинскую акустику 6](#_Toc312410856)

[Введение 6](#_Toc312410857)

[1.1. Скорость звука 7](#_Toc312410858)

[1.2. Полная система уравнений акустики 9](#_Toc312410859)

[1.3. Линеаризация полной системы уравнений акустики 11](#_Toc312410860)

[1.4. Энергия звуковых волн. Закон сохранения энергии 15](#_Toc312410861)

[1.5. Распространение звуковых волн в «почти» идеальной среде 16](#_Toc312410862)

[1.6. Неоднородные среды. Отражение и преломление волн 17](#_Toc312410863)

[1.7. Распространение звука в движущейся среде 18](#_Toc312410864)

[1.8. Введение в медицинскую акустику 20](#_Toc312410865)

[Литература к главе 1 22](#_Toc312410866)

[Глава 2. Ультразвуковая интерферометрия медико-биологических жидкостей 23](#_Toc312410867)

[Введение. Акустика в медицине и биологии 23](#_Toc312410868)

[2.1. Физические величины, характеризующие распространение продольных ультразвуковых волн в биологических средах 24](#_Toc312410869)

[2.2. Методы измерения скорости и поглощения ультразвука 28](#_Toc312410870)

[2.3. Анализ интерферометров 35](#_Toc312410871)

[2.4. Акустические исследования биологических жидкостей 39](#_Toc312410872)

[2.4.1. Теоретическое рассмотрение акустического интерферометра 41](#_Toc312410873)

[2.4.2. Акустический метод определения общего белка, белковых фракций сыворотки крови человека на анализаторе «БИОМ» 55](#_Toc312410874)

[2.4.3. Акустический метод определения липидного спектра сыворотки крови человека на анализаторе «БИОМ» 60](#_Toc312410875)

[2.4.4. Акустический метод определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ) на анализаторе «БИОМ» при воздействии рабиациононй силы 64](#_Toc312410876)

[Литература к главе 2 73](#_Toc312410877)

[Глава 3. Аналитическое, физическое и численное исследования распространения акустических волн в мягких биологических тканях 77](#_Toc312410878)

[Введение. Акустическая томография нелинейных характеристик мягких биологических ткане 77](#_Toc312410879)

[3.1. Выяснение связи упругих, вязких и нелинейных параметров биотканей с их структурными и функциональными характеристиками. 82](#_Toc312410880)

[3.2. Численное моделирование распространения интенсивных низкочастотных акустических волн в мягких биологических тканях с использованием биспектрального анализа 91](#_Toc312410881)

[Литература к главе 3 100](#_Toc312410882)

# Введение

**Актуальность.** Исследование физических характеристик биологических жидкостей является актуальной задачей, имеющей как самостоятельное научное (т. к. организм создает уникальные по своим свойствам жидкости и структуры), так и прикладное значение в области медицины и биологии. В настоящее время известен целый ряд физических методов, с помощью которых можно получать разнообразную информацию о биологических средах, т. е. средах, содержащих малые молекулы (органические и неорганические), макромолекулы (биополимеры: белки, полипептиды, нуклеиновые кислоты), клеточные и субклеточные элементы, которые имеют биологическое происхождение. Примерами жизненно важных биосред являются кровь, лимфа, желудочный сок, слюна, различные внутренние органы и ткани человека.

Экспериментальные исследования физических характеристик биосред имеют, некоторые особенности, которые связаны с их спецификой, поэтому это накладывает определенные ограничения на выбор физического метода их исследования. Определенные успехи при изучении биосред были сделаны при использовании ультразвуковых методов для измерения их акустических характеристик. Именно акустические исследования этих биологических сред позволяют изучить тонкие структурные характеристики, их межмолекулярные взаимодействия и конформационные перестройки.

Ультразвуковые методы с целью их применения для исследования биологических сред использовались еще с девятнадцатого века, однако для медико-биологических приложений, в частности, в области медицинской диагностики известные технические решения применять не представляется возможным из – за того, что биосреды организма человека, используемые для медицинской диагностики (кровь, образцы внутренних органов), как правило, могут быть использованы в очень ограниченном объеме, а также точность измерений скорости и поглощения ультразвука должна быть предельно высокой для высококонцентрированных биосред.

Данное учебно-методическое пособие позволяет получить знания по новейшим, современным методам медицинской акустики с целью применения ультразвуковых методов для медицинской диагностики сред организма человека.

**Научная значимость.** Учебно-методическое пособие знакомит с новейшими методами и подходами в медицинской акустике с целью применения их в медицинской диагностике. В пособии будут представлены основы медицинской акустики, а также современные методы ультразвуковой диагностики биологических жидкостей и тканей, рассмотрено применение ультразвука в медицине и биологии, представлены акустические исследования в биологии.

**Методическая значимость.** Медицинская акустика является важным научным направлением, связанным с изучением биологических сред, а также применением ультразвуковых методов для медицинской диагностики. Как показывает анализ научных исследований проводимых в последнее время в этой области, наиболее активно развиваются новые ультразвуковые методы диагностики биосред, что имеет обширное практическое применение в медицине и биологии. Многие ультразвуковые методы уже используются в медицине и биологии, а многие разработаны и опробированны, однако не нашли еще широкого распространения. Методическая значимость предлагаемой учебно-методической разработки состоит в том, что в пособии представлены данные многочисленных исследований и практического применения ультразвуковых методов в медицине и биологии, а также возможности новых областей применения ультразвука в медицинской диагностике (интерферометрия биожидкостей и спектральный и биспектрального анализа для диагностики нелинейного параметра мягких биологических тканей).

**Цели и задачи методической разработки.** Цельюучебно-методического пособия является новейшими методами и подходами в медицинской акустике с целью применения их в медицинской диагностике. При этом будут решаться следующие задачи:

* Ознакомление с основами медицинской акустики. Введение в линейную акустику с целью применения этих знаний для изучения основ ультразвуковых методов.
* Изучение современных данных по ультразвуковой интерферометрии при исследовании биологических жидкостей. Рассмотрение особенностей распространения ультразвуковых волн в интерферометрах с малым объемом для изучения биологических жидкостей. Использование ультразвукового интерферометра для определения свойств и состава биологических сред (цельной крови и сыворотки крови человека).
* Рассмотрение вопросов воздействия ультразвука на биологические клетки и ткани, исследование применение спектрального и биспектрального анализа для диагностики нелинейного параметра мягких биологических тканей.

**Структура методической разработки.** Учебно-методическое пособие включает в себя 3 обзорные части. В первой части будут изложен материал по основам линейной акустики и введению в медицинскую акустику. Во второй представлены результаты использования ультразвукового интерферометра сверхмалого объема для определения свойств и состава биологических сред. Третья часть будет посвящена вопросам воздействия ультразвука на биологические клетки и ткани и применению спектрального и биспектрального анализа для диагностики нелинейного параметра мягких биологических тканей.

Указанный материал будет представлен студентам в виде специального курса лекций, которые будут прочитаны в рамках базового курса «Акустические методы в биологии и медицине», который читается на кафедре акустики Радиофизического факультета ННГУ.

# Глава 1. Основы линейной акустики и введение в медицинскую акустику

## Введение

Акустика – это область физики, которая занимается распределением волн в определенном диапазоне – от 20 Гц до 20 кГц. Акустика подразумевает наличие материальной среды, т.е. акустические волны не могут существовать в вакууме. Причем для акустических волн нужно наличие упругих взаимодействий (упругих сил).

При распространении волны следует различать два совершенно различных явления: движение частиц среды в волне и перемещение самой упругой волны по среде. Первое явление – это движение частиц как материальных точек, второе – переход возмущенного состояния среды с одних частиц на другие. Скорость звука всегда конечна и определяется именно упругими свойствами и плотностью среды. Акустика принципиально не рассматривает реальные тела как абсолютно жесткие или безмассовые, потому что при этом теряется изучаемое явление – распространение волны.

Пусть имеется некое тело с характерным размером *L*, характерное время воздействия силы на данное тело равно *Т*, тогда  – время распространения волны. Процесс можно будет считать медленным, то есть можно пренебрегать возникающей упругой волной, если . Это не задача акустики, а задача «обычной» механики. Для акустики ~, >, >> T.

Задача акустики:

Основные величины, характеризующие акустическое состояние жидкости, это: . Все эти величины изменяются от точки к точке при движении жидкости и с течением времени, а изменение этих величин зависят друг от друга.

Полная система уравнений для идеальной жидкости состоит из:

* уравнения движения
* уравнения непрерывности (закон сохранения массы)
* уравнения состояния.

Основными типами задач, рассматриваемыми в акустике и приводящими к однозначному решению, являются:

* задачи о свободных волнах: волны, распространяющиеся в неограниченных средах в отсутствии воздействий,
* закон о возбуждении волн с начальными условиями ,
* взаимодействие волн с границами (краевые задачи),
* закон об источниках звука,
* закон о рассеянии от препятствий – дифракционные задачи,
* задачи о распространении в неидеальной среде с затуханием звука.

Одномерная волна:

Это волна, параметры которой зависят помимо времени, только от одной координаты, т.е. . Для плоской волны: . Чтобы профиль волны сохранялся, необходимо, чтобы . При распространении в положительном направлении будет “-”, в обратном будет “+”.

Если профиль волны повторяется через некий интервал времени, то это периодическая волна. Гармоническая плоская волна: , где – амплитуда, – начальная фаза, период волны T связан с циклической частотой : . Длина волны связана с волновым числом :   – пространственный период, – фазовая скорость волны.

Для любой волны, бегущей без изменения формы, временная и пространственная производная величин, характеризующих волну, связаны . И волна  удовлетворяет волновому уравнению:

. (1.1)

Сферические и цилиндрические волны:

По мере удаления от источника волны перестают быть плоскими, они становятся сферическими. Интенсивность сферической волны , а давление . Обязательно, чтобы в сферической волне были области сжатия и разрежения. Исходя из симметрии задачи, сферическую волну можно представить в виде суперпозиции плоских волн и наоборот:

. Для цилиндрической волны .

## 1.1. Скорость звука

Тело можно характеризовать плотностью , смещением относительно состояния равновесия: ; . Обозначим за *с* – скорость распространения звука в среде, которая зависит от многих параметров, т.е. .

Остановимся на способах определения скорости звука в газах, жидкостях и твердых телах.

Для газов справедлива формула Лапласа .

Для идеального газа: , м/с – для воздуха.

Наибольшее значение скорости звука наблюдается в водороде – 1284 м/с, а наименьшее в йодистом водороде (157 м/с) при нормальных условиях.

В жидкости: Скорость звука всегда значительно больше, чем в ее насыщенном паре при тех же условиях. В настоящее время существует множество методов, позволяющих измерит скорость звука в широком интервале давлений и температур. При увеличении плотности, скорость звука во всех жидкостях увеличивается. Вода является жидкостью со специфическими физическими свойствами. Дистиллированная вода часто применяется как стандартная жидкость при настройке и калибровке установок для измерения скорости звука.

Существует огромное количество формул для вычисления скорости звука в жидкостях. Например, эмпирическая формула Вилларда:  и т.д.

В твердых телах: существуют звуковые волны нескольких типов: продольные волны, как и в жидкостях, так и поперечные волны (сдвиговые). В кристаллах распространяются три волны, и они не являются чисто продольными или поперечными.

Таблица 1.1

Общие формулы скоростей звука для различных сред

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| С газа | С жидкости | С тв. тела |
| м/с  m=  (3 – тяжелые газы, 9 – легкие газы) | м/с | м/с  m>2 |

Таблица 1.2

Значения плотности, скорости звука и импеданса для некоторых веществ

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Вещество | Плотность, кг/м3 | Скорость звука, м/с | Импеданс=ρ\*с, |
| вода | 993 | 1527 | 1,516 |
| этиловый спирт | 789 | 1119 | 0.883 |
| кровь | 1060 | 1530 | 1.62 |
| жир | 950 | 1450 | 1.38 |
| кость | 1260-1800 | 2700-4100 | 3.2-7.4 |

Изучать упругие свойства волны можно двумя принципиально различными способами.

1) Волна – это движение материальных точек (частиц среды), упруго взаимодействующих между собой. Объект изучения – отдельные частицы и их движения. К отдельной частице можно применить уравнения механики материальных точек, учесть силы взаимодействия между ними, их инерцию и найти движение каждой отдельной частицы: .

2) Изучение волны в целом, как самостоятельный объект. Среда рассматривается как сплошная. Волна характеризуется непрерывным распределением и можно найти простые законы поведения волны. В волне все эти величины связаны между собой, и их совокупность называется волновым полем. Частица среды: Игнорируя молекулярное строение вещества, частицей называется любой мысленно выделенный участок среды, малый по сравнению с расстоянием, на котором состояние среды изменяется существенным образом (например, по сравнению с длиной волны звука). Наблюдение ведем за макроскопическими параметрами . Это полевое описание.

Пусть существует некое поле U. Тогда , причем . Получим  - связь полной и частной производных.

## 1.2. Полная система уравнений акустики

Эйлерово описание движения: . При этом, фиксируя некоторую точку пространства, можно проследить за изменением во времени соответствующих величин в этой точке, а фиксируя момент времени – узнать изменение этих величин от точки к точке. Однако никакой информации о том, какая именно частица жидкости находится в данный момент времени в данной точке и как она перемещается в пространстве, мы не знаем.

Лагранжево описание движения характеризует отдельные частицы: , где  - идентифицирует отдельную частицу,  - обычно являются координатами в начальный момент времени.

, .

Таким образом, фиксируется внимание на определенных частицах жидкости и прослеживается, как изменяются со временем их местонахождение, скорость, а также давление, плотность, температура и т.д. Чтобы существовало преобразование от к  необходимо и достаточно, чтобы .

1. Уравнение непрерывности

Название связано с тем, что это уравнение справедливо, только если в среде не образуется разрывов. Фиксируем некий объем среды *V*, ограниченный поверхностью и будем следить за массой внутри объема:

 – полная масса внутри объема.



V

Изменение массы , где  - скорость жидкости.



так как взяли объем произвольно, то

 (1.2)

- уравнение непрерывности в дифференциальной и интегральной формах.

2. Уравнение Эйлера

Уравнение Эйлера – уравнение движения частиц под действием сил упругости среды. Рассмотрим малую частицу среды объемом *V*, ограниченную поверхностью . Плотность в этом случае считается постоянной (частица мала, а характеристики среды непрерывны). Масса частицы . Ускорение . Силы, действующие на частицу со стороны окружающей среды:

* силы давления: на элемент поверхности ( – внешняя нормаль) действует сила , а результирующая сил давления составит .
* Сторонние силы, распределенные с плотностью на единицу объема (сила тяжести ).

Таким образом, применяя к частице, находящейся под действием этих двух сил второй закон Ньютона, получим: 



 (1.3)

– уравнение Эйлера при .

Получили 4 уравнения, но неизвестных у нас 5. Нужно для полноты системы пятое уравнение.

3. Уравнение состояния (или материальное уравнение)

Оно связывает давление, плотность и температуру среды. Общего вида у него нет: 

Для акустики при данном движении среды однозначно связана на с *p*:  поэтому уравнение состояния можно записать в виде  где S – энтропия. Рассмотрим изменение давления *p*:  Для идеальной жидкости , поэтому  - уравнение адиабаты.

Итог:

 (1.4)

– полная система уравнений гидродинамики.

Граничные условия:

* Абсолютно жесткая граница (поверхность): нормальная скорость частиц должна обращаться в ноль. Если жидкость идеальна, то абсолютно жесткая граница не накладывает никаких ограничений касательную компоненту скорости частиц. В реальной жидкости она прилипает к границе и касательная скорость тоже обращается в ноль (вблизи границы жидкость оказывается заторможенной, причем расстояние, на котором торможение еще заметно, называется толщиной акустического пограничного слоя (скин-слой).

, , .

* Абсолютно мягкая граница: .

## 1.3. Линеаризация полной системы уравнений акустики



Так как уравнения нелинейные, а мы будем интересоваться звуковыми волнами малых амплитуд, надо произвести линеаризацию уравнений и привести их к линейной системе.

 – начальные равновесные характеристики,

 – добавки, они несильно изменяют среднее значение, т.е. Введем коэффициент Маха: . 

Подставляем в уравнение Эйлера: . Пренебрегаем нелинейностью второго порядка - , получаем:



Слагаемое  – второй порядок малости, в итоге получим уравнение:

.

Уравнение Эйлера для гидростатики: . Тогда .

 (1.5)

- уравнение акустики идеальной жидкости.

Подставляем (\*) в уравнение непрерывности: .

. Тогда зависимостью от времени для начального значения плотности можно пренебречь и 

где  – второй порядок нелинейности, получим 

 (1.6)

– линеаризованное уравнение непрерывности.

Рассмотрим уравнение состояния, оно нелинейно:  И будем рассматривать трехмерный случай , а  – меняется сильно по координате *z*: , . Найдем полную производную давления по времени .

С другой стороны по определению полной производной:.

Получаем .

Учитывая слабую зависимость  и  от *x*, *y* и *t* ( и зависят от z), имеем:

 (1.7)

- уравнение состояния для нашего частного случая.

Если можно пренебречь изменениями давления и плотности по координате *z*, то полная система линеаризованных уравнений акустики идеальной однородной жидкости выглядит следующим образом:



(1.8)

Так как при линеаризации мы пренебрегали слагаемым , то , такое движение называется безвихревым и можно ввести потенциал , . Подставим в систему: . Из третьего уравнения системы:  и подставим в уравнение непрерывности:



Отсюда:  – волновое уравнение.

Можно показать, что такому же уравнению удовлетворяют . Решением волнового уравнения являются две плоские волны:  – две волны бегут в разные направления.

Перейдем к одномерному случаю : 

Перепишем волновое уравнение в переменных  и : 



Подставив все слагаемые в уравнение, получим: 

, то есть, звуковые волны – это продольные полны.

Соотношения между характеристиками плоской бегущей волны:



Таким образом, 

В плоской волне:  – акустический закон Ома. Похожее выражение встречается в радиотехнике: тогда  – акустическое сопротивление, .

Оценим для воды:  м/с, кг/м3, . Для воздуха:

м/с,  кг/м3, .

Величина  – называется волновой проводимостью среды.

Если в качестве функций и g брать тригонометрические функции, то такие волны носят название монохроматических плоских волн.

, где  – комплексная амплитуда, 

Подставим в волновое уравнение: .

Получим  – уравнение Гельмгольца (распределение амплитуды в пространстве).

Введем понятие неоднородной плоской волны: , амплитуда  изменяется. 

Фазовая скорость: – характеризует направление распространения, – направлено вдоль фронта волны. – поверхность постоянной фазы, – поверхность постоянной амплитуды, . Фазовая скорость неоднородной волны меньше, чем скорость распространения звука в среде.

## 1.4. Энергия звуковых волн. Закон сохранения энергии

Пусть E – энергия единичной массы жидкости, тогда: , где – внутренняя энергия газа, U – потенциальная энергия (она стационарна - ). – энергия единицы объема, – полная энергия.

Рассмотрим задачу: Жидкость находится в покое, а затем через нее начинает проходить звуковая волна, изменяется давление и плотность:

Возьмем случай, когда потенциальная энергия равно нулю, тогда энергия единицы объема жидкости будет складываться из кинетической и внутренней энергий: . Подставляем возмущенное состояние: 

 – из термодинамики при адиабатическом процессе, тогда 

Если учесть, что в линейном приближении , то .

Таким образом, 

Рассмотрим случай плоской волны: и , 

и выразим из уравнения Эйлера и закона сохранения массы в линейном приближении: 

Таким образом, получаем: . Интегрируя обе части данного выражения по всему объему жидкости, получим закон сохранения энергии:

 (1.9)

где  - вектор плотности потока энергии или вектор Умова,  – интенсивность акустической волны.

В акустике силой звука или интенсивностью звуковой волны называется средняя по времени энергия, переносимая плоской волной за одну секунду через площадку в 1 см2, перпендикулярно направлению движения волны.

Рассмотрим плоскую волну: – энергия плоской волны.

, (1.10)

таким образом, энергия в однородной среде переносится со скоростью звука с.

Для гармонической волны: усреднение проводим за период  Различают максимальное значение величины и эффективные (или средние) – именно их измеряют на опыте: 

Численный пример (для воздуха):

а) бар=3000=300 Па – болевой порог, 

б). бар – порог слышимости, .

В акустике принято характеризовать уровень интенсивности звука (уровень звукового давления) в децибелах: 

где и – стандартные уровни для данной среды.

Воздух: , Па – порог слышимости звука.

Вода: Уровень звукового давления отсчитывается относительно , .

## 1.5. Распространение звуковых волн в «почти» идеальной среде

При течение вязкой жидкости в идеальной среде . В реальных средах . Если же потери на длине волны малы, то можно считать . Материальное уравнение остается тем же . Но распространение звука в вязкой среде будет задаваться не уравнением Эйлера, а уравнением Навье - Стокса.

Для введения данного уравнения необходимо ввести импульс и закон сохранения импульса. – импульс единицы объема вещества. Определим скорость его изменения: . Выразим изменения во времени скорости и плотности из уравнения Эйлера и уравнения непрерывности: , . Тогда

.

(1.11)

- тензор плотности потока импульса – определяет *i* компоненту количества движения, которая уносится в единицу времени через единичную площадку, ориентированную перпендикулярно к оси *k*. Проинтегрируем по произвольному фиксированному *V*, получим: - закон сохранения импульса в интегральной форме. Таким образом, изменение импульса в объеме *V* связано с действием объемных сил и потоком импульса через граничную поверхность *S*. Закон сохранения импульса в дифференциальной форме:

. (1.12)

На течение любой реальной жидкости существенное влияние оказывает вязкость. Поэтому, если рассматривать вязкую среду, то в тензоре плотности потока импульса должно появиться еще одно слагаемое, связанное с вязкостью. В вязкой жидкости , - тензор вязких напряжений.

Для вязкой несжимаемой жидкости уравнение движения будет иметь вид:

. (1.13)

Если же жидкость сжимаема уравнение Навье – Стокса имеет более сложный вид: , где - коэффициент объемной вязкости (характеризует сжатие жидкости), - коэффициент сдвиговой вязкости, – кинематический коэффициент вязкости.

Введем понятие числа Рейнольдса: Это отношение нелинейности к любому вязкому члену в правой части уравнения Навье – Стокса: Re = .

Физический смысл числа Рейнольдса – это отношение запасенной кинетической энергии и энергии потерь. Если Re>>1, то можем пренебречь вязкими слагаемыми и значит приходим к уравнению Эйлера. Если Re<<1, то пренебрегаем нелинейностью и получаем уравнение для сильно вязкой жидкости. Если Re, то получаем идеальную жидкость.

## 1.6. Неоднородные среды. Отражение и преломление волн

Есть граница двух сред с разными параметрами и c. Если бы давления в этих двух средах и были различны, то жидкость не оставалась бы в покое. Следовательно, .

Пусть амплитуда падающей волны = 1, давление в падающей волне

.

В отраженной волне , где V – коэффициент отражения.

В преломленной , где W – коэффициент прохождения.

Первое граничное условие: → (при х=0), отсюда получаем *1+V=W* и .

Второе граничное условие: →

Если сшивать в любой точке на границе, тогда

.

.

, где

Он не меняется при переходе через границу. Отношение плотностей обозначим: . Выразим коэффициенты отражения и преломления через один угол :

, . (1.14)

Частный случай: 1) *m0*. Это случай абсолютно мягкой границы *V = -1*, *W = 0*.



2) *m.* Случай абсолютно жесткой поверхности.

При больших углах падения любая граница становится абсолютно мягкой.

3) – угол полного внутреннего отражения.

4) Числитель = 0 → . Угол в данном случае соответствует условию полной прозрачности → .

## 1.7. Распространение звука в движущейся среде

Вспомним полную систему уравнений акустики:

.

Если рассматривать неподвижную жидкость , то получаем линеаризованную систему:

Волновое уравнение: ;

Теперь рассмотрим движущуюся жидкость: . Исходные уравнения останутся теми же, только :

(1.15)

Интенсивность волны мала:

– не являются функциями времени, рассматриваем стационарные явления. - однородная жидкость. – скорость потока.

Предположим, что имеет лишь одну проекцию - одномерный поток.

→ → [] → – линеаризованное уравнение Эйлера в случае движущейся среды.

Перейдем к уравнению непрерывности:

Получаем: - линеаризованное уравнение непрерывности.

Таким образом, линеаризованная система уравнений движущейся жидкости:

2. (1.16)

Если будем рассматривать однородный поток : . Для неподвижной среды , то есть . Таким образом, получаем, что вид уравнений такой же, только изменяется дифференциальный оператор. Волновое уравнение примет вид: . Изменяется также и граничные условия: . Было:, . Новые граничные условия: , . уже не будет непрерывной. Изменяется также закон падения и отражения. В неподвижной среде: . В движущейся среде это не выполнятся. Рассмотрим систему отсчета, которая движется вместе с потоком: , где

## 1.8. Введение в медицинскую акустику

Акустическими величинами (связанными со строением вещества) является скорость распространения звуковых волн и их поглощение (затухание), а также их зависимости от различных физических величин (T, p, ). Акустика – одна из наиболее древних наук, но задача становления связи между акустическими свойствами вещества и его структурой могла возникнуть только в пятидесятые годы 20 века, когда были открыты надежные способы возбуждения и приема ультразвуковых колебаний.

При низких звуковых частотах поглощение звука настолько мало, что измерить его на практически доступных расстояниях не представлялось возможным. Скорость на низких частотах измерить можно, но такие измерения требовали очень больших размеров экспериментальных сосудов или образцов, что исключало возможность исследования редких и мало доступных веществ. Все эти трудности легко преодолеваются при использовании высоких ультразвуковых частот. Поглощение звука велико на этих частотах, что уже на небольших расстояниях от источника происходит значительное уменьшение его интенсивности, измеряемое с достаточной точностью.

Кроме того, длина волны мала, и даже при небольших размерах источника легко получить направленные пучки практически плоских волн. Это дает возможность применять небольшие объемы, не опасаясь влияния стенок на результат измерений, как поглощения, так и скорости звука. Очень важно, что при работе с малыми объемами исследуемых веществ облегчается точное измерение и поддержание температуры. По всем этим причинам большинство исследований в области медицинской акустики относится к ультразвуковым частотам.

Механизмы поглощения звука: в идеальной жидкости распространение волн является процессом обратимым. В реальных жидкостях и газах происходит поглощение энергии, благодаря термодинамической необратимости и другим причинам, причем влияние теплопроводности в газах и большинстве жидкостей мало, а влияние вязкости является существенным. При распространении звуковой волны в однородной среде можно выделить 2 основных механизма, приводящих к появлению «вязких» потерь. – это сдвиговое трение: Вязкое поглощение сдвигового типа обусловлено различием в движении разных участков жидкости – характеризуется коэффициентом сдвиговой вязкости . Примером может служить тангенциальное смещение слоев друг относительно друга. Следовательно, сила трения между слоями определяется градиентом скорости, . Также это трение или потери, которые обуславливаются сжатием жидкости. Характеризуется коэффициентом объемной вязкости – , .

Таблица 1.3

Значения затухания для некоторых жидкостей

и газов при ;

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Газы | ; | Жидкость | ; |
| Воздух | 1,85 | Вода | 23 |
| Водород | 3,58 | Ртуть | 6 |
| Гелий | 2,96 | глицерин | 2500 |
| Азот | 1,35 |  |  |
| Кислород | 1,68 |  |  |

При распространении ультразвуковых волн через жидкость интенсивность волны уменьшается с ростом расстояния от источника звука. Затухание представляет собой суммарные потери при распространении волны, включая рассеяние на неоднородностях, имеющих размеры, сравнимые с и поглощение, которое характеризует преобразование энергии в тепло.

Коэффициент затухания можно выразить как . Поглощение звука в жидкой среде может быть обусловлено классическим и релаксационным механизмами.

Поглощение, за которое ответственен классический механизм, пропорционально . Именно такую зависимость от частоты имеет поглощение ультразвука в воде от 0,1 – 100 МГц.

Энергия в среде распределена между степенями свободы молекул. Когда ультразвуковая волна проходит через среду в фазе сжатия происходит увеличения температуры элемента объема среды, подвергнутого сжатию, связанное с увеличением поступательной энергии молекул в элементе. Если нет перераспределения энергии между степенями свободы, то в фазе расширения среда возвращает энергию ультразвуковой волне, и поглощения нет. Однако в реальной среде всегда есть перераспределение энергии, на которое уходит конечное время. Поэтому часть энергии возвращается волне в фазе и это регистрируется как поглощение.

Скорость ультразвука больше в релаксационной области от низкочастотной величины до высокочастотной. Это и есть явление дисперсии скорости. Дисперсия скорости ультразвука связана с затуханием через соотношение Крамерса - Кронига. Дисперсия при определенной частоте может быть вычислена, если известен коэффициент затухания от 0 до и наоборот.



Однако, соотношения Крамерса – Кронига ограничены для их использования при исследовании биологических сред, т.к. ни дисперсия, ни затухание в диапазоне частот от 0 до не известны. Более полезны приближенные соотношения в локальной форме, в приближении, что затухание и дисперсия достаточно малы и не изменяются быстро с частотой в интегрирующей области. Вообще, затухание, т.е. полные потери акустической энергии в биологическом материале, определяется суммарным действием рефракции, отражения, рассеяния и поглощения ультразвука.



## Литература к главе 1

1. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика: Учебное пособие. В 10 т. Т. YI. Гидродинамика. М.: Наука, 1986. - 736 с.
2. Бреховских Л.М., Гончаров В.В. Введение в механику сплошных сред (в приложении к теории волн). М.: Наука, 1982. - 335 с.
3. Бреховских Л.М., Лысанов Ю.П. Теоретические основы акустики океана. Л.: Гидрометеоиздат, 1982. - 264 с.
4. Исакович М.А. Общая акустика. – М.: Наука. 1973. – 493 с.
5. Бархатов А.Н. Вопросы акустики ограниченных и неоднородных сред. Учебное пособие. Горький: изд-во ГГУ, 1980. – 118 с.
6. Красильников В.А., Крылов В.В. Введение в физическую акустику: Учебное пособие. М.: Наука, 1984. - 400 с.
7. Балдаев Р., Раджендран В. Паланичами П. Применение ультразвука (серия «Мир физики и техники»). – М.: Техосфера. 2006. – 575 с.
8. Скучик Е. Основы акустики. – М.: Мир. 1976. Т. 2. 520 с.
9. Рэлей. Теория звука. Т.2. М.: Гостехиздат, 1955.
10. Бреховских Л.М. Волны в слоистых средах. М.: Наука, 1973. – 343 с.
11. Блохинцев Д.И. Акустика неоднородной движущейся среды. М.: Наука,1982.
12. Акустика в задачах. Учеб. рук-во. / Под ред. С.Н.Гурбатова и О.В.Руденко. М.: Наука, 1996. - 336 с.

# Глава 2. Ультразвуковая интерферометрия медико-биологических жидкостей

## Введение. Акустика в медицине и биологии

Медико-биологические исследования в настоящее время широко используют радиофизические методы, что позволяет получить важные результаты для понимания структуры и свойств биологических макромолекул и применить эти данные для разработки новых способов медицинской диагностики заболеваний.

Молекулярная и медицинская акустика возникла как наука, связавшая акустику, радиофизику, химическую и молекулярную физику [1-3]. Ее основная задача - исследование акустическими методами строения и физических свойств газов, жидкостей и твердых тел (биожидкостей, биотканей). Такие акустические величины, как скорость распространения звуковых волн и их поглощение изучаются в зависимости от различных физических условий: температуры, частоты звуковой волны, давления и т.д. [4,5]. Первая монография «Молеку­лярная акустика» появилась еще в 1940 году, а работы, указы­вающие на количественные связи скорости распространения звуковых волн и поглощения, проводились и еще раньше. Уже в 50-е гг. в справочниках и пособиях можно было найти большие таблицы, показывающие связь скорости распространения ульт­развука от химической структуры веществ. На сегодняшний день известно, что существует связь акустических параметров с массой молекул, их строением, ха­рактером упаковки и т.д.

Ряд патологических процессов, сопровождающихся из­менениями относительного содержания белка, липидов и воды, может приводить к изменению не только абсолютных значений скорости и затухания ультразвука, но и их зависимостей от час­тоты [6-8].

Большинство методов, которые используются в молекулярной акустике для измерения ультразвуковых характеристик различных сред (импульсный, фазовый и другие), мало пригодны при исследованиях биологических тканей и жидкостей, т.к. требуют использования больших объемов изучаемого материала. Резонаторный метод или метод интерферометра фиксированной длины, основанный на использовании стоячих ультразвуковых волн в цилиндрическом резонаторе, позволяет определять скорость и затухание ультразвука в малых объемах образца. С помощью резонаторного метода в диапазоне частот 1,7 - 17,4 МГц исследованы частотные зависимости скорости распространения и коэффициента затухания ультразвука в пе­чени, селезенке и сердечной мышце крысы. Обсуждена связь исследованных акустических характеристик с составом и типом тканей [9].

Позже стали изучать и различные биологические жидко­сти. Например, с помощью резонаторного метода исследованы акустические свойства желудочного сока человека при различ­ной патологии. Определены вклады различных компонентов желудочного сока (белки, ионы натрия) в величины его акустических характеристик. Применение для исследования биологических жидкостей дифференциального интерферометрического метода, позволившего довести относительную точность измерения скорости до 10-6при объеме исследуемого образца порядка 100-1000 мкл. [7], кардинально изменило ситуацию в ультразвуковых исследованиях белков. Высокоточные относительные измерения скорости ультразвука позволили четко дифференцировать фибриллярные и глобулярные белки [6], поскольку они имеют различную макромолекулярную структуру.

Еще в 50-е гг. было впервые показано, что поглощение ультразвука в жидкостях в значительной степени определяется содержащи­мися в ней белками [10]. Авторы исследовали кровь, плазму крови и водные растворы альбумина и гемоглобина в концен­трациях, встречающихся в крови, в диапазоне ультразвуковых частот 0,3 - 10,0 МГц при температуре от 5 до 45˚C. В даль­нейшем более детально были изучены растворы гемоглобина, а также суспензия эритроцитов крови в физиологическом рас­творе [10,11]. Анализировались и температурные зависимости акустических характеристик [12].

При анализе литературы встретились со­общения о перспективности использования ультразвука для ди­агностики величины кровопотери у пострадавших при стихий­ных бедствиях, авариях, катастрофах и т.п. [13], в анализаторах групп крови [14] и т.д.

Также при исследовании биологических тканей используют методы визуализации [6]. В ультразвуковом изображении конкретная деаль выделяется на фоне других деталей благодаря различию в отражательной способности и характеристиках затухания. Отражательную способность можно рассматривать как абсолютный коэффициент отражения на плоской границе раздела 2 сред с разными свойствами. Для получения ультразвуковых изображений используются методы сканирования (2D, 3D и т.д.). На изображениях можно различить основные анатомические структуры внутренних органов, положение плода и т.д. Однако для современной медицинской диагностики необходима более детальная информация о визуализированном органе. Для этого требуются фундаментальные знания об ультразвуковых характеристиках тканей внутренних органов.

## 2.1. Физические величины, характеризующие распространение продольных ультразвуковых волн в биологических средах

Акустическими методами называют методы контроля, основанные на применении упругих колебаний и волн в контролируемом объекте. Ультразвук, используемый в медицинской диагностике, распространяется в среде в виде продольных волн, т. е. волн, для которых направление движения частиц совпадает с направлением распространения. В твердых телах могут передаваться ультразвуковые волны сдвига – поперечные волны, но в данном случае мы их не рассматриваем.

С точки зрения физики ультразвука ткани человеческого тела близки по своим свойствам жидкой среде, поэтому давление на них ультразвуковой волны может быть описано как сила, действующая на жидкость. Звуковые волны являются механическими по своей природе, так как в основе их лежит смещение частиц упругой среды от точки равновесия. Именно за счет упругости и происходит передача звуковой энергии через ткань. Скорость распространения ультразвука зависит, прежде всего, от упругости и от плотности ткани. Чем больше плотность материала, тем медленнее должны распространяться в нем (при одинаковой упругости) ультразвуковые волны. Но к этому физическому параметру следует подходить с осторожностью. Скорость звука при прохождении его через разные среды биологического организма может быть различной.

Скорость распространения *v* ультразвуковых волн в биологической среде определяется «упругими» свойствами среды – ее средней плотностью *ρ* и объемным модулем упругости или его обратной величиной – адиабатической сжимаемостью *β*. Соотношение, связывающие эти величины, имеет вид:

. (2.1)

Произведение плотности среды на скорость ультразвука называется акустическим импедансом или волновым сопротивлением среды *Z*:

. (2.2)

Интенсивность звука *I* – величина, которая выражает мощность акустического поля в точке. Она определяется как энергия, проходящая за одну секунду через единицу площади поперечного сечения вдоль направления распространения ультразвуковых волн, выражается в ваттах на кв. метр. Интенсивность ультразвуковых волн в материале зависит от звукового давления и волнового сопротивления: , где *P* – звуковое давление. Оно определяется как амплитуда попеременных воздействий на материал, через который распространяется звук, то есть *P=Zα,* где *α –* амплитуда колебаний частиц.

При распространении ультразвуковой волны через жидкость ее интенсивность, т. е. энергия, переносимая через единичную площадку в единицу времени, уменьшается с ростом расстояния от источника ультразвука. Затухание ультразвука представляет собой суммарные потери при распространении ультразвуковой волны, включая рассеяние на неоднородностях, имеющих размеры, сравнимые с длиной ультразвуковой волны *λ*, и поглощение, которое характеризует преобразование ультразвуковой энергии в тепло.

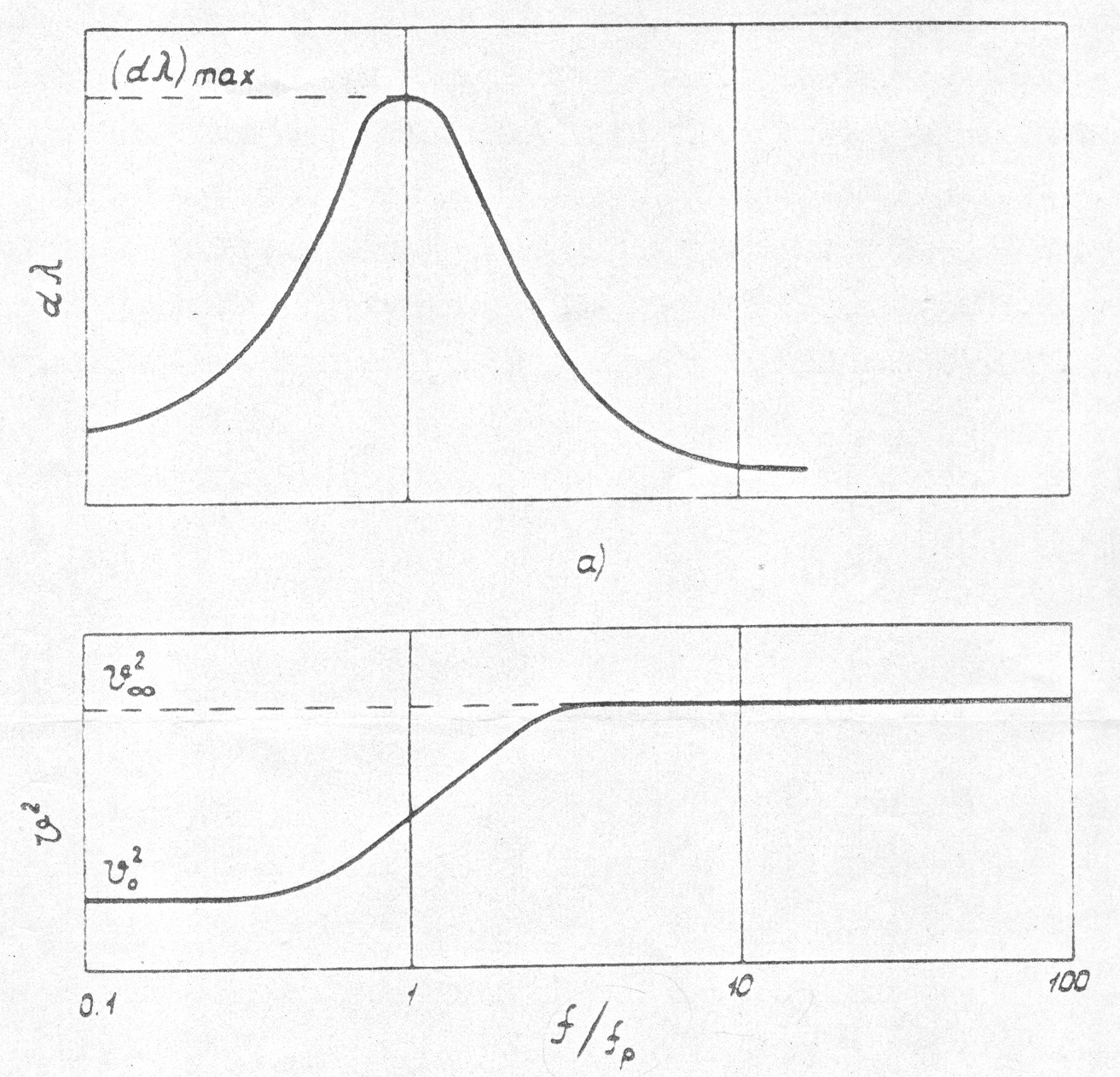
Затухание ультразвуковой волны характеризуется коэффициентом затухания, который можно определить по формуле:

, (2.3)

Поглощение ультразвука в жидкой среде может быть обусловлено классическим и релаксационными механизмами. Релаксация – это процесс установления термодинамического равновесия, нарушенного в результате взаимодействия среды с внешней средой, точнее возмущающим фактором, который имеет характерные времена, близкие по величине к характерным временам компонентов среды. Время восстановления равновесия называется временем релаксации. Поглощение, за которое ответственен классический механизм, пропорционально квадрату частоты ультразвука. Именно такую зависимость от частоты имеет поглощение ультразвука в воде в диапазоне частот 0,1 – 100 МГц [1]. Для биологических тканей, как показали эксперименты, затухание имеет зависимость от частоты в степени между 1 и 2. Наиболее значительный вклад в поглощение ультразвука в мягких тканях дает релаксационный механизм.

Энергия в среде распределена между внешними (поступательными и вращательными) и внутренними (колебательными) степенями свободы молекул. Когда ультразвуковая волна проходит через среду, в фазе сжатия происходит увеличение температуры элемента объема среды, подвергнутого сжатию, связанное с увеличением поступательной энергии молекул в элементе. Если нет перераспределения энергии между степенями свободы, то в фазе расширения среда возвращает энергию ультразвуковой волне, и поглощения нет. Однако в реальной среде всегда есть перераспределение энергии, на которое уходит конечное время. Поэтому часть энергии возвращается волне не в фазе и это регистрируется как поглощение.

Рис. 2.1 иллюстрирует зависимость поглощения на длину волны *αλ* (а) и квадрата скорости ультразвука *v2* (б) от относительной частоты *f/fp*для среды с единственной частотой релаксации *fp*. *αλ* имеет максимальную величину при *f=fp*, т. е. когда период волны *T=1/f* близок к постоянной времени релаксационного процесса *τ~1/fp* [2].



б)

Рис. 2.1. (а) - Зависимость поглощения на длину волны *αλ* и (б) - квадрата скорости ультразвука *v2* от относительной частоты *f/fp*

Как видно из рис. 2.1(б), скорость ультразвука увеличивается в релаксационной области от низкочастотной величины *v0* до высокочастотной *v∞*. Это явление называется дисперсией скорости. В биологических средах дисперсия скорости ультразвука была впервые измерена в водном растворе гемоглобина.

Дисперсия скорости ультразвука связана с затуханием через соотношение Крамерса – Кронига или обобщенные дисперсионные соотношения. Дисперсия при определенной частоте может быть вычислена, если известен коэффициент затухания в диапазоне частот от 0 до ∞. Наоборот, если известна дисперсия скорости в диапазоне частот от 0 до ∞, может быть вычислен коэффициент затухания на определенной частоте.

Однако соотношения Крамерса - Кронига ограничены для их использования при исследовании биологических сред, так как ни дисперсия, ни поглощение в диапазоне частот от 0 до ∞ не известны. Более полезны приближенные соотношения между дисперсией и затуханием в локальной форме, полученные из точных нелокальных форм при предположениях, что затухание и дисперсия достаточно малы и не изменяются быстро с частотой в интересующей области частот. Приближенные локальные соотношения имеют вид:

 (2.4)

 (2.5)

где *ω0* - начальная частота исследуемого диапазона, *v0=v(ω0), -* дисперсия скорости ультразвука.

Приближенные локальные соотношения могут быть использованы для оценки правильности получаемых при измерениях результатов по дисперсии скорости ультразвука.

## 2.2. Методы измерения скорости и поглощения ультразвука

Ультразвуковые методы начали интенсивно развиваться с 40 – х годов двадцатого века. Это было, прежде всего, связано с эволюцией, как в оборонной отрасли, так и в последующем с получением изображений внутренних органов. Это подтолкнуло исследования и разработку методов измерения свойств и состава биологических тканей и жидкостей.

Большинство методов, которые используются в молекулярной акустике для измерения ультразвуковых характеристик различных сред мало пригодны при исследованиях биологических мягких тканей (из -за ограниченности объема исследуемого образца и необходимости высокой чувствительности метода измерений). Условие малости объема образца определяет нижнюю границу частотного диапазона, в котором возможны корректны измерения ультразвуковых характеристик тканей и биожидкостей (для измерений скорости необходимо, чтобы длина образца была сравнима, а чаще много больше длины волны ультразвука).

В настоящее время известны следующие методы измерения скорости ультразвука и поглощения, которые удовлетворяют данным требованиям:

1. импульсные методы, при которых скорость ультразвука определяется по времени пробега ультразвукового импульса через исследуемую среду, а коэффициент затухания – по уменьшению амплитуды импульса;
2. фазовые методы, основанные на измерении фазового сдвига высокочастотного сигнала, прошедшего через исследуемую среду;
3. метод интерферометра с фиксированной базой или резонаторный метод, при котором ультразвуковые характеристики исследуемой среды определяются по параметрам амплитудно-частотной характеристики ультразвукового резонатора, представляющего собой столбик исследуемой среды между двумя параллельными пьезопреобразователями.

Рассмотрим более подробно перечисленные методы измерения ультразвуковых характеристик.

Импульсные методы:

Измерение времени *t* прохождения ультразвуковым импульсом известного расстояния (базы) *L* дает прямой способ измерения скорости ультразвука [15] .

Есть два различных варианта измерения скорости импульсным методом. В первом – ультразвуковой импульс излучается одним пьезопреобразователем и принимается другим, оси обоих преобразователей совпадают. Во втором варианте, который часто используется в медицинской диагностике, один пьезопреобразователь действует как излучатель, так и приемник, отражатель расположен нормально к оси ультразвукового пучка.

Возможны две системы измерения скорости, использующие один пьезопреобразователь. В системе сравнения, показанной на рис. 2.2, осциллограф используется как нуль индикатор.

1

2

10

7

8

9

12

11

6

5

*L*

*L′*

Рис. 2.2. Блок – схема установки для измерения скорости ультразвука в образце

*vs* методом сравнения со скоростью ультразвука в эталонной жидкости *v′*

1, 2 – пьезопреобразователи; 3 – эталонная жидкость; 4 – исследуемый образец; 5 – отражатели; 6 – приемник тракта эталонной жидкости; 7, 8 – генераторы импульсов; 9 – приемник тракта исследуемого образца; 10 – синхронизатор; 11 – линия задержки; 12 – осциллограф.

, *vs* и *v′* – скорости ультразвука в исследуемом образце и эталонной жидкости, соответственно. Точность измерения скорости ультразвука при использовании системы сравнения, зависящая от точности измерения *L*, *L′* и *v′*  может быть около 0,5% [16].

Для измерения скорости ультразвука существует еще один вариант импульсного метода, называемый методом синхрокольца. В этом варианте вместо измерения времени прохождения импульсом известного расстояния определяется число *m* импульсов в секунду, пробежавших по кольцу. Это кольцо образует импульсный генератор, излучатель, который запускает ультразвуковой импульс, возбуждаемый генератором, в образец, сам образец, приемный преобразователь, усилитель, используемый для усиления переднего фронта импульса и мультивибратор, который запускается передним фронтом импульса. Мультивибратор запускает импульсный генератор, и кольцо замыкается. Скорость ультразвука *v* вычисляется по формуле: ,

где *L* – расстояние между пьезопреобразователями, *Δt* – постоянная задержка, связанная с прохождением импульса по электронной части схемы.

Для того чтобы определить *Δt*, необходимо откалибровать систему в среде с известной скоростью. При измерении относительной скорости ультразвука этим методом может быть достигнута точность 10-2%.

Существенным недостатком импульсных методов измерения скорости, ограничивающим их применение для локальных измерений в биологических образцах, является большая база, необходимая для точных измерений скорости ультразвука, а использование большой базы приводит к значительным объемам образца и затрудняет термостатирование образца.

Измерения затухания с помощью импульсной методики осуществляется в основном двумя способами. В первом – импульс распространяется через образец от излучающего преобразователя к приемному. Во втором – импульс распространяется через образец от излучателя к отражателю, затем обратно тем же путем к тому же преобразователю, который теперь уже работает как приемник. В обоих этих способах измеряется затухание импульса, возникающее в результате его распространения вдоль известной длины образца в соответствии с формулой (2.3), где *A0* и *Ad* – амплитуды ультразвуковой волны у источника ультразвука и в точке наблюдения на расстоянии *d* от источника, соответственно.

Во втором способе длина образца удваивается.

Также был предложен метод измерения затухания, основанный на анализе спектра ультразвукового импульса [15]. Блок – схема варианта этого метода, представлена на рис. 2.3.

4

5

6

7

1

2

3

Рис. 2.3. Блок – схема установки для измерения коэффициента затухания

ультразвука в биологическом образце на основе анализа спектра

ультразвукового импульса

1 – импульсный генератор; 2 – усилитель; 3 – анализатор спектра; 4 – пьезопреобразователь; 5 – контактная среда (физиологический раствор); 6 – исследуемая биологическая среда; 7 – отражатель.

Ультразвуковой импульс, излученный преобразователем 4, отражается от плоского отражателя 7. Импульс, пришедший от отражателя, посылается в анализатор спектра 3, который производит Фурье – анализ отраженного импульса. Если используется логарифмический спектральный дисплей, затухание ультразвука равно разности между эхо от цепи с образцом жидкости и без него. Длительность импульса выбирается короткой (5 – 10 мксек) для того, чтобы исключить возможность образования стоячей волны. Этот метод удвоен для измерения частотных зависимостей затухания в диапазоне частот 1 – 10 МГц, однако требует либо нескольких преобразователей на разные резонансные частоты, либо широкополосных преобразователей, изготовление которых достаточно сложно. Точность измерения затухания ультразвука этим методом порядка 5 – 7%.

Фазовые методы:

Для прецизионных измерений скорости ультразвука в режиме бегущей волны большое распространение получил фазовый метод, сущность которого состоит в сравнении фаз двух сигналов: прошедшего через исследуемую среду и опорного [17]. Для реализации фазового метода используются как непрерывные, так и импульсные колебания. Сравнение фаз производится в электрическом тракте. Регистрация разности фаз осуществляется с помощью осциллографа или фазометра.

Одна из модификаций импульсно – фазового метода была использована для измерения дисперсии скорости ультразвука в биологических жидкостях. На рис. 2.4 показана блок – схема установки.

7

*L*

*x*

1

2

3

6

4

5

9

8

10

11

7

Рис. 2.4. Блок – схема установки для измерения скорости ультразвука в исследуемой жидкости *vs* импульсно-фазовым методом

1 – излучающий пьезопреобразователь; 2 – звукопроницаемая мембрана; 3 – приемный пьезопреобразователь; 4 – подвижный блок с прикрепленными к нему пьезопреобразователями; 5 – эталонная жидкость; 6 – исследуемая жидкость; 7 – устройство для измерения пути, пройденного блоком 4; 8 – генератор радиоимпульсов; 9 – линия задержки; 10 – осциллограф; 11 – смеситель; 12 – высокочастотный усилитель.

Камера для исследования разделена на две части с помощью проницаемой для ультразвука мембраны. Одна часть камеры заполнена водой, которая не имеет дисперсии скорости в диапазоне 0,1 – 100 МГц, другая часть заполняется исследуемым образцом.

Излучающий 1 и приемный 3 пьезопреобразователи прикреплены к подвижному блоку 4, который может перемещаться горизонтально. Один пьезопреобразователь опущен в воду, выбранную в качестве эталонной жидкости 5, другой в исследуемую жидкость 6. Жидкости разделены звукопроницаемой мембраной 3.

Расстояние, на которое передвинулся блок 4, может быть точно измерено устройством 7. Если скорости ультразвука в воде и исследуемой жидкости различны, возникают фазовые изменения в принимаемом сигнале, когда блок 4 с пьезопреобразователями передвигается горизонтально.

Для того чтобы измерить фазу полученного сигнала, выходной сигнал с приемного преобразователя, усиленный в блоке 12, смешивается в смесителе 11 с опорным сигналом, полученным от генератора 8. На осциллографе 10, запускаемом с генератора 8 через линию задержки 9, наблюдается результат смешения сигналов, который минимален, когда сигналы находятся в противофазе. Фаза полученного сигнала зависит от числа длин волн *nλ*, которые разделяют преобразователи: , где *L* – расстояние между пьезопреобразователями, *x* – расстояние между приемным пьезопреобразователем 3 и звукопроницаемой мембраной 2,  и *λs* – длина волны ультразвука в воде и исследуемой жидкости, соответственно.

Блок 4 с пьезопреобразователями передвигается вдоль оси камеры на расстояние *Δx* так, чтобы принимаемый сигнал изменил фазу на 2π. Тогда, при *λs* >  число длин волн на пути ультразвукового пучка увеличивается, а при λs < – уменьшается , где знак «+» относится к случаю λs > λH2O, а «-», когда *λs* <.

Если использовать соотношение , получим: .

Величина . Если исследуемая жидкость имеет дисперсию скорости, величина *f·Δx* будет изменяться с частотой. Таким образом, можно измерить зависимость скорости ультразвука от частоты с исследуемой жидкости.

Поскольку *f* может быть измерена с высокой точностью, точность метода определяется точностью измерения . Основное ограничение метода обусловлено неопределенностью величины , табличное значение для воды получено с относительной точностью 10-5 [1].

Значительными недостатками описанного метода являются слишком большой объем исследуемой жидкости (порядка 10-3 м3), необходимый для достижения относительной точности порядка 10-5.

Резонаторный метод:

Резонаторный метод или метод интерферометра фиксированной длины, основанный на использовании стоячих ультразвуковых волн в цилиндрическом резонаторе, позволяет определить скорость и затухание ультразвука в малых объемах образца по ширине и резонансной частоте характеристических пиков.

Блок – схема установки для измерений резонаторным методом показана на рис. 2.5.

S

1

4

5

3

2

П1

П2

Рис. 2.5. Блок – схема установки для измерения ультразвуковых характеристик исследуемых образцов резонаторным методом

1 – настраиваемый генератор синусоидальных колебаний; 2 – блок настраиваемого усилителя; 3 – детектор; 4 – частотомер; 5 – осциллограф.

Резонатор содержит объем S образца, заключенный между двумя пластинами, используемыми в качестве преобразователей. Передающий преобразователь П1 возбуждается настаиваемым генератором 1 синусоидальных колебаний. Этот преобразователь создает в образце S ультразвуковое поле стоячих волн на характеристических частотах *fj*. На этих частотах приемный преобразователь П2 вырабатывает четкие пики напряжения, которые после усиления настраиваемым усилителем 2 и детектирования в блоке 3 можно наблюдать на экране осциллографа 5. Частота настраиваемого генератора определяется с помощью частотомера 4.

Основная частота *fL* столбика образца равна , где *vs* – скорость ультразвука в образце. При малых величинах затухания ультразвука на расстоянии *L* между преобразователями (*αL*<<1) можно пользоваться простым соотношением между шириной *Δfj* полосы пропускания на уровне половинной мощности конкретного пика и частотой *fj* этого пика [18]:

, (2.6)

где *αλ* - ослабление на длину волны ультразвука *λ*.

Выражение (2.6) определяет добротность *Q* «идеального» резонатора с затуханием ультразвука только в образце. Добротность *Qp* реального резонатора обратно пропорциональна полным потерям энергии в системе резонатора, куда входят все виды потерь в ячейке, такие, как затухание в образце и дополнительные потери из – за расходимости пучка, рассеяния, эффектов трения и несовершенного отражения на поверхностях преобразователей, а также потери на креплениях преобразователей. Если предположить, что все эти потери аддитивны, то добротность *Qp* будет определяться соотношением:

, (2.7)

где *Qs* – добротность, обусловленная поглощением ультразвука в образце, *Qc* характеризует все упомянутые выше дополнительные потери энергии.

Относительное затухание ультразвука в образце получают, проводя сравнительные измерения в том же резонаторе при тех же частотах с подходящей эталонной жидкостью [19]. Скорость ультразвука в этой эталонной жидкости должна быть такой же или почти такой же, как в образце, чтобы конфигурации звуковых полей в резонаторе в обоих случаях были одинаковыми.

По величине *fL* можно найти скорость ультразвука *vs* в образце, при этом расстояние *L* между преобразователями должно определяться путем калибровки с использованием жидкости, скорость звука в которой известна, например, воды. Поскольку резонатор работает при фиксированном расстоянии *L*, это расстояние достаточно определить один раз.

Точность измерения скорости ультразвука в жидкостях резонаторным методом составляет ±10-3%, поглощения ультразвука - ±3%. При дифференциальном варианте метода, когда измеряется относительная разность центральных частот резонансных пиков одного и того же номера, относительная точность измерения скорости может быть доведена до 10-6 при объеме исследуемого образца жидкости не более 6\*10-7м3 [11]. Причем, в резонаторном методе требования высокой точности измерений и минимального объема исследуемого вещества не противоречат друг другу. Например, в импульсном методе или методе сравнения фаз, где длина акустического пути, а значит, и объем, должны быть тем больше, чем выше необходимая точность измерения.

Впервые интерферометр постоянной длины для измерения скорости ультразвука в биологических тканях и жидкостях был применен А.П. Сарвазяном [20]. Между преобразователями датчика специальной конструкции располагается образец среды минимального объема. Датчик, представляющий собой акустический резонатор, включен в цепь положительной обратной связи полосового усилителя. Когда датчик погружен в исследуемый раствор, в системе устанавливается генерация с частотой, соответствующей максимуму заданного резонансного пика, находящегося в полосе пропускания усилителя. Частота регистрируется электронносчетным частотомером. Скорость ультразвука в среде определяется по установившейся частоте генерации с помощью калибровки, построенной на измерениях в эталонных в водно–солевых растворах [21]. Величина коэффициента поглощения ультразвука в среде регистрируется по смещению частоты генерации при введении фиксированного сдвига фазы сигнала в цепь обратной связи усилителя. Смещение частоты генерации определяется крутизной фазочастотной характеристики резонатора, которая в свою очередь связана с затуханием ультразвука в исследуемой среде.

## 2.3. Анализ интерферометров

Если использовать пьезоэлектрический излучатель в качестве приемника, поставить перед излучающим кристаллом плоский отражатель, расположив его так, чтобы между ним и излучающей поверхностью кристалла установилась стоячая волна, то при перемещении отражателя воздействие отраженной волны на излучатель будет меняться, что можно регистрировать различными способами. Такое устройство, называемое ультразвуковым интерферометром, позволяет весьма точно измерять длину волны и используется очень часто.

Всякий раз, когда расстояние от излучателя до отражателя оказывается равным целому числу полуволн, интенсивность стоячей волны достигает максимума. В этом случае имеет место резонанс, и кристалл как излучатель отдает максимальную энергию. Такие резонансные точки повторяются при перемещении отражателя через каждые λ/2 см. Воздух или жидкость, находящиеся между кристаллом и отражателем, совместно с излучающим кварцем можно рассматривать как единую механическую колебательную систему; ее кажущееся сопротивление периодически меняется при перемещении отражателя. А значит, ее можно заменить эквивалентной электрической схемой, которая состоит из последовательно соединенных индуктивности, емкости и активного сопротивления.

Положения отражателя, соответствующие резонансу, можно различными способами определить по мощности, потребляемой генератором, питающим излучающий кварц. Имеет место небольшое изменение частоты колебаний кварца. По этим изменениям электрических величин можно весьма точно регистрировать точки резонанса. Пирс измерял этим способом длины волн ультразвука в газах. Можно замерять сотни максимумов тока, а значит, и резонансных положений отражателя и тем самым измерять длину звуковых волн с высокой точностью.

До настоящего времени в акустике получили развитие интерферометрические методы. Эти методы можно классифицировать на два главных направления: с интерференцией импульсных волн и интерференцией непрерывных волн. Первый тип методов обладает положительной стороной – широкополосностью, но не допускает одновременного измерения скорости и поглощения ультразвука в среде. Если применяемые импульсы являются настолько длинными, что возможна реализация стоячей волны хотя бы на достаточно короткое время, то такой импульсный метод приписывают ко второму направлению.

Второй тип составляют в отношении складываемых параметров методы фазовой и амплитудной интерференции. Методы фазовой интерференции ограничены применением для измерения скорости распространения ультразвука в среде. Использование амплитудной интерференции позволяет одновременно выполнять измерения скорости и поглощения ультразвуковых волн.

С точки зрения акустической базы методы с непрерывными волнами можно разделить на 2 типа: 1) с постоянной базой и 2) с переменной базой. В методах с постоянной базой чаще всего используется длина волны ультразвука по резонансной частоте столбика исследуемого вещества, для чего необходимо непрерывное изменение частоты.

Интерферометрические методы с непрерывными волнами можно также подразделить на классы по отношению числа применяемых преобразователей в акустических трактах: 1) с одним кристаллом и 2) с двумя и более кристаллами или с эталонной жидкостью.

В зависимости от агрегатного состояния исследуемых сред интерферометры можно разделить на газовые и жидкостные. Особенности жидкостных интерферометров заключаются в основном в том, что при одинаковой частоте длина волны ультразвука в жидкостях в несколько раз больше, чем в газах, а поглощение, наоборот, - значительно меньше. Поэтому измерения в жидкостях можно осуществить со значительно большим числом волн.

Перейдем к более подробному рассмотрению интерферометров переменной и постоянной длин.

Интерферометр переменной длины:

Основными конструктивными элементами подвижной части интерферометра переменной длины являются:

1. система перемещения отражателя или приемного преобразователя и измерения их положений;
2. средства регулирования параллельности поверхностей излучателей и приемников.

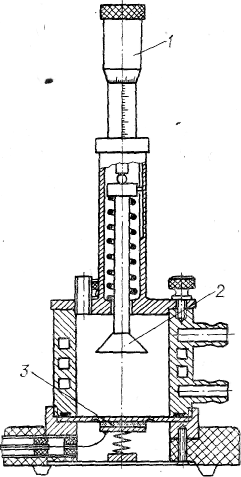
Один из видов интерферометров переменной длины изображен на рис. 2.6 [10]. 

Рис. 2.6. Интерферометр с микрометрическим винтом

*Перемещение отражателя.* В интерферометрах средней точности для перемещения отражателя и определения его положений наиболее часто применяется микрометрический винт. При помощи винта 1 можно перемещать отражатель 2, изменяя его расстояние от пьезоизлучателя 3. Операции определения положений отражателя и подсчета резонансных пиков довольно громоздки, поэтому измерение при помощи обыкновенного интерферометра требуют немало времени. С целью автоматизации измерений и получения объективной записи измерений создан ряд самопишущих интерферометров, например, автоматизированный интерферометр Эндрюса.

Для измерения дисперсии скорости ультразвука особенно перспективными являются такие методы, которые позволяют измерять скорость одновременно на нескольких частотах при неизменной акустической и электронной системах интерферометра. Таким образом, при всех значениях частот обеспечиваются идентичные условия измерения: одинаковый состав жидкости и одинаковая температура.

Существуют также цифровые интерферометры. Формирование резонансных пиков в нем является сложной операцией по следующим причинам: 1. вследствие поглощения ультразвука в среде изменяется амплитуда резонансных пиков; 2. непараллельность между поверхностями излучателя и отражателя, дифракционные явления или температурные градиенты в камере измерения вызывают появление сателлитов. Применение лазерного интерферометра для измерения положений отражателя удалось значительно повысить точность цифрового интерферометра переменной длины. В данном интерферометре во время измерения отражатель перемещается вниз под действие силы собственного веса, а скорость его перемещения задается гидравлическим устройством.

*Регулировка отражателя.* В подготовленном для измерения интерферометре отражатель должен быть параллельным излучателю. Это достигается следующими способами:

1. использованием точной технологии изготовления камеры измерения
2. применением шарнирного закрепления отражателя
3. дополнительной регулировкой параллельности.

Без устройств регулировки параллельности можно обходиться, т. е. довольствоваться в производстве интерферометра достигнутой точности только при измерениях на низких частотах интерферометром средней точности. О достаточной параллельности можно судить по максимальной амплитуде резонансного пика и его симметричности, а также по исчезновению сателлитов.

Для измерения дисперсии скорости ультразвука разработаны специальные интерферометры. Например, многочастотный интерферометр, в котором на основе принципа суперпозиции волн одновременно возбуждались в исследуемой жидкости волны нескольких частот. Этот метод отличается неоспоримыми преимуществами, касающихся стабильности температуры, однако достаточно сложен и имеет ограниченные возможности расширения частотного диапазона. Дисперсию можно измерять, возбуждая излучатель интерферометра поочередно на высоких гармониках. При использовании составного излучателя, состоящего из НЧ-пьезоизлучателя в форме кольца и ВЧ-пьезоизлучателя, установленного в отверстии первого, можно перекрыть сравнительно широкий диапазон частот. В случае измерения дисперсии скорости ультразвука необходимо обратить внимание на дифракцию волн в области низких частот и на высокие требования к стабильности температуры исследуемой жидкости.

Были также проделаны работы по применению интерферометра переменной длины для исследований в области высоких температур и давлений. В обоих случаях конструкция подвижных частей интерферометра получается сложной.

Интерферометр постоянной длины:

Интерферометр постоянной длины отличается существенным преимуществом – отсутствием подвижных узлов. Поэтому данный интерферометр применяется для измерений при высоких давлениях, например в морских глубинных исследованиях, в автоклавах и на низких температурах, для исследования образцов твердых тел.

Возможно разные варианты ультразвукового интерферометра постоянной длины зависимости от того, какие величины – частота УЗ – волн, количество полуволн в интерферометре или скорость УЗ – выбраны переменными, а какие постоянными.

Для наблюдения за изменениями параметров исследуемого вещества в сравнительно широких пределах изменения акустических параметров, например, в течении процесса свертывания крови целесообразно применять интерферометр с автоматической настройкой частоты, сохраняя постоянное число полуволн в измерительной камере [10]. Интерферометр этой системы обеспечивает измерение скорости распространения и поглощения УЗ (по ширине резонансного пика) с малых объемах жидкости.

Согласуя соответствующим образом основную константу интерферометра постоянной длины (число полуволн в камере интерферометра) с числом сигналов, соответствующим разности частот соседних резонансов, можно получить измеряемое значение скорости УЗ интерферометры этого типа могут применяться в качестве резонансных измерителей твердого листового материала, слоя жидкости или газа. При изменении частоты волн подсчитывается количество полуволн на определенной частоте и по известной скорости УЗ в исследуемой среде определяется толщина слоя.

Интерферометр постоянной длины можно использовать для исследования веществ с относительно широком диапазоне частот, а при работе на постоянной частоте его можно применять в качестве чувствительного индикатора незначительных изменений определенного параметра исследуемого вещества. Интерферометры постоянной длины могут также использоваться как цифровые измерители температуры, концентрации растворов, модуля упругости и других величин.

Свойства интерферометра, обусловливающие практическое его применение, вытекают из следующих его особенностей:

1. Постоянство длины измерительной камеры. Это сильно упрощает конструкцию, допускает исследования газа, жидкости, твердого тела или других веществ в процессе изменения их агрегатного состояния, способствует высокоавтоматизированным исследованиям малого количества жидкости, повышает быстродействие. С другой стороны, при переменной частоте УЗ проявляется частотная зависимость коэффициента отражения волн от преобразователей, что приводит к возникновению систематических погрешностей измерения скорости (проблема «эффективной длины») и коэффициента поглощения УЗ.

2. Применяется ультразвуковой сигнал, близкий к монохроматическому. Обработка такого сигнала несложная, что также способствует повышению быстродействия и высокой степени автоматизации.

Указанные особенности, а также затруднения при определении длины камеры и тем самым при измерении абсолютных значений скорости и поглощения, предопределяют основную область применения интерферометра постоянной длины: автоматическое измерение изменений скорости и поглощения УЗ.

Отметим, что интерферометр постоянной длины характеризуется средней по величине погрешностью измерения скорости (10-4 – 10-5) и поглощения (5\*10-2 – 2\*10-2) ультразвука и хорошей разрешающей способностью.

## 2.4. Акустические исследования биологических жидкостей

Исследование физических характеристик биологических жидкостей является актуальной задачей, имеющей как самостоятельное научное (т. к. организм создает уникальные по своим свойствам жидкости и структуры), так и прикладное значение в области медицины и биологии. В настоящее время известен целый ряд физических методов, с помощью которых можно получать разнообразную информацию о биожидкостях [9], т. е. водных растворах и суспензиях, содержащих малые молекулы (органические и неорганические), макромолекулы (биополимеры: белки, полипептиды, нуклеиновые кислоты), клеточные и субклеточные элементы, которые имеют биологическое происхождение. Примерами жизненно важных биожидкостей являются кровь, лимфа, желудочный сок, слюна.

Экспериментальные исследования физических характеристик биожидкостей имеют, по сравнению с обычными жидкостями, некоторые особенности, которые связаны с их спецификой.

Компоненты биожидкостей сохраняют нативное (естественное) состояние в ограниченном интервале внешних условий. Поэтому физические методы, не позволяющие работать с биожидкостями в нативном состоянии, заведомо дадут искаженную информацию. Измерения их физических характеристик необходимо производить в условиях, близких к условиям организма. Биожидкость, постоянно взаимодействуя с организмом, отражает изменения, которые происходят в нем под действием внешних факторов. Следовательно, в каждый момент времени их физические характеристики различны и, несмотря на то, что в нормальном состоянии адаптационные системы организма поддерживают постоянство внутренней среды, всегда приходится иметь дело с усредненными физическими характеристиками биологических жидкостей. Физический метод исследования биожидкостей, основанный на взаимодействии какого – либо вида энергии с биологической средой, должен незначительно возмущать равновесные состояния, существующие в жидкости, чтобы не вызвать необратимых изменений. Отсюда вытекает требование высокой чувствительности приемного устройства в установке, реализующей метод исследования биожидкостей.

Небольшие изменения внешних условий приводят к незначительным изменениям биосред. Тем не менее, эти небольшие изменения могут повлечь за собой серьезные последствия для организма. Это означает, что для исследования необходим метод, позволяющий регистрировать крайне малые изменения их свойств, т. е. обладающий повышенной точностью изменения регистрируемых параметров.

Биожидкости могут иметь как высокую (кровь, лимфа), так и низкую (желудочный сок) концентрацию компонентов. Поэтому, при выборе физического метода их исследования желательно, чтобы была возможность извлекать информацию о физических свойствах как в высоко-, так и в низко-концентрированных биожидкостях.

Все выше сказанное накладывает определенные ограничения на выбор физического метода исследования свойств биожидкостей.

Определенные успехи при изучении биосред были сделаны при использовании ультразвуковой интерферометрии для измерения акустических характеристик растворов белков и аминокислот]. Именно акустические исследования этих биологических жидкостей позволяют изучить тонкие структурные характеристики и гидратацию биологических макромолекул в растворе, их межмолекулярные взаимодействия и конформационные перестройки биополимеров.

Ультразвуковой интерферометр постоянной длины или ультразвуковой резонатор с целью его применения для исследования биологических жидкостей совершенствовался в 70 – 90 годах двадцатого века [22, 23], однако для медико-биологических приложений, в частности, в области медицинской лабораторной диагностики известные технические решения применить не представляется возможным по ряду причин:

1. Биожидкости организма человека, используемые для лабораторной диагностики (сыворотка крови, цельная кровь), как правило, могут быть использованы в очень ограниченном объеме (не более 0,1 – 0,5 мл), а при исследовании крови детей – еще меньше, т.е. объем измерительной ячейки должен быть не более 70 – 90 мкл.

2. Точность измерений скорости и поглощения ультразвука должна быть предельно высокой для высококонцентрированных биосред (сыворотка крови, цельная кровь). Необходимо регистрировать возможные отклонения от нормы для нативных биологических жидкостей, чтобы определить изменения их состава и надежно регистрировать патологию.

3. Для систематических, серийных исследований (200 – 250 исследований в день) конструкция ультразвукового резонатора не должна иметь регулирующих параллельность элементов, но добротность резонатора с водой должна быть не хуже 4000 – 5000.

4. Сыворотка крови и цельная кровь человека – это среды, имеющие биологическую опасность (гепатит, СПИД) и достаточно агрессивны, поэтому конструкция ультразвукового резонатора должна допускать специальную обработку дезинфицирующими средами, но при нагрузке до 50000 исследований в год результаты исследований должны быть воспроизводимы и правильны при проведении всего цикла измерений.

Известные ультразвуковые интерферометры постоянного объема не удовлетворяют перечисленным выше условиям. Поэтому была произведена разработка и исследование ультразвукового резонатора малого объема, имеющего специальные конструктивные особенности.

### 2.4.1. Теоретическое рассмотрение акустического интерферометра

Теоретические основы распространения ультразвуковых волн в интерферометре постоянной длины разработаны J. Hubbard [24]. Однако данные исследования относятся к интерферометру, не имеющему ограничительных стенок, т. е. объем резонатора в этом случае мог быть 100 – 200 мл. Такие резонаторы могли быть использованы только для исследования крови коров и лошадей. Ф. Эггерс предложил для исследования частотных зависимостей в жидкостях интерферометр постоянной длины или акустический резонатор объемом 1 – 5 мл [23]. Этот метод использует стоячие ультразвуковые волны в цилиндрической кювете. Обработка данных, полученных из измерительных характеристик резонатора, выполнялась на основе теоретических представлений, что это идеальный резонатор, т. е. нет потерь при отражении от пьезопреобразователей и волна, распространяющаяся в резонаторе, плоская.

Рассмотрим одномерный идеальный резонатор с идеальным отражением от пьезопластин, которые будем считать бесконечно жесткими. Пусть пластины перпендикулярны к оси *z*, находятся на расстоянии *L* друг от друга и внутренние поверхности пьезопластин определяются плоскостями *z=-L/2* и *z=L/2*. Граничные условия для резонатора будут иметь вид:

, (2.8)



где *φ* – потенциал скорости, *v0* – амплитуда колебательной скорости на пьезопластине, связанная с возбуждающим электрическим полем. Решение волнового уравнения ищем в виде , где - волновое число, *A* и *B* – постоянные. Подставляя *φ* в равенства (1.2.1), получим два уравнения, из которых выразим неизвестные *А* и *В*. Подставляя их в выражение для *φ*, определим ее величину при *z=L/2*: . Учитывая, что , где *k* – действительная часть волнового числа, α – коэффициент поглощения ультразвука в жидкости, получим



или



. (2.9)



Из последнего равенства следует, что резонансные частоты определяются выражением или *fj=fL·j*,где величину *fL*, определяемую формулой , называют фундаментальной частотой слоя жидкости, j=1,2,…∞. Из изложенного видно, что для идеального одномерного резонатора резонансные частоты равномерно отстоят друг от друга на величину . Для реального интерферометра из – за влияния пьезопластин на колебания жидкости эта равномерность нарушается. Однако номер резонансного пика также приближенно определяют по данной формуле, округляя *j* до целого.



Максимальное значение величины *φ* в равенстве (2.9) получается при и имеет вид



. (2.10)



Для определения поглощения в жидкости измеряют полосу пропускания *Δf* резонатора на уровне половинной интенсивности для каждого пика и частоту *fj* этого пика. Коэффициент поглощения определяют по формуле

. (2.11)



При малых величинах поглощения в жидкости, когда *Δf<*0,1*fL*, аппроксимируя аргументом, придем к формуле (2.6).



Для определения скорости ультразвука в резонаторе используют резонансные условия. Пусть пьезопластины будут перпендикулярны к оси *z* и поверхности одной из пьезопластин определяются плоскостями *z=h+b* и *z=b*, а другой пьезопластины – плоскостями *z=-h-b* и *z=-b*, где *h* – толщина пьезопластин, *2b* – расстояние между ними. Решение волнового уравнения для колебаний, возникающих в резонаторе, должно иметь вид: , где *φi* – потенциал скорости для слоя с индексом *i*, который имеет значение 1 – при *b≤z≤ b+h*, 2 – при *-b≤z≤b*, 3 – при *–b-h≤z≤-b*, *k* – волновое число, *Ai* и *Bi* – постоянные коэффициенты. Граничные условия для звуковых давлений и колебательных скоростей зададим в следующем виде:

а) б) (2.12)

где *ρ1* и *ρ2* – плотности пьезопластин и жидкости, соответственно. Граничное условие «a» соответствует колебанию, имеющему в плоскости *z=0* узел колебательной скорости. Для такого колебания в жидкости укладывается округленное до целого число длин полуволн, равное j=2,4,6,…, и его называют четным колебанием. Граничное условие «b» соответствует колебанию, имеющему в плоскости *z=0* узел звукового давления. Для такого колебания в жидкости укладывается округленное до целого число длин полуволн, равное j=1,3,5,…, и его называют нечетным колебанием.

Подставляя выражение *φi* в граничные условия (2.12), получим две системы из четырех уравнений с четырьмя неизвестными. Эти системы имеют решение, отличное от нулевого, если определители, составленные из их коэффициентов, равны нулю. Выполняя алгебраические операции со строчками и столбцами, можно понизить степень определителей на единицу, при этом получим:

 (2.13)

где *–tg[k2h]* соответствует нечетным колебаниям, а *ctg[k2h]* - четным колебаниям,  - отношение удельных акустических импедансов жидкости и пьезопластин. Из (1.2.6) получаются два резонансных условия:

 (2.14)

причем первое равенство соответствует нечетным, а второе равенство – четным колебаниям резонатора. Представим расстояние между пьезопластинами *L=2b* в виде:

. (2.15)

Тогда из резонансных условий получим одинаковое выражение для величины *y* в следующем виде:

, (2.16)

где – фундаментальная частота пьезопластин, *v1* – скорость продольных волн в пьезопластине. Зависимость величины *y* от  показана в таблице 2.1.

Таблица 2.1

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| y | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 | 1 |
|  | 1 | 0,19 | 0.09 | 0.05 | 0.02 | 0 | 0.02 | 0.05 | 0.09 | 0.19 | -1 |

Полученные значения показывают, что при *fL<fQ/*2 ближайший узел находится в жидкости и с увеличением *fL* приближается к поверхности пьезопластин.

Из выражения (2.15) можно получить формулу для расчета скорости ультразвука в жидкости:

. (2.17)

Для этого предварительно определяют по эталонной жидкости величины *L* и *fQ* и рассчитывают величину γ.

Основную частоту *fL* столбика жидкости в реальном цилиндрическом резонаторе можно приблизительно оценить по формуле . Из-за конечности толщины преобразователей последовательность резонансных частот не является строго гармонической. Собственные частоты симметричных и антисимметричных мод резонатора можно аппроксимировать, пренебрегая пьезоэлектрической связью, трансцендентными уравнениями [4]:

. (2.18)

Здесь *fj* – резонансная частота *j* – ого резонансного пика, *ρQ* – плотность кварца, *ρL* – плотность жидкости, *vs* – скорость звука в образце, *υQ* – скорость звука в кварце, *fQ* – основная частота преобразователей. Выражения (2.18) получены в предположении, что преобразователи ведут себя как идеальные поршни.

Дисперсию ультразвука можно рассчитать как: , здесь *δvs* – разность скоростей в эталонной и исследуемой жидкостях (скорость звука в эталонной жидкости должна быть близка к скорости в исследуемой жидкости), δ*fj* - разность частот между соответствующими резонансными пиками (при одинаковом номере *j*).



Точные измерения в акустическом резонаторе требуют исключительной стабильности температуры. Изменение температуры приводит к смещению частоты на величину

. (2.12)



Например, в случаях водных растворов при комнатной температуре, получаем . Это выражение показывает, что при изменении температуры на 10-3 °С при 8 МГц сдвиг частоты составит 14 Гц, в случае слабопоглощающих жидкостей это легко обнаружить.



Описанная Ф. Эггерсом акустическая ячейка не могла быть использована для систематических исследований из – за наличия резиновых колец, которые регулировали параллельность пьезопреозразователей, и, следовательно, их наличие требовало проведения постоянных калибровочных измерений акустических ячеек. Получение воспроизводимых результатов для целей лабораторной диагностики весьма проблематично. Поэтому была разработана технологически воспроизводимая конструкция акустического резонатора, в котором пьезопреобразователи прижимаются к параллельным плоскостям, выполненным в едином металлическом термостатируемом корпусе. В качестве материала пьезопреобразователей был выбран ниобат лития, имеющий пьезомодуль в 1000 раз больший, чем у кварца. Это позволило существенно уменьшить уровни сигналов, подаваемых на пьезоизлучатель, тем самым предотвратить дополнительный нагрев пьезопреобразователей и увеличить степень контроля и точность поддержания температуры внутри акустического резонатора.

Схематическое изображение разработанного акустического резонатора представлено на рис. 2.7.

3

*N1*

*N2*

1

2

4

2

Рис. 2.7. Изображение акустического резонатора

*L* – длина ячейки, *RN* – радиус преобразователя, *R* - радиус акустической ячейки.

Акустическая ячейка состоит из двух пьезопреобразователей из ниобата лития *N1* и *N2*, диаметром 7 мм, жестко прижатых к параллельным плоскостям в едином (общем) металлическом корпусе из титана, расстояние между плоскостями – *L* = 5 мм. Основная гармоника пьезопреобразователей около 10 МГц.

Теоретическое рассмотрение распространение ультразвуковых волн в идеальном резонаторе объемом 1 – 5 мл, представленное Ф. Эггерсом [23], не позволяет описать поведение разработанных акустических ячеек объемом 0,07 – 0,09 мл. Поэтому рассмотрим теоретическое поведение ультразвукового поля в резонаторе, выполненное в работе [26] и учитывающее акустические свойства пьезопреобразователей, а также дополнительные эффекты, возникающие из – за трехмерного распространения волны внутри цилиндрической кюветы. Это позволит адекватно интерпретировать все экспериментальные данные и определить влияние на относительное изменение скорости ультразвука в исследуемом образце относительно воды от характеристических частот *fj*.

Поведение ультразвуковой волны в цилиндрической ячейке, изображенной на рис. 2.7, описывается на известных принципах теоретической физики.

Колебания частиц среды, заполняющей акустическую ячейку, описывает скалярный потенциал *Φ*. Это означает, что мы пренебрегаем тепловыми и вязкостными волнами, которые обеспечивают непрерывность температурных и тангенциальных сдвиговых волн у стенок ячейки. Эти волны потребляют очень маленькую энергию, затухают на малом расстоянии от стенки и не вносят вклад в распространение ультразвука. Имея в виду это предположение и гармонический характер (*exp(-iωt)*) изменения скорости колебания частиц *w* и избыточного давления *p* в ультразвуковой волне, можно записать следующие соотношения для *Φ*:

, , (2.13)



где ρ0 – плотность невозмущенного состояния среды.

Функция *Φ* может быть получена с помощью решения уравнения Гельмгольца:

, (2.14)



где - комплексное волновое число.



Благодаря цилиндрической геометрии, *Φ* и оператор Лапласа *Δ* могут быть выражены в цилиндрических координатах *r, z* (т. е. независимыми от угла *φ*). Таким образом, . Ось симметрии ячейки, очевидно, соответствует *r = 0*, и плоскости *z = 0* и *z = L* расположены на плоскостях пьезопреобразователей *N1* и *N2*, соответственно.



Нормальная составляющая скорости колебания и давление предполагаются непрерывными на стенках ячейки. Граничные условия, поэтому выглядят как , если нормальные акустические импедансы образца и стенок вводятся как .



Выразим *ZS* через *Φ*, используя уравнение Гельмгольца и учитывая, что имеется силовая скорость колебания *w0* электрически возбужденного преобразователя *N1*. С другой стороны, *Zw* может быть выражен через удельную акустическую входную проводимость

.

Граничные условия тогда можно записать в виде

 для *z=0*

 для *z=L, r≤R* (2.15)

 для *0≤z≤L, r=R*

Радиус пьезопреобразователя *RN* примерно равен радиусу ячейки *R*. Индексы 1 и 2 относятся к пьезопреобразователям и стенкам ячейки, соответственно.

*β2* для металлической стенки не определено, но должно быть реальной величиной. Численное значение величины *β2* может быть получено из калибровочных измерений со средой с известной плотностью (например, с дистиллированной водой). Величина *β1* может быть вычислена. Ниобат лития z – среза возбуждает только продольные волны вдоль оси z, амплитуда которых может слегка меняться по поверхности кристалла, что может быть описано с помощью потенциала в виде

, (2.16)

который является соответствующим решением уравнения (2.14) с *kN* для волнового числа кристалла. Распределение амплитуды и фазы по поверхности кристаллов, описываемое функцией *P(r)*, целиком определяется поведением колеблющегося столбика жидкости. Величины *g1* и *g2* определяются подбором импедансов задней поверхности кристаллов импедансу кристаллодержателя *ZH*.

Ультразвуковой потенциал Ψ подразумевает одну волну, идущую влево и одну, идущую вправо. Для Ψ отношение  вычисляется на задней стороне пьезопреобразователя *N1* (т. е. при *z=-LN*) и устанавливается равным *ZH* – импедансу кристаллодержателя, тогда

, (2.17)

где *LN* – толщина пьезопреобразователей. Подставим (2.17) в выражение (2.16), предполагая распределение волн в кристалле без потерь так, что  и , где *kN* – действительной число,  - основная частота пьезопреобразователей, величина *β1* может быть вычислена при *z=0*. Получаем

, (2.18)

где .

Трехмерное распространение волны внутри ячейки может быть определено с помощью вычисления соответствующей функции Грина *G(r,z;r0,z0)* волны, генерируемой вдоль кольца с координатами r0, z0. Эта функция является решением уравнения:

 (2.19)

где δ – дельта – функция с граничными условиями

. (2.20)

Поскольку потенциал Φ ультразвукового поля, генерируемого пьезоизлучателем *N1*, должен удовлетворять (2.14) и (2.15), то

. (2.21)

Поскольку в акустической ячейке пьезопреобразователем из ниобата лития *z* – среза возбуждается только продольная волна, электрически возбуждаемое колебание *w0* *N1* будет однородным и может быть записано в виде:

 (2.22)

*Ψ(ω)* – фактор связи между напряжением *U0*, приложенным к *N1* и скоростью возбужденного колебания.

Исходя из (2.13) и (2.21), была вычислена скорость колебания поверхности пьезоприемного кристалла ниобата лития. *wr* – z составляющая будет создавать локальный отклик напряжения

, (2.23)

где *ξ(ω)* – фактор связи на пьезоприемном кристалле.

Выражения для *Ψ* и *ξ* использованы из литературы [25]:



,

где  ; ; ; ; .

*LN* – толщина кристалла; *C0*, *CL* – емкость клеммы и емкость электрической нагрузки; *d* – пьезомодуль ниобата лития.

Индексы *s* и *N* относятся к образцу и ниобату лития соответственно. Импеданс  принят равным 0.

Измеренная величина выходного напряжения *Uh* является результатом усреднения по поверхности приемного пьезопреобразователя *N1*:

. (2.24)

Вычисляя в соответствии с формулами (2.13), (2.21) и (2.24), *Ф*, *w* и *U*, можно получить полную функцию переноса. После преобразования комплексных *exp* в *sin* и *cos* и подстановки *z=0* и *z=L*, получим следующее выражение [26]:

 (2.25)

Во всех случаях, представляющих экспериментальный интерес, будем рассматривать сумму, ограниченную *N* членами. Каждое выражение в (2.25) представляет собой моду с *(n-1)* плоскостями с радиальной симметрией и характеризуется амплитудой

 (2.26)

и величиной

, (2.27)

которая описывает резонансное поведение рассматриваемой моды. Для частоты *f*, равной резонансной частоте цилиндрической ячейки, величина *Dn* будет малой, но ограниченной. Для того, чтобы вычислить эти резонансные частоты, мы должны исследовать минимумы величины *|Dn(f, α)|*. Примем обозначение ** вместо *μn*, т. е. ** – волновое число, соответствующее резонансным частотам *fj* и минимуму *Dn*, следовательно, ** должна определяться уравнением:

 (2.28)

Из (2.28) следует, что ** зависит от длины акустической ячейки, плотности жидкости, акустического импеданса пьезопреобразователей и резонансной частоты ячейки и не зависит от поглощения ультразвука.

Решая уравнение (2.28) методом итерации для акустической ячейки с водой, когда длина ячейки *L*=5 мм, основная частота пьезопреобразователей *fN*=10 МГц, получим реальную ** и мнимую части; соответствующие графики представлены на рис. 2.8.

5,4 6,6 7,8 9,0 10,2 11,4 12,6 13,8 15,0 *f(МГц)*

-μ” м-1

3,12

2,23

1,34

0,45

-0,44



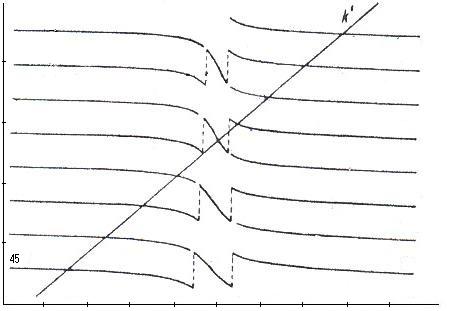
5,4 6,6 7,8 9,0 10,2 11,4 12,6 13,8 15,0 *f(МГц)*

40

34

28

22



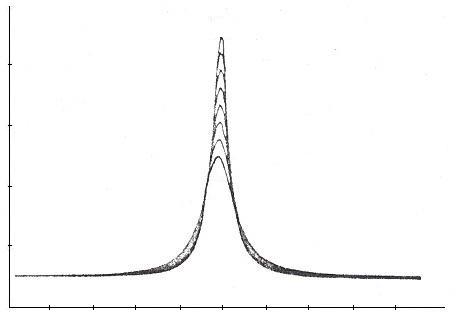


Рис. 2.8.

Около основной частоты пьезопреобразователей *fN* реальная часть ** имеет два скачка, а мнимая часть резко возрастает на этих частотах, в то время как на частотах, отстоящих от основной частоты пьезопреобразователей *fN* на 0,5 МГц выше и ниже, величина  на 4 порядка меньше **.

Случай *n=1* в выражении (2.28) имеет наибольший практический интерес, так как вклад в *Uh* в этом случае преобладающий. Для небольших величин поглощения ультразвука и, пренебрегая зависимостью от частоты величин *ψ*, *ξ* и β1, эта мода приводит к резонансным пикам, описываемым выражением [26]:

. (2.29)

где *dj* и *ej* – реальная и мнимая части выражения:

.

Величины *dj* и *ej*, определяемые таким образом, могут быть записаны в форме:

 (2.30)

 (2.31)

(u имеется в виду u1). *ej*практически не зависит от частоты. Уравнение (2.29) определяет функцию Лоренца и резонансное условие *dj=0*. Ширина резонансного пика на уровне половинной мощности вычисляется из условия . Используя обозначение *k’j*для резонансного волнового числа с *dj=0* и  для волнового числа при частоте на уровне половинной мощности резонансного пика, где  (т.к. только *k’* и *μ*’*j* дают существенный вклад в частотную зависимость *dj*), получим два условия:

 (2.32)

при резонансной частоте *fj* и

 (2.33)

на частоте, соответствующей половинной мощности выхода. Величина  определяется уравнением (1.2.30), величину *u-* определим из условий [31]:

, (2.34.1)

. (2.34.2)

Соотношения (2.32) и (2.33) являются фундаментальными уравнениями цилиндрического резонатора для продольных плоских волн. Авторами [31] показано, что резонансные моды выше первой дают минимальный вклад в функцию *Uh*, в частности, для второй моды при *RN~R* вклад составляет не более 3 %, для третьей – 0,5 %, для четвертой – 0,1 % и далее ниже.

Из резонансного условия (2.32) для скорости ультразвука получаем следующее выражение:

, (2.35)

если пренебречь малыми величинами *α2*,  и *u”2*, а *u’* выразить в соответствии с уравнениями (2.34).

Из уравнения (2.33) поглощение на длину волны можно выразить как:

, (2.36)

если пренебрегаем , *β2* – удельный входной импеданс стенки ячейки.

В соответствии с уравнением (2.36) три процесса дают вклад в ширину резонансного пика на уровне половинной мощности:

первый – поглощение в жидкости *α*,

второй – диссипация энергии, вызванная дифракцией ультразвукового луча, эта часть потерь дается выражением ,

третий – потери ультразвуковой энергии на задней поверхности пьезопреобразователей, описываемые выражением .

Данные теоретические выкладки легли в основу для разработки методов определения параметров медико-биологических жидкостей. Все приведенные исследования медико-биологических жидкостей проводились на акустической безреагентной системе «БИОМ». Внешний вид прибора представлен на рис. 2.9.



Рис. 2.9. Акустический безреагентный анализатор «БИОМ»

Работа прибора основана на том, что столбик исследуемой жидкости, находящейся в цилиндрической полости между двумя пьезопреобразователями (рис.2), является механическим резонатором, собственные частоты которого линейно связаны со скоростью ультразвука в исследуемой среде. Измерение скорости ультразвука в жидкости, заполняющей ячейку, сводится к определению частоты заданного резонансного пика по максимуму амплитудно-частотной характеристики. Одновременно измеряется ширина резонансного пика на уровне 0,707 от максимума амплитуды или крутизна фазово-частотной характеристики в точке перегиба, связанные с величиной поглощения ультразвука [3].

Анализатор предназначен для определения концентрации веществ в водно–солевых растворах методами биофизической акустики путем измерения резонансных частот растворов. Анализатор также позволяет количественно определять концентрацию солей и других химических соединений. В частности, прибор используется для исследования крови. Для выполнения акустического анализа сыворотка крови помещается в акустические ячейки анализатора (рис. 2.10).



Рис. 2.10. Термостатируемый интерферометр постоянной длины

В ячейках осуществляется частотное и температурное сканирование образцов. Полученная информация в виде акустического спектра (зависимости скорости и поглощения ультразвука от частоты при различных температурах) передается с анализатора в персональный компьютер, где обрабатывается с помощью специальных программ многопараметрического анализа, позволяющих из сложного акустического спектра выделить:

- параметры липидного обмена (холестерин общий, триглицериды и холестерин липопротеидов высокой плотности)

- параметры белкового обмена (общий белок и белковые фракции – альбумин, α1-, α2-, β-, γ-глобулины).

### 2.4.2. Акустический метод определения общего белка, белковых фракций сыворотки крови человека на анализаторе «БИОМ»

Акустические исследования биологических жидкостей позволяют изучать тонкие структурные характеристики и гидратацию биологических макромолекул в растворе, их межмолекулярные взаимодействия и конформационные перестройки биополимеров [21, 22]. На основе этой информации при использовании определенных модельных представлений возможно анализировать состав сложных биологических жидкостей, таких как сыворотка крови, желудочный сок, слюна и т. д. Систематические акустические исследования биологических жидкостей, взятых у пациентов с различными заболеваниями, стали возможными с появлением прецизионного резонаторного метода измерения скорости и поглощения ультразвука в малых (менее 100 мкл) объемах жидкости с разрешением по скорости порядка 10-6 и по поглощению порядка 10-2 .

В настоящее время в медицинской лабораторной практике применяется большое количество методов определения биохимических показателей сыворотки крови: фотометрические, турбодиметрические, электрофоретические и т.д. [27, 28]. Все эти методы предполагают применение реактивов, а это значит, что исследования находятся в зависимости от наличия, стоимости и качества диагностических наборов. Более того, реагенты добавляют дополнительный этап в измерительную процедуру, что неизбежно сопровождается увеличением погрешностей лабораторных исследований. Для определения некоторых биохимических параметров требуется достаточно длительное время проведения анализа. При этом каждая из известных методик исследования биохимических показателей предназначена для определения только одного из компонентов сыворотки крови. Не существует единого метода определения сразу нескольких биохимических показателей в одном образце крови.

Многие физиологические и патологические процессы в организме протекают при непосредственном участии белков. Белки поддерживают коллоидно-осмотическое давление плазмы крови, осуществляют транспорт многих эндо- и экзогенных веществ (гормонов, липидов, лекарственных средств), являются ферментами, факторами свертывания крови и так далее. И хотя на сегодняшний день возможна идентификация и количественное определение многих индивидуальных белков, определение общего белка сыворотки крови по-прежнему актуально в скрининговых исследованиях.

Важным тестом является и фракционирование белков, так как при многих состояниях возникает диспротеинемия, т.е. состояние, которое характеризуется сохранением концентрации общего белка в диапазоне нормальных значений при изменении соотношения между различными белковыми фракциями. В этой ситуации очевидна необходимость проведения биохимического скрининга для распределения белковых фракций. В некоторых странах эта задача решается при помощи электрофоретического разделения белковых фракций сыворотки крови. Однако в нашей стране этот метод не получил широкого распространения ввиду трудоемкости и дороговизны и фактически как скрининг не применяется. В связи с этим, перспектива появления нового метода с целью биохимического скрининга диспротеинемий вполне актуальна.

Сыворотка крови является сложной биологической жидкостью, содержащей множество компонентов, необходимых для жизнедеятельности организма человека. Важнейшими компонентами сыворотки крови являются глобулярные белки. Их вклад в суммарные акустические характеристики наиболее значителен (до 90 %) из-за высокой концентрации в сыворотке крови (75 – 85 г/л) в норме [29].

Под определением «общий белок» сыворотки крови понимается большое количество белков, различающихся по структуре и функциям. Концентрация общего белка в сыворотке зависит как от физиологических факторов (возраст, пол, питание, климат, физическая нагрузка, прием лекарственных препаратов), так и от патологических (нарушение синтеза белков в печени, потери белка, например при заболевании почек). Повышение концентрации общего белка возникает достаточно редко (при обезвоживании организма, заболевания системы крови (миеломная болезнь) и т. д.), чаще происходит снижение концентрации общего белка (заболевания печени, почек, кровотечения, ожоги и т. п.). Еще чаще возникает нарушение соотношения отдельных белков. В таком случае определение концентрации общего белка не выявит патологии, поэтому важным является анализ отдельных фракций.

Определение белковых фракций традиционным методом выполняется с помощью электрофоретического разделения исследуемой сыворотки, помещенной в камеру с буферным раствором, через который пропускают электрический ток определенной силы при напряжении приблизительно 300 В [47]. В зависимости от электрического заряда и других физических и химических свойств белковые фракции передвигаются к одному из полюсов. В качестве поддерживающей среды при электрофорезе применяют бумагу, пленки ацетата целлюлозы, гели крахмала, агара и комбинированные среды. Оценку результатов производят фотометрически или на денситометре (пример приведен на рис. 2.11) [29].

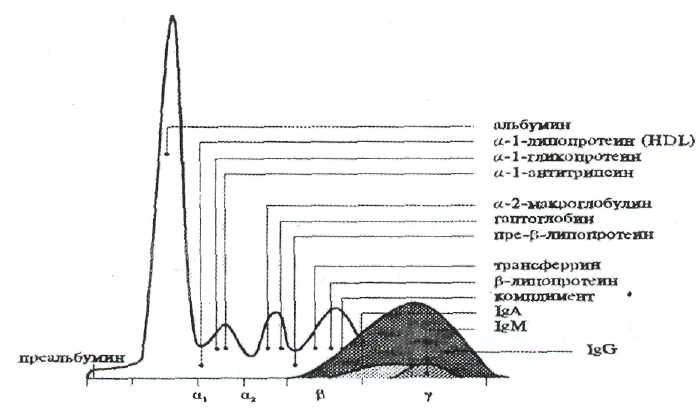


Рис. 2.11. Электрофоретическое разделение белков сыворотки крови

Недостатками электрофоретического метода разделения белковых фракций сыворотки крови являются химическая неоднородность поддерживающей среды, большая продолжительность процессов разделения, окрашивания, отмывания (в случае использования бумаги это 24-36 часов, ацетата целлюлозы - 1-2 часа). Кроме того, для определения процентного содержания белковых фракций сыворотка крови подвергается электрическому (пропускание достаточного сильного электрического поля через сыворотку), физическому (проникновение через поры бумаги или пленки ацетата целлюлозы), а также химическому (связывание со специальными красителями для идентификации) воздействию, что ведет к значительному изменению белков.

Для разработки акустического метода определения общего белка и белковых фракций сыворотки крови были исследованы частотные и температурные зависимости скорости и поглощения ультразвука в этой биосреде [28]. В результате исследований было установлено, что скорость ультразвука в диапазоне 3 – 15 МГц возрастает линейно с частотой. Причем частотное поведение сывороток пациентов с различными патологиями одинаково.

Температурная зависимость скорости ультразвука в сыворотке крови имеет больший запас чувствительности к изменению свойств и состава сыворотки крови. Изменение скорости ультразвука в сыворотке крови в диапазоне (15 – 40)ºС представляет собой линейную зависимость с отрицательным tg угла наклона в среднем 0,23\*10-3/ºС при точности измерений относительного изменения скорости ультразвука ~ 3\*10-6. Поэтому было целесообразно при разработке акустического способа определения белковых фракций использовать данные измерений скорости ультразвука в сыворотке крови при различных температурах, конкретные значения которых были выбраны после серии исследований сывороток с различным спектром белковых фракций.

Для определения общего белка было измерено поглощение ультразвука в сыворотке крови при определенной температуре из диапазона (15-40)°С и концентрацию общего белка определяют по формуле: , где  – концентрация общего белка в г/л;  - относительное поглощение ультразвука в сыворотке крови относительно дистиллированной воды;  – концентрационный коэффициент поглощения для общего белка.  определяли общепринятым образом с помощью калибровки интерферометра по водным растворам альбумина различной концентрации из диапазона от 10 до 160 г/л (в данном диапазоне зависимость акустических свойств растворов от концентрации белка линейна).

Акустический метод определения белковых фракций базируется на исследованиях скорости ультразвука в сыворотке крови и в двух модифицированных сыворотках, полученных с помощью воздействия на сыворотку разработанными растворами [30]. Предполагалось, что белковые фракции дают аддитивный вклад в относительные изменения скорости ультразвука в сыворотке крови и двух модифицированных сыворотках, одна из которых не содержит *γ* - глобулин, а другая *β* - и *γ* - глобулины. Принимая во внимание минимальное влияние низкомолекулярных компонентов сыворотки крови[[1]](#footnote-2) на скорость ультразвука в этих биологических средах, для определения процентных долей в сыворотке крови - альбумина, - *α1* - глобулина, - *α2* – глобулина, - *β* - глобулина, - *γ* - глобулина использовалась следующая система линейных уравнений:

 (2.37)

Здесь , , , , - концентрационные коэффициенты скорости ультразвука для альбумина, α1-, α2-, β- и γ- глобулинов соответственно при температуре *T1* в сыворотке крови; , , , , - концентрационные коэффициенты скорости ультразвука для альбумина, α1-, α2-, β- и γ- глобулинов соответственно при температуре *T2* в сыворотке крови;

, , , - концентрационные коэффициенты скорости ультразвука для альбумина, α1-, α2- и β- глобулинов в модифицированной сыворотке №1 при температуре *T1*; , , - концентрационные коэффициенты скорости ультразвука для альбумина, α1- и α2- глобулинов в модифицированной сыворотке №2 при температуре *T2*.

*ϕ1,2* – относительные изменения скорости ультразвука в сыворотках крови при температурах *Т1* и *Т2* соответственно:

, (2.38)

где  – скорость ультразвука в исследуемых сыворотках.

*ϕ3,4* – относительные изменения скорости ультразвука в модифицированных сыворотках при температурах *Т1* и *Т2* соответственно:

, (2.39)

где  – скорость ультразвука в исследуемых модифицированных сыворотках.

Очевидно, что самым сложным в построении данной системы уравнений было определение концентрационных коэффициентов при неизвестных, причем таких, которые удовлетворяли большинству патологических сывороток. Методология получения концентрационных коэффициентов скорости ультразвука для определения белковых фракций согласно системе уравнений (2.37) базируется на исследованиях белковых растворов как высокоочищенных белков (например, альбумина, γ - глобулина), так и белковых растворов, приготовленных из сыворотки крови путем селективного осаждения определенных белковых фракций. В последующем коррекция некоторых коэффициентов выполнялась с помощью сравнительных исследований образцов сыворотки крови электрофоретическим и акустическим методами для определенных патологических состояний, таких как воспалительный синдром, заболевания почек, миеломная болезнь.

При определении общего белка на аппарате «БИОМ» была выполнена проверка воспроизводимости (внутрисерийной и аналитической), правильности (сравнением с контрольными сыворотками Serodos и Serodos plus, Human, Германия) и чувствительности акустического метода определения общего белка на аппарате «БИОМ». В качестве метода сравнения использовался биуретовый метод определения концентрации общего белка в сыворотке крови. Был проведен регрессионный анализ и рассчитан коэффициент корреляции для оценки связи показателей, полученных двумя методами. Получена высокая степень корреляции (*r*=0,97) для выборки *n*=80 (количество проб). Все полученные значения соответствуют нормам аналитической точности клинических лабораторных исследований. Чувствительность акустического метода определения общего белка на приборе «БИОМ» менее 10 г/л в интервале концентраций общего белка 10 – 150 г/л. Анализ полученных данный свидетельствует, что результаты вполне удовлетворяют нормам аналитической точности клинических лабораторных исследований.

При исследовании контрольной сыворотки (Human) на акустическом приборе и электрофоретическим методом на аппарате «Paragon» установлено, что различия для альбумина, α1-,α2- и γ- глобулинов находятся в пределах, указанных в паспорте на контрольные сыворотки, а для β- глобулинов несколько выше, чем указано в паспорте на контрольные сыворотки.

При проведении сравнительных исследований сыворотки крови для разных групп пациентов методом электрофореза и акустическим методом установлена высокая степень корреляции изменений альбумина, *α1* -, *α2* - и *γ* - глобулинов (*r* = 0.95, 0.92, 0.65, 0.64 соответственно).

### 2.4.3. Акустический метод определения липидного спектра сыворотки крови человека на анализаторе «БИОМ»

Вопросы профилактики болезней системы кровообращения – ведущей причины смертности во всех индустриально развитых странах – уже несколько десятилетий занимают как теоретическую медицину, так и врачей практиков. Среди многих факторов риска развития болезней системы кровообращения важнейшими являются гиперлипидемия и гиперхолестеринемия, т. е. повышенное содержание липидов в сыворотке крови. Многочисленными исследованиями показано, что обязательным является определение помимо холестерина общего (*Хоб*) еще холестерина липопротеинов высокой плотности (*ХЛПВП*), холестерина липопротеинов низкой плотности (*ХЛПНП*) и триглицеридов (*ТрГ*). Всем взрослым людям старше 20 лет каждые 5 лет необходимо выполнять исследование липидного спектра сыворотки крови. У каждого человека содержание липидов меняется изо дня в день и от недели к неделе. Поэтому даже в хорошо оборудованной лаборатории показатели у одного же больного в разное время могут значительно отличаться. Следовательно, при выборе лечения необходимо принимать во внимание результаты двух или большего числа измерений. Тесты для определения *Хоб* просты и сравнительно недороги. Но исследование *ТрГ* и холестерина в липопротеинах различной плотности – полная липидограмма – в зависимости от методов исследования становится достаточно дорогим анализом.

Разработка акустического безреагентного метода определения липидных компонентов сыворотки крови человека базировалась на исследованиях частотных зависимостей поглощения ультразвука и температурных зависимостей скорости ультразвука в растворах белков и сыворотке крови, содержащей разное количество белка и липидных компонентов [31]. На рис. 2.12 представлены результаты исследования а) температурной зависимости относительного изменения скорости ультразвука и б) частотной зависимости поглощения на длину волны для трех типов сывороток крови при одинаковом (66 г/л) содержании общего белка и различном содержании липидных компонентов:

1 – нормальном (*Хоб* = 4 ммоль/л, *ХЛПВП*= 1,37 ммоль/л, *Трг* = 0,9 ммоль/л);

2, 3 – патологических (2 - *Хоб* = 5,8 ммоль/л, *ХЛПВП* = 1,00 ммоль/л, *Трг* = 1,9 ммоль/л;

3 - *Хоб* = 7,4 ммоль/л, *ХЛПВП*= 0,80 ммоль/л, *Трг* = 3,7 ммоль/л).

|  |
| --- |
|  |
| Рис. 2.12 а) температурная зависимость изменения относительной  скорости ϕ ультразвука  б) частотная зависимость поглощения на длину волны αλультразвука |

Анализ результатов исследований сывороток крови с различными значениями липидных компонентов позволил выявить четкие закономерности акустических характеристик (скорости и поглощения ультразвука) от липидного состава сыворотки. Предполагая, как и в случае белковых фракций, аддитивность вклада отдельных липидных компонентов в температурные зависимости скорости ультразвука, а также в частотные и температурные зависимости поглощения ультразвука на длину волны, определялась концентрация липидных компонентов сыворотки крови - холестерина общего (), холестерина липопротеинов высокой плотности () и триглицеридов () из следующей системы уравнений:

, (2.40)

где  – температурный коэффициент скорости ультразвука в сыворотке крови;

 - температурный коэффициент поглощения ультразвука в сыворотке крови;

- частотный коэффициент поглощения ультразвука в сыворотке крови;

*ξТ1*– коэффициент поглощения ультразвука в сыворотке крови при температуре *Т1* из диапазона (15 – 40)°С; *ξТ2* – коэффициент поглощения ультразвука в сыворотке крови при температуре *Т2* из диапазона (15 – 40)°С; *ξf1*- коэффициент поглощения ультразвука в сыворотке крови при частоте *f1* из диапазона 4 – 9 МГц; *ξf2* - коэффициент поглощения ультразвука в сыворотке крови при частоте *f2* из диапазона 4 – 9 МГц;

, ,  - концентрационные коэффициенты *δϕT* в сыворотке крови для Хоб, ХЛПВП, Трг соответственно;

, ,  - концентрационные коэффициенты *δξТ* в сыворотке крови для Хоб, ХЛПВП, Трг соответственно;

, ,  - концентрационные коэффициенты *δξf* в сыворотке крови для Хоб, ХЛПВП, Трг соответственно.

 определяется по формуле Фридрексона: , где , что справедливо для *СТрГ* < 4,5 ммоль/л. Процент пациентов, у которых значение *СТрГ* > 4,5 ммоль/л, составляет величину не более 0,1 % от общего числа пациентов с нарушениями липидного обмена.

Величины концентрационных коэффициентов в системе уравнений для определения липидных компонентов сыворотки крови (холестерина общего, холестерина липопротеидов высокой плотности, триглицеридов и холестерина липопротеидов низкой плотности) определяли общепринятым образом после выбора температур *Т1* и *Т2* (*Т2* > *Т1*) и частот *f1*и *f2* (*f2*>*f1*) с использованием сывороток с известными значениями липидных компонентов, например сывороток крови Serodos фирмы Human (Германия). Для сывороток с *СТрГ* > 4,5 ммоль/л были получены уточненные значения коэффициентов в системе (3.2.1) путем сопоставительных исследований акустического и традиционного биохимических методов.

Для ежедневного контроля качества в биохимических исследованиях помимо контрольных сывороток с известными значениями биохимических компонентов используются специальные калибраторы на каждый компонент. Для акустического метода определения параметров липидограммы были разработаны калибраторы на основе глицерина и неорганических солей, которые позволяют ежедневно контролировать два уровня липидов: нормальный и патологический (патологический уровень липидов соответствует повышению холестерина общего, холестерина липопротеинов низкой плотности и триглицеридов и понижению холестерина липопротеинов высокой плотности). Разработанные калибраторы стабильны и воспроизводимы, что является принципиально важным для аналитического определения липидных компонентов сыворотки крови акустическим методом.

Воспроизводимость определения параметров липидограммы (определение холестерина общего, холестерина ЛПВП, холестерина ЛПНП и триглицеридов) производили в сыворотке больных с различным содержанием липидов и контрольных сыворотках «Serodos» фирмы Human (Германия). Средние коэффициенты вариации и величины смещения были ниже предельно допустимых значений для показателей липидного обмена, рекомендуемых соответствующими документами Минздравсоцразвития РФ. Для оценки правильности определения липидных компонентов были использованы контрольные сыворотки «Serodos» фирмы Human (Германия) и проведены сопоставительные исследования акустического метода определения липидных компонентов сыворотки крови с традиционными биохимическими методами.

Для определения липидных компонентов традиционными методами используют ферментативные методы с последующим фотометрированием результата реакции (*Хоб*, *ТрГ*) и методы осаждения с последующим фотометрированием надосадочной среды (*ХЛПВП*, *ХЛПНП*) с целью определения концентрации нужного компонента . К недостаткам данных методов относятся методические трудности ферментативного определения холестерина общего из–за гетерогенности распределения холестерина общего между липопротеинами и необходимостью полного расщепления эфиров холестерина общего. Некоторые компоненты сыворотки крови могут оказывать влияние на результаты определения холестерина общего. Способ определения холестерина липопротеинов высокой и низкой плотности обладает низкой точностью, что обусловлено имеющей место повышенной мутностью надосадочной жидкости, приводящей к дополнительному светорассеянию, которая искажает результат определения нужных компонентов.

Данные исследования были проведены на биохимическом анализаторе Hitachi 917 в Центральном Военном госпитале Бурденко (г. Москва), на биохимическом анализаторе Konelab на кафедре лабораторной диагностики Ставропольской государственной медицинской академии, на биохимическом анализаторе Olimpus в частной клинико-биохимической лаборатории «Гематес» (г. Нижний Новгород), в больнице им. Боткина, Кардиологическом научном центре и в клинико-диагностическом отделении Нижегородского областного медицинского диагностического центра (г. Нижний Новгород). В общей сложности была исследована сыворотка крови 730 пациентов. Результаты сопоставительных исследований во всех указанных медицинских учреждениях имеют по всем измеренным липидным компонентам коэффициенты корреляции от 0,73 до 0,85, что соответствует высокой корреляционной связи, достаточной для правильной диагностики нарушений липидного обмена. Статистическая обработка данных показала, что средние величины смещения находятся в пределах допустимых значений для показателей липидного обмена.

### 2.4.4. Акустический метод определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ) на анализаторе «БИОМ» при воздействии рабиациононй силы

При исследовании цельной крови человека сложилась следующая ситуация. Для анализа клеток с высокой точностью в небольшом объеме с 50 – х годов двадцатого века применяется технология автоматического анализа крови в гематологических анализаторах, что позволяет подвергать исследованию сразу большое количество клеток крови одного пациента. Однако до сих пор сохраняются ручные методы подсчета клеток крови в счетных камерах под микроскопом, что является трудоемким процессом с большим источником ошибок. Более того, не существует методов одновременного определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и показателей красной крови.

Диапазон применения акустической радиационной силы достаточно широк, включает в себя визуализацию упругости, акустический пинцет, увеличение чувствительности биосенсоров и иммунохимические тесты.

Еще в 19 веке было известно, что объект в звуковом поле подвергается воздействию радиационной силы. В классическом эксперименте A. Kundt и O. Lehmann частицы пыли в трубке подвергали воздействию поля стоячей волны [32]. Частицы пыли собирались в нескольких линиях вдоль трубки, разделенных расстоянием, соответствующему половине длины звуковой волны. К. Sollner (1936 г.) показал, что частицы в водной суспензии в поле стоячей ультразвуковой волны подвергаются воздействию аксиальной радиационной силы, которая в зависимости от свойств частиц двигает их в направлении узлов давления или, наоборот, в узлы скорости.

Биомедицинское значение этого эффекта было впервые продемонстрировано в 1971 M. Dyson, B. Woodward и J.B. Pond, которые обнаружили, что красные кровяные тельца в кровеносных сосудах в естественных условиях могу собираться в стоячих акустических волнах на расстоянии половины длины волны [33].

Другое применение радиационной силы имеет долгую историю - измерение интенсивности ультразвука в жидкостях, использующее баланс радиационной силы. Концепция баланса радиационной силы была спрогнозирована и затем экспериментально доказана R.W. Wood и A.L. Loomis в 1927 году. Первая работа, рассказывающая о значимости практического применения, была опубликована в 1929 году [34]. Описанная в этой работе система стала прототипом самого общего инструмента для калибровки терапевтических датчиков. Детальный анализ физических основ биомедицинских приложений ультразвуковой радиационной силы были проведены в многочисленных обзорах и оригинальных статьях W.L. Nyborg, опубликованных с середины шестидесятых годов двадцатого века [35, 36].

Глобальный интерес к биомедицинским приложениям акустической радиационной силы зародился в 80-ые годы двадцатого века и продолжается по сей день, в частности, применениерадиационной силы в медицинской диагностике [37 – 39].

Широкая область применения радиационной силы сосредоточена на медицинской диагностике, позволяющей определить вязкоэластичные свойства биологических тканей и жидкостей, а в особенности определение эластичности. Радиационная сила сфокусированного ультразвукового излучения выступает в роли «виртуального пальца» для дистанционного исследования внутренних анатомических структур и получения диагностической информации. Определение эластичности – одна из самых быстро развивающихся областей медицинского ультразвука.

Возможности применения радиационной силы сфокусированного ультразвука для стимуляции нервных окончаний были широко изучены, начиная с 70-ых годов двадцатого века Л.Р. Гавриловым [40] и позднее D. Dalecki [41].

Акустическая радиационная сила – усредненная по периоду сила, проявляющаяся на среднем давлении звуковой волной. Радиационная сила может быть получена благодаря разным физическим эффектам:

1. Изменение плотности энергии в распространяющейся волне ввиду поглощения и рассеивания.
2. Пространственное различие в плотности энергии в стоячей акустической волне.
3. Отражение от включений, стенок или других поверхностей.
4. Пространственное изменение в скорости распространения.

Первый из перечисленных механизмов генерации радиационной силы был тщательно изучен С. Eckart, который вывел уравнения для средней силы и движения в однородных вязких жидкостях [42]. Этот механизм является основой метода определения эластичности с помощью радиационной силы сфокусированного ультразвука. Второй механизм генерации радиационной силы в стоячих акустических волнах, который впервые был продемонстрирован в экспериментах A. Kundt, является основным широко используемым в приложениях, связанных с управлением частицами.

Классический пример третьего механизма – одно из старейших приложений радиационной силы – баланс радиационной силы ультразвука, предложенный R.W. Wood и A.L. Loomis [34]. Этот механизм основа многих приложений, использующих вибро-акустографический принцип. Четвертый механизм обеспечивает генерацию радиационной силы в среде без затухания или отражения ультразвука. Изменения в скорости звуковой волны в среде приводит к изменению плотности энергии в распространяющейся волне. Завися от знака градиента плотности энергии, полученная радиационная сила может иметь направление по направлению распространения волны и против ее распространения. Как результат, твердое включение в среду будет сжато, в то время как более мягкое включение будет протянуто вдоль оси ультразвукового луча.

Радиационная сила возникает из-за нарушения непрерывности фазы распространения волны, например из-за наличия в среде частиц, клеток, пузырьков воздуха, что приводит к возникновению зависящего от положения объекта акустического потенциала [43]. Суспендированные частицы имеют тенденцию концентрироваться в местах с минимальной потенциальной энергией (рис 2.13) [44].

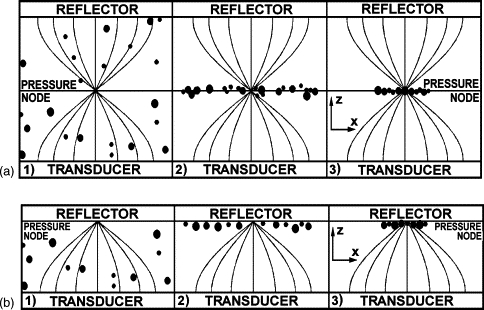


Рис. 2.13. Схема распределения эритроцитов в поле стоячей акустической волны под действием радиационной силы с течением времени

Радиационная сила является результатом нелинейного эффекта усредненного по времени радиационного давления вокруг объекта в звуковой волне, известного также как усредненное по времени акустическое давление Бернулли [45]. Следуя теоретическим выкладкам Л.П. Горького [46], который получил потенциальную функцию *U* для средней по времени радиационной силы, действующей на сферический объект радиуса r в поле стоячей волны

, (2.41)

где *V* – объем сферы , *Еп*и *Екин* – усредненные по времени плотности потенциальной и кинетической энергий. Плотности энергии даются выражениями: , , где  и  - среднеквадратические флуктуации падающего давления и скорости акустического поля в точке, где находится объект, *ρ0* и *с0* – плотность и скорость звука (фазовая) в среде.

Скорость *v* акустического поля относится к скорости осциллирующего элемента среды акустической волны. Множители *f1* и *f2* являются безразмерными и даются выражениями: , , где *ρ* и *с* – плотность и скорость звука в веществе сферы. В случае твердой сферы, . Уравнение справедливо при определенных условиях для размера сферы, а именно: *r>>λ, r>>s0*, где *λ* – длина волны звука в среде и *s0* – амплитуда смещения элемента среды.

Если геометрия акустического поля известна, акустическая радиационная сила на сферический объект может быть получена из выражения: .

Таким образом, сила на сферический объект дается отрицательным градиентом потенциальной функции *U*. Стабильная точка расположена в положении локального минимума потенциальной энергии, удовлетворяя условию *F=0*. Если рассматривать действие только аксиальных сил, для гармонического звукового источника воздействия *F = F(z)* дается выражением:

. (2.42)

Выражение показывает, что радиационная сила изменяется пространственно с периодом *λ/2*. Сила пропорциональна интенсивности *I* звуковой волны через .

При разработке акустического метода определения СОЭ изучалось влияние радиационной силы в поле стоячей ультразвуковой волны в интерферометре постоянной длины малого объема (анализатор «БИОМ») на эритроциты человека в цельной крови.

Красные кровяные тельца, или эритроциты, имеют форму двояковогнутого диска 7 – 8 мкм в диаметре и 1 – 2 мкм в толщину (рис. 2.14) [45].

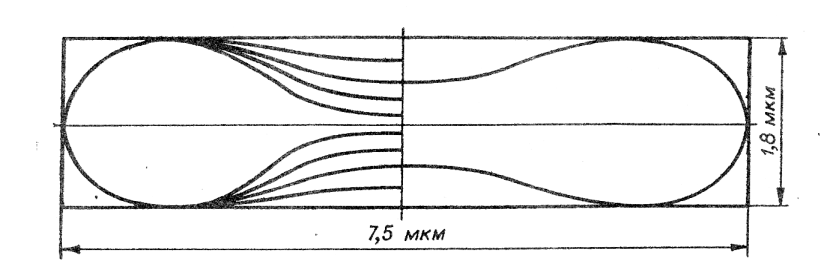


Рис. 2.14. Профильный разрез эритроцита по плоскости, проходящей

через ось вращения

В отличие от большинства клеток они лишены ядра. Упругий внутренний «каркас» поддерживает дискообразную форму, но дает возможность клетке сгибаться и перекручиваться при прохождении по тем кровеносным сосудам, просвет которых меньше ее диаметра. Эритроциты не способны активно передвигаться – они просто плывут в потоке крови, двигаясь под действием нагнетающей силы сердца. У взрослого человека кровь содержит в среднем около 5,2 млн. эритроцитов на 1 мм3. Для сравнения количество лейкоцитов в норме – 5000 на 1 мм3. Поскольку число эритроцитов в кубическом миллиметре крови является одним из важных факторов, определяющих общее состояние здоровья, при всяком клиническом исследовании производят подсчет эритроцитов, а также скорость оседания эритроцитов (СОЭ).

Скорость оседания эритроцитов – показатель, входящий в общий анализ крови. Определение этого показателя активно проводится во всем мире с начала 20 – х годов двадцатого века. Международным комитетом по стандартизации в гематологии для определения СОЭ рекомендован метод Вестергрена. Однако в нашей стране более распространенным является метод Панченкова. В данном методе используют пипетки внутренним диаметром 1 мм, которые заполняют до высоты 100 мм стабилизированной капиллярной кровью (рис. 2.15).



Рис. 2.15. Пробирки для измерения СОЭ

Через час после заполнения измеряют высоту столбика чистой плазмы над столбиком оседающей красной крови и регистрируют значение СОЭ в мм/час. Метод Панченкова не удовлетворяет современным требованиям к лабораторным исследованиям, так как он имеет много источников ошибок, не автоматизирован, время анализа составляет порядка 1 часа.

При изъятии крови из кровеносных сосудов происходит изменение ее физико-химических свойств: кровь утрачивает свою динамику, на нее начинает действовать внешняя температура, свет, стенки сосуда и т. д. Влияние сил внешней среды приводит к нарушению физико-химических процессов, свойственных крови внутри кровеносных сосудов, и к появлению новых качеств, поэтому оседание эритроцитов представляет собою сложный процесс, протекающий в зависимости от ряда факторов.

Оседание тел в неподвижной жидкости в основном зависит от следующих геометрических и физических параметров: объема тела, его удельного веса, конфигурации, шероховатости, обтекаемости, формы начального движения тела, количества оседающих отдельных тел, их взаимного расстояния, поверхностного электрического заряда тела и т. д. При этом многие из указанных факторов претерпевают изменение в ходе самого оседания, что еще более осложняет течение процесса. Процесс оседания эритроцитов представляет собой не индивидуальное, а массовое оседание взаимодействующих и частично соприкасающихся одна с другой частиц.

В окружающем оседающие эритроциты пространстве существуют силовые поля: поле всемирного тяготения, сила сопротивления плазмы движению в ней тела, электрическое поле. Известно, что на поверхности эритроцитов сосредоточены электрические заряды отрицательной полярности. Таким образом, момент начала оседания эритроцитов обнаруживается тогда, когда сила электростатического отталкивания становится меньше силы тяжести, вынуждающей эритроцит к оседанию.

Известно, что скорость оседания эритроцитов не является постоянным параметром: в начале происходит ускорение, затем замедление оседания эритроцитов крови. Для объяснения механизма оседания эритроцитов обычно привлекают физико-химические модели, объясняющие этот процесс образованием конгломератов эритроцитов и оседанием конгломератов в соответствии с законом Стокса. По этому закону частица, плотность которой превышает плотность среды, оседает под действием силы тяжести с постоянной скоростью. Скорость оседания пропорциональна квадрату радиуса частицы, разнице ее плотности и плотности среды, и обратно пропорциональна вязкости среды. Отсюда различия в СОЭ крови объясняют разной вязкостью плазмы, различиями в размерах оседающих частиц и их конгломератов и в их плотности.

Постепенное замедление скорости оседания эритроцитов, наблюдаемое при длительном проведении опыта, объясняют увеличением вязкости и плотности жидкости в нижней части пипетки. Однако реальный ход оседания границы между красной кровью и чистой плазмой не согласуются с моделями этого типа. Уже с самого начала скорость движения границы между столбиком клеток и чистой плазмой непостоянна. Также можно отметить немонотонность оседания эритроцитов. Было обнаружено, что помимо начального ускорения оседания границы плазма – красная кровь на кривой зависимости скорости от времени наблюдается кратковременные периоды резкого ускорения – замедления ее движения.

В качества материала исследования использовалась цельная кровь пациентов Нижегородского областного клинического диагностического центра, взятая из локтевой вены натощак в специальные пробирки с антикоагулянтом (10 % трилон В). К 0,4 мл этой крови добавлялся 0,1 мл 5 % раствора цитрата натрия (это стандартное соотношение 4:1 при определении СОЭ). Параллельно у этих пациентов забиралась кровь в специальные пробирки для определения СОЭ по методу Вестергрена [24].

Под влиянием радиационной силы эритроциты собираются в узлы стоячей ультразвуковой волны и интенсивно агрегируют [47]. Результирующее поведение эритроцитов крови в поле стоячей ультразвуковой волны регистрируется как изменение во времени акустического параметра крови (АПК): , где *vкр* – скорость ультразвуковых волн в цельной крови.

В случае нормального значения СОЭ (от 2 до 20) зависимость АПК от времени имеет вид, представленный на рис. 2.16.



Рис. 2.16. Временная зависимость акустического параметра

при нормальном значении СОЭ (СОЭ = 12)

При патологии (воспалении в организме, опухоли, артрит и т.д.) эритроциты теряют заряд и агрегируют в узлах стоячей ультразвуковой волны интенсивно, в этом случае изменение во времени акустического параметра имеет вид, представленный на рис. 2.17.



Рис. 2.17. Временная зависимость *АПК*

при патологических значениях СОЭ

При исследовании явления ускорения оседания эритроцитов при воздействии радиационной силы на эритроциты цельной крови человека была обнаружена существенная зависимость величины изменения во времени акустического параметра *dAПК* от амплитуды сигнала, подаваемого на пьезопреобразователь. Данная зависимость представлена на рис. 2.18.



Рис. 2.18. Зависимость *dAПК* от амплитуды сигнала

Из представленной зависимости видно, что, начиная с определенной амплитуды сигнала, эритроцитарные агрегаты разрушаются, и процесс оседания эритроцитов замедляется.

Для статистического подтверждения обнаруженных закономерностей были проведены исследования образцов крови *N ~ 300* пациентов Нижегородского областного диагностического центра тремя методами: методом Вестергрена, методом Панченкова и акустическим методом [48]. Результаты, полученные каждым из методов, не имеют нормального или Гауссового распределения, например, распределение данных, полученных методом Вестергрена, представлено на рис. 2.19.



Рис. 2.19. Распределение данных по СОЭ (метод Вестергрена)

Аналогичные распределения получены для результатов определения СОЭ методом Панченкова и акустическим методом. Поэтому обработка данных с целью сравнения методов проводилась непараметрическими методами. Был выбран традиционный 5% уровень значимости (p-level) для попарного сравнения методов. Данные статистической обработки попарного сравнения методов по медианному тесту представлены в таблице 2.2.

Таблица 2.2

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Кол-во пациентов | p-level |
| W & А | 300 | 0,299758 |
| W & P | 300 | 0,009679 |

В таблице приняты следующие обозначения:

W- метод Вестергрена, А – акустический метод, Р- метод Панченкова.

Из таблицы видно, что данные, полученные методом Панченкова, достоверно отличаются от данных, полученных методом Вестергрена (p-level = 0,9 % < 5 %), а акустический метод достоверно совпадает с методом Вестергрена (p-level = 29,9 % > 5 %).

Были проведены эксперименты по попарному сравнению метода Панченкова и метода Вестергрена, а также метода Вестергрена и разработанного акустического метода. Приведем график сравнения данных измерений СОЭ по методу Панченкова и методу Вестергрена (рис. 2.20).



Рис. 2.20. Попарное сравнение данных измерений СОЭ

Видно, что данные двух методов различаются очень значительно, особенно для патологических значений СОЭ. При увеличении значений СОЭ метод Вестергрена дает более высокие цифры (до 200 мм/ч), метод же Панченкова имеет измерительную шкалу лишь до 100 мм/ч.

На рис. 2.21 представлен график сравнения данных, полученных на приборе «БИОМ» и методом Вестергрена.



Рис. 2.21. Корреляционная зависимость акустического метода и метода Вестергрена

Коэффициент корреляции для данной зависимости составляет 0,94 (*N ~ 300* пациентов). При разработке акустической методики определения СОЭ была определена оптимальная интенсивность ультразвуковой волны, которая минимизировала время определения СОЭ. Оно составило 120 сек для одного образца, при двух канальном варианте определения СОЭ на СОЭ – метре «БИОМ» время выполнения анализа составляло 70 сек в расчете на одного пациента. Расходные материалы для определения СОЭ акустическим методом отсутствуют, в то время как специальная пробирка для определения СОЭ по методу Вестергрена стоит не менее 25 рублей, и длительность определения СОЭ составляет 1 час для 10 пациентов, т.е. 6 мин. в расчете на одного пациента.

## Литература к главе 2

1. Бергман Л. Ультразвук и его применение в науке и технике. Пер. с нем. – М: Издательство иностранной литературы. 1957. – 728 с.
2. Ремизов А.Н. Медицинская и биологическая физика: Учебник для медицинских специальностей ВУЗов. – М.: Высшая школа. 1996. – 608 с.
3. Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами. – М.: МГТУ. 2005. – 224 с.
4. Михайлов И.Г., Соловьев В.А., Сырников Ю.П. Основы молекулярной акустики. – М.: Наука. 1964. – 514 с.
5. Wang S.H, Shung K.K. In vivo measurements of ultrasonic backscattering in blood // IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control. 2001. V. 48. № 2. P. 425-431.
6. Клемин В.А., Майоров В.А., Ручкин В.В., Сарвазян А.П. Исследование частотных зависимостей акустических характеристик биологических тканей резонаторным методом // Акустический журнал. 1981. Т. 27. № 6. С. 895-900.
7. Сарвазян А.П. Основные проблемы в исследовании акустических свойств биологических объектов // Материалы Всесоюзного симпозиума “Взаимодействие ультразвука с биологическими средами”. 1979. С. 62-66.
8. Сарвазян А.П., Айрапетян Г.А. Акустические характеристики мягких тканей экспериментальных животных // Механика композитных материалов. 1980. №3. С. 514-518.
9. Волькенштейн М.В. Молекулярная биофизика. - М.: Наука. 1975. – 616 с.
10. Яронене Г., В.Сукацкас, А.Лукашявичус, А.Волейшис. Вопросы ультразвуковой диагностики крови. В сб.: Проблемы техники в медицине. – Томск. 1983. С.196-197.
11. Клиническая гематология. Под ред. проф. Шт. Берчану. – Бухарест. 1985. С. 134-238.
12. Gammel P.M., D.H.Le Croissete and R.C.Heyser. Temperature and frequency dependence of ultrasonic attenuation in selectid tissues // Ultrasound in Med. and Biol. 1979. V. 5. Р.269-277.
13. Кириллов С.В, Кононенко В.С. Исследование влияния кровопотери у доноров на акустические свойства крови // Материалы Российской конференции “Организм и окружающая среда: жизнеобеспечение и защита человека в экстремальных условиях”. – М.: Слово. 2000. С.204-205.
14. Каландаров Р.С., Н.Н.Князьков, С.И.Донсков. Оптический способ регистрации реакции гемагглютинации и его применение для определения группы крови // Проблемы гематологии и переливания крови. 1997. №2. С. 5-8.
15. Pellam J.R., Galt J.K. Ultrasound propagation in liquids // J. Chem. Phys. 1946. V. 14. P. 608-614.
16. Физическая акустика. Под ред. У. Мезона. Т.1, часть А. – М.: Мир. 1966. С. 326-397.
17. Щитников Ш.И. О влиянии отражений волны на точность при фазовом методе определения скорости ультразвука // Ультразвуковая техника. 1965. № 4. с. 1-6.
18. Кононенко В.С. Прецизионный метод для измерения коэффициента поглощения ультразвука в жидкостях на частотах 0,1 – 20 МГц // Акустический журнал. 1985. Т. 31. № 6. С. 814-817.
19. Khimunin A.S., Lvova E.A. On the diffraction effects in an ultrasonic interferometer // Acustica. 1983. V. 53. № 3. P. 107-121.
20. Сарвазян А.П., Харакоз Д.П. Акустические исследования конформационных состояний белков в водных растворах. В сб.: Молекулярная и клеточная биофизика. – М.: Наука. 1977. С. 93-106.
21. Сарвазян А.П., Сельков Е.Е., Чаликян Т.В. Акустический интерферометр постоянной длины с переходными слоями для прецизионных измерений в малых объемах жидкостей // Акустический журнал. 1988. Т. 34. № 6. С. 1103-1108.
22. Сарвазян А.П., Харакоз Д.П. Дифференциальный интерферометр малого объема для измерения скорости и поглощения ультразвука // Приборы и техника эксперимента. 1981. № 3. С. 203-206.
23. Эггерс Ф., Функ Т. Ультразвуковые измерения на жидких образцах объемом порядка миллилитра в диапазоне частот 0,5…100 МГц // Приборы для научных исследований. 1973. Т. 44. № 8. С. 38-47.
24. Hubbard J.C. The acoustic resonator interferometer: 1. The acoustic system and its aequivalent electric network // Phys. Rev. 1931. V. 38. P. 1011-1019.
25. Labhardt A. Shwarz G. A high resolution and low volume ultrasonic resonator method for fast chemical relaxation measurements // Berichte der Bunsen 0 Gesellschaft. 1975. V. 80. № 1. P. 83-92.
26. Fry W.J. The double crystal acoustic interferometer // JASA. 1949. V. 21. № 1. P. 17-28.
27. Тиц У. Клиническое руководство по лабораторным тестам. – М.: ЮНИМЕД-пресс. 2003. – 721 с.
28. Шевченко О.П., Долгов В.В., Олефиренко Г.А. Электрофорез в клинической лаборатории. I. Белки сыворотки крови. – М.: Реафарм. 2006. – 160 с.
29. Долгов В.В., Шевченко О.П. Лабораторная диагностика нарушений обмена белков. Учебное пособие. – М.: РМАПО. 1997. – 67 с.
30. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Акустический анализ состава сыворотки крови человека // Акустический журнал. 2009. Т. 55. № 4 - 5. С. 496-505.
31. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А. Определение состава сыворотки крови человека на безреагентном акустическом анализаторе «БИОМ» // Известия ЮФУ. Технические науки. 2009. № 10 (99). С. 209-214.
32. Sollner K., Bondy C. The mechanism of coagulation by ultrasonic waves // Trans Faraday Soc. 1936. № 32. P. 616–623.
33. Dyson M., Woodward B., Pond J.B. Flow of red blood cells stopped by ultrasound // Nature. 1971. V. 232. P. 572–573.
34. Wood R.W., Loomis A.L. The physical and biological effects of high frequency sound waves of great intensity // Philos. Mag. 1927. V. 4. P. 417-436.
35. William T., Richards W.T. An intensity gauge for supersonic radiation in liquids // Proc. Natl. Acad. Sci. 1929 V. 15 (4). P. 310–314.
36. Nyborg W.L. Mechanisms for nonthermal effects of sound // JASA. 1968. V. 44. P. 1302–1309.
37. Nyborg W.L. Ultrasonic microstreaming and related phenomena // Br. J. Cancer. 1985. Suppl.5. P. 156–160.
38. Brandt E.H. Levitation in physics // Science. 1989. V. 243. P. 349–355.
39. Groschl M. Ultrasonic separation of suspended particles - Part I: Fundamentals // Acustica. 1998. V. 84. P. 432-447.
40. Gavrilov L.R., Tsirulnikov E.M., Davies I. Application of focused ultrasound for the stimulation of neural structures // Ultrasound Med. Biol. 1996. V. 22. № 2. P. 179–192.
41. Dalecki D., Child S.Z., Raeman C.H., Carstensen E.L. Tactile perception of ultrasound // JASA. 1995. V. 97. № 5, pt 1. P. 3165–3170.
42. Eckart С. Vortices and streams caused by sound waves // Phys. Rev. 1978. V. 73. № 2. P. 68–76.
43. Садикова Д. Г., Андреев А. А., Шкидченко А. Н., Пашовкин Т. Н. Динамики концентрирования клеток в поле стоячей ультразвуковой волны // Биомедицинская радиоэлектроника. 2006. № 8-9. С. 95-99.
44. Kuznetsova L.A., Martin S.P., Coakley W.T. Sub-micron particle behavior and capture at an immuno-sensor surface in an ultrasonic standing wave // Biosensors and bioelectronics. 2005. № 21. P. 940-948.
45. Haar J. G., Wyard S.I. Blood cell banding in ultrasonic standing fields. A physical analysis // Ultrasound in Med. And Biol. 1978. V. 4. № 2. P. 111-123.
46. Горьков Л.П. О силе, действующей на маленькие частицы в акустическом поле в идеальной жидкости // ДАН. 1961. Т. 120. № 1. С. 88-91.
47. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемин В.А., Долгов В.В. Безреагентный акустический анализ цельной крови и сыворотки крови человека // Лаборатория. 2010. №2. С. 29.
48. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Демин И.Ю. Акустический метод определения скорости оседания эритроцитов // Сборник трудов XX сессии РАО. – Москва: ГЕОС. 2008. Т. 3. С. 133-136.

# Глава 3. Аналитическое, физическое и численное исследования распространения акустических волн в мягких биологических тканях

## Введение. Акустическая томография нелинейных характеристик мягких биологических ткане

Исследование проявлений нелинейного поведения акустических волн показало, что процесс распространения упругих волн нелинеен всегда, и основной причиной этому является среда, в которой происходит распространение волны (наиболее полно обзоры развития направления нелинейной акустики отражены в работах [1-3,14,22]). Степень отклонения от линейной зависимости принято характеризовать нелинейным параметром. Таким образом, с открытием роли нелинейности, значение акустического нелинейного параметра стало дополнительным параметром характеризации упругих свойств вещества.

Методически обосновано сначала рассмотреть примеры определения нелинейного параметра в различных научных работах. Исторически сложилось так, что первоначально под нелинейным параметром чаще всего подразумевалось отношение квадратичного и линейного коэффициентов  при разложении уравнения состояния в ряд Тейлора:

 , (3.1)

где  и  – соответственно мгновенное и гидродинамическое давления, а  и  – мгновенная и статическая плотности. Коэффициенты  и  выражаются как:

, , (3.2)

где  – скорость звука, а индексы  означают то, что значение производных берется при постоянной энтропии и равновесном давлении. Таким образом, отношение квадратичного и линейного коэффициентов разложения (3.1), т.е. нелинейный параметр, равно:

 , (3.3)

здесь  – температура,  – коэффициент температурного расширения,  – теплопроводность при постоянном давлении.

Однако к определению нелинейного параметра можно подойти и с другой точки зрения: помимо уравнения состояния, нелинейными также являются и уравнения гидродинамики, поэтому, при более общем подходе к определению нелинейности необходимо разделять ее происхождение и основываться на полной системе уравнений гидродинамики, учитывая, по крайней мере, члены второго порядка малости. В случае рассмотрения идеальной жидкости или газа (в отсутствие вязкости и теплопроводности) используется система уравнений движения, непрерывности и состояния:

 ;  ;  , (3.4)

где  – колебательная скорость частиц среды. В первом уравнении системы (3.4) нелинейным является член , ответственный за конвективный перенос вещества; в свою очередь, в уравнении непрерывности компонента  имеет второй порядок малости. Точное решение системы (3.4) впервые было получено в 1860 г. Риманом для идеализированного газа с уравнением состояния в виде адиабаты Пуассона:

 или  , (3.5)

где  – константа, равная отношению теплоемкостей при постоянном давлении и объеме; ввиду адиабатичности процесса энтропия  считается постоянной. Для плоской волны, распространяющейся в положительном направлении *х*, Риманом было получено волновое уравнение:

 , (3.6)

где  – локальная скорость звука. Здесь важно отметить, что полученное уравнение имеет два независимых нелинейных члена (при производной по ) и, таким образом, даже в случае линейности уравнения состояния () волновое уравнение остается нелинейным. Ввиду этого различают два вида нелинейности: геометрическую, обусловленную нелинейностью собственно уравнений гидродинамики, и физическую нелинейность (), возникающую в результате нелинейности уравнения состояния, которую обычно обозначают как . Необходимо отметить, что волновое уравнение (3.6) справедливо не только для газов, но и для жидкостей. Не смотря на то, что для жидкости в настоящий момент нет уравнения состояния, столь же последовательно обоснованного, как и для идеального газа, существует эмпирическое уравнение Тэта, имеющее аналогичную форму:

 , (3.7)

где  и  являются константами, определяемыми экспериментально для данной жидкости, причем  также называют нелинейным параметром.

Таким образом, в работах, касающихся акустических нелинейных эффектов, под нелинейным параметром могут подразумеваться разные величины – ,  (или ), , что не меняет сути. Все перечисленные величины определяют физическую нелинейность, т.е. нелинейность уравнения состояния вещества, и имеют простую связь друг с другом. Например, как уже было показано,  и  связаны следующим соотношением: . Связь между  и  имеет следующий вид: ; а между  и : .

Методы, применяемые в настоящее время для восстановления нелинейных характеристик объекта, можно разделить по измеряемым параметрам на два типа:

1. термодинамический метод,
2. акустический метод конечной амплитуды.

Традиционный термодинамический метод основан на измерении скорости звука  как функции гидростатического давления и температуры, а также на измерении плотности , теплопроводности  (при постоянном давлении) и коэффициента температурного расширения . Значение нелинейного параметра вычисляется из уравнения (3.3). В ранних экспериментальных работах зачастую использовался именно этот метод, однако в 70-х годах был предложен улучшенный термодинамический метод [19-21]. В улучшенном методе непосредственно измеряется изменение скорости звука, вызванное вариацией давления при адиабатическом процессе, что избавляет от численного расчета производных и обеспечивает более высокую точность по сравнению с традиционным методом и методом конечных амплитуд (на  и  соответственно). На практике измерение вариации скорости осуществляется путем сравнения фаз принятых сигналов, поэтому улучшенный термодинамический метод также называют методом сравнения фаз.

Метод сравнения фаз получил наибольшую распространенность в одной из схем, использующей нелинейное взаимодействие слабой пробной волны с мощным импульсом накачки [15]. В результате изменения акустических свойств среды под действием мощной волны накачки, происходит локальное взаимодействие акустических волн, благодаря которому изменяется форма пробной волны.

Второй подход – методы конечных амплитуд, которые обычно основаны на измерении величины второй гармоники при контролируемых условиях распространения акустической волны [16-17]. Измеряется амплитуда второй гармоники и амплитуда первичной волны, а также их поглощение, по которым далее вычисляется нелинейный параметр. Со временем этот метод был усовершенствован и стал использоваться совместно с методом замещения, что повысило точность измерений и избавило экспериментаторов от ряда «лишних» измерений (например, абсолютных величин давлений). Так (при использовании метода замещения), по серии сравнительных измерений амплитуды второй гармоники в среде с известным нелинейным параметром и, затем, в исследуемом образце, нетрудно получить значение нелинейного параметра образца.

Помимо второй гармоники, в методе конечных амплитуд может измеряться волна комбинационной частоты [21], рождающаяся при нелинейном взаимодействии двух коллинеарных пучков акустических волн. Исключая техническую сторону, такой метод имеет свои преимущества и недостатки, по сравнению с измерениями второй гармоники. Существующие отличия обеих реализаций важно принимать во внимание при выборе томографической схемы измерений [22], в то же самое время, эти отличия не оказывают большого влияния при выборе метода измерения нелинейного параметра однородного объекта для одномерного случая.

Несмотря на то, что нелинейные акустические эффекты известны уже достаточно давно (около 160 лет), только в 1980 году, благодаря работам [19-20], было обращено внимание на возможность использования нелинейного параметра в целях медицинской диагностики. Измерения, проведенные различными группами исследователей (например, [16] или [17]) показали, что нелинейный параметр гораздо более чувствителен к изменению состояния вещества, к его структуре, нежели такие линейные характеристики, как фазовая скорость звука, плотность, поглощение. Примером преимуществ использования нелинейного параметра для целей медицинской диагностики являются данные, приведенные в [21] для восьми различных патологий свиной печени, что позволяет непосредственно сравнить относительное отличие линейных и нелинейного параметров в больных и здоровых тканях. Относительное изменение скорости звука составляет , плотности – меньше , в то же самое время отклонение нелинейного параметра находится на уровне . Таким образом, в системах томографии нелинейного параметра эффективное изменение значения диагностируемого параметра, по сравнению с его фоновым значением, в несколько раз превышает подобное отношение для систем томографии, дающих количественное распределение линейных характеристик. Помимо этого, достижение процентной точности восстановления в таких системах – нелегкая задача.

Ввиду сказанного нетрудно представить, почему возлагаются большие надежды на томографию распределения нелинейного параметра для целей медицинской (и не только) диагностики. Буквально в каждой работе, касающейся измерений нелинейного акустического параметра [5-8, 16-18,21], дается вывод о большом информационном потенциале томографии нелинейного параметра. Однако, как было отмечено в [19], несмотря на проявление активного интереса к данному вопросу (в виде выделения средств и проведения лабораторных исследований) со стороны различных организаций, до сих пор методы измерений нелинейного параметра далеки от того, чтобы их можно было использовать для реализации потенциала нелинейной томографии.

Как уже отмечалось выше, схемы измерения нелинейного параметра, основанные на измерении амплитуды второй гармоники или комбинационной волны, обладают отличающимися свойствами. В работе [15] было исследовано влияние эффектов дифракции и поглощения для режимов работы на второй гармонике и на разностной частоте в зависимости от положения исследуемого объекта между преобразователями и приемником. Было показано, что поглощение второй гармоники не зависит от местоположения объекта между излучателем и приемником, что позволяет использовать метод замещения без дополнительных поправок, достаточно «вычесть» из полученных данных вклад, вносимый водой. Для волны разностной частоты это не так, волна поглощается по-разному в зависимости от взаимного расположения объекта и преобразователей, поэтому в общем случае при томографическом восстановлении картины распределения нелинейного параметра требуется учитывать геометрию эксперимента. Что касается дифракции, то имеет место противоположная ситуация, когда более выгодно использовать волну разностной частоты. Дело в том, что ввиду искажений первичного плоского поля, вторичное поле получается неплоским в результате набегов фаз, и если для волны второй гармоники набег фазы удваивается (а значит, форма искажается еще сильнее), то для волны разностной частоты фазы первичных сигналов вычитаются, что делает пучок практически неизменным.

Наравне с описанными выше методами, также распространен другой подход к томографированию нелинейного параметра, основанный на термодинамическом методе измерений [12], использующем взаимодействие «слабой» пробной волны с мощной волной накачки. Большинство работ использует метод сравнения фаз, являющийся как бы подклассом термодинамического метода. Однако, даже в этом случае, организация схемы измерений имеет несколько подходов. Так, например, в работах [11] измеряется вариация времени распространения пробной высокочастотной волны по среде, возникающая в результате взаимодействия пробной волны с импульсом накачки, который порождается взрывным источником. В данном случае форма мощной волны в точке взаимодействия с пробной волной известна лишь приближенно и рассчитывается исходя из веса заряда и расстояния от взрывного источника до точки взаимодействия. Основным отличительным моментом данной схемы является то, что мощная волна не плоская (имеет сферическую форму) и путь распространения не совпадает с путем, проходимым плоской пробной волной.

Таким образом, к настоящему моменту большинство существующих схем томографирования основано на лучевом приближении. В измерениях используется линейная зависимость роста амплитуды второй гармоники или сигнала комбинационной частоты от значения нелинейного параметра и пройденного расстояния, либо взаимодействие в луче высокочастотной пробной волны с мощным импульсом накачки. И хотя техническая реализация подобных томографических систем относительно проста, они обладают такими существенными недостатками, как сравнительно невысокое пространственное разрешение (0.3-1 см) и длительное время сбора томографических данных. В связи с вышесказанным, задача поиска новых методов томографирования нелинейного параметра продолжает оставаться актуальной.

В общем случае, задача томографии не ограничивается только лучевыми методами. Например, при реконструкции распределения линейных параметров, наряду с лучевыми методами используется и более строгий волновой подход [21]. Предельное разрешение в волновых линейных томографических системах достигает долей длины волны, а минимальное время измерений – менее секунды.

## 3.1. Выяснение связи упругих, вязких и нелинейных параметров биотканей с их структурными и функциональными характеристиками.

Мягкие биологические ткани являются средой с достаточно сложной внутренней структурой, поэтому при распространении волны в такой среде в спектре исследуемого сигнала наряду с регулярными компонентами будут присутствовать и шумовые, что затрудняет проводить эффективную диагностику характеристик таких сред [37]. Также существенную роль играет и искажение акустической волны за счет проявления нелинейных свойств среды. Происходит укручение волнового фронта, а это приводит к появлению новых составляющих в спектре исследуемого сигнала и генерации новых гармоник. Скорость распространения сдвиговых (поперечных) волн в биотканях на несколько порядков ниже скорости продольных волн, что позволяет использовать их для диагностики линейных и нелинейных характеристик биоакустических сред и выявить связь этих характеристик с молекулярно-клеточным составом и структурно-функциональными особенностями мягких биологических тканей. Например, на ранней стадии заболевания оказывается важным обнаружить слабые изменения в биотканях. Для этих целей обычно применяют приборы, использующие ультразвуковые методы диагностики, что не всегда эффективно, когда область поражения биоткани имеет нечеткие границы. В этих случаях оправдано применить иной подход, позволяющий использовать для диагностики биотканей низкочастотные акустические волны [34-36]. Высокая чувствительность этого метода может быть ожидаема для определения нелинейных характеристик биотканей, что связано с искажением волнового фронта зондирующего низкочастотного сигнала и появлением изменений в амплитуде и фазе основной гармоники волны. Вариации этих параметров при возникновении патологии и изменении структуры биоакустической среды могут на несколько порядков превышать изменения линейных акустических параметров (упругость, вязкость, скорость распространения акустической волны), на измерении и визуализации которых и основаны традиционные линейные методы биомедицинской диагностики.

Рассмотрим мягкую биологическую ткань в виде модели вязко-эластичной среды с коэффициентом упругости *Е (модуль Юнга)* и коэффициентом вязкости *η*. Для низких частот (меньше 500 Гц) при распространении волны будет преобладать поперечная компонента, и среда при ее распространении будет несжимаема, т.е. распространение волны будет происходить без изменения объема среды. Мы будем рассматривать распространение волны большой интенсивности (для наблюдения нелинейных эффектов), тогда введем параметр *Г*, который будет характеризовать нелинейные свойства среды:

, (3.7)

где *β* – коэффициент нелинейной среды.

Связь между напряжением и деформацией определим следующим образом [28, 37]:

, (3.8)

где *σ* – напряжение, *ε* – деформация. Для описания распространения волны в вязко-эластичной среде используем уравнение движения (2-ой закон Ньютона) и связь между поперечным смещением *ξ(z,t)* и деформацией *ε(z,t)*:

, (3.9)

, (3.10)

где *ρ* – плотность среды, *z* – координата, вдоль которой распространяется волна. Подставив (3.8) в (3.9 с учетом (3.10) для скорости поперечной волны



получим следующее уравнение:

, (3.11)

где  – время в движущейся системе координат,

 – скорость невозмущенной волны.

Уравнение (3.11) представляет собой эволюционное уравнение Бюргерса для нелинейных волн в недиспергирующих средах [2,3]. Характерной особенностью распространения волн в нелинейных средах является укручение волнового фронта и образование разрывов. Это происходит на расстояниях [24]:

, (3.12)

где *f*0 и *A*0 – частота и амплитуда начального возмущения:

. (3.13)

Для удобства численного моделирования распространения нелинейных волн в недиспергирующих средах перейдем к безразмерным переменным:

, , , (3.14)

где  – начальная амплитуда волны.

Тогда уравнение Бюргерса запишется в безразмерной форме:

, (3.15)

где

, и число Рейнольдса .

Рассмотрим решение уравнения (3.15) на расстояниях до образования разрыва, где происходит укручение волнового фронта, но разрыв еще не наступает. Это наблюдается при *z* < 1, и решение уравнения Бюргерса удобно представить в виде [24]:

, (3.16)

где *Un*(*Z*) – *n-*ая гармоника, которая может быть выражена через функции Бесселя *n*-ого порядка 1-ого рода:

. (3.17)

При малых расстояний (*z* << 1) функция Бесселя имеет следующую аппроксимацию:

 (3.18)

Определим в этом случае амплитуду *n-*ной гармоники поперечного смещения *ξ*(*z,t*) следующим образом:

. (3.19)

Будем характеризовать нелинейные свойства среды параметром *N*, который определяется отношением третьей гармоники к первой [28]:

. (3.20)

Тогда для расстояний *z* << *zp* (или *z* << 1) получим:

. (3.21)

Из формулы (3.21) видно, что можно оценить нелинейный параметр *Г* следующим образом:

. (3.22)

Зная отношение

, нелинейные параметры *ρ* и *μ*, начальные характеристики акустической волны *А*0, *f*0, из формулы (3.22) определяется нелинейный параметр *Г* на расстоянии *z* от входа в среду. Поэтому, для того чтобы оценить нелинейность среды, необходимо точно и эффективно измерять параметр *N* [28].

При физическом моделировании распространения интенсивных низкочастотных волн исследовались разнообразные виды медико-биологических сред: агар-желатин с добавлением графита, свинина и миома (uterine leiomyoma) (фотографии образцов приведены на рис. 3.1. соответственно)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| Рис. 3.1. Образцы исследуемых мягких биологических тканей  (агар-желатин с добавлением графита, свинина и миома) | | |

Функциональная схема акустической томографии нелинейных характеристик мягких биологических тканей приведена на рис. 3. 2. Генератор низкочастотных сигналов подавал на механический излучатель сигналы с частотами 75–200 Гц и амплитудами 60–150 мкм. Доплеровский ультразвуковой сканер использовал центральную частоту для пробных волн 3,5 МГц.

|  |
| --- |
| fig1_EDITED |
| Рис. 3.2. Функциональная схема акустической томографии нелинейного параметра мягких биологических тканей |

Особенностью метода томографии параметра нелинейности и пространственной реконструкции распределения линейных и нелинейных параметров биоакустических сред является использование эффекта когерентного обратного рассеяния. Для увеличения отношения сигнал/шум на выходе устройства к Доплеровскому ультразвуковому методу томографии был приспособлен биспектральный анализ. В отличие от обычной спектральной обработки применение биспектров позволяет разнести вклады различных нелинейных взаимодействий на плоскости частот, что приводит к возможности их идентификации. Вид экспериментальной установки представлен на рис. 3.3.

|  |
| --- |
|  |
| Рис. 3.3. Экспериментальная установка исследования линейных и нелинейных характеристик мягких биологических тканей |

Измерения проводились для различных видов функционального состояния объекта (мягкий и жесткий), а также сроков хранения образца, смена направления распространения волны и т.д. Приведем результаты измерений для различных видов биотканей.

Для агар-желатина (твердый тип) исследовалась зависимость нелинейного параметра и вязкоупругих характеристик от времени сохранения объекта, а именно проводились измерения через определенное количество дней. Измерения проводились в низкочастотном диапазоне частот 100-200 Гц при амплитуде зондирующего сигнала 60-140 мкм. Усредненные результаты для коэффициента вязкости, плотности и нелинейного параметра *Г* приведены в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 1 день | 2 день | 10 день |
| Плотность (кг/м3) | 1138 | 936 | 875 |
| Эластичность (Н/м2) | 155000 | 80000 | 63000 |
| Нелинейность | 11,45 | 14,18 | 14,63 |

Из приведенных результатов прослеживается тенденция изменения линейных-вязкоупругих (эластичность и плотность) и нелинейных параметров мягких биотканей в зависимости от времени сохранения образца. Хорошо видно, что нелинейный параметр менее подвержен существенным изменения в отличие от эластичности, что позволяет использовать его в диагностических целях.

В таблице 3.2 приведены экспериментальные данные по измерению линейных и нелинейных характеристик биоакустических сред. Полученные экспериментальные и численные результаты являются свидетельством структурной чувствительности нелинейных характеристик мягких биологических тканей, что позволяет сделать вывод об их ценности для биомедицинской диагностики.

Таблица 3.2.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Исследуемый  объект | Условия | Эластичность  *Е* (Н/м2) | Нелинейность  Г |
| Агар (желатин) | Мягкий | 16700 | 1.45 |
|  | Жесткий | 155000 | 11.3 |
| Свинина | Мягкая | 22000 | 2.1 |
|  | Жесткая | 25000 | 2.6 |
| Миома | Мягкая | 21000 | 2.2 |
|  | Жесткая | 56600 | 8.84 |

Результаты физического эксперимента подтверждают эффективность использования биспектрального анализа для диагностики линейных и нелинейных характеристик мягких биологических тканей. Процедура биспектрального анализа позволяет более надежно проводить томографию медико-биологических сред, которые неоднородны по своей структуре, а значит и диагностические сигналы имеют сильное зашумление.

Для изучения линейных характеристик биотканей было численно и экспериментально исследовано распространение низкочастотных акустических волн в мягких биологических тканях. Для этих целей были проанализированы модели вязко-упругих сред (модели Фойгта, Максвелла и Кельвина), получены волновые уравнения и выявлены зависимости скорости распространения и коэффициента затухания от частоты*.* Проведено сопоставление экспериментальных и численных результатов измерения скорости низкочастотной волны и показано, что в зависимости от свойств медико-биологических сред (плотность, модуль Юнга, вязкость), экспериментальные результаты соответствовали различным моделям, изученным в настоящей работе.

Моделирование вязко-упругих свойств среды на макроскопическом уровне можно осуществить многими способами, используя различные комбинации тех или иных элементов. С этой целью выбирают такие простейшие механические или электрические системы, которые подчиняются тем же дифференциальным уравнениям, что и моделируемый процесс. Выбор тех или иных моделей, конечно, совершенно произволен, однако чаще предпочитают механические модели как более наглядные и более близкие к изучаемым процессам [38].

Идеальным линейным упругим элементом является пружина. Примером идеального линейного вязкого элемента служит демпфер – устройство, применяемое для успокоения колебаний подвижной системы во многих приборах. Комбинация упругого и вязкого элементов, соединенных параллельно, называется элементом Фойгта. Комбинация вязкого и упругого элементов, соединенных последовательно, известна как элемент Максвелла.

|  |  |
| --- | --- |
| Фойгт3 | Максвелл |
| Рис. 3.4а Элемент Фойгта | Рис. 3.4.б Элемент Максвелла |

Для анализа применимости той или иной теоретической модели было проведено численное и физическое моделирование по распространению низкочастотных акустических волн в различных мягких биологических тканях. Численный анализ для скорости и затухания акустических волн проводился с использованием технологии LabVIEW, а именно в реализованном виртуальном приборе [39]. Результаты, полученные при численном моделировании, сопоставлялись с экспериментальными данными по измерению скорости распространения низкочастотных волн при помощи методики с использованием Laser Doppler Vibrometer (функциональная схема экспериментальной установки приведена на рис 3.5.).

|  |
| --- |
| V9 |
| Рис. 3.5. |

На рисунках 3.6 и 3.7 приведено сопоставление экспериментальных значений с результатами численного моделирования зависимости скорости распространения от частоты (измеренные значения помечены на рисунках кружками) для модели Фойгта. Численный анализ проводился для волн в низкочастотном (звуковом) диапазоне частот до 200 Гц. В первом случае (рис. 3.6) вязкоупругая среда моделировалась следующими параметрами: плотность среды ρ=1100 кг/м3 , модули Юнга =48000 Н/м2, =50000 Н/м2, коэффициент вязкости =45 Па\*с. Соответствующие параметры описывали модель биологического объекта - агар-фантома, в котором и измерялась скорость низкочастотных волн.

|  |
| --- |
| agar |
| Рис. 3.6. Скорость звука в зависимости от частоты (агар-фантом) |

Во втором случае (рис. 3.7) представлены результаты экспериментальных и численных исследований медицинской ткани - миомы, характеристики которой следующие: плотность среды ρ=1100 кг/м3 , модули Юнга =135000 Н/м2, =145000 Н/м2 ,коэффициент вязкости η=140 Па\*с. Здесь также экспериментальные значения скоростей хорошо ложатся на кривую, которая описывает модель Фойгта.

|  |
| --- |
| myoma |
| Рис. 3.7. Скорость звука в зависимости от частоты (миома) |

Также приведем и результаты для среды, которая не описывалась моделью Фойгта. Это более мягкие среды, чем были рассмотрены в первых двух случаях, и они хорошо моделируются средой, описываемой моделью Максвелла. На рисунке 3.8. отражены результаты для мягкой биологической ткани - свинина с характеристиками: плотность среды ρ=1200 кг/м3 , модули Юнга =14400 Н/м2, =15000 Н/м2, коэффициент вязкости η=75 Па\*с. Верхняя кривая результат моделирования модели Фойгта, а нижняя – модель Максвелла, на которую хорошо ложатся экспериментальные значения (кружочки) скорости распространения волны.

|  |
| --- |
|  |
| Рис. 3.8. Скорость звука в зависимости от частоты (свинина) |

Из приведенных выше сопоставлений экспериментальных данных и теоретических кривых для вязко-упругих сред следует, что надо аккуратно подходить к выбору модели, описывающей медико-биологическую среду. Правильный выбор модели поможет в дальнейшем верно описывать те или иные характеристики среды, строить их реологическую и томографическую картины.

## 3.2. Численное моделирование распространения интенсивных низкочастотных акустических волн в мягких биологических тканях с использованием биспектрального анализа

В последние годы в различных областях радиофизики, связанных с изучением распространения случайных нелинейных волн и полей наряду с традиционными методами спектрального анализа начинают использоваться спектры высших порядков (биспектры, триспектры и т.д.). В отличие от обычной спектральной обработки применение биспектров позволяет разнести вклады различных нелинейных взаимодействий на плоскости частот, что приводит к возможности их идентификации [24-26, 40].

Обработка сигналов с использованием корреляционных функций третьего порядка (КФТП) и биспектрального анализа (биспектр, по определению, – это двумерное преобразование Фурье КФТП) позволяет узнать о свойствах сигнала гораздо больше, чем применение обычных корреляционных функций [26]. В частности, биспектральный анализ в задачах обработки сигналов позволяет сохранить информацию о фазовом Фурье-спектре исходного сигнала и, следовательно, появляется возможность восстановления априорно неизвестной формы сигнала. Кроме этого, оценка биспектра мало чувствительна к аддитивной помехе с симметричным законом изменения плотности вероятности, а также данная оценка нечувствительна к случайным смещениям обрабатываемого сигнала. Оценка биспектральной плотности (спектральной плотности третьего порядка) в отличие от оценки энергетического спектра позволяет не только правильно описать характеристики наблюдаемого процесса, но и определить наличие фазовых связей спектральных компонент, а также сохранить, а при необходимости и восстановить фазовые характеристики составляющей, содержащейся в наблюдаемом процессе. Биспектральный анализ может также служить чувствительным и точным средством, позволяющим выявить и измерить отклонения исследуемого процесса от нормального закона распределения. Поэтому в ряде прикладных задач радиолокации, гидролокации, астрономии, технической диагностики машин и механизмов, медицинской диагностики и других биспектральный анализ часто служит единственным эффективным средством обработки сигналов и оценки параметров исследуемых процессов.

Известно [22-25], что при распространении интенсивных акустических случайных волн в нелинейной среде искажаются их статистические характеристики, такие как вероятностное распределение поля, высшие моментные и кумулянтные функции, энергетический спектр, спектры более высокого порядка (биспектры). Стоит отметить, что для описания процессов нелинейной перекачки энергии по частотному диапазону информативной характеристикой волны является ее спектр. Однако, обработка акустических сигналов с использованием биспектрального анализа позволяет узнать о свойствах сигнала гораздо больше, чем применение традиционного спектрального анализа. Мягкие биологические ткани являются средой с достаточно сложной внутренней структурой, поэтому при распространении волны в такой среде в спектре исследуемого сигнала наряду с регулярными компонентами будут присутствовать и шумовые, что затрудняет проводить эффективную диагностику характеристик таких сред. Также существенную роль играет и искажение акустической волны за счет проявления нелинейных свойств среды. Происходит укручение волнового фронта, а это приводит к появлению новых составляющих в спектре исследуемого сигнала и генерации новых гармоник.

В предыдущем разделе 3.2. для нелинейной акустической томографии предложено измерять параметр *N*, который определяется отношением амплитуды 3-й гармоники к амплитуде основной гармоники исходного сигнала:

 (3.22)

Проведем сравнение двух способов измерения *N*: спектрального и биспектрального. Для сигнала *x*(*t*), заданного корреляционными функциями *Rxx*(*τ*) и *Rxx*(*τ*1,*τ*2), определим спектр мощности и биспектр следующим образом, соответственно [26, 40],

, (3.23)

. (3.24)

На рис. 3.9а,б приведены типичные реализации спектра мощности и биспектра для интенсивного случайного акустического сигнала.

|  |  |
| --- | --- |
|  | |
| Рис. 3.9а. Вид спектра мощности | |
|  |  |
| Рис. 3.9б. Вид биспектра (слева-двумерный, справа на плоскости частот) | |

С учетом выражений (3.23) и (3.24) введем параметр спектра мощности *Np* и параметр биспектра *Nb* и сравним их с параметром *N* в случае регулярного сигнала *x*(*t*):

, (3.25)

. (3.26)

Из приведенных выше формул видно, что для «хороших» диагностических сигналов параметр *N* можно измерять, используя как спектральный, так и биспектральный анализ. Однако реальные медико-биологические среды существенно неоднородны, поэтому в диагностическом сигнале наряду с регулярными компонентами *s*(*t*) будут присутствовать и шумовые *n*(*t*). Наличие дополнительных флуктуаций приведет к погрешностям в определении параметра *N*. Возникает вопрос об эффективности спектрального или биспектрального способов измерения  *N*. Теоретические расчеты показывают, что если *n*(*t*) – дельтакоррелированый гауссовый шум, то соотношение между параметрами будет следующее:

, . (3.27)

Этот результат объясняется тем, что биспектр дельтакоррелированного гауссова шума . Следовательно, биспектральный способ измерения *N* оказывается эффективнее.

Чтобы доказать это, обратимся к задаче о численном моделирования эволюции нелинейных акустических волн в мягких биологических тканях. Для этого нам пондобится реализация алгоритмов спектрального и биспектрального анализа в среде MATLAB на основе БПФ (Быстрого Преобразования Фурье) [41].

Вычисление преобразований Фурье требует очень большого числа умножений (около *N2)* и вычислений синусов. Существует способ выполнить эти преобразования значительно быстрее – примерно за *N*log2*N* операций умножения. Этот способ называется *быстрым* *преобразованием* *Фурье* (БПФ, *FFT*, *fast* *Fourier* *transform*). Он основан на том, что среди множителей (синусов) есть много повторяющихся значений (в силу, например, периодичности синуса). Алгоритм БПФ группирует слагаемые с одинаковыми множителями, значительно сокращая число умножений. В результате быстродействие БПФ может в зависимости от *N* в сотни раз превосходить быстродействие стандартного алгоритма. При этом следует подчеркнуть, что алгоритм БПФ является точным. Он даже точнее стандартного, т.к. сокращая число операций, он приводит к меньшим ошибкам округления.

Для выполнения прямого и обратного БПФ в MATLAB служат функции *fft* и *ifft* :

*y* = *fft(x)* – вычисляет прямое БПФ для вектора *x*; если *x* – матрица, преобразование производится для каждого ее столбца в отдельности;

*y* = *fft(x,N)* – предварительно приводит исходные данные к размеру *N*, урезая их или дополняя нулями;

*x* = *ifft(y)* и *x* = *ifft(y,N)* – аналогичные варианты вызова для функции обратного БПФ.

Функции *fft* и *ifft* входят в базовую библиотеку MATLAB. Вычисления организованы так, что реализуется максимально возможное для каждой длины исходного вектора ускорение вычислений: длина вектора *x* (число строк в матрице) раскладывается на простые множители, число этих множителей соответствует количеству ступеней БПФ, а сами множители определяют коэффициенты прореживания на разных ступенях БПФ.

Для численного моделирования эволюции нелинейных акустических волн в мягких биологических тканях решением уравнения Бюргерса с использованием трех первых гармоник акустического сигнала. При этом будем аддитивно добавлять с определенным весом случайные искажения – Гауссов шум. Тогда сформируем нелинейный сигнал, являющийся суммой трех синусоид и гауссова шума с нулевым средним:

, (3.28)

где  – *n-*ая гармоника, выражается через функции Бесселя *n*-ого порядка 1-ого рода. Безразмерный параметр  определяется отношением расстояния до образования разрыва *z* к расстоянию *zp*, на котором происходит разрыв:

 (3.29)

Это расстояние определяется свойствами среды: модулем Юнга , плотностью , параметром *Г*, который характеризует нелинейность среды, а также частотой и амплитудой начального возмущения *f*0 и *A*0.

Во время биспектрального оценивания нелинейного параметра  для одного и того же сигнала анализировались пять реализаций с различными начальными условиями для генератора гауссова шума. Для каждой реализации вычислялись реальные и мнимые части биспектра, а затем считались их средние значения:

, , (3.30)

, . (3.31)

Итоговое выражение для  в этом случае выглядит следующим образом:

. (3.32)

Наряду с этим параметр  также вычислялся как отношение модулей биспектров:

. (3.33)

При этом реальные и мнимые части отдельно не считались. В итоге значения , полученные для разных способов вычисления, оказались не равны друг другу. И ближе к реальному *N* был тот результат, при котором реальные и мнимые части биспектра считались отдельно, а затем из них находилась его абсолютная величина.

Ниже на рис. 3.10 и 3.11 приведены реализация нелинейного сигнала , его спектр мощности и биспектр для двух видом шумового присутствия: слабого *η* = 0.005 (рис. 3.10а,б,в) и сильного *η* = 0.05 (рис. 3.11а,б,в).

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Рис. 3.10а. Реализация нелинейного сигнала (слабый шум *η* = 0.005) | Рис. 3.10б. Вид спектра мощности |

|  |  |
| --- | --- |
| 3 |  |
| Рис. 3.10в. Вид биспектра (слева-двумерный, справа на плоскости частот) | |

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Рис. 3.11а. Реализация нелинейного сигнала (сильный шум *η* = 0.05) | Рис. 3.11б. Вид спектра мощности |

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Рис. 3.11в. Вид биспектра (слева-двумерный, справа на плоскости частот) | |

Для подтверждения эффективности использования биспектрального анализа для диагностики мягких биологических тканей на рис. 3.12 и рис. 3.13 приведены результаты измерения параметра *N* спектральным и биспектральным способами при различном уровне шума для двух реальных сред с заданными параметрами при разных *z*. Зависимость приведена для различных значений "веса шума" . Пунктиром на этих рисунках показано реальное значение *N*. Из этих графиков видно, что спектральный способ оценки нелинейного параметра *N* при малом уровне шумового сигнала ничем не уступает биспектральному. Однако при большом искажении полезного сигнала (увеличивается шумовая компонента) при спектральном анализе нельзя точно выявить гармоники, присутствующие в сигнале, а, следовательно, невозможно оценить параметр *N* с достаточно высокой точностью. При этом хорошо видно, что биспектральный анализ при сравнительно большом уровне шума дает результаты измерения, близкие к реальным. Все линейные характеристики мягких биологических тканей, которые были использованы в численном эксперименте, соответствуют реальным данным, ранее полученным в ходе физического эксперимента по определению нелинейного параметра мягких биологических тканей на низких частотах.

|  |
| --- |
|  |
| Рис. 3.12. Численное измерение параметра *N* спектральным (синие квадратики) и биспектральным (красные квадратики) способами при различном уровне шума для **Agar-Phantom** (*A*0 = 100 мкм; *f*0 = 100 Гц; *E* = 16,7\*103 Н/м2; ρ = 1,1\*103 кг/м3; *Г* = 1,5) |

|  |
| --- |
|  |
| Рис. 3.13. Численное измерение параметра *N* спектральным (синие квадратики) и биспектральным (красные квадратики) спосабами при различном уровне шума для рис. (свинина) (*A*0 = 100 мкм ; *f*0 = 100 Гц; *E* = 27,0\*103 Н/м2; ρ = 1,2\*103 кг/м3; *Г* = 2,0) |

Для подтверждения эффективности биспектрального анализа приведем результаты физического моделирования эволюции нелинейных сигналов в мягких биологических тканях и вычисления параметра *N* с использованием биспектрального анализа. В предыдущем разделе была подробно описана экспериментальная установка по определению нелинейного параметра *Г* в медико-биологических средах. Используем данную установку только для сравнения эффективности использования спектрального и биспектрального способов оценивания параметра *N.*

На рис. 3.14 и рис. 3.15 показаны типичные реализации профиля, спектра мощности и биспектра акустического сигнала, распространяющегося на частоте 100 Гц в миоме. Данная медико-биологическая ткань наиболее характерно представляет отличие в спектральном и биспектральном способе оценивания нелинейного параметра. Это обусловлено неоднородностью миомы, что приводит к сильному зашумлению диагностического сигнала.

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Рис. 3.14. Пример реализации профиля волны и спектра мощности в мягкой ткани (миома) | Рис. 3.15. Пример реализации биспектра в мягкой ткани (миома) |

Из приведенных реализаций спектра мощности видно, что для определения нелинейного параметра *Nр* возникают сложности, связанные с выделением третьей гармоники на фоне шумовых помех. В случае же биспектрального анализа этих сложностей удается избежать и параметр *Nb* может быть эффективно оценен даже в случае сильной зашумленности диагностического сигнала.

На рис. 3.16а,б. представлены результаты эксперимента по измерению нелинейного параметра *N* для мягких биологических тканей (агар-фантом) на частоте 100 Гц, когда аддитивно включался и выключался дополнительный шумовой сигнал. Сплошная линия – измерения без добавления шума, пунктир – с шумом.

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Рис. 3.16а. Измерения параметра *N* спектральным способом (сплошная линия – без шума, пунктирная линия – с шумом) | Рис. 3.16б. Измерения параметра *N* биспектральным способом (сплошная линия – без шума, пунктирная линия – с шумом) |

Результаты физического эксперимента также как и результаты численного эксперимента подтверждают эффективность использования биспектрального анализа для диагностики линейных и нелинейных характеристик мягких биологических тканей. Процедура биспектрального анализа позволяет более надежно проводить томографию медико-биологических сред (сильно неоднородны по своей внутренней структуре), когда диагностические сигналы имеют сильное зашумление.

## 

## Литература к главе 3

1. Руденко О.В. Нелинейные волны: некоторые биомедицинские приложения. Успехи физических наук. 2007. т.177. №4. С. 374-383.
2. Руденко О.В. Гигантские нелинейности структурно-неоднородных сред и основы методов нелинейной акустической диагностики – Успехи физических наук. 2006. т. 176. №1. С.77.
3. Гурбатов С.Н., Островский Л.А., Диденкулов И.Н. Нелинейная акустика в Нижнем Новгороде (обзор) // Акуст. журн. 2005. Т. 51. №2. С. 150-166.
4. Morris C.R., Wright W.E., Schlag R.D*.* The risk of developing breast cancer within the next 5, 10, or 20 years of a woman’s life // American Journal of Preventive Medicine. 2001. Vol. 20. Issue 3. P. 214 218.
5. Fatemi M., Greenleaf J.F. Real-time assessment of the parameter of nonlinearity in tissue using «nonlinear shadowing // Ultrasound in Med. & Biol. 1996. Vol. 22. No. 9. P. 1215‑1228.
6. Kim D.Y., Lee J.S., Kwon S.J., Song T.K. Ultrasound second harmonic imaging with a weighted chirp signal // IEEE Ultrasonics symposium. 2001. P. 1477‑1480.
7. Greenleaf J.F. Computerized transmission tomography // Methods of experimental physics. Academic press. New York. 1981. Vol. 19.
8. Буров В.А., Касаткина Е.Е., Румянцева О.Д., Филимонов С.А. Моделирование томографического восстановления термоакустических источников. Итерационно-корреляционные методы // Акустический журнал. 2003. том 49. № 2. с. 167-177.
9. Буров В.А., Морозов С.А., Румянцева О.Д., Сергеев С.Н. Активная и пассивная медицинская акустическая томография сильно неоднородных сред // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2002. № 3. С. 5‑13.
10. Физика визуализации изображений в медицине. Под ред. Уэбба С*.* // М.: «Мир». 1994. Том 1 – 410 с. Том 2 – 400 с.
11. Гуляев. Ю.В., Годик Э.Э. Физические поля биологических объектов // Кибернетика живого: Биология и информация. 1984. С. 111‑116.
12. Пасечник В.И. Оценка чувствительности метода акустотермографии // Акустический журнал. 1990. Т. 36. № 4. С. 718–724.
13. Duck F.A. Nonlinear acoustic in diagnostic ultrasound // Ultrasound in Med. & Biol. 2002. V. 28. №. 1. P. 1‑18.
14. Beyer R.T Parameter of nonlinearity in fluids // J. Acoust. Soc. Am. 1960. Vol. 32, P. 719-721.
15. Sato T., Mori E., Endo K., Yamakoshi Yo., Sase M. A few effective signal processing for reflection-type imaging of nonlinear parameter N of soft tissues // Acoustical Imaging. Plenum Press. New York. 1992. Vol. 19. P. 363‑368.
16. Zhang D., Gong X.-F., Ye Sh. Acoustic nonlinearity parameter tomography for biological specimens via measurements of the second harmonics // J. Acoust. Soc. Am. 1996. Vol. 99. № 4, Pt. 1, P. 2397-2402.
17. Zhang D., Gong X.-F., Liu J.-H., Shao L.-Zh., Li X.-R., Zhang Q.-L. The experimental investigation of ultrasonic properties for a sonicated contrast agent and its application in biomedicine // Ultrasound in Med. & Biol. 2000. Vol. 26. № 2, P. 347-351.
18. Gong X.F., Yan Y.S., Zhang D., Wang H.L. The study of acoustic nonlinearity parameter tomography in reflection mode // Acoustical Imaging. 2003. V.27.
19. Muir T.G., Carstensen E.L*.* Prediction of nonlinear acoustic effects at biomedical frequencies and intensities // Ultrasound in Med. & Biol. 1980. V. 6. P. 345‑357.
20. Carstensen E.L., Law W.K., McKay N.D., Muir T.G.Demonstration of nonlinear acoustical effects at biomedical frequencies and intensities // Ultrasound in Med. & Biol. 1980. V. 6. P. 359‑368.
21. Bjørnø L.Characterization of biological media by means of their non-linearity // Ultrasonics. 1986. V. 4. P. 254‑259.
22. Гурбатов С.Н., Малахов А.Н., Саичев А.И. Нелинейные случайные волны в недиспергирующих средах. М.: Наука, (серия: Современные проблемы физики). 1990. 216 с.
23. Gurbatov S.N., Malakhov A.N., Saichev A.I. Nonlinear Random Waves and turbulence in nondispersive media: waves, rays, particles. Manchester: Manchester University Press. 1991. 310 p.
24. Гурбатов С.Н., Руденко О.В., Саичев А.И. Волны и структуры в нелинейных средах без дисперсии. Приложения к нелинейной акустике. – М.: ФИЗМАТЛИТ. 2008. 496 с.
25. Гурбатов С.Н., Саичев А.И. Статистические задачи нелинейной акустики. В кн.: Нелинейная акустика, Горький, ИПФ АН СССР. 1980. С.108-142.
26. А.Н.Малахов. Кумулянтный анализ негауссовых процессов и их преобразований. – М.: Сов. Радио. 1978.
27. Зарембо Л.К., Красильников В.А. Введение в нелинейную акустику // М.: Изд-во «Наука». 1966. 520 с.
28. Kameyama K., Inoue T., Demin I.Yu., Kobayashi K., Sato T. Acoustical tissue nonlinearity characterization using bispectral analysis // Signal Processing. 1996. Vol. 52. P. 117-131.
29. Демин И.Ю. Нелинейная акустическая томография биологических тканей // Труды 3-й научной конференции по радиофизике, НГГУ. 1999.
30. Demin I.Yu., Pronchatov-Rubtcov N.V. Acoustical tomography of linear and nonlinear characteristics of soft biological tissues // XV Session of the Russian Acoustical Society. Nizhny Novgorod. November. 2004. P. 474-476.
31. Демин И.Ю. Исследование нелинейных характеристик мягких биологических тканей // II Евразийский конгресс по медицинской физике и инженерии "Медицинская физика-2005": Тезисы докладов. Москва. 2005. С.204-205.
32. Gurbatov S.N., Demin I.Yu., Pronchatov-Rubtsov N.V. The use of bispectral analysis for nonlinear diagnosis of soft tissues // Joint Workshop of Russian Acoustical Society and French Acoustical Society on High Intensity Acoustic Waves in Modern Technological and Medical Applications: Abstracts. Moscow. 2005. P.100-104.
33. Gurbatov S.N., Demin I.Yu., Pronchatov-Rubtsov N.V., Ryabov A.V. The use spectral and bispectral analysis for diagnosis of nonlinear dissipative medium. // In book: “Nonlinear Acoustics-Fundamentals and Applications (ISNA 18)”, 18th International Symposium on Nonlinear Acoustics /Ed. by B.O.Enflo, C.M.Hedberg and L.Kari - Stockholm, Sweden: AIP. 2008. P. 50-53.
34. E.S. Ebini, J Shen «Fundamental resolution limits of a coded excitation system for real-time pulse-echo imaging» // IEEE Ultrasonics symposium. 1997. P. 1539‑1542.
35. Duck F.A*.* Physical Properties of Tissue // London: Academic Press. 1990. P. 346.
36. Физическая акустика. Под ред. Мэзона // М.: Мир. 1966. Т.1, часть А. С. 326-397.
37. Применение ультразвука в медицине: Физические основы: Пер. c англ. // Под ред. К.Хилла. - М.: Мир. 1989. 568с.
38. Михайлов И.Г. и др. Основы молекулярной акустики // М.:Наука. 1964.
39. Тревис Дж. LabVIEW для всех // М.:ДМК Пресс. 2004.
40. Бочков Г.Н., Горохов К.В., Дубков А.А., Желтов С.Н., Конов И.Р. Полиспектральный анализ. Учебное пособие. ННГУ им. Н.И. Лобачевского. 1999.
41. Сергиенко А.Б. «Цифровая обработка сигналов». Учебник для вузов. СПб.: Питер. 2006.

1. Суммарный вклад глюкозы, мочевины, сиаловых кислот, Na+, K+ и Ca2+ составляет не более (1 - 2)% от вклада белков. [↑](#footnote-ref-2)