

Zjawisko generowania fal harmonicznyc oraz jego wykorzystanie praktyczne ze szczególnym uwzględnieniem współczesnej ultrasonografii

The phenomenon of generation of harmonic waves
and its practical use with particular reference
to modern ultrasonography

Sławomir Jeka¹, Elżbieta Sokólska², Marta Dura², Paweł Żuchowski³

¹ Szpital Uniwersytecki nr 2 im. dr. Jana Biziela w Bydgoszczy, Oddział Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej, ul. Ujejskiego 75, 85-168 Bydgoszcz, e-mail: s.jeka@wp.pl

² Szpital Uniwersytecki nr 2 im. dr. Jana Biziela w Bydgoszczy, Zakład Radiologii i Diagnostyki Obrazowej, ul. Ujejskiego 75, 85-168 Bydgoszcz

³ NZOZ „Nasz Lekarz”, ul. Szczytna 20, 87-100 Toruń

Streszczenie

Od wielu lat z postępem w dziedzinie fizyki związany jest postęp w naukach przyrodniczych. Jednym ze zjawisk, które odgrywa coraz większą rolę w naukach przyrodniczych, jest zjawisko generacji drugiej harmonicznej w ośrodkach anizotropowych. Możliwość uzyskania fali o podwójnej częstotliwości w stosunku do fali podstawowej pozwoliło na prowadzenie badań, wcześniej trudnych bądź niemożliwych do przeprowadzenia. Dzięki wyższej jakości obrazu badania ultrasonograficzne stały się bardziej czułe i są powszechnie wykorzystywane, m.in. w kardiologii, radiologii, chirurgii, reumatologii czy diagnostyce onkologicznej. Ultrasonografia staje się niezwykle cenną metodą obrazowania obok rezonansu magnetycznego czy tomografii komputerowej. Ze względu na jej dostępność wiązane są z nią duże nadzieje na przyszłość.

Słowa kluczowe: ultrasonografia, generacja drugiej harmonicznej, obrazowanie harmoniczne, spektroskopia fluorescencyjna, reumatoidalne zapalenie stawów

Abstract

The progress in physics results in life sciences advancement. One of the phenomena, which plays more and more important role in life sciences, is the second harmonic generation in anisotropic materials. The possibility of achieving the wave, characterized by double frequency – with relation to the initial wave, allowed to conduct examinations, which were previously very difficult or impossible to perform. Thanks to higher quality of image, ultrasound examination has become more sensitive and is widely used, even in cardiology, radiology, surgery, rheumatology and oncology diagnostics. Ultrasonography with the use of tissue harmonic imaging is very valued method, so as magnetic resonance imaging or CT scan and due to its availability, high expectations are associated with it for the future.

Keywords: ultrasonography, second harmonic generation, tissue harmonic imaging, fluorescence spectroscopy, rheumatoid arthritis

Wstęp

Współczesna diagnostyka medyczna ma przed sobą wiele wyzwań. Na pewno najbardziej spektakularnym jest wczesne wykrywanie nowotworów, np. za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej PET (*Positron Emission Tomography*) czy tomografii komputerowej. Jednakże są to badania bardzo kosztowne w wykonaniu i dodatkowo są obciążone wieloma przeciwwskazaniami. Z tego względu poszukuje się alternatywnych metod diagnostycznych, np. z zakresu spektroskopii, lub mikroskopii fluorescencyjnej.

Jednym z głównych wyzwań, jakie dotyczą wykorzystania zjawiska fluorescencji w diagnostyce medycznej, jest odpowiednie dobranie źródła światła, które pozwala na bardzo selektywne wzbudzenie molekuł fluorescencyjnych, a co za tym idzie – bardzo dokładne badania. Kolejną trudnością, szczególnie w mikroskopii fluorescencyjnej, jest grubość próbki, z jakiej otrzymywany jest obraz. Często zmiany, które należałoby wychwycić w badaniu, są umiejscowione w bardzo cienkiej warstwie, z której trudno uzyskać obraz w tradycyjnej mikroskopii fluorescencyjnej. Spowodowało to rozwój technik badawczych, których głównym zadaniem jest umożliwienie wykonania dokładnego badania cienkich warstw.

Zjawisko generacji drugiej harmonicznej SHG (*Second Harmonic Generation*) może być wykorzystane zarówno do badania warstw cienkich, jak i poprawy rozdzielczości obrazu. Oczywiście, nie odnosi się ono jedynie do fali świetlnej, chociaż właśnie w tym przypadku zostało zaobserwowane po raz pierwszy. Dotyczy ono również fali akustycznej, dzięki czemu znajduje zastosowanie w badaniach ultrasonograficznych.

Zjawisko generacji drugiej harmonicznej

W przypadku silnego pola elektromagnetycznego, np. promieniowania laserowego, uwidaczniają się efekty nieliniowe.

W wypadku omawianego zjawiska najistotniejszą rolę odgrywa polaryzacja elektryczna drugiego rzędu (efekty świetlne związane są ze składową elektryczną pola elektromagnetycznego):

$$P_i^{(2)} = x_{ijk}^e E_j(r,t) E_k(0) \quad (1)$$

gdzie:

$E_j(r,t)$ – pole elektryczne funkcji położenia w ośrodku i czasie,

$E_k(0)$ – statyczne i jednorodne pole elektryczne,

x_{ijk}^e – tensor trzeciej rangi opisujący nieliniową podatność elektryczną drugiego rzędu.

Tensor x_{ijk}^e ma różne od zera składowe jedynie w ciałach niemających środka symetrii – w ośrodkach nieliniowych.

Polaryzację drugiego rzędu można rozdzielić na następujące składowe [1]:

$$P_i^{(2)}(0) = \frac{1}{2} x_{ijk}^e E_j^0 E_k^0 \quad (2)$$

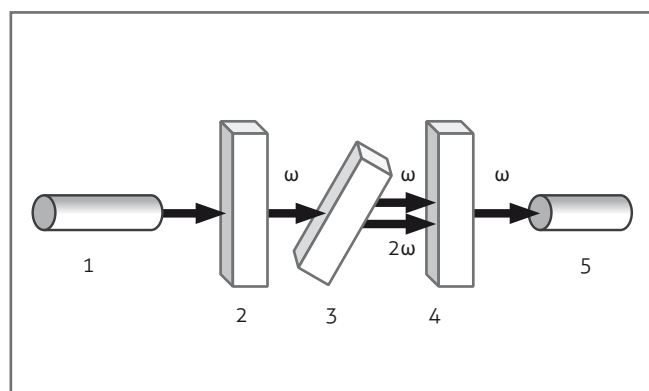
$$P_i^{(2)}(2\omega, 2k) = \frac{1}{2} x_{ijk}^e E_j^0 E_k^0 \quad (3)$$

Równanie (2) opisuje polaryzację stałą niezależną od czasu, a równanie (3) polaryzację zmieniającą się w czasie z częstotliwością 2ω .

W wyniku zjawiska opisanego za pomocą równania (3) powstaje w ośrodku niesymetrycznym fala o podwojonej częstotliwości, w porównaniu z falą emitowaną przez źródło światła [1].

Zjawisko generowania drugiej harmonicznej zostało odkryte w 1961 r. przez Frankena i jego współpracowników [1].

W pierwszym wykonanym eksperymencie światło lasera rubinowego o długości fali 694 nm zostało przepuszczone przez płytkę kwarcową. Po przejściu światła przez kwarc poza światłem podstawowym – czerwonym zaobserwowano słabą wiązkę światła ultrafioletowego, o długości równej 347 nm, czyli o podwojonej częstotliwości w stosunku do światła emitowanego przez laser rubinowy. Przykładowy schemat układu do uzyskiwania drugiej harmonicznej przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1 Schemat układu do generacji drugiej harmonicznej: 1 – laser rubinowy, 2 – filtr przepuszczający podczerwień, 3 – kryształ nieliniowy, 4 – filtr przepuszczający ultrafiolet, 5 – fotopowielacz

Zjawisko generacji drugiej harmonicznej jest często wykorzystywane do badania cienkich warstw – powierzchni materiałów.

Mikroskopia z wykorzystaniem zjawiska generacji drugiej harmonicznej

Pomimo, że od czasu odkrycia zjawiska generacji drugiej harmonicznej minęło już niemalże 50 lat, to jego zastosowanie w badaniach mikroskopowych ma stosunkowo krótką historię. Wynika to z faktu, że współczesna mikroskopia, która jest w znacznym stopniu uzależniona od źródeł światła, takich jak lasery czy diody laserowe, odnotowała znaczący rozwój dopiero w ostatnich 20 latach.

Wraz z rozwojem źródeł światła, pojawiły się również wy-

sublimowane techniki badania cienkich warstw, jak np. mikroskopia z wykorzystaniem zjawiska generacji drugiej harmonicznej (SHIM – *Second-Harmonic Imaging Microscopy*).

Jest to metoda badawcza o dużym potencjale aplikacyjnym w biologii i medycynie, chociażby ze względu na fakt, że komórki posiadają wiele dużych anizotropowych molekuł, jak np. kolagen [2].

Zaznaczyć należy, że SHIM nie wykorzystuje zjawiska fluorescencji. Dzięki temu można w trakcie badania wyeliminować niedogodności pojawiające się w przypadku mikroskopii fluorescencyjnej, np. fotowysparanie.

Poza tym wiele struktur wewnątrzkomórkowych generuje mocny sygnał drugiej harmonicznej, dzięki czemu są dobrze uwidocznione w trakcie badania. Z pewnością jedną z największych zalet SHIM jest informacja na temat struktury i ułożenia molekuł. Sygnał drugiej harmonicznej jest silnie zależny od polaryzacji, dzięki czemu można uzyskać informacje na temat ułożenia białek [2].

Przykładem tego typu białka jest aktynomiozyna (aktyna), w której mogą zachodzić zmiany z powodu różnych chorób tkanki mięśniowej. SHIM pozwala ustalić, na jakich maksymalnych głębokościach w mięśniach zachodzą zmiany.

Dane te mogą być niezwykle istotne w prowadzeniu badań nad chorobami, w których dochodzi do zmian w strukturze białek, np. w układowych chorobach tkanki łącznej.

Najsilniejszy sygnał w SHIM uzyskuje się w przypadku, gdy analizowane zaburzenie przechodzi przez całą próbkę. Ostatnie badania dowodzą, że również w świetle odbitym w przypadku włókien kolagenu można obserwować sygnał drugiej harmonicznej [2]. Metoda ta nabiera dodatkowego znaczenia, jeśli uwzględnimy się kompatybilność mikroskopów fluorescencyjnych z SHIM.

Fale harmoniczne w ultrasonografii

Przedstawione zjawisko generacji drugiej harmonicznej nie jest związane jedynie z falą elektromagnetyczną. Również w przypadku fal mechanicznych, np. fali akustycznej, obserwuje się zjawisko generacji fal harmonicznych (drugiej harmonicznej, jak i harmonicznych wyższych rzędów).

Badanie ultrasonograficzne (USG) jest często jednym z pierwszych badań obrazowych, jakie są wykonywane ze względu na jego niski koszt, dostępność oraz brak większości przeciwwskazań, z jakimi mamy do czynienia w przypadku innych badań obrazowych.

Za początki wykorzystania ultradźwięków w diagnostyce medycznej przyjmuje się lata 40. XX wieku [3]. Od tego czasu w obrazowaniu ultrasonograficznym dokonano się znaczny postęp. Pojawiło się wiele opcji, które poprawiają jakość obrazu USG [4]. Rozwój tych metod w decydujący sposób poszerzył spektrum zastosowań USG.

Im dłuższa jest fala, tym lepiej przenika przez ośrodek, natomiast wraz ze wzrostem długości fali spada ilość szczegółów, jakie za jej pomocą można zobrazować. Z tego względu w trakcie projektowania musi być uwzględniony kompromis pomiędzy maksymalną głębokością, z jakiej będzie pochodził obraz, a jego rozdzielczością. Jedną z metod, które poprawiają rozdzielczość obrazu USG, nie zmniejszając w drastyczny sposób maksymalnej głębokości, z jakiej otrzymuje się obraz, jest obrazowanie harmoniczne – THI (*Tissue Harmonic Imaging*).

Do THI używane są specjalne głowice, które muszą być wyposażone w dodatkowy zestaw filtrujący. Natężenie fal harmonicznych jest o wiele mniejsze niż fali podstawowej, w związku z tym, aby analizować sygnał drgań harmonicznych, fale o częstotliwości podstawowej muszą zostać usunięte z sygnału powracającego do głowicy. W przeciwnym wypadku niemożliwe byłoby zarejestrowanie sygnału pochodzącego od fali harmonicznej. W tym celu głowice stosowane w THI są zaopatrzony

ne w specjalne filtry, które wycinają zakres fal o częstotliwości podstawowej. Niestety, w przeciwieństwie do światła emitowanego przez laser ultradźwięki emitowane przez głowicę mają szeroki zakres częstotliwościowy. Z tego względu część sygnału, która pochodzi z fali harmonicznej, jest usuwana przez filtry razem z częstotliwością podstawową, co powoduje osłabienie natężenia odbieranego sygnału. Z tego względu nie jest zalecane stosowanie THI w przypadku pacjentów, u których można uzyskać wysoką jakość obrazu w trakcie badania. Może to wpłynąć na znaczne pogorszenie jakości obrazowania.

W przypadku wprowadzenia nowej opcji w obrazowaniu USG niezwykle cenne jest badanie porównawcze nowej metody z tradycyjnym badaniem USG. Tego typu badania przeprowadzili m.in. S Choudhry i in. [5]. W badaniu uwzględniono 100 pacjentów, u których wykryto 202 zmiany w obrębie jamy brzusznej. Przewaga opcji THI zarysowała się w przypadku 126 zmian (62%), 52 zmiany (26%) były widoczne na tym samym poziomie, natomiast w wypadku 24 zmian (12%) stwierdzono lepsze rezultaty przy zastosowaniu tradycyjnego USG.

Zaobserwowano, że jakość obrazowania THI zwiększa się wraz ze wzrostem wskaźnika masy ciała pacjenta BMI (*Body Mass Index*). W przypadku pacjentów otyłych 73% zmian korzystniej obrazowano za pomocą THI [5].

Otrzymane wyniki pozostają w zgodzie zarówno z podstawami fizycznymi USG, jak i SHG. Technika THI pozwala zobrazować bardziej subtelne zmiany. Wiązka fal harmonicznym docierających do głowicy jest węższa niż wiązka podstawowa ultradźwięków, rejestrowana przez głowicę w tradycyjnym badaniu USG, co również poprawia rozdzielczość uzyskiwanego obrazu. W przypadku tradycyjnego USG większą rozdzielczość można uzyskać oczywiście poprzez zwiększenie częstotliwości emitowanych ultradźwięków. Niestety, takie zabiegi skutkują utratą maksymalnej głębokości, z jakiej można uzyskać obraz.

THI znakomicie nadaje się do obrazowania cyst. Generacja fal harmonicznym powoduje zwiększenie stosunku sygnału do szumów, co wpływa na poprawę jakości obrazowania. Zmniejszenie ilości artefaktów w okolicach obrazowanych zmian, pozwala na ich lepsze uwidocznienie.

Natężenie fali harmonicznej jest zdecydowanie mniejsze niż wiązki podstawowej. Z tego względu struktury o dużym współczynniku odbicia, tj. tłuszcz czy zwapnienia, są doskonale obrazowane z użyciem opcji THI, ze względu na silne wzmocnienie natężenia fali harmonicznym. Nie należy jednak zapominać, że w przypadku obrazowania narządów głęboko położonych, nawet u osób otyłych, stosowanie opcji THI może nie przynieść oczekiwanych rezultatów. Wynika to z dużej odległości, jaką muszą pokonać fale harmoniczne wracające do głowicy, co może powodować duży spadek natężenia ultradźwięków.

W ostatnich latach nastąpił również rozwój w dziedzinie nowych środków kontrastujących, które w wielu wypadkach pozwalają na bardzo szczegółowe obrazowanie struktur anatomicznym i wychwycenie nawet małych zmian w ich budowie [6]. Mikropęcherzyki, obecne w podawanych środkach kontrastujących, służą do wzmocnienia współczynnika odbicia w obrazowanych tkankach, przez co uzyskiwany obraz zawiera o wiele więcej szczegółów. Obecność mikropęcherzyków w tkance powoduje również zwiększenie anizotropii osrodka. Powoduje to zwiększenie natężenia generowanych fal harmonicznym. Z tego względu połączenie obrazowania harmonicznego ze środkami kontrastującymi CHI (*Contrast Harmonic Imaging*) jest naturalnym krokiem w rozwoju ultrasonografii [7].

W diagnostyce nowotworowej piersi USG jest obok mammografii podstawowym badaniem. Wczesne wykrycie zmian nowotworowych odgrywa niezwykle istotną rolę zarówno w planowaniu leczenia, jak i w rokowaniach na przewyższenie choroby.

Rejestracja ultradźwięków niskiej częstotliwości jest utrudniona poprzez występowanie takich zjawisk, jak np. powstawanie listka bocznego, rozproszenie fali itd. [8].

Jakość sygnału, a co za tym idzie, jakość obrazu uzyskiwana w badaniu z wykorzystaniem opcji THI jest zależna od sposobu filtrowania sygnału odbieranego przez głowicę.

Prosta filtracja polega na usuwaniu z sygnału częstotliwości podstawowej i wszystkich fal o niskiej częstotliwości. Niestety, prowadzi to do zmniejszenia rozdzielczości osiowej [8]. Powoduje to obniżenie jakości obrazowania struktur anatomicznym w trakcie diagnostyki sutków, np. ścian przewodów czy guzków dysplastycznych. Obniża to w znacznym stopniu wartość diagnostyczną badania.

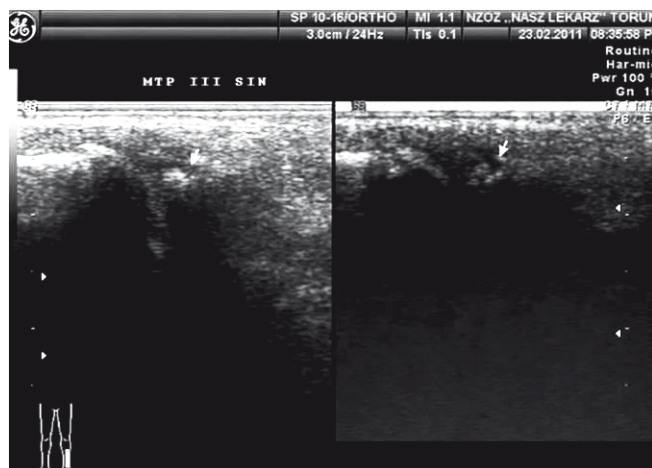
Alternatywną metodą filtracji w THI jest cyfrowe kodowanie wiązki. Technika ta w zdecydowanym stopniu poprawia stosunek sygnału do szumów oraz pozwala na obrazowanie narządów znajdujących się na większych głębokościach. Przy stosowaniu cyfrowego kodowania wiązka dochodzi w większości przypadków (ok. 94% pacjentek) do ściany klatki piersiowej, co jest właściwą głębokością w wypadku USG sutków [8].

Użycie opcji THI, w stosunku do standardowego USG, umożliwia większą liczbę litych guzków o mniejszej echogeniczności w porównaniu z otaczającą je tkanką.

Zarówno THI, jak i CHI są bardzo skutecznymi metodami obrazowania znajdującymi zastosowanie w diagnostyce guzów w obrębie gęstej tkanki z niejednorodnym echem [7]. Za pomocą tych opcji możliwe jest wykrycie guzów mniejszych niż 10 mm.

Opcja THI charakteryzuje się niższą częstością odświeżania obrazu niż tradycyjne badanie USG. Z tego względu w wypadku stosowania dodatkowych opcji, takich jak kolor Doppler czy Doppler mocy, wskazane jest wyłączenie opcji THI. Większość badaczy uważa, że wykorzystanie opcji THI i CHI może w przyszłości stanowić ważne kryterium diagnostyczne w poszukiwaniu nowotworów piersi [7, 8].

Ultrasonografia znajduje szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny. W reumatologii ultrasonografia błony maziowej odgrywa istotną rolę we wczesnym rozpoznaniu takich chorób, jak reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Błona maziowa objęta stanem zapalnym charakteryzuje się zwiększonym przepływem naczyniowym w opcji Dopplera mocy [4]. Jednak poza oceną unaczynienia czy przerostu błony maziowej równie istotną częścią diagnostyki obrazowej jest ocena stawów i kości. Dotyczy to szczególnie rąk i stóp, gdyż zwykle w tych obszarach zmiany związane z postępowaniem choroby pojawiają się najwcześniej. Dzięki zastosowaniu opcji THI w trakcie badania zmiany, takie jak nadżerki, są uwidocznione znacznie wyraźniej niż w przypadku zwykłego badania USG. Badanie układu kostnego za pomocą THI powoduje zdecydowanie większy wzrost natężenia fali harmonicznej, niż ma to miejsce



Rys. 2 Obraz nadżerki w obrębie stawu z kości śródstopno-paliczkowej palca trzeciego lewej stopy, przekrój podłużny. Lewa fotografia wykonana bez dodatkowych opcji. Prawa fotografia z opcją THI. Białe strzałki wskazują nadżerkę na obydwu fotografiach

w przypadku większości tkanek. Dzięki temu stosowanie tej opcji do oceny stawów i kości w przypadku rąk czy stóp może przynieść dużą poprawę jakości obrazowania. Niewielka głębokość, na jakiej jest położony badany obszar, oraz – w przypadku kości silnie odbijająca powierzchnia – powodują, że większość ograniczeń THI, z jakimi można się spotkać w trakcie badania, nie ma w tym przypadku większego znaczenia.

Na rys. 2 przedstawiono obraz uzyskany w trakcie badania pacjenta z RZS metodą standardową oraz z opcją THI. Zdjęcia z wykorzystaniem THI charakteryzują się znacznie wyższą jakością obrazu, dzięki czemu dostrzeżenie zmian wczesnych w obrębie stawów i kości jest ułatwione.

Podsumowanie

Zjawisko generacji drugiej harmonicznej, choć znane już od lat 50., dopiero od niedawna zaczęło odgrywać istotną rolę w badaniach naukowych z pogranicza biologii i medycyny. Możliwość badania cienkich warstw za pomocą tego zjawiska pozwala na śledzenie istotnych procesów oraz na poznanie struktury ułożenia molekuł. SHIM jest ważnym dopełnieniem mikroskopii fluorescencyjnej i poza takimi technikami, jak wzbudzenia wielofotonowe czy zjawisko całkowitego odbicia wewnętrzne, może być wykorzystana do badania procesów zachodzących na granicy błon komórkowych.

W diagnostyce medycznej THI odgrywa coraz ważniejszą rolę. Już teraz wiele prac wskazuje istotny wpływ fal harmonicznych na poprawę jakości obrazowania w tak znaczących dziedzinach, jak diagnostyka obrazowa sutków czy diagnostyka układu ruchu. Być może w przyszłości fale harmoniczne wyższych rzędów jeszcze bardziej poprawią jakość analizowanych obrazów.

Zarówno badania podstawowe w biologii czy medycynie, jak i różnicowa diagnostyka obrazowa zyskały bardzo na zastosowaniu zjawiska generacji fal harmonicznych w ośrodkach anizotropowych. ■

Literatura

1. S. Kielich: *Molekularna optyka nieliniowa*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa-Poznań 1977.
2. P.J. Campagnola, L.M. Loew: *Second-harmonic imaging microscopy for visualizing biomolecular arrays in cells, tissues and organism*, Nature Biotechnology, vol. 21(11), 2003, s. 1356-1360.
3. D. Kane, W. Grassi, R. Sturrock, P.V. Balint: *A brief history of musculoskeletal ultrasound: "From bats and chips to babies and hips"*, Rheumatology, vol. 43, 2004, s. 931-933.
4. S. Jeka, A. Murawska: *Ultrasonografia błony maziowej w chorobach reumatycznych*, Reumatologia, vol. 47(6), 2009, s. 339 - 343.
5. S. Choudhry, B. Gorman, J.W. Charboneau i in.: *Comparison of tissue harmonic imaging with conventional US in abdominal disease*, Radiographics, vol. 20, 2000, s. 1127-1135.
6. S. Jeka: *Przegląd nowoczesnych technik ultrasonograficznych w reumatologii – ultrasonografia błony maziowej*, Inżynieria Biomedyczna – Acta Bio-Optica et Informatica Medica, vol. 16, 2010, s. 223-227.
7. D.A. Clevert, E.M. Jung, K.P. Jungius i in.: *Value of tissue harmonic imaging (THI) and contrast harmonic imaging (CHI) in detection and characterization of breast tumours*, Eur Radiol., vol. 17(1), 2007, s. 1-10.
8. A.T. Stavros: *Ultrasonografia piersi*, wyd. MediPage, Warszawa 2007.

otrzymano / received: 03.04.2011
zaakceptowano / accepted: 05.06.2011