

MEDICIÓN DE LA VELOCIDAD DE PROPAGACIÓN DEL ULTRASONIDO EN TEJIDO ANIMAL EMPLEANDO REFLECTORES FIJOS

S. A. López-Haro, A. Vera, y L. Leija

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, 07360 México, D.F.
57473800 Ext. 6212, slopezh84@gmail.com, arvera@cinvestav.mx, lleija@cinvestav.mx

Resumen: En este trabajo se presenta un sistema que incluye un arreglo de agujas reflectoras para la medición *in vitro* de la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos semisólidos. Este arreglo, contribuye a minimizar los efectos de la expansión térmica que experimentaría un solo elemento reflector, cuando se varía la temperatura. Se presentan los resultados obtenidos de la dependencia de la velocidad de propagación del ultrasonido con el aumento de la temperatura en el intervalo de 25 °C a 50 °C en agua y en grasa de cerdo.

1. INTRODUCCIÓN

Las técnicas de medición basadas en el ultrasonido constituyen unas de las principales herramientas empleadas tanto en la industria como en la medicina para el estudio de materiales [1] y tejidos biológicos [2-4], debido a su naturaleza no destructiva y no ionizante. Las características ultrasónicas más estudiadas en materiales biológicos son atenuación, absorción, scattering (dispersión) y velocidad de propagación. El conocimiento de estas características permite entender el comportamiento de las ondas ultrasónicas en los tejidos y emplearlas para diversos estudios como la imaginología, la detección de enfermedades y, más recientemente, la estimación no invasiva de la temperatura [5]. En esta última, la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos juega un papel importante debido a que presenta una variación casi lineal con respecto de la temperatura [6]. Las técnicas más comunes para la medición de dicha velocidad de propagación en líquidos y sólidos son transmisión completa y pulso-eco; sin embargo, éstas requieren de ciertas condiciones en cuanto a la preparación de las muestras, la alineación de los transductores y, en algunos casos, la medición sobre un material patrón para, por medio de las diferencias en el tiempo de vuelo, determinar la velocidad en el material a caracterizar.

La consistencia de las muestras biológicas, así como su manipulación, almacenamiento y transportación hacen complicada la caracterización por medio de las técnicas antes mencionadas. Un ejemplo en este sentido es la medición del espesor de las muestras que tienen una consistencia

semisólida como en el caso del hígado, el músculo, la grasa y todos los tejidos llamados suaves. Si además se requiere hacer una caracterización de la velocidad de propagación con respecto a la variación de la temperatura, es necesario tomar en cuenta que con esta variación también se presentan cambios en las dimensiones de las muestras debido a la expansión térmica. Se tiene entonces otro factor de influencia que condiciona la medición.

La velocidad de propagación del ultrasonido en los tejidos biológicos varía con respecto a la temperatura según su composición; en los tejidos con mayor contenido graso la velocidad de propagación disminuye conforme aumenta la temperatura mientras que en los tejidos con mayor cantidad de agua la velocidad aumenta conforme aumenta la temperatura [5]. En los equipos médicos de imaginología ha sido necesario establecer valores estándar sin embargo, hay diversos estudios que podrían utilizar esta dependencia en temperatura para obtener información importante a partir de los cambios que sufren las diversas propiedades ultrasónicas. En la Tabla 1 se muestran los valores típicos de la velocidad de propagación del ultrasonido en algunos de los tejidos biológicos los cuales están entre 1 460 m/s y 1 650 m/s; es necesario hacer notar que los equipos médicos de imaginología adoptan como velocidad de propagación típica el valor de 1 540 m/s.

Otro factor de influencia en la caracterización de tejido biológico *in vitro* es su rápida descomposición, que se traduce en alteraciones de su comportamiento, cuando es expuesto a la radiación ultrasónica. Este condicionamiento impone realizar

las mediciones en el menor tiempo posible. El objetivo de este trabajo ha sido diseñar, construir y caracterizar un sistema capaz de medir la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos suaves.

Tabla 1. Velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos [4].

Medio	Velocidad de Propagación del Ultrasonido [m/s]
Aire	343 @ 20 °C
Agua	1 480 @ 20 °C
Grasa	1 479 @ 37°C
Sangre	1 565 @ 37 °C
Hígado	1 540 @ 37°C
Músculo	1 587 @ 37°C
Hueso	3 406 @ 37°C

2. METODOLOGÍA

2.1 Descripción del Sistema de Medición

El sistema de medición de la velocidad de propagación trabaja con la técnica pulso-eco, es decir, el mismo transductor que emite el pulso ultrasónico es el que recibe los ecos generados por la interacción del ultrasonido con el medio a interrogar. Consta de un *pulser* [7, 8] que excita a un transductor de inmersión de 3,5 MHz con un pulso eléctrico de 250 V y 50 ns de duración. La señal ultrasónica a la salida del transductor viaja a través del medio a caracterizar que, al interactuar con un arreglo de agujas reflectoras, genera dos ecos que son captados por el mismo transductor. Esta señal que contiene ambos ecos es amplificada y enviada a un osciloscopio donde es almacenada a una frecuencia de muestreo de 5 GS/s para ser procesada posteriormente, ver Figuras 1 y 4.

El transductor, la muestra y el arreglo de agujas se encuentran inmersos en un baño termostático que permite regular la temperatura al valor deseado con una estabilidad de $\pm 0,005$ °C con agua a 40 °C. La temperatura al interior de la muestra es monitoreada por medio de cuatro termopares tipo J que permitieron corroborar una distribución de temperatura uniforme en todo el volumen de la muestra radiada por el campo ultrasónico. La muestra debe ser de un espesor no mayor a 1 cm para que el calentamiento sea más rápido, la atenuación sea menor y la descomposición no sea un factor de influencia en la medición.

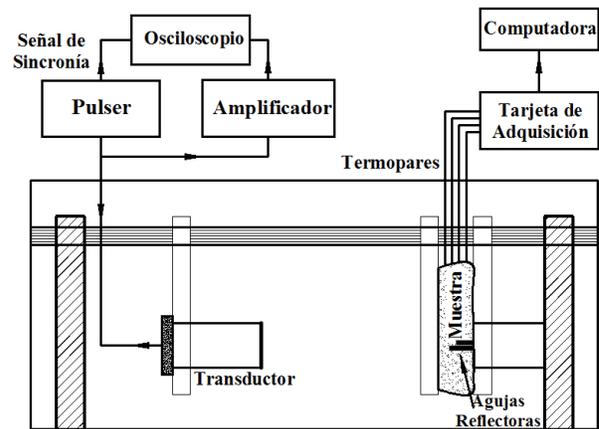


Fig. 1 Sistema para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido.

2.2 Diseño del Arreglo de Agujas Reflectoras

La principal ventaja del sistema de medición antes descrito es el arreglo de agujas reflectoras el cual permite realizar la medición de la velocidad de propagación partiendo de una sola señal ultrasónica en cada uno de los valores de temperatura de interés, minimizando los efectos de la expansión térmica. Este arreglo consta de dos reflectores de acero de 1,5 mm de diámetro insertados en una base cilíndrica de Nylamid® de 1,5 cm de diámetro con una distancia fija entre las puntas de los reflectores de 6,5 mm, ver Figura 3. Este arreglo es alineado con la cara del transductor mediante un montaje especial para que la base y el transductor queden centrados. La distancia entre las puntas de las agujas ha sido determinada previamente [9], a continuación se describe brevemente el procedimiento.

Se sumergen en agua bidestilada desgasificada un transductor ultrasónico en un soporte fijo y el arreglo de agujas reflectoras sobre la base de Nylamid acopladas en un mecanismo que se puede desplazar en tres ejes, con una resolución de 6,37 μ m. El transductor es excitado mediante un pulso de 250 V / 50ns, que se monitorea mediante un osciloscopio, así como las dos señales eco que resultan, al enfrentarse el patrón de radiación ultrasónico, con el arreglo de agujas. La mejor alineación de este arreglo se obtiene de ir desplazando el mismo en el plano paralelo a la cara del transductor, manteniendo una distancia de 6 cm entre el sistema de agujas reflectoras y el transductor, hasta obtener la mayor amplitud de la señal eco proveniente de la aguja más cercana.

La posición de mejor alineación será denotada como S_0 , se adquiere y almacena en el osciloscopio la señal que contiene los ecos provenientes de ambos reflectores. Posteriormente se recorren las agujas 5 mm, en el sentido de alejarse del transductor denominando a esta nueva posición como S_1 , esta segunda señal es almacenada asegurando la presencia de ambos ecos, ahora desplazados en el tiempo debido al cambio en la posición de ambas agujas. Es importante hacer notar que la temperatura del agua en ambas mediciones no ha cambiado, lo que nos asegura que la velocidad de la señal ultrasónica en ambos casos será la misma. En la Figura 2 se muestran las dos señales adquiridas.

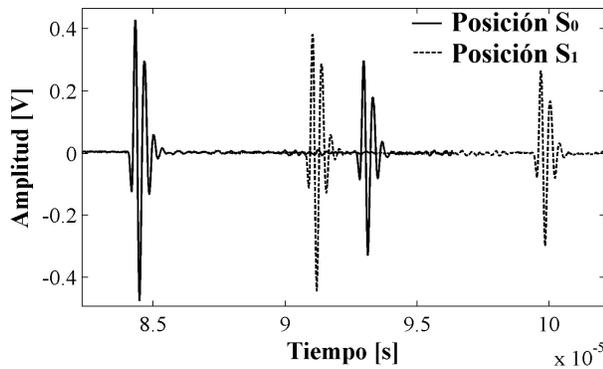


Fig. 2 Señales utilizadas en la medición de la distancia entre las agujas reflectoras.

Primeramente, se obtiene el valor de la velocidad de propagación del ultrasonido en el medio, empleando la ecuación (1)

$$c_w = \frac{2d}{\Delta t_{e_{1S0}e_{1S1}}}, \tag{1}$$

donde d es la distancia a la que fue recorrido el arreglo de agujas (5 mm) y $\Delta t_{e_{1S0}e_{1S1}}$ es el tiempo calculado entre el primer eco de la señal adquirida en la posición S_0 (proveniente de la aguja más cercana al transductor) y el mismo eco, ahora en la posición S_1 . La velocidad del ultrasonido obtenida de la ecuación anterior c_w , y el cálculo del tiempo, en este caso, entre los ecos de las diferentes agujas reflectoras $\Delta t_{e_{r1}e_{r2}}$ en la señal adquirida en la posición S_0 , se sustituyen en la ecuación (2), para

obtener finalmente, la distancia entre las agujas reflectoras.

$$d_{R1R2} = \frac{\Delta t_{e_{r1}e_{r2}} c_w}{2} \tag{2}$$

Las agujas reflectoras se insertan en el tejido a caracterizar generándose dos ecos bien definidos que sobresalen del resto de los ecos que se producen por los reflectores naturales del tejido al paso del ultrasonido, ver Figura 4. Entonces, con el tiempo entre los ecos de los reflectores y la distancia conocida, se puede realizar el cálculo de la velocidad de propagación ultrasónica de la muestra a la temperatura de interés empleando la ecuación (3)

$$c_m = \frac{2d_{R1R2}}{t_{R1R2}}, \tag{3}$$

donde c_m es la velocidad de propagación del ultrasonido en el medio donde se encuentran insertadas las agujas reflectoras, d_{R1R2} es la distancia antes calculada entre las puntas de las agujas y t_{R1R2} es el tiempo de vuelo entre los ecos que se generan por la presencia de las agujas. Es necesario afectar las ecuaciones por un factor de 2 debido a que la técnica usada es pulso eco y el ultrasonido recorre dos veces la distancia antes de ser captado.



Fig. 3 Arreglo de agujas reflectoras insertadas en la base de Nylamid®

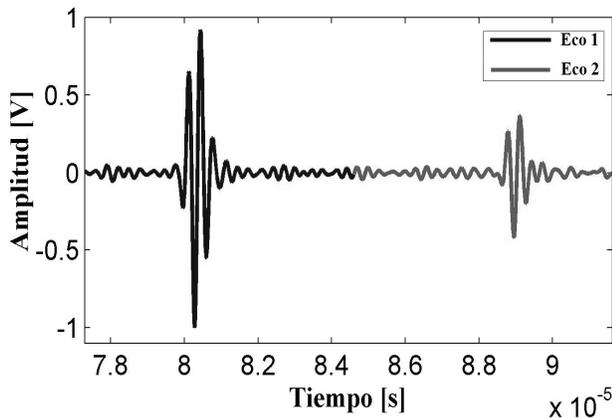


Fig. 4 Ecos provenientes de las agujas reflectoras. El eco generado por la aguja más cercana (Eco 1) presenta una mayor amplitud que el eco de la aguja más alejada (Eco 2).

2.3 Cálculo del Tiempo de Vuelo entre los Ecos de las Agujas Reflectoras

El tiempo de vuelo entre los ecos de interés puede calcularse de dos formas i) realizando una diferencia entre los máximos o mínimos de los ecos o ii) empleando la técnica de la correlación cruzada entre los ecos. En este caso se empleó la correlación cruzada. Con esta técnica se realiza el traslape del segundo eco sobre el primero en pasos que corresponden con el periodo de la frecuencia de muestreo (0,2 ns) y se multiplican las amplitudes de las secciones de los ecos traslapadas. Cuando no existe una señal con la cual multiplicar, la multiplicación es por cero. Empleando esta técnica, se obtiene entonces un máximo cuando los ecos ultrasónicos con similares, es decir, cuando están perfectamente traslapados lo cual nos indica la diferencia en tiempo que existe entre ambos ecos. En la Figura 5 se muestra un ejemplo de la correlación y el traslape entre los ecos, el segundo eco es recorrido en el tiempo (Figura 5a) el número de muestras indicadas por el máximo de la correlación cruzada (Figura 5b). Una vez obtenido este tiempo en cada una de las señales adquiridas a diferentes temperaturas se aplica la ecuación (3) para calcular la velocidad de propagación en el medio.

2.3 Caracterización del Sistema

Para evaluar el desempeño del sistema de medición desarrollado, se llevaron a cabo una serie de mediciones de la velocidad de propagación del ultrasonido en un material patrón en el intervalo de temperatura de interés, de 25 °C a 50 °C. En este

caso, el medio elegido como patrón fue el agua bidestilada desgasificada colocada en el baño termostático donde se controló la temperatura. Se adquirieron y almacenaron las señales ultrasónicas que contienen los ecos de interés cada 0,5 °C a intervalos de tiempo de entre 5 minutos y 7 minutos para garantizar una distribución de temperatura uniforme. Los valores de la temperatura del agua se adquirieron por medio de un termómetro incluido en el baño termostático y con un termómetro de mercurio colocado junto al sistema de medición montado con una resolución de 0,1 °C. Los resultados son comparados con los reportados por Bilaniuk et al. [10] dentro del intervalo de temperatura medido.

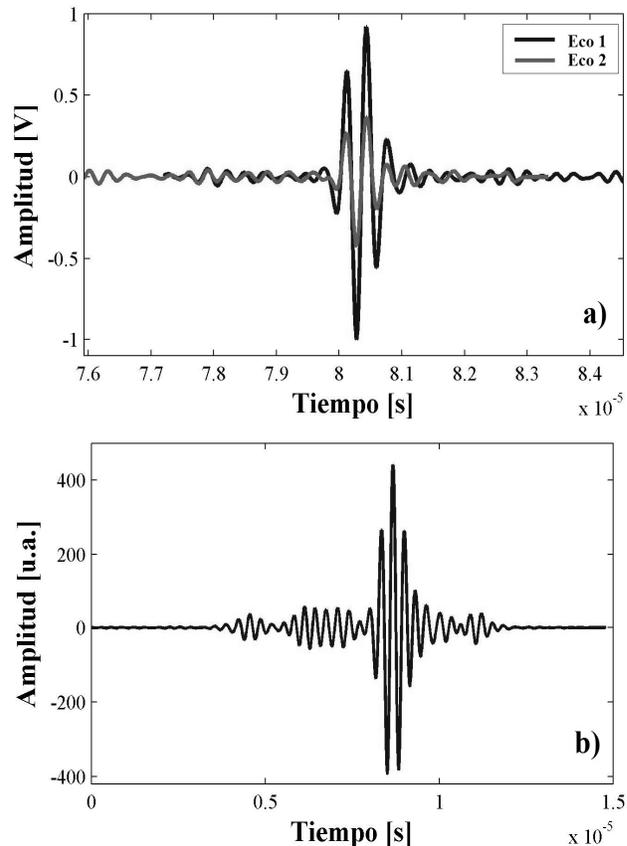


Fig. 5 a) Eco 2 recorrido sobre el Eco 1 el número de muestras indicadas por el máximo de la correlación cruzada. **b)** correlación cruzada entre los Ecos 1 y 2.

2.4 Mediciones en Tejido Biológico

Una vez obtenidos los resultados en el medio patrón, el sistema se empleó para medir la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del ultrasonido en 5 muestras de grasa

de cerdo. Las muestras se obtuvieron directamente del matadero y almacenadas en solución salina con un pH = 7,4 a 4 °C. Las capas de grasa se limpiaron y cortaron de tal forma que cubrieran el sujetador, ver Figura 6.



Fig. 6 Montaje de las muestras biológicas en el sujetador después de ser limpiadas y cortadas.

Posteriormente, se insertaron las agujas reflectoras y los termopares alrededor de la zona de radiación del transductor, ver Figura 7. En los materiales de tipo biológico la medición sólo se puede realizar una vez debido a que con el aumento de temperatura se presenta la desnaturalización de las células y el cambio de las propiedades en general; por este motivo, se decidió hacer la medición en muestras diferentes de tejido graso.

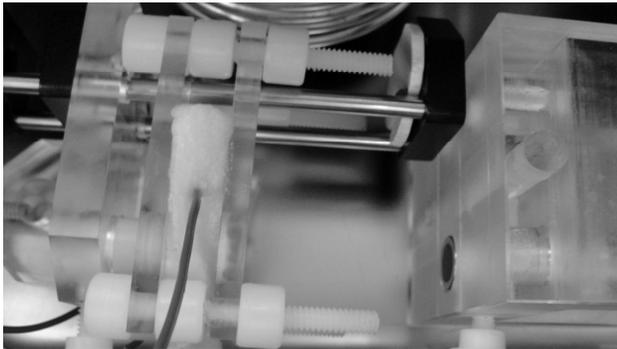


Fig. 7 Colocación de los termopares alrededor de la muestra a interrogar.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterización del Sistema

Se realizaron mediciones de la velocidad de propagación del ultrasonido en agua bidestilada desgasificada empleando el sistema de medición descrito; se almacenaron las señales adquiridas cada 0,5 °C y fueron posteriormente procesadas mediante MATLAB (MathWorks). Los resultados de la medición de la velocidad de propagación de 24 °C

a 50 °C en agua bidestilada desgasificada son mostrados en la Figura 8, donde se puede apreciar un comportamiento general cercano al reportado por Bilaniuk et al. [10] en el intervalo de interés con una variación máxima de -0,420 % para el valor de 43,5 °C.

3.2 Resultados de Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos

Como se ha descrito anteriormente, se realizaron también mediciones de la velocidad de propagación en 5 muestras de tejido graso porcino en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C con incrementos de 1 °C. El tiempo entre mediciones osciló entre 13 y 17 minutos. Los resultados obtenidos para las 5 muestras fueron promediados para cada valor de temperatura de interés presentándose la mayor desviación estándar a 25 °C con un valor de $\pm 14,48$ m/s. Los valores promedio de la velocidad de propagación en grasa de cerdo muestran un comportamiento descendente casi lineal que va desde 1 488,32 m/s a 25 °C hasta 1 387,01 m/s a 50 °C, ver Figura 9.

4. DISCUSIÓN

Los resultados de la velocidad de propagación del ultrasonido en agua bidestilada desgasificada muestran que el sistema de medición con las agujas reflectoras proporciona resultados cercanos a los reportados anteriormente en este medio. Las diferencias pueden ser atribuidas a la no homogeneidad de la temperatura del agua en el baño termostático y/o a la presencia de microburbujas para temperaturas superiores a 40°C, ver Figura 8. Los ecos que se generan por la presencia de las agujas sobresalen con relación a los generados por los dispersores o distintas interfaces del medio a caracterizar debido a que las agujas se encuentran alineadas con la cara del transductor y a la marcada diferencia de impedancia acústica entre agua y acero.

Al medir la velocidad de propagación en los materiales biológicos es necesario, en algunos casos, medir el espesor de la muestra lo cual se convierte en un reto y en una variable de influencia importante debido a la consistencia semisólida de los tejidos. Con el sistema propuesto se evita este problema ya que existe una distancia fija entre las agujas y, siempre y cuando las mismas se encuentren en el interior de la muestra y alineadas al transductor, se puede realizar la medición. La uniformidad de la temperatura dentro del medio

debe ser verificada para asegurar que se están tomando las señales ultrasónicas a las temperaturas deseadas. Los valores de la velocidad en el tejido graso podrían ser promediados para generar una ecuación que describa un comportamiento general de la velocidad de propagación del ultrasonido en este medio.

Si bien el sistema diseñado no evita la realización de las mediciones de forma invasiva en tejidos *in vitro*, éste podría ser modificado para disminuir la distancia entre las agujas y que sólo sea necesario presionar sobre el tejido a caracterizar sin tener que incrustar las agujas. Con esta nueva consideración se podrían realizar incluso mediciones *in vivo*.

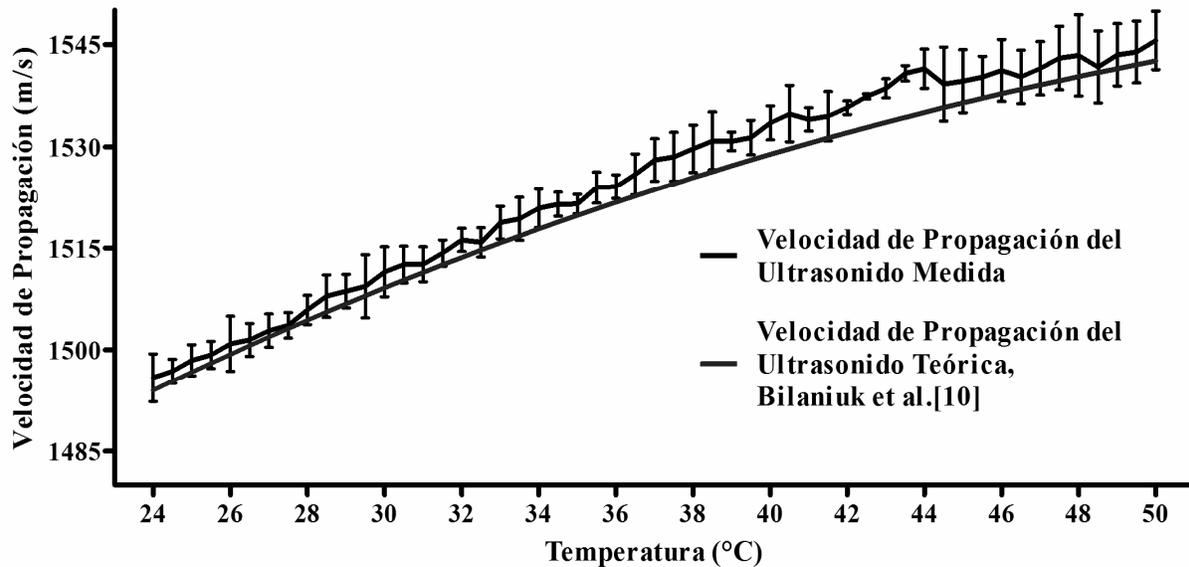


Fig. 8 Comparación entre los valores teóricos reportados por Bilaniuk et al. [10] y los medidos en este trabajo.

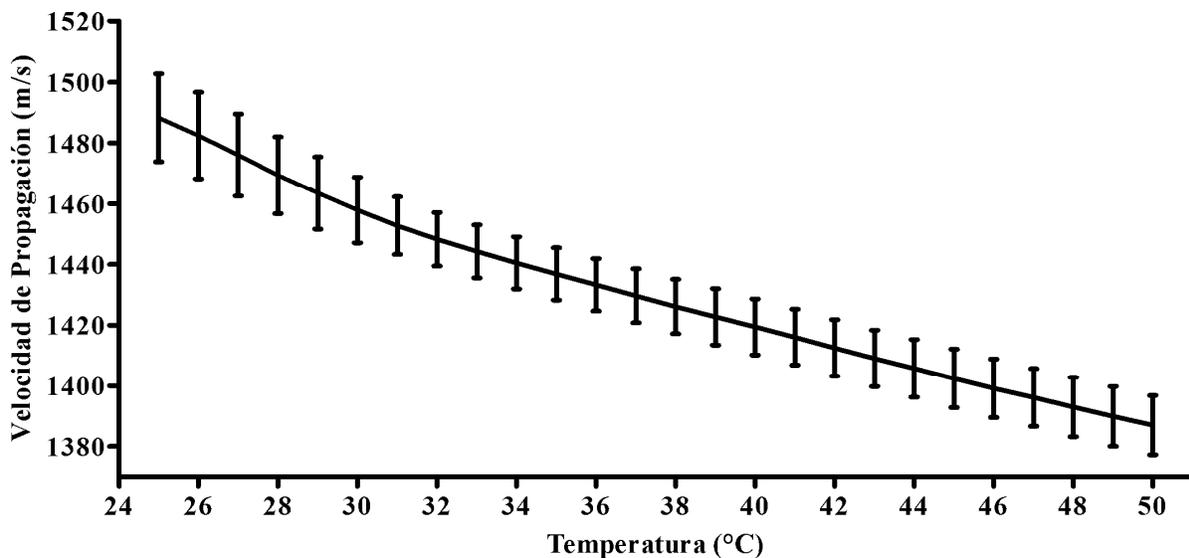


Fig. 9 Promedio de la velocidad de propagación ultrasónica en 5 muestras diferentes de tejido graso de cerdo en el intervalo de temperatura de 25°C a 50°C.

5. CONCLUSIONES

Se diseñó, construyó y caracterizó un sistema para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido con relación a la temperatura en medios semisólidos de manera invasiva. Las mediciones de la velocidad de propagación en agua bidestilada desgasificada muestran que el sistema diseñado presenta un comportamiento confiable y por lo tanto, los resultados de las mediciones pueden ser utilizadas para los estudios sobre la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos que se realizan en el laboratorio de radiaciones electromagnéticas y ultrasónicas (LAREMUS) del CINVESTAV – IPN, de igual forma, la velocidad de propagación del ultrasonido es un parámetro presente en las diferentes propuestas de solución al problema de la estimación no invasiva de la temperatura usando ultrasonido por lo que los resultados pueden ser empleados para marcar una tendencia del comportamiento de cada tejido cuando se presentan gradientes de temperatura al momento de realizar simulaciones. Se continuará con la medición en diversos tejidos biológicos *in vitro* e *in vivo* así como con el diseño de un nuevo sistema que emplee este mismo principio de reflectores fijos para poder realizar al menos 5 mediciones por muestra en diferentes áreas de manera simultánea.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a M.C. Rubén Pérez y M.C. Hugo Zepeda del Laboratorio 14 – 15 de la sección de Bioelectrónica del CINVESTAV – IPN por su valiosa asistencia técnica.

REFERENCIAS

- [1] B. W. Drinkwater and P. D. Wilcox, "Ultrasonic arrays for non-destructive evaluation: A review," *NDT & E International*, vol. 39, pp. 525-541, 2006.
- [2] J. J. Pierce, "Quantitative Characterization of Tissue Using Ultrasound," *IEEE Trans Nuclear Science*, vol. 27, pp. 1168-1175, 1980.
- [3] V. R. Singh, S. Chauhan, S. Yadav, and S. K. Chakarvarti, "Ultrasonic velocity as a non-invasive measure of temperature in biological media," *Applied Acoustics*, vol. 29, pp. 73-80, 1990.
- [4] S. A. Goss, R. L. Johnston, and F. Dunn, "Comprehensive compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues," *J Acoust Soc Am*, vol. 64, pp. 423-57, Aug 1978.
- [5] R. M. Arthur, W. L. Straube, J. W. Trobaugh, and E. G. Moros, "Non-invasive estimation of hyperthermia temperatures with ultrasound," *Int J Hyperthermia*, vol. 21, pp. 589-600, Sep 2005.
- [6] R. Maass-Moreno and C. A. Damianou, "Noninvasive temperature estimation in tissue via ultrasound echo-shifts. Part I. Analytical model," *J Acoust Soc Am*, vol. 100, pp. 2514-21, Oct 1996.
- [7] A. Ramos, A. Ruíz, J. L. San Emeterio, and P. T. Sanz, "PSpice circuit modelling of ultrasonic imaging transceivers including frequency-dependent acoustic losses and signal distortions in electronic stages," *Ultrasonics*, vol. 44, pp. e995-e1000, 2006.
- [8] A. Ramos, J. L. San Emeterio, and P. T. Sanz, "Dependence of pulser driving responses on electrical and motional characteristics of NDE ultrasonic probes," *Ultrasonics*, vol. 38, pp. 553-558, 2000.
- [9] S. A. Lopez-Haro, A. Vera, and L. Leija, "Evaluation of an ultrasonic propagation speed measurement system in the temperature range from 20°C to 45°C," *Health Care Exchanges, 2010. PAHCE 2010. Pan American*, pp. 85-89, 2010.
- [10] N. Bilaniuk and G. S. K. Wong, "Speed of sound in pure water as a function of temperature," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 93, p. 2306, 1993.