



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS  
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELÉCTRICA  
SECCIÓN DE BIOELECTRÓNICA

Efectos de la termodependencia de propiedades  
ultrasónicas de tejidos biológicos durante  
tratamientos de hipertermia con ultrasonido

**Tesis que presenta**

Sergio Alfonso López Haro

**para obtener el Grado de**

**Doctor en Ciencias**

**en la Especialidad de**

Ingeniería Eléctrica

**Codirectores de la Tesis:**

Dr. Lorenzo Leija Salas  
Dr. Arturo Vera Hernández



---

## Agradecimientos

---

AGRADEZCO AL **CONACYT** POR LA BECA BRINDADA  
DURANTE MIS ESTUDIOS DE DOCTORADO QUE  
PERMITIERON LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO DE  
INVESTIGACIÓN

## **Agradecimientos**

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV - IPN) por la formación brindada.

Al Dr. Lorenzo Leija Salas y al Dr. Arturo Vera Hernández por su asesoría y apoyo en la realización de esta tesis.

A la Dra. Liliana Favari del Departamento de Farmacología por su invaluable apoyo en los aspectos de conservación de tejidos biológicos.

Al M. en C. Rubén Pérez Valladares y al M. en C. José Hugo Zepeda Peralta por su invaluable apoyo en la planeación, discusión y realización de los diversos experimentos necesarios para la realización de esta tesis.

## Dedicatorias

*A mi esposa y amiga Fabiola, por estar a mi lado en las buenas y en las malas. Por ser parte importante de la decisión de entrar al mundo de la investigación y de la culminación de esta tesis. Nada sería lo mismo sin tu apoyo.*

*A mis padres, Sara y Alfonso, por ser siempre un ejemplo de superación y por apoyarme en todas mis locuras.*

*A mis hermanos, Yunuen, Omar y Roberto, por ser siempre mis compañeros de aventuras y por recordarme cada día que sonreír es parte importante de la vida.*

*A mis abuelos, por su cariño y por siempre creer en mí.*

*A todos mis amigos y compañeros del laboratorio con los que compartí tantos momentos de distracción y de discusión que ayudaron a la realización de este trabajo.*

*“Soy vecino de este mundo por un rato,  
y hoy coincide que también tú estás aquí,  
coincidencias tan extrañas de la vida,*

*Tantos siglos, tantos mundos, tanto espacio y coincidir...”*

---

## Resumen

---

En esta tesis se evaluaron mediante el modelado por elementos finitos (FEM por sus siglas en inglés), los efectos que tienen las propiedades acústicas termodependientes en terapias de hipertermia tanto en el campo acústico como en la distribución de temperatura generados por transductores ultrasónicos focalizados. Durante el desarrollo de este trabajo se diseñaron y caracterizaron sistemas para obtener las curvas de termodependencia de la absorción y la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos *in vitro* en el intervalo de 25°C a 50°C. Los tejidos caracterizados fueron grasa, músculo e hígado de cerdo que fueron almacenados a 4 °C en solución salina con ph de 7.4 para retardar el proceso de desnaturalización. Las curvas de termodependencia obtenidas fueron agregadas a un modelo multicapa donde se evaluaron sus efectos en el campo acústico y el calentamiento provocados por un arreglo de 4 anillos piezoeléctricos focalizados mediante retardos temporales. Se analizaron el campo acústico y la distribución de temperatura en 4 casos diferentes: con las propiedades acústicas (velocidad de propagación y absorción) a 37 °C, sólo con la termodependencia de la velocidad de propagación, sólo con la termodependencia de la absorción del ultrasonido y con la termodependencia de ambas propiedades acústicas. Los resultados de las simulaciones permitieron observar que la influencia de la termodependencia de las propiedades acústicas se presenta principalmente



en la distribución de temperatura provocada por transductor. Se encontraron diferencias significativas en la temperatura focal máxima de hasta 7 °C cuando se toma en cuenta la aportación de la termodependencia de la absorción. De igual forma el área de tratamiento (la zona con temperatura mayor a 43 °C) se vio afectada, ésta aumento 3.35 veces cuando se agrega al modelo la absorción dependiente de la temperatura. La geometría con la que se resolvió el modelo permite hacer una estimación del volumen que se estaría tratando; este volumen pasó de 3.56 mm<sup>3</sup> sin la termodependencia de la absorción a 11.90 mm<sup>3</sup> cuando se agrega al modelo. Si bien la forma del campo acústico depende en parte de la velocidad de propagación del medio, la termodependencia de esta propiedad no generó cambios significativos en el foco. Estas variaciones de la absorción y la velocidad de propagación del ultrasonido deben tomarse en cuenta para la planeación y seguimiento de los tratamientos de hipertermia y ablación con el fin de alcanzar la temperatura focal adecuada, no afectar o afectar mínimamente los tejidos circundantes y evitar puntos calientes en regiones no deseadas.



---

## Abstract

---

In this thesis, the effects of temperature dependent acoustic properties in both acoustic field and temperature distribution generated by a focused ultrasound transducer during hyperthermia therapy were evaluated by using finite element modeling (FEM by its acronym). During this work, equipments for the measurement of temperature dependence of both speed-of-sound and ultrasonic absorption in biological tissues were designed, built, and characterized; the biological tissues properties were measured in the temperature range from 25 °C to 50 °C. Five samples of fat, muscle, and liver of pig were measured in each case; in order to delay the denaturation process, the samples were stored at 4 °C in saline solution with a pH of 7.4. Obtained thermodependent curves of both speed-of-sound and attenuation were added into a multilayer model where their effects on the acoustic field and the heating provoked by an array of four piezoelectric rings focused by time delays were evaluated. The acoustic field and the temperature distribution were analyzed in four different cases: with both acoustic properties (absorption and propagation velocity) at 37 °C, just with the temperature dependence of speed-of-sound, just with the temperature dependence of absorption, and with the temperature dependence of both acoustic properties. The results of the simulations revealed that the influence of the thermodependent acoustic properties occurs mainly in the temperature distribution



provoked by the transducer. Significant difference up to 7 °C were found in the maximum focal temperature when the contribution of temperature dependent absorption is taking into account. Likewise, the treatment area (the zone with temperature above 43 °C) was affected, its size increased 3.35 times when the temperature dependent absorption was added into the model. The chosen geometry to solve the model allows the estimation of the volume under therapy, this volume increased from 3.56 mm<sup>3</sup> without temperature dependent absorption to 11.90 mm<sup>3</sup> when this property is added into the model. While the shape of the acoustic field depends in part on the propagation velocity of the medium, this temperature dependent property generated no significant changes in focus. The variations of both speed-of-sound and absorption of ultrasound must be considered for planning and monitoring the ablation and hyperthermia treatments in order to achieve proper focal temperature, do not affect or minimally affect the surrounding tissues and prevent hot spots in unwanted regions.

---

## Índice general

---

<b>Agradecimientos</b>	<b>III</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>6</b>
2.1. Ultrasonido . . . . .	6
2.1.1. Generación del Ultrasonido . . . . .	7
2.1.2. Efecto Piezoeléctrico . . . . .	7
2.1.3. Transductores Ultrasónicos: Principales Características . . . . .	8
2.1.4. Ecuación de Onda . . . . .	9
2.1.5. Tipos de Onda . . . . .	13
2.2. Parámetros Acústicos . . . . .	14
2.2.1. Presión Acústica . . . . .	14
2.2.2. Intensidad Acústica . . . . .	15
2.2.3. Velocidad de Propagación del Ultrasonido . . . . .	15
2.2.4. Atenuación del Ultrasonido . . . . .	16
2.2.5. Impedancia Acústica . . . . .	18
2.2.6. Reflexión y Refracción . . . . .	19



2.3.	Detección del Ultrasonido y Medición de Campos Acústicos . . . . .	23
2.3.1.	Dispositivos Piezoeléctricos . . . . .	23
2.3.2.	Detectores de Desplazamiento . . . . .	25
2.3.3.	Difracción Óptica . . . . .	27
2.4.	Conservación de Tejidos Biológicos . . . . .	28
2.4.1.	Soluciones Conservadoras . . . . .	29
2.4.2.	Técnicas de Almacenamiento . . . . .	31
2.5.	Terapia Térmica . . . . .	34
2.5.1.	Estimación No Invasiva de la Temperatura . . . . .	36
2.5.1.1.	Métodos Invasivos . . . . .	38
2.5.1.2.	Métodos No Invasivos . . . . .	39
2.5.2.	Focalización del Ultrasonido . . . . .	41
2.6.	El Método de Elementos Finitos . . . . .	43
2.6.1.	COMSOL Multiphysics . . . . .	45
2.6.2.	Módulo de Acústica . . . . .	45
2.6.3.	Módulo de Transferencia de Calor . . . . .	46
<b>3.</b>	<b>Estado del Arte</b>	<b>47</b>
3.1.	Efectos de la Temperatura sobre las Propiedades Acústicas de Tejidos Biológicos . . . . .	47
3.1.1.	Velocidad de Propagación del Ultrasonido . . . . .	48
3.1.2.	Atenuación del Ultrasonido . . . . .	50
3.1.3.	Energía de Retrodispersión . . . . .	51
3.2.	Medición de Propiedades Acústicas en Tejidos Biológicos . . . . .	52
3.2.1.	Velocidad de Propagación del Ultrasonido . . . . .	52
3.2.2.	Atenuación del Ultrasonido . . . . .	55
3.3.	Modelado de Terapia Térmica . . . . .	56
<b>4.</b>	<b>Planteamiento del Problema</b>	<b>58</b>
4.1.	Definición del Problema . . . . .	58



4.2. Justificación . . . . .	60
4.3. Objetivo General . . . . .	61
4.4. Objetivos Parciales . . . . .	61
<b>5. Materiales y Métodos</b>	<b>63</b>
5.1. Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos . . . . .	63
5.1.1. Funcionamiento del Sistema de Medición . . . . .	64
5.1.2. Verificación del Sistema Mediante el Método de Elementos Finitos . . . . .	66
5.1.3. Medición de la Distancia entre las Puntas del Reflector Tipo Escalón . . . . .	69
5.1.4. Descripción del Sistema Final para la Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido . . . . .	72
5.1.5. Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Materiales de Referencia usando el Reflector Tipo Escalón . . . . .	73
5.1.6. Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Muestras Biológicas usando el Reflector Tipo Escalón . . . . .	74
5.2. Medición de la Atenuación del Ultrasonido: Técnica de Inserción Modificada . . . . .	75
5.2.1. Descripción del Sistema de Medición de Atenuación . . . . .	75
5.2.2. Medición de la Atenuación en <i>Phantom</i> de Grafito . . . . .	76
5.2.3. Medición de la Atenuación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos con la Técnica de Inserción Modificada . . . . .	78
5.3. Simulación de Terapia Térmica por el Método de Elementos Finitos . . . . .	79
5.3.1. Ecuaciones del Modelo . . . . .	79
5.3.2. Geometría del Modelo . . . . .	81
5.3.3. Propiedades de los Subdominios y Condiciones de Frontera . . . . .	83
<b>6. Resultados de la Tesis</b>	<b>87</b>
6.1. Velocidad de Propagación del Ultrasonido . . . . .	87
6.1.1. Sistema de Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido usando Elementos Finitos . . . . .	88
6.1.2. Características Finales del Reflector Tipo Escalón . . . . .	89
6.1.3. Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Materiales de Referencia . . . . .	89



6.1.4. Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos . . . . .	91
6.2. Atenuación del Ultrasonido . . . . .	93
6.2.1. Comparación entre las Técnicas de Inserción Original y Modificada: Pruebas en <i>Phantom</i> . . . . .	94
6.2.2. Dependencia en Temperatura de la Atenuación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos . . . . .	95
6.3. Simulación de Terapia Térmica . . . . .	97
6.3.1. Campo Acústico y Distribución de Temperatura . . . . .	98
6.3.2. Intensidad Acústica y Temperatura sobre el Eje $z$ . . . . .	101
<b>7. Conclusiones y Trabajo a Futuro</b>	<b>104</b>
7.1. Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido . . . . .	104
7.2. Medición de la Atenuación del Ultrasonido . . . . .	106
7.3. Simulación de Terapia Térmica . . . . .	107
7.4. Trabajo a Futuro . . . . .	110
<b>Bibliografía</b>	<b>112</b>
<b>A. Publicaciones en Revistas Internacionales</b>	<b>124</b>
<b>B. Publicaciones en Congresos Internacionales</b>	<b>145</b>
<b>C. Publicaciones en Congresos Nacionales</b>	<b>194</b>

---

## Índice de figuras

---

2.1. Escala del Sonido. El ultrasonido está por encima de la capacidad audible del ser humano. . . . .	6
2.2. Polarización del Piezoeléctrico. Piezoeléctrico con dominios orientados aleatoriamente o sin polarizar (izquierda) y piezoeléctrico polarizado (derecha). . . . .	8
2.3. Partes de un transductor ultrasónico. Las partes principales son: elemento activo o piezoeléctrico, contramasa (backing), cubierta (housing) y capa de acoplamiento. . . . .	9
2.4. Presiones y velocidades en un pequeño diferencial de volumen. . . . .	9
2.5. Fenómeno de reflexión y refracción cuando una onda ultrasónica pasa de un medio con impedancia $Z_1$ a otro medio con impedancia $Z_2$ . . . . .	21
2.6. Algunos ejemplos de hidrófonos de aguja y de membrana . . . . .	25
2.7. Técnica C-scan con hidrófono para la medición del campo acústico. . . . .	26
2.8. Principio de funcionamiento de un interferómetro para la medición del desplazamiento. . . . .	26
2.9. Arreglo para la medición de la difracción óptica debido a las variaciones de la densidad dentro de un haz ultrasónico. I es la fuente de iluminación; T es el transductor ultrasónico; B el haz ultrasónico; A Material absorbente; L lente convertidor; S rendija y P fotodiodo. . . . .	27
2.10. Ejemplos de imágenes en campo oscuro. Onda continua (izquierda) y onda pulsada (derecha). . . . .	28



2.11. Clasificación de la terapia térmica según Stauffer. Se pueden observar los efectos de cada terapia así como los medios de aplicación. . . . .	37
2.12. Equipo desarrollado por los hermanos Fry para el tratamiento de desórdenes neurológicos. Ejemplo de focalización. . . . .	42
2.13. Ejemplos de focalización del ultrasonido empleando a) Curvatura en la superficie de emisión y b) Arreglo de múltiples piezoeléctricos y excitador multicanal. . . . .	43
5.1. Diagrama del Sistema para la Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido. . . . .	64
5.2. Diagrama 2D del Sistema para la Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido. a) Vista lateral del sistema propuesto para la medición (sin muestra). b) Geometría empleada en el modelo por elementos finitos. . . . .	66
5.3. Esquema del Montaje Empleado en la Medición de la Distancia entre las Puntas del Reflector Tipo Escalón. . . . .	70
5.4. Señales Obtenidas para la Medición de la Distancia entre las Puntas del Reflector Tipo Escalón. . . . .	71
5.5. Diagrama del Sistema Final para la Medición de la Velocidad del Ultrasonido Usando el Reflector Tipo Escalón. . . . .	72
5.6. Ejemplo de la medición de la atenuación del ultrasonido por medio de la técnica de inserción. Configuración para tomar a) Señal de referencia, b) Señal con la información de atenuación de la muestra y c) Técnica de inserción modificada. . . . .	75
5.7. Phantom a base de etanol, agarosa y grafito. Se midió su atenuación cuando las paredes son i) paralelas y ii) irregulares. . . . .	77
5.8. Fotografía del montaje utilizado en la medición de la atenuación del ultrasonido en tejidos biológicos suaves. . . . .	78
5.9. La geometría del problema consiste en 4 capas de tejidos (Piel, Grasa, Músculo e Hígado) y un arreglo de anillos piezoeléctricos concéntricos focalizados radiando los tejidos. Simplificación de la geometría real en 3D (izquierda) a un modelo 2D axisimétrico (derecha). . . . .	82
6.1. Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Agua Bidestilada Desgasificada y Aceite de Ricino. . . . .	90
6.2. Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Grasa de Cerdo. . . . .	91





6.3. Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Músculo de Cerdo. . . . .	92
6.4. Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Hígado de Cerdo. . . . .	92
6.5. Resultados de la atenuación del ultrasonido a 18.4 °C en <i>phantom</i> de grafito utilizando la técnica original de inserción y la modificación propuesta cuando tiene i) caras paralelas y ii) caras irregulares. . . . .	94
6.6. Resultados de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en función de la frecuencia en grasa de cerdo en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C usando la técnica de inserción modificada. . . . .	95
6.7. Resultados de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en función de la frecuencia en músculo de cerdo en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C usando la técnica de inserción modificada. . . . .	96
6.8. Resultados de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en función de la frecuencia en hígado de cerdo en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C usando la técnica de inserción modificada. . . . .	97
6.9. Campo acústico (parte superior) y distribución de temperatura (parte inferior) obtenidos después de 15 segundos de simulación de temperatura para los casos a) con los valores de velocidad de propagación y absorción del ultrasonido a 37 °C, b) con la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación y con la absorción a 37 °C, c) con la dependencia en temperatura de la absorción y con la velocidad de propagación a 37 °C, y d) con la dependencia en temperatura de ambas propiedades. . . . .	99
6.10. Isolneas (desde -12 dB hasta -3 dB) e isotermas (desde 38 °C hasta 43 °C) en la zona focal del campo acústico y de la distribución de temperatura respectivamente. La zona con temperatura mayor a 43 °C incrementa cuando la termodependencia de la absorción del ultrasonido es incluida. La zona de hipertermia se ve afectada en 5.8 mm a lo largo y 1 mm a lo ancho. . . . .	100
6.11. Evolución de la intensidad acústica (izquierda) y de la temperatura (derecha) a lo largo del eje $z$ después de 5 s, 10 s y 15 s. Al campo acústico no sufrió variaciones significativas al final de la simulación cuando se incluyó la termodependencia de la velocidad de propagación y la absorción del ultrasonido; sin embargo, la termodependencia de la absorción provocó que la temperatura incrementara con mayor velocidad. La tasa de cambio fue de 0.46 °C/s para los casos $a$ y $b$ , y de 0.73 °C/s para los casos $c$ y $d$ . . . . .	103

---

## Índice de Tablas

---

2.1. Velocidad de propagación del ultrasonido en agua, aire y tejidos biológicos.	16
2.2. Atenuación del ultrasonido en agua, aire y tejidos biológicos. . . . .	17
2.3. Impedancia Acústica en Agua, Aire y Tejidos Biológicos . . . . .	19
2.4. Efectos Empleados para la Detección del Ultrasonido . . . . .	23
2.5. Componentes de las principales soluciones de conservación de tejidos biológicos. . . . .	32
5.1. Velocidad de propagación del ultrasonido y densidad de los materiales usados en el modelo para evaluar el sistema para la medición de la velocidad. .	67
5.2. Pruebas realizadas con en el modelo del sistema para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido. . . . .	69
5.3. Componentes de la solución salina empleada para la conservación de tejidos.	74
5.4. Componentes del <i>phantom</i> a base de propanol, grafito y agarosa usado para comparar las técnicas de inserción original y modificada. . . . .	77



5.5. Propiedades Acústicas de Tejidos Biológicos Empleadas en la Simulación por Elementos Finitos de la Terapia Térmica. El valor de T está considerado en °C. . . . .	86
5.6. Propiedades Térmicas de Tejidos Biológicos Empleadas en la Simulación por Elementos Finitos de la Terapia Térmica. . . . .	86
6.1. Velocidades de propagación del ultrasonido obtenidas del modelo por elementos finitos para diferentes distancias entre las puntas del reflector tipo escalón usando pulsos ultrasónicos a diferentes frecuencias. El medio homogéneo del modelo tiene una velocidad de propagación fija de 1540 <i>m/s</i> . . . . .	88
6.2. Velocidades de propagación del ultrasonido obtenidas del modelo por elementos finitos usando el reflector tipo escalón. Se varió la velocidad de propagación del medio homogéneo entre 1480 y 1600 <i>m/s</i> . . . . .	89
6.3. Ajuste con curvas de primer y segundo orden de los valores obtenidos de la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos. El valor de T está considerado en °C. . . . .	93
6.4. Ajuste con curvas de primer y segundo orden de los valores obtenidos de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido a 2 <i>MHz</i> en tejidos biológicos. El valor de T está considerado en °C y la atenuación en <i>dB/cm</i> . . . . .	97
6.5. Resumen de punto de máxima temperatura, el largo ( <i>x</i> ) y ancho ( <i>y</i> ) de la zona de hipertermia, así como área y volumen de tratamiento (la zona con temperatura mayor a 43 °C) en cada uno de los casos. Cuando se incluye en el modelo la termodependencia de la absorción se pueden apreciar mayores temperaturas e incrementos en la zona de hipertermia. . . . .	101

# CAPÍTULO 1

---

## Introducción

---

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer causó un total de 7.6 millones de defunciones en 2008; esto significó el 13 % del total de las muertes en ese año [1]. El cáncer, a grandes rasgos, se puede entender como una falla en el proceso de renovación celular. El cuerpo humano produce células de manera constante, mismas que eventualmente mueren, en algunas ocasiones esta producción genera células defectuosas que no mueren y continúan generando nuevas células defectuosas que finalmente forman lo que se conoce como un tumor maligno. Aunque la creación de nuevas células es un proceso normal en el cuerpo humano, existen factores que favorecen el crecimiento de células malignas como: la obesidad, la herencia, el consumo de ciertas sustancias como el tabaco y el alcohol o la exposición a un virus [2].

Entre los tipos de cáncer más comunes están el de pulmón, estómago, hígado, colon y mama. Aproximadamente el 70 % de las muertes por cáncer se produjeron en los países con ingresos medios y bajos [1]. En México, de acuerdo con estadísticas presentadas por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), el total de defunciones por



tumores malignos durante 2009 en fue de aproximadamente 65 personas por cada 100 mil habitantes. Por citar un ejemplo, la incidencia de cáncer de mama en nuestro país fue de 7.57 casos por cada 100 mil habitantes. La mayor incidencia de cáncer se presenta en los estados de Sinaloa, San Luis Potosí y el Distrito Federal mientras que el menor grado de incidencia está en el Estado de México, Chiapas y Tlaxcala [3]. Según la OMS, se estima que las muertes por cáncer en el 2030 alcancen los 13.1 millones [1] por lo que es necesario seguir trabajando en el desarrollo y mejora de herramientas contra el cáncer.

En la actualidad, la detección temprana del cáncer así como la eficacia de los tratamientos son de vital importancia para darle al paciente la posibilidad de curar la enfermedad. El tratamiento a utilizar dependerá en gran medida del tipo y grado de avance del cáncer. Las principales opciones de tratamiento hoy en día son la cirugía, la quimioterapia, la radioterapia [1], la terapia térmica [4, 5] o bien una combinación de estas. La hipertermia es una rama de la terapia térmica que ha surgido recientemente como una herramienta en el tratamiento del cáncer. De forma general, el objetivo de la hipertermia es la elevación de la temperatura de las células cancerosas entre 4 °C y 8 °C por encima de su nivel normal por un tiempo determinado para producir la muerte o bien la sensibilización a otras terapias como la quimioterapia y la radioterapia [5, 6]. La eficacia de la terapia hipertérmica depende de diferentes factores como el tipo y cantidad de energía aplicada, el tiempo de aplicación [7] y las propiedades de los tejidos biológicos. Entre las opciones para aplicar este tipo de tratamiento están el ultrasonido [8–11], las microondas [12, 13] y la radiofrecuencia [14]; cada uno de ellos puede ser aplicado de forma superficial o intersticial dependiendo de la forma, tamaño y localización de la zona a tratar [5].

La hipertermia puede ser aplicada de cuerpo completo o de forma local. En años recientes, universidades y centros de investigación han desarrollado diversos prototipos para la aplicación de hipertermia local; algunos de estos sistemas han sido probados en ensayos clínicos y actualmente se están utilizando en hospitales para aplicar la hipertermia como un complemento a los tratamientos de radio y quimioterapia [5, 6]. A pesar de lo anterior, la falta de retroalimentación sobre las temperaturas alcanzadas en la zona de interés ha evitado que los sistemas de hipertermia sean completamente aceptados. Si bien



hoy en día la medición de la temperatura durante los tratamientos de hipertermia se puede realizar de forma invasiva con termistores o termopares de calibres menores a 1 mm, estos dispositivos podrían provocar diseminación de las células cancerígenas si no son manipulados correctamente. Además, la medición de temperatura con estos sensores tipo aguja es de forma puntual, es decir, solamente registran los valores de temperatura del lugar en el que se encuentran insertados y no permiten ver las temperaturas alcanzadas en todo el volumen bajo tratamiento. Por todo lo anterior, resulta necesario que los sistemas de hipertermia cuenten con un sistema no invasivo de medición de temperatura que permita obtener una imagen de la distribución de las temperaturas alcanzadas dentro de la zona de tratamiento; es deseable que estos sistemas tengan una exactitud de al menos 0.5 °C. Una vez resuelto el tema de la medición de temperatura, se tiene previsto que la hipertermia sea una de las herramientas principales contra el cáncer a nivel mundial por las diversas posibilidades de aplicación con las que cuenta [5] y las ventajas que ofrece sobre otros tipos de energía que se utilizan actualmente.

Por otro lado, la focalización y la aplicación de forma externa de la energía usada en la generación de la hipertermia han sido motivo de investigación con el fin de tratar regiones definidas sin la necesidad de realizar incisiones al paciente; esto se ha logrado mediante la concentración de la energía aplicada en un punto definido. Los aplicadores ultrasónicos y electromagnéticos han demostrado ser una opción viable para la concentración de la energía dentro del cuerpo humano. La focalización de éstas se puede lograr ya sea mediante la modificación de la geometría de los aplicadores o bien empleando múltiples aplicadores de forma sincronizada para hacer llegar la energía a un punto de interés al mismo tiempo desde diferentes partes. La focalización permite una mejor definición de la zona de tratamiento y por lo tanto una mayor eficiencia en la energía aplicada.

Aunque se ha demostrado que la hipertermia es una herramienta útil para combatir el cáncer por medio de la sensibilización de las células cancerígenas, aún falta resolver ciertos aspectos en los sistemas de aplicación como la estimación no invasiva de la temperatura y la focalización de la energía. La medición de la temperatura en la zona de tratamiento es un punto débil de la hipertermia que debe resolverse; las propuestas re-



cientos de estimación no invasiva de la temperatura pretenden complementar los sistemas de hipertermia existentes e impulsar el uso de este tipo de tratamientos térmicos. De igual forma, una mejor definición espacial de la zona de calentamiento así como la optimización de la energía aplicada significarían mejoras al tratamiento y una menor afectación a los tejidos circundantes a la zona de interés.

Tanto en la estimación de temperatura como en la focalización del ultrasonido, la termodependencia de las propiedades acústicas de los tejidos biológicos juega un papel muy importante que ha sido motivo de estudio por parte de diversos grupos de investigación en el mundo [15–27]. La caracterización ultrasónica de los tejidos biológicos se dificulta debido a su estado semisólido; si a esto agregamos que con las variaciones de temperatura varían también las dimensiones de la muestra y las propiedades que se están estudiando entonces, es necesario contar con un sistema de medición confiable que entregue resultados aceptables incluso con la presencia de cambios de temperatura. Además, con la evolución que se ha presentado en los últimos años en materia de informática, hoy en día es posible utilizar el modelado computacional para estudiar diversos fenómenos utilizando las ecuaciones que los definen. El caso de la hipertermia no es la excepción y es posible evaluar los efectos producidos por diversos tipos de energía en el cuerpo humano combinando las ecuaciones que describen su comportamiento con las que corresponden al fenómeno del bioalentamiento descrito por Pennes [28] a finales de los años 40s.

En México, el Laboratorio de Radiaciones Electromagnéticas y Ultrasónicas (LA-REMUS) de la sección de bioelectrónica del Cinvestav - IPN está trabajando tanto en la caracterización ultrasónica de materiales biológicos como en el desarrollo de diversos sistemas de hipertermia. En este trabajo se presenta el desarrollo y caracterización de protocolos para la medición de la velocidad de propagación y la atenuación del ultrasonido en tejidos biológicos, así como el estudio de los efectos de la termodependencia de estas propiedades acústicas durante la aplicación de la hipertermia. El trabajo se divide principalmente en dos partes, la caracterización de tejidos biológicos *in vitro* y el desarrollo, por medio del método por elementos finitos (FEM), de un modelo computacional de un aplicador de hipertermia formado por un arreglo de 4 anillos piezoeléctricos concéntricos



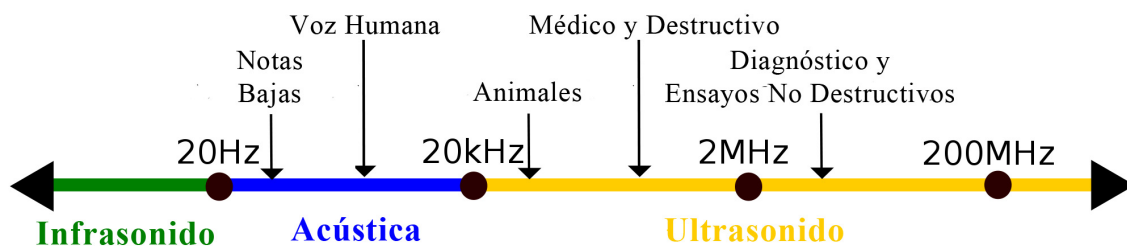
focalizados que sirva para evaluar los efectos de la termodependencia de las propiedades acústicas.

El presente escrito se divide en 7 capítulos en los cuales se hace una breve introducción al tema desarrollado en la tesis (Capítulo 1), seguida de los fundamentos teóricos del ultrasonido y la hipertermia (Capítulo 2). Posteriormente se presenta el estado del arte de la caracterización ultrasónica y los modelos empleados para el estudio de los efectos de la hipertermia en tejidos biológicos. En los siguientes capítulos se realiza el planteamiento del problema, la justificación de esta tesis y los objetivos de la misma (Capítulo 4). Se presenta la metodología seguida en la experimentación *in-vitro* y en las simulaciones por elemento finito (Capítulo 5) y se finaliza con una descripción de los resultados obtenidos (Capítulo 6) en esta tesis y se discuten y analizan dichos resultados hasta llegar a las conclusiones de este proyecto de tesis (Capítulo 7).



### 2.1. Ultrasonido

El ultrasonido puede ser definido como una onda de presión cíclica que tiene una frecuencia mayor al límite superior que un ser humano puede escuchar. El límite de audición promedio de un ser humano se encuentra entre los 20 Hz y 20 kHz. Cuando el sonido se encuentra por debajo de este intervalo se le conoce como infrasonido, cuando se encuentra por encima recibe el nombre de ultrasonido, ver figura 2.1 (Tomada y modificada de [29]).



**Figura 2.1:** Escala del Sonido. El ultrasonido está por encima de la capacidad audible del ser humano.



Actualmente, la tecnología del ultrasonido es utilizada en diversas áreas como la industria y la medicina. En la industria se puede utilizar para la medición de distancias, caracterización de materiales y la detección de posibles anomalías o fracturas en materiales [30]; la ventaja de emplear ultrasonido en todo lo anterior es que los estudios se realizan sin la necesidad de afectar los materiales, a esto se le conoce como ensayos no destructivos. Por otro lado, en la medicina el ultrasonido está tomando fuerza debido a que el tipo de energía que produce es no ionizante, es decir, no genera efectos secundarios en el cuerpo humano; la ecografía, la ultrasonoterapia y la hipertermia con ultrasonido son algunas de las aplicaciones importantes que hacen uso de la energía ultrasónica.

### 2.1.1. Generación del Ultrasonido

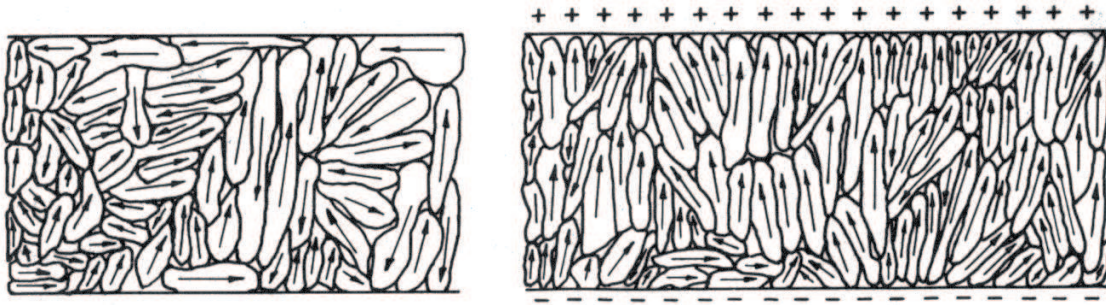
Cualquier objeto que vibre puede ser visto como una fuente de sonido. Las ondas sonoras son generadas mecánicamente, por ejemplo, con un diapasón. En las aplicaciones industriales y médicas, la generación del ultrasonido se realiza mediante transductores electroacústicos que hacen uso de lo que se conoce como el efecto piezoeléctrico. La piezoelectricidad es la carga que acumulan ciertos materiales sólidos (principalmente cristales y cerámicas) en respuesta a un estrés mecánico. La palabra piezoelectricidad se deriva del griego piezo o piezin que significa apretón o presión, y electric o electron que significa fuente de carga eléctrica.

### 2.1.2. Efecto Piezoeléctrico

Es la propiedad que tienen algunos materiales cristalinos y cerámicos de producir cambios eléctricos en la superficie como consecuencia de una deformación, estos materiales generan cargas eléctricas debido a tensiones o compresiones mecánicas ejercidas perpendicularmente sobre su eje principal de simetría que en determinadas condiciones provocan una polarización de las cargas eléctricas; las cargas positivas se concentran en una cara del cristal y las negativas en la otra cara ver figura 2.2 [31]. El efecto piezoeléctrico inverso se presenta cuando al elemento cristalino se le aplica una corriente eléctrica alterna y este



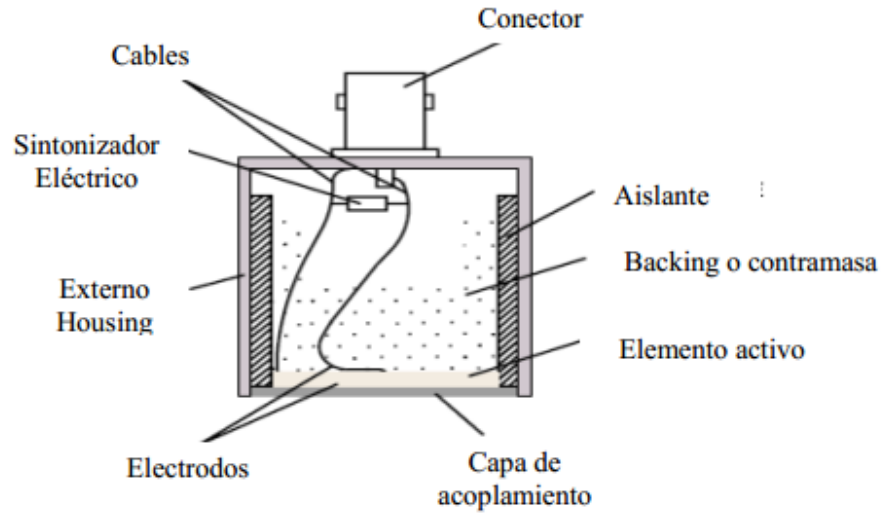
experimenta cambios en su forma.



**Figura 2.2:** Polarización del Piezoeléctrico. Piezoeléctrico con dominios orientados aleatoriamente o sin polarizar (izquierda) y piezoeléctrico polarizado (derecha).

### 2.1.3. Transductores Ultrasónicos: Principales Características

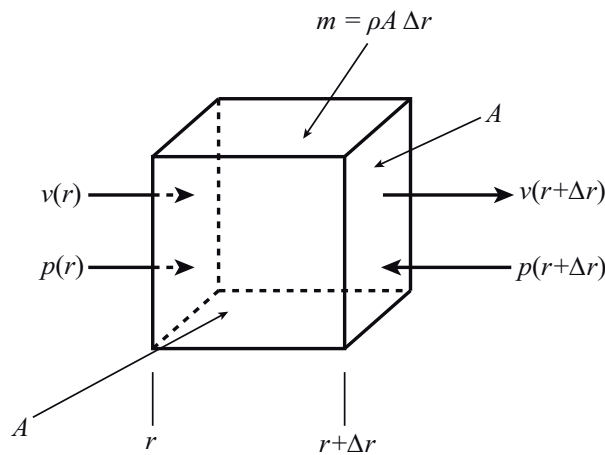
Un transductor es un dispositivo capaz de convertir o transformar un determinado tipo de energía de entrada en otro diferente a la salida; en el caso de un transductor de ultrasonido, se convierte energía eléctrica en mecánica en forma de onda o viceversa, es por esta razón que la mayoría de los transductores de ultrasonido pueden utilizarse para aplicación de la técnica que se conoce como pulso-eco; el transductor que emite el ultrasonido es el mismo que lo recibe. La figura 2.3 muestra las partes principales de un transductor ultrasónico: elemento activo o piezoeléctrico, contramasa (backing), cubierta (housing) y capa de acoplamiento. El elemento piezoeléctrico es el encargado de realizar la conversión de la energía electromecánica; este elemento está conectado eléctricamente a través de electrodos que cubren al elemento piezoeléctrico. Las características del transductor también son afectadas por el conjunto de elementos no activos como el backing, el housing y la capa de acoplamiento. Estos sistemas mecánicos pasivos tienen como función realizar una asimetría de emisión. La placa piezoeléctrica vibra y emite energía mecánica en ambos sentidos. El backing es colocado en la cara posterior del elemento piezoeléctrico para absorber la energía mecánica en esa dirección y además para detener la oscilación de la cerámica. La capa de acoplamiento por su parte tiene como función proteger el elemento activo y asegurar una mayor transferencia de energía; esto se logra empleando un material con una impedancia acústica intermedia entre el elemento activo y el material que se va a radiar.



**Figura 2.3:** Partes de un transductor ultrasónico. Las partes principales son: elemento activo o piezo-eléctrico, contramasa (backing), cubierta (housing) y capa de acoplamiento.

### 2.1.4. Ecuación de Onda

La propagación del ultrasonido en un medio se puede explicar mediante la solución de la ecuación de onda. Esta propagación se realiza a través de un medio en forma de vibraciones mecánicas de las moléculas. A continuación se determina la ecuación de onda para una propagación lineal en un medio compresible isotrópico [32].



**Figura 2.4:** Presiones y velocidades en un pequeño diferencial de volumen.

Si consideramos un volumen pequeño por el cual pasa la onda acústica (ver Figura 2.4) y que dentro de este volumen se presentan cambios locales en la densidad con respecto



al tiempo entonces, las partículas vibran y poseen un desplazamiento ( $u$ ), una velocidad ( $v$ ) y una aceleración ( $dv/dt$ ) dependientes del tiempo y del espacio. Aplicando la ley de newton seguida de la regla de la cadena, tenemos:

$$F = m \frac{dv(r, t)}{dt} = m \left( \frac{\partial v}{\partial t} + \frac{\partial r}{\partial t} \cdot \frac{\partial v}{\partial r} \right) = m \left( \frac{\partial v}{\partial t} + v \frac{\partial v}{\partial r} \right), \quad (2.1)$$

donde  $m$  es la masa de la unidad de volumen ( $m = \rho A \Delta r$ ) y  $r$  es la dirección de propagación de la onda. Debido a que la presión es una fuerza por unidad de área, la fuerza neta en el volumen es:

$$F = [p(r) - p(r + \Delta r)] A \quad (2.2)$$

sustituyendo la ecuación 2.2 en la ecuación 2.1 y usando la expresión para la masa, nos queda

$$\frac{p(r) - p(r + \Delta r)}{\Delta r} = \rho \left( \frac{\partial v}{\partial t} + v \frac{\partial v}{\partial r} \right). \quad (2.3)$$

Al aplicar el límite  $\Delta r \rightarrow 0$  a (2.3), obtenemos la ecuación diferencial

$$-\frac{\partial p}{\partial r} = \rho \left( \frac{\partial v}{\partial t} + v \frac{\partial v}{\partial r} \right). \quad (2.4)$$

La densidad en la ecuación 2.4 es dependiente del tiempo y equivale a la densidad promedio  $\rho_0$  más la variación con el tiempo debida a la onda acústica. Entonces

$$\rho = \rho_0 + \Delta \rho_0(t). \quad (2.5)$$

En la ecuación 2.5, la variación con el tiempo de la densidad es muy pequeña en comparación con la media por lo que puede despreciarse; además, las velocidades, presiones, y los cambios en éstas son también muy pequeños, por lo que cualquier término



de segundo orden (producto entre algunas de éstas variables) es mucho más pequeño que los términos de primer orden. Entonces, eliminando los términos de segundo orden en la ecuación 2.4 y sustituyendo la densidad dependiente del tiempo por la densidad promedio pero despreciando la variación pequeña, tenemos

$$\frac{\partial p}{\partial r} + \rho_0 \frac{\partial v}{\partial t} = 0. \quad (2.6)$$

Ahora bien, para un volumen fijo, cuando la onda viaja se producen cambios en su densidad que deben cumplir con la ley de la conservación de la masa que dice: la masa neta dejando un volumen fijo por alguno de sus lados debe estar acompañada por un descenso de la masa dentro del volumen. Esto significa que el caudal de entrada (masa por unidad de tiempo) menos el caudal de salida debe ser cero si el fluido es incompresible. Pero, para fluidos compresibles, que es el caso, el caudal de entrada no es necesariamente igual al de salida, por lo que se produce un cambio en la masa del volumen (ya que el volumen no cambia). Esto significa,

$$A \rho(r) \cdot v(r) - A \rho(r + \Delta r) v(r + \Delta r) = A \Delta r \frac{\partial \rho}{\partial t}; \quad (2.7)$$

simplificando la ecuación 2.7

$$-\frac{\rho(r + \Delta r) v(r + \Delta r) - \rho(r) v(r)}{\Delta r} = \frac{\partial \rho}{\partial t}. \quad (2.8)$$

Al aplicar en la ecuación 2.8 el límite cuando  $\Delta r \rightarrow 0$  y reorganizando, tenemos

$$\frac{\partial(\rho v)}{\partial r} + \frac{\partial \rho}{\partial t} = 0. \quad (2.9)$$

Nuevamente, la densidad es dependiente del tiempo. Si consideramos la densidad



media y su variación, tenemos

$$\rho_0 \frac{\partial v}{\partial r} + \frac{\partial(\Delta \rho_0)}{\partial t} = 0. \quad (2.10)$$

Ahora bien, sea  $E$  el módulo de elasticidad (expresado en densidades ya que el volumen fue considerado fijo) en el que

$$E = \rho_0 \frac{p}{\Delta \rho_0}. \quad (2.11)$$

Usando  $E$ , la ecuación 2.10 se convierte a

$$\frac{\partial v}{\partial r} + \frac{1}{E} \frac{\partial p}{\partial t} = 0. \quad (2.12)$$

Las ecuaciones 2.6 y 2.12 nos representan el acoplamiento entre velocidad de partícula y la presión. Al combinarlas, se obtiene la ecuación de onda. Si derivamos la ecuación 2.6 con respecto a  $r$  y la ecuación 2.12 con respecto a  $t$  obtenemos

$$\frac{\partial^2 p}{\partial r^2} + \rho_0 \frac{\partial^2 v}{\partial t \partial r} = 0, \quad (2.13)$$

y

$$\frac{\partial^2 v}{\partial r \partial t} + \frac{1}{E} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0. \quad (2.14)$$

Ahora, si combinamos la ecuación 2.13 y la ecuación 2.14, tenemos la ecuación de onda

$$\frac{\partial^2 p}{\partial r^2} - \frac{\rho_0}{E} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0. \quad (2.15)$$

El término dependiente del espacio puede ser generalizado utilizando el operador nabla ( $\nabla$ )

$$\nabla^2 p - \frac{\rho_0}{E} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0. \quad (2.16)$$

Posteriormente se determinará la velocidad del sonido en un medio como una función



de la constante de elasticidad y de la densidad del medio:  $c = \sqrt{E/\rho_0}$ . Utilizando esto, tenemos por fin la ecuación de onda para una propagación lineal en medios isotrópicos:

$$\nabla^2 p - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0. \quad (2.17)$$

Para problemas no isotrópicos e intensidades acústicas elevadas donde los fenómenos no-lineales adquieren importancia, la ecuación 2.17 y las consideraciones llevadas a cabo anteriormente no son válidas. Sería necesario obtener una ecuación de onda con la densidad y velocidad del ultrasonido complejas. Además, la igualdad a cero significa que la onda únicamente viaja y el medio no tiene ninguna fuente.

### 2.1.5. Tipos de Onda

Una onda puede ser definida como una perturbación que transfiere energía progresivamente de un punto a otro a través de un medio, esta perturbación se puede presentar como una deformación elástica o bien como una variación de presión [33]. El medio por el cual se propaga una onda puede sufrir oscilaciones locales conforme la onda pasa, pero las partículas del medio no viajan junto con la onda.

A continuación se presentan las definiciones de los principales tipos de onda que se propagan en los medios. Cada tipo de onda se caracteriza por su dirección, velocidad y energía transportada. Las diferentes velocidades de estas ondas dependen de parámetros intrínsecos a cada material como su módulo de Young, coeficiente de Poisson, módulo de cizalladura y densidad.

- Ondas Longitudinales.- Se caracterizan por una propagación de forma perpendicular al plano de emisión del transductor. Las oscilaciones de las partículas ocurren en la dirección de propagación de la onda. La velocidad de propagación de la onda ultrasónica depende directamente de la elasticidad de las interconexiones entre las partículas; cada vez que una de las partículas se mueve de su posición de equilibrio, esta transmite la energía la partícula vecina.





- Ondas Transversales.- En la onda transversal, cortante o de cizalla, las partículas oscilan en una dirección transversal a la dirección de propagación de la onda. La velocidad de este tipo de ondas se reduce aproximadamente a la mitad de la velocidad de la onda longitudinal. Como se había mencionado anteriormente, este tipo de ondas se presentan principalmente en sólidos.
- Ondas de Rayleigh.- Este tipo de ondas son de tipo superficial y se propaga solamente en la periferia del sólido; consisten en una combinación de ondas transversales y longitudinales. Las oscilaciones son elípticas y presentan una velocidad menor a las ondas longitudinales y transversales. El tiempo de recorrido de este tipo de ondas depende también de las irregularidades en la superficie del material.
- Ondas de Lamb.- Este tipo de ondas se presentan cuando el espesor del sólido es menor que su ancho o longitud. Las características de transmisión de este tipo de ondas dependen del grosor, la longitud de onda y el tipo de sólido. La onda de Lamb se produce cuando las partículas del centro del material vibran longitudinalmente, pero las adyacentes lo hacen de forma elíptica.

## 2.2. Parámetros Acústicos

### 2.2.1. Presión Acústica

La presión acústica ( $p$ ) es el resultado de la propia propagación de las ondas acústicas. Cuando una onda viaja se producen cambios en la densidad del medio por donde viaja y por lo tanto cambios locales en la presión que las moléculas se ejercen entre sí, esta presión se denomina presión acústica y se mide en pascales (Pa). La presión acústica puede ser una medida temporal (presión acústica instantánea), o una relación con la cantidad de energía efectiva (presión acústica eficaz o r.m.s.).



### 2.2.2. Intensidad Acústica

Se define como la potencia sonora que fluye por unidad de superficie ( $W/cm^2$ ) de forma normal a la dirección de propagación. La intensidad acústica es proporcional al cuadrado de la presión generada por la onda sonora cuando el frente de onda es plano y está dada por:

$$I = \frac{1}{2}c\rho v^2 = \frac{p^2}{2Z} \quad (2.18)$$

donde  $c$  es la velocidad de propagación ultrasónica en el medio,  $v$  es la velocidad de la partícula,  $\rho$  es la densidad del medio en el que se propaga el ultrasonido,  $p$  es la presión acústica y  $Z$  es la impedancia acústica.

### 2.2.3. Velocidad de Propagación del Ultrasonido

La velocidad del sonido se puede entender como la distancia que viaja una onda de sonido por unidad de tiempo a través de un material o medio elástico. En aire seco a 20 °C la velocidad del sonido es de 343.2 m/s . La velocidad del sonido varía dependiendo de las propiedades de los materiales; el ultrasonido viaja más rápido en líquidos y sólidos no porosos que en el aire. Por ejemplo, si comparamos la velocidad del sonido en aire a 20 °C con la velocidad del sonido en agua, ésta última es 4.3 veces mayor (1484 m/s) mientras que en acero es cerca de 15 veces mayor (5120 m/s). La velocidad de una onda elástica en cualquier medio se puede determinar utilizando la compresibilidad del medio y la densidad, ecuación 2.19.

$$c = \sqrt{\frac{E}{\rho}} \quad (2.19)$$

donde  $E$  es el módulo de compresibilidad.

En medios no dispersivos la velocidad del sonido es independiente de la frecuencia

**Tabla 2.1:** Velocidad de propagación del ultrasonido en agua, aire y tejidos biológicos.

Medio	Velocidad de Propagación del Ultrasonido ( $m/s$ )
Aire	343 a 20 °C
Agua	1480 a 20 °C
Grasa	1479 a 37 °C
Sangre	1565 a 37 °C
Hígado	1540 a 37 °C
Músculo	1587 a 37 °C
Hueso	3406 a 37 °C

mientras que en medios dispersivos la velocidad del sonido es función de la frecuencia, es decir, cada componente de frecuencia se propaga a su propia velocidad (velocidad de fase) mientras que la energía se propaga una misma velocidad de que conoce como velocidad de grupo. En la tabla 2.1 se presentan valores de velocidad de propagación para agua, aire y tejidos biológicos [22].

#### 2.2.4. Atenuación del Ultrasonido

La atenuación es la pérdida gradual de intensidad de cualquier tipo de energía conforme esta pasa a través de un medio. Una forma de medir la atenuación del ultrasonido es el coeficiente de atenuación el cual es dependiente de la frecuencia de trabajo así como de las características de cada tejido. De forma general, la atenuación es expresada como un decaimiento exponencial de la amplitud del ultrasonido conforme avanza en el espacio y puede ser expresada como:

$$A = A_0 e^{-\alpha z} \quad (2.20)$$

donde  $A_0$  es la amplitud no atenuada en una posición inicial,  $A$  es la amplitud reducida después de recorrer la distancia  $z$  a partir de la posición inicial y  $\alpha$  es el coeficiente de atenuación del material en la dirección de propagación. Las unidades del coeficiente de atenuación pueden ser dadas en  $Np/m$  o  $dB/m$ . Los valores del coeficiente de atenuación son reportados normalmente a una frecuencia específica o en un intervalo de frecuencias

**Tabla 2.2:** Atenuación del ultrasonido en agua, aire y tejidos biológicos.

Medio	Atenuación del Ultrasonido ( $dB/(MHzcm)$ )
Aire	160
Agua	0.002
Sangre	0.20
Hueso cortical	6.90
Hueso trabecular	9.94
Cerebro	0.60
Tejido Cardíaco	0.52
Grasa	0.48
Hígado	0.50
Músculo	1.09
Tejidos Suaves (Promedio)	0.54

[19, 34]. La atenuación en función de la frecuencia de los tejidos biológicos suaves puede ser expresada como se muestra en la ecuación 2.21

$$\alpha(\omega) = \alpha_0 \omega^y \quad (2.21)$$

donde  $\alpha(\omega)$  es la función de atenuación en la frecuencia,  $\omega$  es la frecuencia angular, y  $\alpha_0$  y  $y$  son parámetros de atenuación dependientes de la naturaleza del tejido biológico. La mayoría de los tejidos muestran una función de atenuación aproximadamente lineal, sin embargo, también hay reportes de una dependencia no lineal; para tejidos biológicos suaves se cumple que  $1 \leq y \leq 2$ . En la tabla 2.2 se muestran algunos valores del coeficiente de atenuación de diversos materiales; los valores están reportados a 1 MHz [35].

La atenuación está conformada principalmente por dos fenómenos la absorción y la dispersión (scattering) [36].

**Absorción** es la propiedad que tienen los materiales para convertir la energía acústica de las ondas de ultrasonido en otro tipo de energía; normalmente calor. La absorción de los materiales es dependiente de la frecuencia y es afectada además por el tamaño, la forma y las propiedades del material. Los materiales porosos son efectivos como absorbentes de ultrasonido al contrario de los buenos conductores de ultrasonido como pueden ser los metales. La absorción de las ondas ultrasónicas por el medio implica, en algunos



casos, un aumento de temperatura dado por:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{2\alpha I_x}{\rho C} \quad (2.22)$$

donde  $C$  es el calor específico e  $I_x$  es la intensidad acústica a la profundidad  $x$ .

**Dispersión (Scattering)** es, de forma general, un proceso mediante el cual algunas formas de radiación, entre ellas el ultrasonido, son forzadas a desviarse de una trayectoria recta por las no-uniformidades que pueden presentar los materiales a través de los cuales se propagan. Las reflexiones que son producto de la dispersión suelen llamarse reflexiones difusas. La dispersión es consecuencia de las uniformidades en los materiales como pueden ser burbujas, cambios de densidad, cambios en la velocidad y presencia de fibras; incluso la presencia de las células en tejidos biológicos puede ser una fuente de dispersión [37]. Cuando el sonido se transmite a través de un medio homogéneo, la atenuación puede ser asociada solamente con la absorción. Por otro lado, cuando la propagación es a través de un medio heterogéneo, es necesario tomar en cuenta también las aportaciones de la dispersión.

### 2.2.5. Impedancia Acústica

La impedancia acústica es una medida de la eficiencia con la cual las ondas ultrasónicas viajan a través del medio y se obtiene a partir de la velocidad de propagación del sonido y la densidad del mismo. A esto también se le conoce como *impedancia acústica característica* y está dada por la ecuación 2.23

$$Z = c\rho \quad (2.23)$$

Las ondas ultrasónicas se propagaran con mayor facilidad a través de un medio que tenga una elevada impedancia acústica característica mientras que, en los medios con baja impedancia acústica la propagación será deficiente. La impedancia es baja en el aire,

**Tabla 2.3:** Impedancia Acústica en Agua, Aire y Tejidos Biológicos

Medio	Velocidad de Propagación ( $m/s$ )	Densidad ( $kg/m^3$ )	Impedancia Acústica ( $Ns/m^3$ )
Aire	343 a 20 °C	1.2041	413
Agua	1480 a 20 °C	1000	$1.48 \times 10^6$
Grasa	1479 a 37 °C	945	$1.39 \times 10^6$
Sangre	1565 a 37 °C	1025	$1.60 \times 10^6$
Hígado	1540 a 37 °C	1064	$1.63 \times 10^6$
Músculo	1587 a 37 °C	1060	$1.68 \times 10^6$
Hueso	3406 a 37 °C	2228	$7.58 \times 10^6$

media en los tejidos blandos y alta en los tejidos duros como el hueso. A continuación, en la tabla 2.3 se presentan las impedancias acústicas para agua, aire y los tejidos biológicos presentados en la tabla 2.1

La impedancia acústica es importante en:

1. La determinación de la transmisión y reflexión en la frontera de dos materiales con diferentes impedancias acústicas.
2. El diseño de transductores ultrasónicos.
3. En la evaluación de la absorción del sonido en un medio.

La impedancia acústica es de suma importancia en las diferentes aplicaciones del ultrasonido debido a que los ecos que contienen información del medio interrogado son producidos por los cambios de impedancia entre las diferentes capas que atraviesa el ultrasonido.

### 2.2.6. Reflexión y Refracción

La mayoría de las aplicaciones del ultrasonido no serían posibles sin la reflexión de las ondas ya que estas revelan las interfaces internas de los objetos. Cuando un haz de ultrasonido viaja a través de un medio con una impedancia  $Z_1$  y encuentra perpendicular a su trayectoria un medio con impedancia distinta  $Z_2$ , se produce una reflexión del haz, lo que comúnmente llamamos eco. Cierta cantidad de la potencia incidente es reflejada en



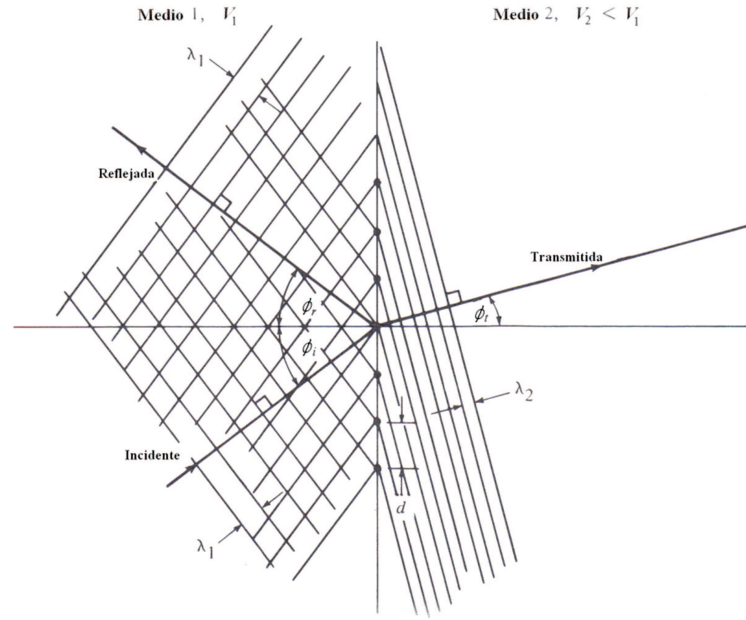
la interface y el resto es transmitida al medio siguiente. Hay dos puntos importantes que considerar cuando se realiza el estudio de la reflexión de las ondas. El primero de ellos es el ángulo al que la onda reflejada sale una vez que interactúa con la interfaz y el ángulo que adquiere la onda transmitida para su propagación en el nuevo medio. El segundo punto es el porcentaje de potencia de la onda incidente que es reflejada en la interfaz [32].

### *Ángulos de Reflexión y Transmisión*

El fenómeno que ocurre cuando una onda plana incide en una interfaz plana que separa dos medios con velocidades diferentes se muestra en la figura 2.5. Como se puede observar, el resultado de la interacción de la onda incidente con la interfaz son dos ondas adicionales, una onda reflejada y una onda transmitida (refractada). Estas nuevas ondas están condicionadas en ángulo y magnitud dado que deben coincidir con las características de la onda incidente. El espacio perpendicular que hay entre los frentes de fase de la señal es definido en el medio 1 como longitud de onda  $\lambda_1$ , pero, el espacio que se forma cuando los frentes de fase chocan con la interfaz ( $d$ ) no es igual. Cuando una onda choca con la interfaz de un medio a cierto ángulo, la distancia entre frentes de fase sobre la interfaz será más grande que  $\lambda_1$  y esta dado por la ecuación 2.24, donde  $\theta_i$  es el ángulo de la onda incidente.

$$d = \frac{\lambda_1}{\sin \theta_i} \quad (2.24)$$

La onda reflejada y la onda incidente tienen longitud de onda igual en el medio 1 porque la frecuencia para las tres ondas (incidente, reflejada y transmitida) es la misma,  $\lambda = c/f$ . Por lo tanto, se puede deducir que para que el espacio entre frentes en la interfaz coincida, el ángulo al que la onda reflejada es radiada debe ser igual al de la onda incidente  $\theta_r = \theta_i$ . En cuanto a la onda transmitida, esta tendrá una longitud de onda diferente a las dos anteriores debido a que la velocidad en el medio 2 es diferente a la del medio 1. Para que el espacio entre los frentes de onda a lo largo de la interfaz se mantenga, el ángulo al



**Figura 2.5:** Fenómeno de reflexión y refracción cuando una onda ultrasónica pasa de un medio con impedancia  $Z_1$  a otro medio con impedancia  $Z_2$ .

que se transmite la señal ultrasónica debe cambiar, entonces:

$$\frac{\sin \theta_i}{\sin \theta_t} = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} = \frac{c_1}{c_2} \quad (2.25)$$

La ecuación 2.25 es conocida como la Ley de Snell. Cuando la onda viaja por un medio 1 más rápido que un medio 2, el ángulo de la onda transmitida será menor que el ángulo de la onda incidente; cuando se presenta el caso opuesto, entonces el ángulo de transmisión será mayor que el de la onda incidente.

### ***Magnitudes de las Ondas Reflejada y Transmitida***

Las ondas ultrasónicas son reflejadas en los límites donde hay una diferencia en las impedancias acústicas ( $Z$ ) de los materiales de cada lado de la interfaz. La diferencia en  $Z$  es comúnmente conocida como desigualdad de impedancias. A una desigualdad de impedancias mayor, el porcentaje de energía reflejada en la interfaz será mayor. Es necesario tomar en cuenta lo que se conoce como continuidad de presión y los componentes de velocidad normal a lo largo de la interfaz. Dado que las presiones de cualquier onda





actúan en todas direcciones y debido a que la interfaz por sí misma no opone ninguna resistencia, las presiones del lado izquierdo de la interfaz deben ser iguales a las que se encuentran del lado derecho de la interfaz. Esto nos proporciona una relación entre tres presiones donde:

$$p_t = p_i + p_r \quad (2.26)$$

Además, se necesita que las velocidades de fase perpendiculares a la interfaz a ambos lados se igualen, así que, entonces tenemos:

$$u_t \cos \theta_t = u_i \cos \theta_i - u_r \cos \theta_r \quad (2.27)$$

Las dos ecuaciones anteriores pueden ser relacionadas entre sí a través de la ecuación para la impedancia acústica. Entonces se define la relación de presión reflejada con presión incidente en el coeficiente de reflexión  $R$ .

$$R = \frac{p_r}{p_i} = \frac{(Z_2/\cos \theta_t) - (Z_1/\cos \theta_i)}{(Z_2/\cos \theta_t) + (Z_1/\cos \theta_i)} \quad (2.28)$$

Esta ecuación es útil para cualquier ángulo de incidencia. El ángulo de la onda transmitida puede ser calculado empleando la Ley de Snell. La ecuación 2.11 se reduce al tomar en cuenta el caso especial cuando las ondas incidentes son normales a la interfaz del medio. Este caso es empleado para aproximar la potencia de reflexión y de transmisión en las interfaces del cuerpo humano a pesar de que éstas rara vez son exactamente perpendiculares a la dirección de propagación de las ondas incidentes. La variación de  $R$  con respecto de  $\theta_i$  es pequeña cuando este valor es cercano a 0 y entonces la expresión se reduce a una forma simple para los casos con una incidencia normal. Entonces, si  $\theta_i = \theta_t = 0$  la ecuación 2.28 se reduce a:

$$R = \frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \quad (2.29)$$

**Tabla 2.4:** Efectos Empleados para la Detección del Ultrasonido

Efecto	Cantidad Detectada
Piezoeléctrico	Presión
Desplazamiento (Capacitancia)	Desplazamiento de Partícula
Desplazamiento (Interferometría)	Desplazamiento de Partícula
Fuerza de Radiación	Intensidad
Calorimetría	Intensidad
Difracción Óptica	Presión
Electro-acústico	Intensidad

Cuando  $Z_2 > Z_1$   $R$  será positiva mientras que cuando  $Z_2 < Z_1$   $R$  será negativa. Cuando esto último ocurre solamente indicará que la fase de la onda de presión reflejada está desfasada  $180^\circ$  de la fase de la onda de presión incidente en la interfaz.

## 2.3. Detección del Ultrasonido y Medición de Campos Acústicos

Casi todas las aplicaciones prácticas del ultrasonido en medicina implican en algún momento una etapa de detección o medición. El propósito de medir se debe principalmente a la necesidad de obtener información para: el diagnóstico de pacientes, la medición del comportamiento de la propagación acústica en tejidos y otros materiales, y la medición de campos ultrasónicos; el interés principal es relacionar posibles cambios biológicos con mediciones físicas de la exposición a la que los tejidos son sometidos [38]. El ultrasonido, por definición, no se puede percibir directamente por los sentidos humanos, por lo tanto es necesario explotar algunos fenómenos físicos que permitan su percepción de forma cuantitativa. Hay varios métodos para la detección del ultrasonido, los principales son mostrados en la tabla 2.4.

### 2.3.1. Dispositivos Piezoeléctricos

El efecto piezoeléctrico es el más importante en lo que se refiere a las aplicaciones de detección del ultrasonido; su simplicidad, eficiencia en la conversión y la posibilidad de



una conversión directa entre energía acústica y eléctrica son sus principales ventajas. Los detectores piezoeléctricos han sido construidos en una amplia variedad de formas y tamaños de acuerdo a la necesidad [38]. El criterio de diseño de los detectores de ultrasonido destinados a la dosimetría y a la medición de propiedades de los materiales es generalmente diferente de aquellos destinados al diagnóstico sobre todo en la parte de la sensibilidad; en las aplicaciones de diagnóstico es un requisito indispensable el maximizar la información obtenida de la exposición del paciente al ultrasonido. Para mediciones de banda angosta y multifrecuencias en materiales y soluciones, el cuarzo es un detector bueno a pesar de su relativamente bajo coeficiente de acoplamiento, mientras que, para las mediciones de dosimetría, es conveniente emplear detectores cerámicos miniatura o bien PVDF (hidrófonos) en condiciones no resonantes.

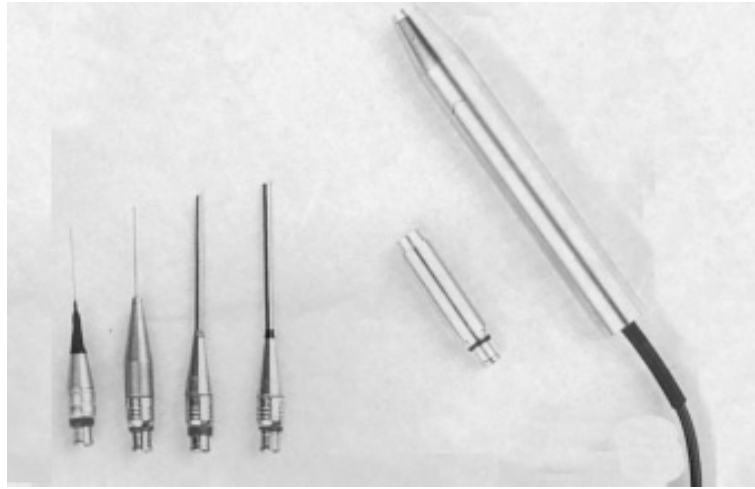
### ***Hidrófonos***

Para la medición de campos acústicos es necesario un dispositivo con dimensiones mucho menores a las de la longitud de onda acústica en el medio de propagación (por ejemplo, 0.1 mm para una frecuencia de 15 MHz en agua) [38]. Existen dos posibles soluciones que satisfacen el criterio anterior: hidrófono de aguja y de membrana; pueden ser fabricados con elementos de polímero piezoeléctrico como PVDF (fluoruro de polivinilideno). El área sensible de un hidrófono puede realizar barridos sobre un campo acústico de interés y obtener información. Este tipo de dispositivos son un sistema de medición práctico, preciso y estable. En la figura 2.6, se presentan algunos ejemplos de hidrófonos.

En la implementación, los diseños con alta resolución espacial de cualquier tipo presentan una inevitable relación entre miniaturización, sensibilidad y ancho de banda. Los hidrófonos pueden ser fabricados empleando polímeros que ofrecen la posibilidad de tener espesores de 9  $\mu\text{m}$  para un ancho de banda elevado y dimensiones de apertura debajo de 75  $\mu\text{m}$ . Para una resolución espacial alta se requiere de un preamplificador para compensar la baja sensibilidad y la alta impedancia eléctrica del dispositivo. Los hidrófonos de aguja son construidos mediante el montaje de un disco circular de un piezopolímero sobre la punta de una aguja hipodérmica; estos son ampliamente usados para obtener campos acústicos. En los dispositivos de membrana el montaje se hace estirando una película de polímero



sobre un molde circular y la región sensible queda definida por el área que se encuentra entre los electrodos conductores depositados al vacío a ambos lados de la película.



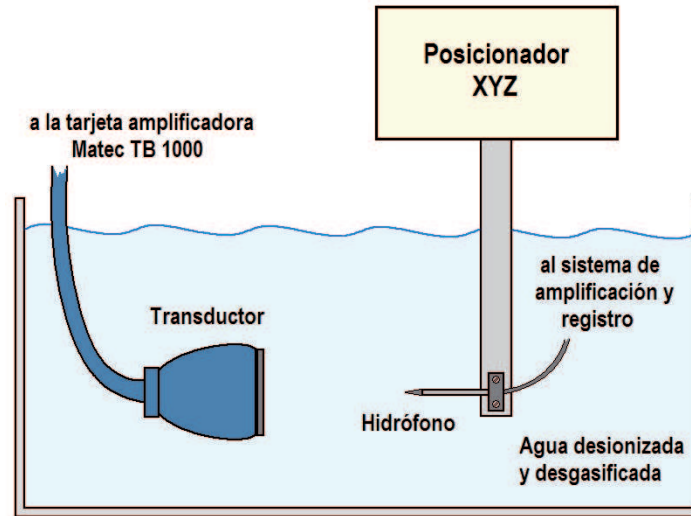
**Figura 2.6:** Algunos ejemplos de hidrófonos de aguja y de membrana

### *Técnica C-scan para campos acústicos*

Consiste en realizar un barrido en el volumen dentro del campo de radiación del transductor usando una sonda para la detección de las presiones acústicas y un sistema posicionador en 3ed dimensiones (XYZ), ver figura 2.7. La sonda de detección puede ser otro transductor, un hidrófono, un termopar con una cubierta absorbente de ultrasonido o un reflector muy pequeño. Cuando la sonda es un hidrófono, éste detecta la señal y un sistema de registro la almacena, junto con las coordenadas, para su posterior análisis. Cuando se trata de un termopar, lo que se almacena es la temperatura medida la cual está relacionada a la presión acústica. Si la sonda es un reflector esférico (*ball reflector*), el transductor a caracterizar emite la energía y recibe un rebote (eco) del reflector [39].

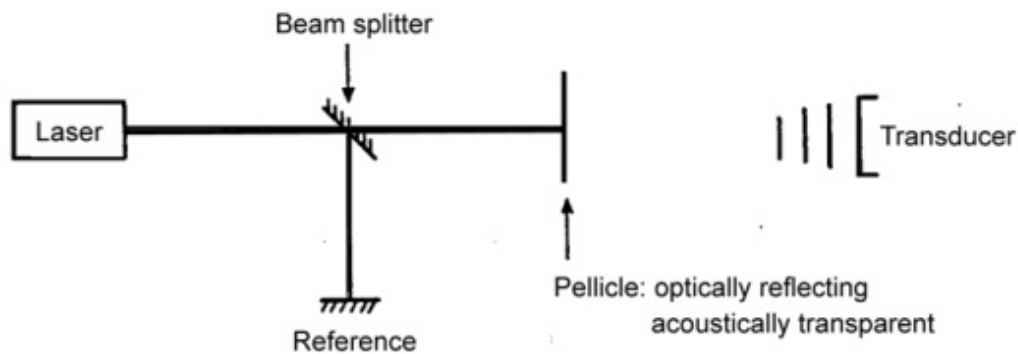
### **2.3.2. Detectores de Desplazamiento**

El desplazamiento de partículas es otra forma de realizar la medición de campos acústicos. Bajo condiciones de ondas planas lineales se relaciona el desplazamiento con la presión acústica. Uno de los dispositivos que utilizan esta técnica es el llamado micrófono de capacitancia el cual puede ser colocado de tal manera que el campo acústico incida nor-



**Figura 2.7:** Técnica C-scan con hidrófono para la medición del campo acústico.

malmente en una de las caras y provoque una deflexión; el desplazamiento resultante puede ser calculado en términos de la carga, sin embargo, los valores de capacitancia involucrados son extremadamente pequeños y no es útil cuando se intenta una medición con una resolución espacial elevada.



**Figura 2.8:** Principio de funcionamiento de un interferómetro para la medición del desplazamiento.

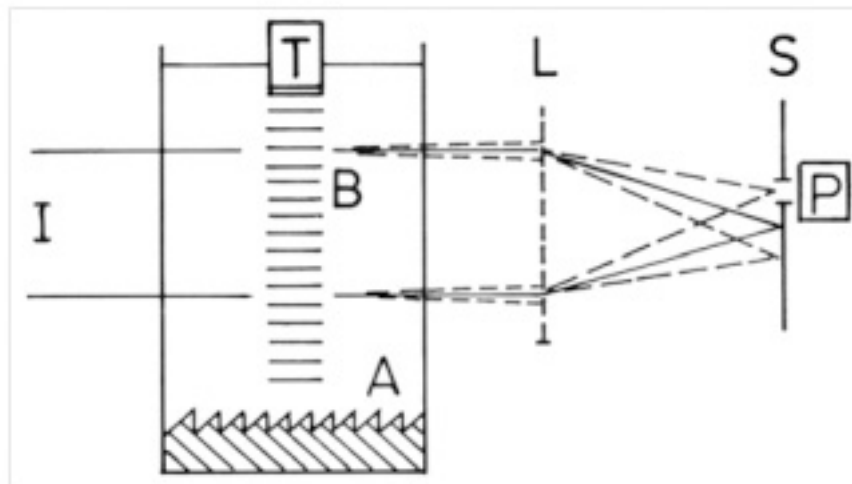
Una opción fácilmente cuantificable para realizar la medición del desplazamiento de la partícula es la que se realiza por medio de la interferometría. Esta es normalmente empleada como se muestra en la figura 2.8, donde el haz de interés es adecuado para ser reflejado de manera casi normal hacia una superficie líquida delgada formando un límite entre aire en el espacio y el líquido de propagación. El lado en el que hay aire está diseñado para ser ópticamente reflejante; se realiza el escaneo, cerca de la incidencia normal, por un haz de láser estrecho, el cual forma una parte del interferómetro óptico. La medición con



este tipo de arreglos es complicada debido a su sensibilidad a las vibraciones provenientes del medio ambiente. Además, la interacción entre la propagación de ondas acústicas y ópticas dificulta la medición del desplazamiento de la película.

### 2.3.3. Difracción Óptica

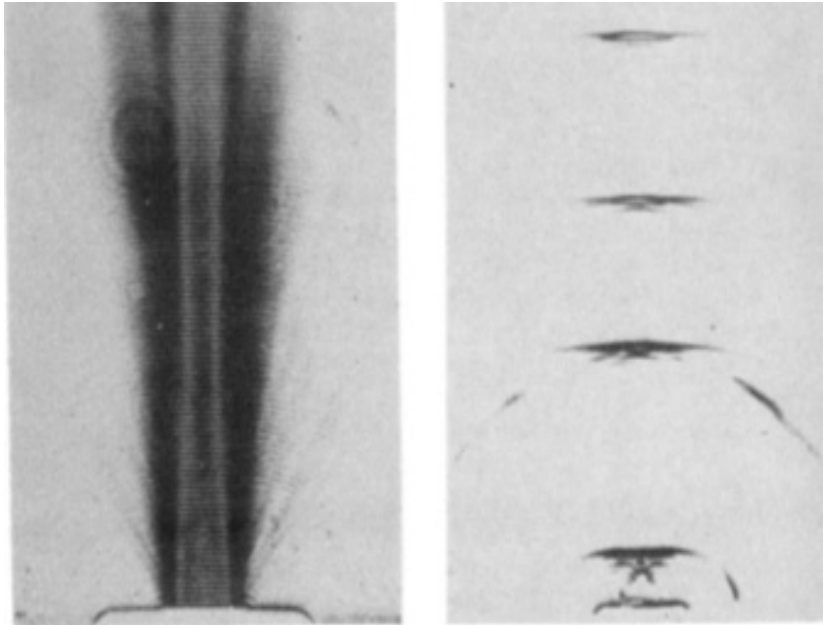
Los cambios de presión transitorios en un medio asociado con la propagación de una perturbación acústica conllevan cambios correspondientes del índice de refracción óptico del medio, a esto se le conoce como el efecto Raman-Nath. Este efecto puede ser aprovechado por la metrología acústica empleando un arreglo como el de la figura 2.9. Un haz de luz paralelo atraviesa un medio de propagación acústico en dirección normal al eje del haz acústico de interés y posteriormente es llevado al foco por medio de un lente o espejo. El haz de sonido actúa como una rejilla de fase y una parte de la energía del haz de luz de primer orden es difractada. La intensidad de la luz de estos ordenes es función del cambio producido por el campo acústico en el índice de refracción óptico y de la longitud del camino de propagación óptica a través del haz de sonido. Este método, sin embargo, es considerablemente complejo debido principalmente a la no uniformidad de la amplitud de la presión.



**Figura 2.9:** Arreglo para la medición de la difracción óptica debido a las variaciones de la densidad dentro de un haz ultrasónico. I es la fuente de iluminación; T es el transductor ultrasónico; B el haz ultrasónico; A Material absorbente; L lente convertidor; S rendija y P fotodiodo.



El fenómeno empleado por este método sienta las bases para una técnica de caracterización cualitativa para poder observar la forma de los campos acústicos, incluso se puede observar en tiempo real el comportamiento de la forma y la propagación de paquetes de ondas pulsadas. Si se toma el primer orden de difracción y se agrega una etapa óptica es posible formar una imagen que contenga información sobre el campo acústico en lo que es llamado campo oscuro, ver figura 2.10.



**Figura 2.10:** Ejemplos de imágenes en campo oscuro. Onda continua (izquierda) y onda pulsada (derecha).

## 2.4. Conservación de Tejidos Biológicos

En este trabajo, se midieron las propiedades acústicas de tejidos provenientes de cerdo que se adquirieron directamente en rastros. Las muestras biológicas no eran del todo frescas, habían pasado al menos 2 horas desde la muerte del animal hasta que se almacenaba el tejido, sin embargo, era necesario retardar el proceso de desnaturalización por lo que se realizó una investigación sobre las opciones para la conservación de órganos biológicos.

Hoy en día un trasplante de órgano es una opción terapéutica que ofrece un tratamiento definitivo para algunas enfermedades. Como resultado de esto, la lista de espera



de donadoras se ha incrementado en los últimos años, de acuerdo con los datos publicados por la Administración de Servicios y Recurso de la Salud de Estados Unidos (HRSA), en noviembre de 2012 estaban en espera de algún tipo de trasplante más de 100 mil pacientes. Cerca de 95 mil personas esperan por un trasplante de riñón, 16 mil por un trasplante de hígado y 3 mil 300 estaban esperando por un corazón [40]. Estos números se incrementan cada año y por este motivo las mejoras en la preservación de tejidos es de suma importancia.

Existen dos factores comunes en la mayoría de los reportes sobre conservación de tejidos: la solución conservadora y el almacenamiento a bajas temperaturas.

### 2.4.1. Soluciones Conservadoras

Las soluciones que existen son distintas en su composición, sin embargo, todas tienen los mismos propósitos: prevenir el edema celular, retardar la destrucción celular, y maximizar la función de los órganos después de restablecer la perfusión sanguínea [41].

- Solución Euro-Collins

Una de las primeras soluciones fue la llamada solución de Collins, ésta contenía altas concentraciones de potasio, magnesio, fosfato, sulfato y glucosa. Posteriormente, se desarrolló la solución Euro-Collins como una modificación de la solución Collins original. Esta última contenía altas concentraciones de potasio (110 mM), fosfato (60 mM) y glucosa (180 mM). La conservación de los órganos mejoró a partir de esta modificación. La solución Euro-Collins era adecuada para preservar corazón, hígado y pulmón.

- Solución Citrato Ross-Marshall

Se desarrolló como una alternativa a la solución anterior, sus composiciones electrolíticas son similares con la diferencia de que hay un citrato que reemplaza al fosfato, y el manitol a la glucosa. El citrato actúa como una solución tampón o *buffer* y junto con el magnesio forman una molécula impermeable que ayuda a es-





tabilizar el ambiente extracelular, sin embargo, esta solución no llegó a ser usada en la clínica.

- Solución Sacarosa Fosfato-Amortiguadora (*Phosphate-buffered sucrose solution*)

Una de las soluciones más sencillas, contiene sacarosa 140 mmol/L, y sodio hidrogenado y fosfato dihidrogenado como *buffers*. Esta solución es utilizada en experimentos de laboratorio y puede preservar un hígado de perro hasta por 3 días.

- Solución Histidina Tiptofan Ketoglutarato Bretschneider

Fue desarrollada para ser usada en cardiología durante las cirugías a corazón abierto, también conocida como solución HTK, esta solución fue probada con éxito en la preservación de hígado y riñón. Entre sus componentes están la histidina (200 mM), el manitol (30 mM), el triptofan y el ácido alfa-cetoglutarico. También contiene bajas concentraciones de sodio, potasio y magnesio. En este caso la histidina funciona como *buffer* y, junto con el manitol y el triptofan, actúan como colectores de radicales libres de oxígeno. En comparación con la solución Euro-Collins, esta solución mejoró la función renal de los órganos después del trasplante. Esta solución comenzó a volverse la opción más importante en la clínica, sin embargo, existen reportes aislados del desarrollo de pancreatitis cuando el páncreas a trasplantar es preservado en esta solución.

- Solución Universidad de Wisconsin (UW)

Fue desarrollada para la conservación de hígado, riñón y páncreas. Está considerada como la solución estándar para la preservación renal y hepática por su eficacia en la extensión del tiempo de isquemia para riñones e hígados al permitir que estos sean transportados grandes distancias. Esta solución también ha sido empleada en la conservación de intestino delgado y corazón. La solución tiene una osmolalidad de 320 mmol/kg y un pH de 7.4, sus compuestos se muestran en la tabla 2.5.

Uno de los componentes de las solución UW es el hidroxietil-almidón (HES). El HES no representa ninguna ventaja a la solución cuando se utiliza para el almacenamiento en frío. Existen soluciones derivadas de la solución UW que no contienen HES que han mostrado resultados similares a los de la fórmula original. El lactobionato es



el componente más importante de la solución, su naturaleza insoluble mantiene la presión oncótica coloidal de la solución, retrasa y previene el equilibrio de la solución a través de la membrana, y retrasa el desarrollo de edemas celulares. Las bajas concentraciones de potasio mejora la eficiencia del lavado de la solución mediante la eliminación del efecto vasoconstrictor. El glutatión es eficaz como un colector de radicales libres de oxígeno sólo si se añade inmediatamente antes de su uso; la adenosina y el alopurinol también ayudan en esta función.

- Solución Celsior

Es una solución tipo extracelular de baja viscosidad recientemente desarrollada para la preservación de tejidos, su característica principal es la combinación de las bondades de la solución UW (lactobionato y manitol) y de las solución HTK (el buffer a base de histidina). El glutatión reducido de la solución Celsior es el mejor antioxidante disponible. Esta solución fue desarrollada especialmente para los trasplantes de corazón; hoy en día también es utilizada para trasplantes de pulmón, hígado, y riñón. Se están haciendo pruebas para ser usada en la conservación del páncreas. En la tabla 2.5 se muestran los componentes y sus respectivas concentraciones para las soluciones conservadoras HTK, UW y Celsior [42, 43].

## 2.4.2. Técnicas de Almacenamiento

Cuando se habla de trasplantes es necesario contar con métodos eficaces, seguros y confiables preservar los órganos ex vivo hasta que se realiza el trasplante. Los tiempos aceptables de preservación varían dependiendo del órgano en cuestión, la mayoría de los cirujanos prefieren trasplantar el corazón dentro de las 5 horas siguientes a su extracción; por otro lado, el riñón puede ser almacenado sin problema durante 40 o 50 horas, pero es preferible realizar la operación lo antes posible. Los trasplantes de páncreas se realizan entre 5 y 15 horas de después de la extracción y los trasplantes de hígado por lo general se llevan a cabo dentro de 6 y 12 horas. Existen algunas técnicas de almacenamiento que ayudan a conservar los tejidos desde que son extirpados hasta que son implantados.

**Tabla 2.5:** Componentes de las principales soluciones de conservación de tejidos biológicos.

Componente	Celsior	HTK	UW
Hidroxietil-almidón (g/l)			50
Histidina (mmol/l)	30	198	
Manitol (mmol/l)	60	30	
Lactobionato (mmol/l)	80		105
Rafinosa (mmol/l)			30
Ácido Glutámico (mmol/l)	20		
Fosfato (mmol/l)			25
Glutation (mmol/l)	3		3
Alopurinol (mmol/l)			1
Adenosina (mmol/l)			5
Sodio (mmol/l)	100	15	27
Potasio (mmol/l)	15	10	125
Cloruro (mmol/l)		50	
Calcio (mmol/l)	0.25	0.015	
Magnesio (mmol/l)	13	4	
Sulfato de Magnesio (mmol/l)			5
Triptofan (mmol/l)		2	
Cetoglutarato		1	
Insulina (U/l)			100
Dexametasona (mg/l)			8
Bactrim (mg/l)			0.5

- Preservación hipotérmica

Es la técnica preferida para la conservación de órganos porque es simple, no requiere equipo sofisticado, y además permite una fácil transportación. El efecto de la preservación hipotérmica es la disminución del metabolismo [44]. A temperaturas bajas las reacciones de degradación son considerablemente más lentas que a temperatura ambiente. A 10 °C la tasa del metabolismo se vuelve más lenta en un factor de 2; a 0 °C este factor es de 12 a 13 veces más lento. Cabe mencionar que la hipotermia por sí misma no es suficiente para la preservación adecuada de los tejidos, es necesaria una solución de conservación adecuada en la que se sumerja el órgano en cuestión. Existen dos técnicas de preservación usando hipotermia: almacenamiento sencillo en frío y perfusión hipotérmica continua. En la primer técnica se utiliza una bolsa estéril para depositar el órgano dentro de la solución conservadora, posteriormente esta bolsa es depositada dentro de otra que contiene trozos de hielo; la ventaja de esta técnica es que puede ser aplicada en cualquier sitio y es fácil de transportar. En el caso de la perfusión continua, desarrollada en 1967 por Belzer, se emplea una



bomba para hacer circular la solución conservadora fría a través del órgano [45] para que el oxígeno y los sustratos mantengan la actividad de la bomba iónica y el metabolismo; con esta técnica se mantiene la síntesis de ATP y otras moléculas, sin embargo, el equipo necesario para realizar la perfusión complica la transportación del órgano.

- Criopreservación

Numerosos investigadores han realizado esfuerzos por preservar tejidos e incluso cuerpos enteros mediante el congelamiento [46] tal como se realiza normalmente en los trabajos de conservación de células donde estas técnicas de criopreservación son usadas satisfactoriamente. Desgraciadamente, esta técnica ha presentado algunas desventajas [47]. Un ejemplo de esto es la densidad de empaquetamiento, en un órgano ésta puede llegar al 80 % y la preservación de células aisladas se vuelve una difícil cuando se alcanza una concentración de células por encima de 20 %. Además, la presencia de células de diferentes tipos (cada una con sus propias características para la criopreservación) dificulta la recuperación cuando se realiza el descongelamiento. Por otro lado, la formación de hielo extracelular puede causar daño en la estructura del órgano [46]. La criopreservación de órganos no es posible con la tecnología de estos días [41].

- Vitrificación

Es, quizá, la técnica más promisoría en la criopreservación de órganos [47]. A grandes rasgos, esta técnica toma una solución acuosa y lo convierte en un sólido amorfo. Un líquido puede ser enfriado más allá de su punto de fusión sin presentar un cambio de fase. Para que se produzca la formación de hielo primero es necesaria la nucleación, este es un proceso mediante el cual un grupo de moléculas alcanza un tamaño crítico para finalmente conformar núcleos de hielo de forma espontánea. A temperaturas bajas este tamaño crítico se vuelve más pequeño e incluso puede aproximarse al tamaño de los grupos que se forman en los líquidos. La solución puede ser enfriada a la temperatura de nucleación homogénea (temperatura a la cual la probabilidad de nucleación es igual a 1) en un estado de súperenfriamiento, pero debajo de ese punto



ocurre la cristalización. El líquido súperenfriado existe en un estado meta-estable hasta que se alcanza la temperatura de transición. A esta temperatura, el tiempo requerido para el traslado molecular en la nucleación o el crecimiento cristalino se vuelvan infinitos; entonces, el sólido amorfo es estable bajo este punto.

La vitrificación también puede obtenerse añadiendo solutos que desarrollen una estructura en agua que se pueda romper debido al crecimiento cristalino. Las moléculas de soluto impiden este crecimiento bloqueando otras moléculas de agua e interfiriendo con la unión del hidrógeno necesario para la formación de hielo. Ambos enfoques son aditivos, i.e., a mayor concentración del soluto menor tasa de enfriamiento necesaria para lograr la vitrificación.

El problema con la vitrificación de órganos es que alrededor de la mitad del agua en un órgano debe ser reemplazada con moléculas de soluto para que la vitrificación ocurra a rangos razonables de enfriamiento. Las dificultades en las técnicas de vitrificación incluyen la infusión de concentraciones altas de solutos de vitrificación dentro del órgano, el remover estos solutos por deshielo, el prevenir la fractura de los órganos durante el almacenamiento criogénico y el calentar los órganos lo suficientemente rápido para prevenir la desvitrificación, entre otros problemas. La vitrificación no se usa actualmente en la clínica.

## 2.5. Terapia Térmica

En años recientes, la terapia térmica ha surgido como una herramienta prometedora para combatir el cancer [48]. Esta terapia engloba todos los tratamientos basados en la transferencia de energía calorífica dentro o fuera del cuerpo y puede ser clasificada con respecto a las temperaturas alcanzadas durante el tratamientos; Stauffer [5] muestra una clasificación que va desde la crioterapia ( $T < -50$  °C) hasta la ablación térmica ( $T > 50$  °C). Cada una de estas terapias produce diferentes efectos en el organismo, ver figura 2.11. A grandes rasgos, la terapia de calentamiento o enfriamiento puede producir efectos en el cuerpo como reducción del dolor y la inflamación, cicatrización de heridas, conservación



de tejidos, cirugía térmica y terapia oncológica.

En el caso de las terapias basadas en el calentamiento se tienen tres mecanismos básicos para depositar la energía en el cuerpo humano:

- **Conducción Térmica del Calor.**- es un mecanismo de transferencia de energía térmica entre dos sistemas basado en el contacto directo de sus partículas que tiende a igualar la temperatura dentro de un cuerpo o entre diferentes cuerpos en contacto por medio de transferencia de energía cinética de las partículas. La tasa de transferencia depende del gradiente térmico y de las propiedades térmicas de los materiales en contacto.
- **Aplicación de Campos Electromagnéticos.**- el campo electromagnético produce movimiento de la red de electrones dentro de los tejidos; el calor se produce como resultado de la fricción que hay entre moléculas polares de agua adyacentes. En este caso existe una subclasificación basada en la frecuencia de trabajo que separa la radiofrecuencia (20 MHz) de las microondas (100 MHz). En ambos casos, la densidad de potencia absorbida por los materiales decrece exponencialmente conforme el campo penetra en los tejidos. Es necesario que al momento de planear el tratamiento se seleccione la frecuencia adecuada dependiendo de factores como el tamaño y profundidad del tumor.
- **Aplicación de Ondas Ultrasónicas.**- Al igual que la radiación electromagnética, la intensidad del ultrasonido decrece conforme penetra en los tejidos. Las frecuencias recomendadas para el tratamiento de tumores están entre 0.5 y 10 MHz. La dispersión del haz ultrasónico al pasar por los tejidos es mínima además, con la focalización del ultrasonido, se logra la deposición de energía en la zona a tratar. El ultrasonido es la mejor opción cuando se habla de focalizar la energía en tumores pequeños y profundos.

Etimológicamente, hipertermia proviene del griego *hiper-* que significa más allá, y de *-termos* que significa calor [6]. Entonces, hipertermia se refiere a un incremento de

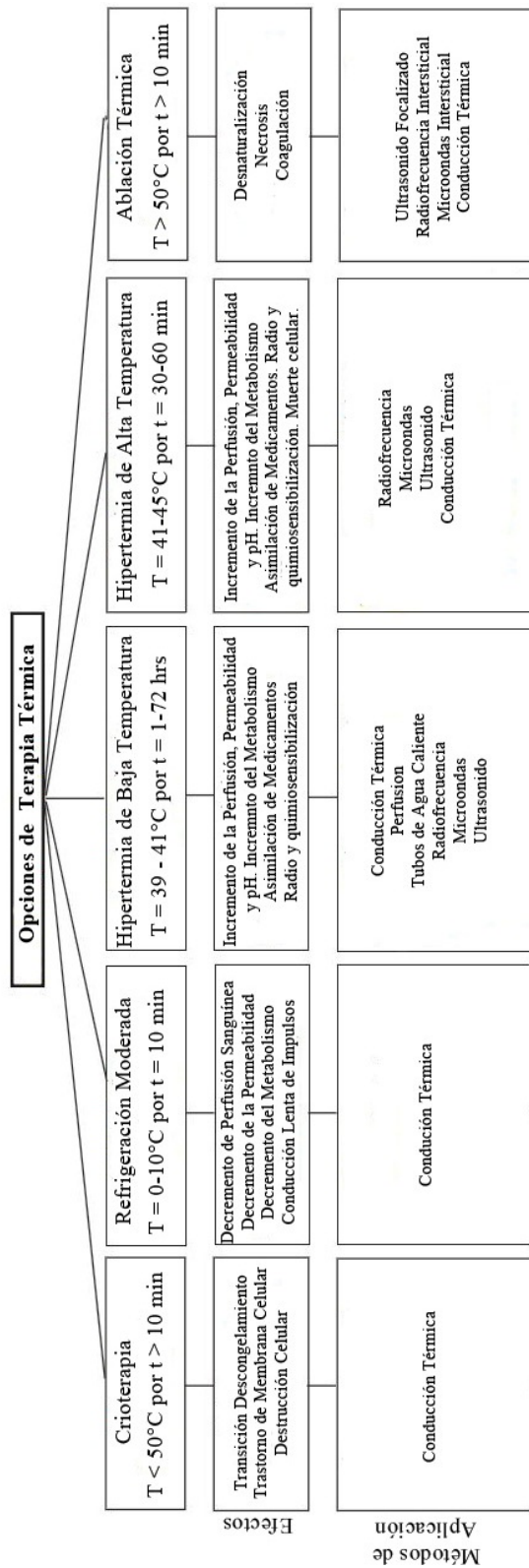


temperatura más allá del límite superior soportado por los tejidos humanos, sin embargo, hoy en día la hipertermia se produce de forma artificial con el propósito de elevar la temperatura de las células cancerígenas de 4 a 8 °C por encima de su nivel normal para producir sensibilización a la quimio y radioterapia [5, 48, 49]; la fuente de generación de hipertermia puede utilizar energía ultrasónica, electromagnética, radiofrecuencia, etc. Los efectos de la hipertermia dependen de factores como el tipo y cantidad de energía aplicada, el tiempo de tratamiento y la temperatura alcanzada, y de las propiedades de los tejidos biológicos [6, 7, 48, 50].

Por otro lado, como se mencionó anteriormente, la ablación térmica ocurre cuando la temperatura alcanzada dentro de la zona de tratamiento esta por encima de los 50 °C [48]; el principal objetivo de este tipo de procedimiento es generar necrosis de las células cancerígenas. Es deseable que los procedimientos tanto de hipertermia como de ablación sean mínimamente invasivos [4, 51] y con el menor daño de los tejidos sanos circundantes. Si bien la hipertermia y la ablación térmica han mostrado ser un medio eficiente para tratar el cáncer, aún es necesario resolver cuestiones como la medición no invasiva de las temperaturas en la zona de tratamiento así como la focalización de la energía empleada.

### **2.5.1. Estimación No Invasiva de la Temperatura**

Cómo se mencionó anteriormente los tratamientos con hipertermia se basan en la elevación de la temperatura normal del cuerpo por un tiempo determinado para provocar daños las células cancerígenas e incluso la necrosis [6, 7], sin embargo, es de suma importancia el conocer las temperaturas que se alcanzan y en qué zonas se alcanzan para aplicar el tratamiento de forma correcta; si no se alcanza la temperatura adecuada, ésta podría beneficiar la proliferación del cáncer [52]. Diversos grupos de investigación se han dado a la tarea de encontrar un método para estimar la temperatura dentro de un volumen de forma no invasiva. A continuación se presentan las diversas opciones que se usan y las que se han propuesto para medir la temperatura cuando se aplica un tratamiento de hipertermia; hasta ahora no se ha llegado a desarrollar un sistema confiable que pueda ser



**Figura 2.11:** Clasificación de la terapia térmica según Stauffer. Se pueden observar los efectos de cada terapia así como los medios de aplicación.





llevado a la clínica y esto se debe principalmente a diversos factores físicos y fisiológicos que hacen de la medición no invasiva de la temperatura un reto duro de alcanzar.

### 2.5.1.1. Métodos Invasivos

Estos métodos son llamados invasivos por la necesidad de insertar o colocar el sensor en contacto directo con la superficie a la cual se le mide la temperatura. Si bien este tipo de equipos son normalmente empleados en laboratorios, hay algunos casos (termopares, termistores) en los que pueden ser utilizados en la clínica con sus respectivos riesgos e incomodidades; estos sensores son usados debido a que hasta el momento no existe otro método para realizar la medición de las temperaturas alcanzadas en la zona de tratamiento.

Dentro de esta clasificación se pueden colocar los instrumentos de medición superficial de la temperatura como las cámaras infrarrojas [53] y las hojas de cristal líquido [54]. Si bien estos equipos no son planeados para ser invasivos, es necesario rebanar la muestra para conocer la temperatura en el interior. Este tipo de mediciones se realizan normalmente en un *phantom* (emulador de tejido) o un experimento *in vitro*.

Como se mencionó anteriormente, las sondas son empleadas tanto en la experimentación como en la clínica. Estos sensores son los que se usan actualmente en la para monitorizar las temperaturas durante los tratamientos de hipertermia [55]. De igual forma son utilizados en la investigación como una referencia de temperatura para los nuevos equipos de terapia y para la comprobación de los sistemas de estimación no invasiva de la temperatura. Los sensores empleados en un tratamiento de hipertermia pueden ser termopares, fibras ópticas o termistores; la elección de alguno de éstos depende en gran medida del tipo de energía con el cual se está radiando y las posibles interferencias que causen los sensores en el campo de radiación. Este tipo de sensores tienen la desventaja de que las mediciones realizadas son puntuales y no se puede obtener una distribución de la temperatura en un volumen. Un gran inconveniente es que cuando se colocan los sensores en zonas donde existe cáncer se tiene el riesgo de causar metástasis por la diseminación



de células cancerígenas en la sangre al extraer la sonda [56].

### 2.5.1.2. Métodos No Invasivos

Diversos grupos de investigación se han dado a la tarea de proponer y desarrollar prototipos para la estimación no invasiva de la temperatura con diferentes tipos de energía y principios.

La *tomografía por impedancia eléctrica* está basada en la medición de la impedancia eléctrica de un cuerpo al cual se le inyectan pequeñas corrientes con una frecuencia y amplitud dentro de los límites establecidos por las normas de seguridad eléctrica. De acuerdo con [57] la impedancia eléctrica en las soluciones acuosas presenta una variación lineal con respecto al cambio de la temperatura. Si se tiene en mente que los tejidos, y el cuerpo humano en general, están formados en su mayoría por agua esta técnica podría ayudara a la estimación de la temperatura sin embargo, diversas pruebas en voluntarios mostraron que esta técnica es dependiente de cada uno de los objetos de estudio y de las zonas donde se colocan los electrodos [58].

La *tomografía computarizada por ultrasonido* se basa en el principio básico de la reconstrucción de imágenes por tomografía computarizada. En el caso del ultrasonido se puede obtener una distribución de las velocidades del sonido dentro del objeto de estudio conociendo la distancia entre el emisor y el transmisor así como el tiempo que tarda un pulso ultrasónico en llegar de un punto a otro. La estimación de la temperatura con este tipo de equipos se basa en encontrar las diferencias en velocidades del sonido antes y después del calentamiento de la muestra sabiendo que este parámetro presenta una dependencia con la temperatura en los tejidos. Nawata [59] realizó pruebas en phantoms para comparar las distintas técnicas de reconstrucción de imágenes para la tomografía computarizada: el método “filter back projection” (FBP), el método de la transformada de Fourier, y el método iterativo. La sustracción de la imagen obtenida antes del calentamiento a la imagen obtenida después del calentamiento entrega una distribución de la diferencia en temperaturas que va a estar relacionada con los cambios en la velocidad de



propagación debidos al aumento de la temperatura en el *phantom*, sin embargo, la precisión de las medidas podría ser deficiente debido a la presencia de tejidos que contienen poca agua o alto contenido de grasas.

La *resonancia magnética nuclear* ha sido objeto de estudio en la estimación no invasiva de la temperatura y ha presentado resultados aceptables. Existen tres parámetros que son afectados por los cambios de temperatura y que pueden ser detectados con la resonancia magnética. i) La frecuencia de resonancia de los protones de agua (PRF por sus siglas en inglés) [60,61], ii) la constante del tiempo de relajación T1 [62] y iii) el coeficiente de difusión de las moléculas de agua [63]. La mayor parte de los estudios con este tipo de energía están en sus pruebas preliminares y enfocadas a medir temperatura durante tratamientos de hipertermia en el cerebro [64]. Entre estas técnicas, la más prometedora es la que utiliza los cambios en la frecuencia de resonancia de los protones aunque es necesario asegurar la estabilidad del campo magnético para que esto no afecte las mediciones, de igual forma los movimientos del paciente se ven reflejados en los resultados. La resonancia magnética nuclear parece ser una de las alternativas más llamativas para solucionar el problema de la estimación de la temperatura sin embargo, el costo elevado de los equipos la hacen de difícil acceso.

El *ultrasonido* también ha sido objeto de estudio en la estimación no invasiva de la temperatura, este tipo de energía cuenta con diversas características que la hacen una de las opciones más prometedoras, las principales son [65]:

1. Una buena penetración a frecuencias donde la longitud de onda está en el orden de las décimas de mm.
2. Estas longitudes de onda tan pequeñas permiten que los rayos ultrasónicos estén colimados, que puedan ser enfocados y que se puedan controlar apropiadamente usando una apertura razonable.
3. La factibilidad de construir transductores ultrasónicos de casi cualquier forma y tamaño.
4. El hecho de que el ultrasonido no causa ningún efecto tóxico o ionizante en el tejido.



5. La compatibilidad de los transductores ultrasónicos empleados para la estimación de temperatura y para la terapia térmica.
6. Y, finalmente, el bajo costo asociado a estas técnicas de medición comparado con la tomografía computarizada y la resonancia magnética.

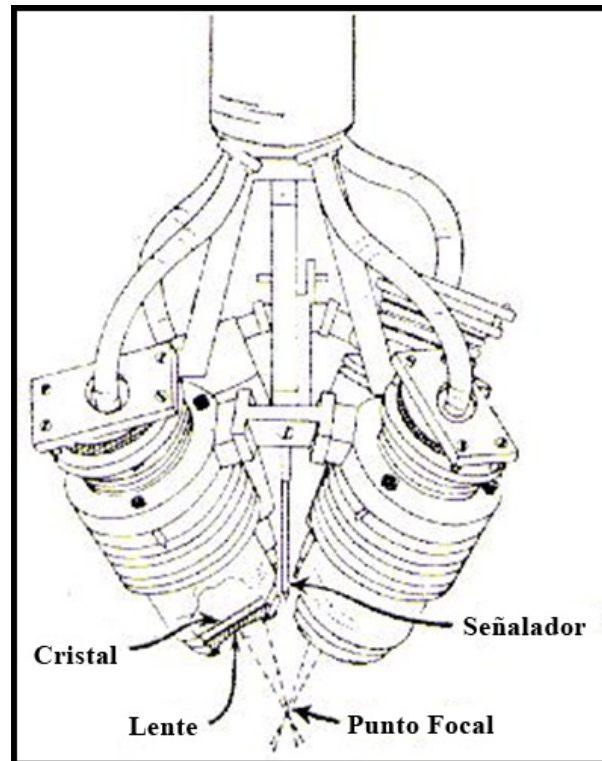
En la literatura se encuentran cuatro métodos generales para la estimación de temperatura usando ultrasonido que están basados en los cambios en atenuación [18, 26], los cambios en la energía de retrodispersión [15, 66], los desplazamientos en el tiempo [67, 68] y los desplazamientos en la frecuencia [69].

### 2.5.2. Focalización del Ultrasonido

Aunque el principal uso del ultrasonido en la vida diaria es la ecografía (obtención de imágenes por medio de señales ultrasónicas), esta energía también puede ser empleada para generar diatermia [70], hipertermia [5] y ablación [5]. Tanto la hipertermia como la ablación con ultrasonido se pueden lograr mediante la concentración de la energía en un punto: la focalización. Esta última se realiza ya sea geoméricamente con lentes y curvaturas en las caras de los transductores o bien mediante arreglos de piezoeléctricos focalizados electrónicamente con retardos en fase o en tiempo.

El primer trabajo relacionado con un tratamiento extracorpóreo usando ultrasonido fue desarrollado por los hermanos William y Francis Fry a principios de los años 50. Ellos trataron desórdenes neurológicos empleando un conjunto de transductores capaces de focalizar la energía ultrasónica dentro de la corteza cerebral; se puede ver el equipo desarrollado por los hermanos Fry en la figura 2.12. Desafortunadamente esta técnica no pudo desarrollarse en ese tiempo debido a la falta de dispositivos de imagenología que ayudaran al seguimiento del tratamiento. Ya para los años 80's, Lizzi desarrolló un equipo que empleaba ultrasonido para el tratamiento de glaucomas y tumores intraoculares; este tipo de tratamiento fue reemplazado más tarde por el láser [71].

Gracias al desarrollo tecnológico de los últimos años, hoy en día podemos encontrar



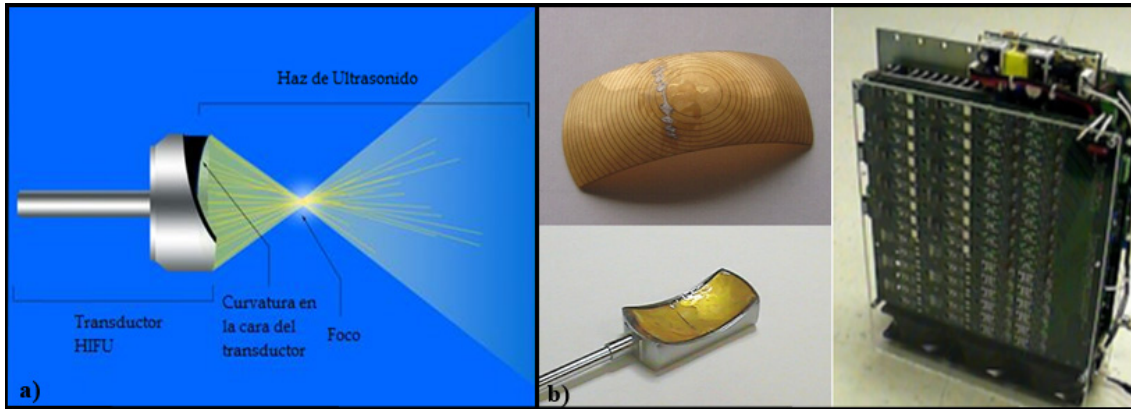
**Figura 2.12:** Equipo desarrollado por los hermanos Fry para el tratamiento de desordenes neurológicos. Ejemplo de focalización.

diversos equipos para la aplicación del Ultrasonido Focalizado de Alta Intensidad o HIFU por sus siglas en inglés. El HIFU es un procedimiento medico de alta precisión con el cual se aplica energía ultrasónica focalizada para calentar (hipertermia) y destruir (ablación) el tejido cancerígeno o dañado. Además de la ablación y la hipertermia, el ultrasonido focalizado puede emplearse para litotripsia<sup>1</sup>, cauterización y trombólisis<sup>2</sup> [72].

La focalización para los tratamientos HIFU se logra mediante la curvatura de los transductores ver figura 2.13a o mediante un arreglo de piezoeléctricos concéntricos excitados cada uno con un canal diferente para realizar la focalización mediante retardos temporales, ver figura 2.13b. En esta tesis se usará, en la simulación de una terapia de hipertermia, un transductor de 4 anillos piezoeléctricos focalizados mediante retardos temporales.

<sup>1</sup>procedimiento que se usa para desintegrar cálculos renales

<sup>2</sup>Disolución del coágulo (trombo) que se forma en el interior de una arteria coronaria



**Figura 2.13:** Ejemplos de focalización del ultrasonido empleando a) Curvatura en la superficie de emisión y b) Arreglo de múltiples piezoeléctricos y excitador multicanal.

## 2.6. El Método de Elementos Finitos

El método de los elementos finitos (FEM por sus siglas en inglés y MEF en español) surgió por la necesidad de resolver problemas complejos de elasticidad y análisis estructural en ingeniería civil y aeronáutica. Su desarrollo comenzó con los trabajos de Alexander Hrennikoff y Richard Courant [73] en los años 40's con una característica en común, la discretización de un medio continuo en subdominios llamados elementos. En 1947, Olgierd Zienkiewicz combinó los principios matemáticos de ambos métodos para crear lo que se conoce hoy en día como el Método de los Elementos Finitos [74].

Algunos años después, en 1965, la NASA lanzó una propuesta para el desarrollo de un programa computacional de elementos finitos: NASTRAN. Finalmente, después de que en 1973 Strang y Fix realizaran un análisis riguroso al método [75], este ha ido evolucionando hasta ser generalizado para usarse en la simulación de un gran número de aplicaciones de diversas áreas de ingeniería. Recientemente, este método de modelado ha tenido un gran desarrollo debido a los avances informáticos, los cuales han puesto a disposición de los usuarios gran cantidad de programas que permiten realizar cálculos con elementos finitos.

De manera general, el MEF se basa en la división de un dominio continuo en un conjunto de pequeños subdominios llamados elementos que son interconectados por una serie de puntos llamados nodos. Las ecuaciones diferenciales que rigen el comportamiento



del continuo también regirán el de cada uno de los elementos. De esta forma se consigue pasar de un sistema continuo con infinitos grados de libertad a un sistema con un número de grados de libertad finito cuyo comportamiento se modela por un sistema de ecuaciones diferenciales.

Algunos conceptos importantes del Método de los Elementos Finitos son:

- *Dominio*: Es el espacio geométrico completo del sistema a analizar.
- *Subdominio*: Tradicionalmente son los dominios en que se divide el dominio principal, llamados elementos. Sin embargo, en algunos programas para cálculo con FEM, se separa conceptualmente el término subdominio del término elemento, ya que el primero se refiere a los dominios que forman al sistema completo y el segundo a las subdivisiones de cada subdominio.
- *Condiciones de contorno*: Son las variables conocidas que condicionan el cambio del sistema en la frontera o contorno del dominio. Estas variables dependen de las condiciones reales del sistema y comúnmente son mediciones experimentales.
- *Incógnitas*: Son las variables del sistema que deseamos conocer y que actúan en todo el dominio y subdominios del sistema. Se pueden subdividir en incógnitas fundamentales, que se obtienen directamente de las ecuaciones diferenciales que rigen al dominio, y en incógnitas secundarias, que se obtienen a partir de las fundamentales.
- *Sistema de ecuaciones*: Es el conjunto de ecuaciones diferenciales que representan el comportamiento del sistema. Actúan en todo el dominio y subdominios del sistema y por lo tanto en cada elemento y nodo.
- *Problema multifísica*: Es un problema que involucra más de un sistema de ecuaciones diferenciales que se interconectan entre sí. Su solución se realiza iterativamente de manera que el resultado final satisfaga todos los sistemas de ecuaciones presentes.



### 2.6.1. COMSOL Multiphysics

Casi todos los fenómenos que incluyen cambios en tiempo o espacio pueden describirse mediante el uso de ecuaciones parciales diferenciales. Muy pocas ecuaciones diferenciales tienen soluciones analíticas y para la mayoría de los problemas de modelado se utilizan herramientas numéricas para la solución. COMSOL Multiphysics es una herramienta basada en MEF que permite resolver grupos de ecuaciones diferenciales enlazadas entre sí para la optimización de diseños y prototipos virtuales, lo que permite, entre otras cosas:

- entender mejor los factores que afectan al problema y los procesos que intervienen en éste,
- determinar las variaciones en los parámetros que pueden afectar el funcionamiento de equipos modelados, y
- reducir gastos debido a la disminución del trabajo experimental.

En COMSOL se pueden solucionar los sistemas no-lineales mediante el acoplamiento de las ecuaciones diferenciales de sistemas independientes. Además, el resultado final tiene un alto grado de flexibilidad y tiene capacidades de post-procesamiento con múltiples variables y con posibilidades de definir sus interrelaciones. No obstante, según la complejidad del sistema a modelar, se incrementarán los requerimientos computacionales mínimos. El software controla el análisis de elemento finito junto con un mallado adaptativo. Modelos en 2D, 3D y variantes axisimétricos están disponibles para la mayoría de los modos de aplicación. En combinación con los instrumentos del programa se pueden usar datos medidos experimentalmente para modelar de forma más real el comportamiento del sistema.

### 2.6.2. Módulo de Acústica

El módulo de acústica es un paquete opcional que extiende el entorno de COMSOL Multiphysics con interfaces personalizadas y funciones optimizadas para el análisis en acústica.





Este módulo resuelve problemas en las áreas generales de acústica, interacción acústica-estructural y vibración ya sea en fluidos (líquidos y gases) o en sólidos. Los problemas se pueden resolver para distintas situaciones ya sea para análisis transitorio, estacionario armónico, eigen-frecuencia, entre otros. También, es posible resolver problemas con diferentes simetrías, ya sea simetría plana (2D), simetría axial (axial 2D) o problemas en 3D. Las ecuaciones relacionadas a cada método de solución son las ecuaciones de onda respectivas para un sistema lineal, con posibilidades a extenderlas mediante la adaptación de las ecuaciones a sistemas no-lineales.

### 2.6.3. Módulo de Transferencia de Calor

El software COMSOL Multiphysics posee un módulo para estudiar la transferencia del calor en fluidos y sólidos. Dentro de este módulo se encuentra una aplicación especial para el tratamiento de medios biológicos con flujo sanguíneo en base a la ecuación de bioalentamiento. Mediante el uso del módulo de transferencia de calor es posible resolver una gran cantidad de problemas que involucren el movimiento del calor a través de los fenómenos de conducción, convección y radiación.

#### *Ecuación de Bioalentamiento*

Esta aplicación del módulo de transferencia de calor utiliza la ecuación de Pennes [28] para representar las fuentes de calor del metabolismo y la difusión del mismo por causa del flujo sanguíneo; estos dos procesos intervienen en el problema de flujo de calor en tejidos biológicos. Además, toma en cuenta una tercera fuente de calor para modelar la influencia de una fuente de energía externa en el calentamiento de un medio biológico. De igual forma que el módulo de acústica, se permite el modelado en 2D y 3D así como el modelado de problemas axisimétricos usando coordenadas cilíndricas en 2D. Los problemas se pueden solucionar ya sea en estado estacionario o en estado transitorio, dependiendo de las necesidades y las condiciones de funcionamiento del sistema a modelar.

### **3.1. Efectos de la Temperatura sobre las Propiedades Acústicas de Tejidos Biológicos**

Las técnicas de medición de propiedades basadas en el ultrasonido constituyen una de las principales herramientas empleadas tanto en la industria como en la medicina para el estudio de materiales [30] y de tejidos biológicos [22, 76, 77] debido a su naturaleza no destructiva y no ionizante. Las características ultrasónicas más estudiadas en materiales biológicos son la velocidad de propagación y la atenuación. 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 [78–81], simulación de terapias [9, 82, 83], y en la estimación no invasiva de la temperatura [49, 67, 69, 84].

Cuando un tejido biológico sufre cambios en su temperatura algunas características



ultrasónicas como la velocidad de propagación y la atenuación se ven afectadas; de igual forma, algunas propiedades físicas como el tamaño de la muestra sufren cambios como consecuencia de la temperatura, el coeficiente de expansión térmica es una medida de estos cambios. Si se monitorizan las señales ultrasónicas provenientes de un material biológico mientras la temperatura de éste va cambiando se pueden observar dos cambios principalmente: el primero de ellos se puede observar en el tiempo mediante el corrimiento de los ecos provenientes del interior de la muestra, y el segundo en la amplitud con la disminución o aumento de la intensidad de las señales.

Los cambios en el tiempo pueden ser asociados con i) que la velocidad del ultrasonido tiene una dependencia casi lineal con la temperatura y ii) los cambios en las dimensiones de los materiales debido a la expansión térmica. Por otro lado, los cambios en amplitud dependerán de la señal que se esté monitorizando. Si el ultrasonido pasa a través del material en cuestión, las variaciones en la amplitud son asociadas principalmente a los cambios que sufre el coeficiente de atenuación del ultrasonido conforme cambia la temperatura; en la mayoría de los tejidos a mayor temperatura, mayor valor del coeficiente de atenuación. Si se habla de energía de retrodispersión, la energía proveniente del eco generado por el cambio de interfaz, los cambios en amplitud son debidos a los cambios en la velocidad de propagación que a su vez generan un cambio en la impedancia acústica del material y por lo tanto cambios en la energía reflejada.

A continuación se presentan algunos reportes de variaciones de las propiedades acústicas de tejidos biológicos. Cabe mencionar, que algunos de estos fenómenos se han propuesto para ser empleados en la estimación no invasiva de la temperatura.

### **3.1.1. Velocidad de Propagación del Ultrasonido**

Sin lugar a dudas, el agua es un material cuyas propiedades acústicas son constantes. Diversos grupos [85–87] han medido la velocidad de propagación del sonido en agua obteniendo resultados muy similares; es por ello que el agua se considera un material de referencia cuando se caracterizan los instrumentos de medición de la velocidad de pro-



pagación. Además, la velocidad del sonido en agua muestra una dependencia lineal con respecto de la temperatura, esto llevó a los científicos a pensar que si el cuerpo humano está conformado principalmente por agua, entonces la velocidad de propagación del sonido en los tejidos también debería mostrar una dependencia con la temperatura.

La velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos empieza a jugar un papel muy importante debido a esta variación casi lineal con respecto de la temperatura [38,67]. Existen numerosos reportes de medición de la velocidad del sonido en tejidos, en 1978 Goss *et al.* [22] se dieron a la tarea de recopilar los datos de propiedades ultrasónicas que había en ese momento; en la lista se pueden encontrar valores para diversos tejidos de diversas especies. Un año más tarde Bamber y Hill [16] realizaron la medición de las propiedades en tejidos biológicos frescos provenientes de ganado bovino y de seres humanos con la particularidad de tomar en cuenta la temperatura. La principal finalidad en ese momento era la de mejorar la tecnología existente en ese tiempo y garantizar la seguridad de los pacientes expuestos a la radiación ultrasónica. En años recientes, se han realizado diversas mediciones en las cuales se pueden incluir la Nicholson y Bouxsein [25] en 2002 donde estudiaron el efecto de la temperatura en las propiedades acústicas del hueso calcáneo con el fin de relacionar la velocidad con la composición del hueso. Ese mismo año Towa *et al.* [27] midieron la velocidad en función de la temperatura en el músculo intercostal de rata y cerdo; si bien encontraron una variación ascendente de la temperatura, también reportaron que durante su desarrollo no encontraron diferencias significativas entre los valores de atenuación a 22 °C y 37 °C. Techavipoo *et al.* [26] en 2004, midieron propiedades acústicas en hígado de perro en busca de una dependencia con la temperatura así como con la coagulación de la sangre en los tejidos. Dos años después El-Sariti *et al.* [20] midieron la dependencia en temperatura de las propiedades acústicas de hueso bovino, en sus resultados encontraron variaciones de hasta 40 *m/s* en la velocidad de propagación de muestras de distintos miembros de la misma especie pero con una tendencia similar. Si bien existen numerosos reportes de propiedades ultrasónicas en tejidos biológicos, es un hecho que estas varían incluso entre miembros de la misma especie. Además, las condiciones en las que se realizaron las mediciones no son totalmente claras y no se menciona si los errores debidos a la expansión térmica son corregidos. Es por este motivo que se decidió crear



una base de datos propia de LAREMUS con propiedades acústicas de tejidos biológicos provenientes de cerdo; estas propiedades podrán ser utilizadas en los diversos proyectos desarrollados en los que se incluyen la estimación no invasiva de la temperatura así como la simulación de terapias de hipertermia y ablación usando ultrasonido.

Básicamente se presentan dos tipos de variaciones en los tejidos biológicos, aquellos con una mayor concentración de agua presentan un aumento de la velocidad conforme aumenta la temperatura mientras que los que en los que son ricos en lípidos la variación es inversa, la velocidad del ultrasonido disminuye conforme aumenta la temperatura [38, 88]. 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 es el caso de los tejidos llamados suaves, un error de apenas 1 mm en la medición del espesor podría significar una variación del 5% de la velocidad. 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 ésta también se presentan cambios en las dimensiones de las muestras debido a la expansión térmica. 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.

### 3.1.2. Atenuación del Ultrasonido

La reflexión, refracción, dispersión y absorción contribuyen a la pérdida de energía de la señal ultrasónica; lo que comúnmente llamamos atenuación. De acuerdo con Damianou et



al. [18], Techavipoo et al. [26] y Towa et al. [27] el coeficiente de atenuación presenta una dependencia en temperatura en el caso de los tejidos biológicos. En los resultados de [18] se reporta un comportamiento casi lineal del coeficiente de atenuación del ultrasonido a temperaturas menores a los 50 °C y una variación ascendente entre los 50 °C y los 65 °C de entre 0,239 y 0,291  $Np/(m MHz °C)$  para tejidos suaves provenientes de perro.

Los cambios en la atenuación del ultrasonido son más notorias cuando se trabaja a temperaturas mayores de 50 °C, incluso se ha reportado que en algunas ocasiones el coeficiente de atenuación permanece en el último valor medido lo cual podría ser asociado a una afectación de la composición del tejido; esto podría ser útil para la monitorización de lesiones en los tejidos producidas por tratamientos de ablación [18] o en el diagnóstico de enfermedades en las cuales los cambios en la composición generan cambios notorios en la atenuación [89,90].

Del mismo modo que en la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido, una de las principales fuentes de error cuando se realizan mediciones de atenuación en materiales semisólidos como los tejidos biológicos es la medición del espesor de la muestra [91].

### 3.1.3. Energía de Retrodispersión

La energía de retrodispersión es aquella parte de la energía emitida por un transductor ultrasónico que regresa hacia el mismo cuando este actúa como un transeptor, es decir, que funciona como emisor y receptor. Una vez que el ultrasonido interactúa con el material biológico a interrogar los ecos generados regresan al transductor para ser visualizados en un osciloscopio. De acuerdo con Arthur *et al.* [15, 92] la energía de retrodispersión cambia con la temperatura debido a los cambios en la velocidad de propagación de los materiales; esto se traduciría en cambios en la impedancia acústica y por consiguiente en la energía reflejada. Según lo anterior una aproximación de los cambios en la energía de



retrodispersión con respecto a una temperatura de referencia estarían dados por:

$$CBE(T) = \frac{\alpha(T_R) n(T) [1 - e^{-2\alpha(T)x}]}{\alpha(T) n(T_R) [1 - e^{-2\alpha(T_R)x}]}, \quad (3.1)$$

donde  $\alpha(T)$  es el coeficiente de atenuación ultrasónica y  $n(T)$  es el coeficiente de retrodispersión. Sin embargo, existen pocos valores reportados del coeficiente de retrodispersión en materiales biológicos.

## 3.2. Medición de Propiedades Acústicas en Tejidos Biológicos

Como se ha venido mencionando, la medición de propiedades acústicas de tejidos biológicos es una tarea complicada; la conservación de la muestra, su transportación e incluso la manipulación son factores que dificultan la tarea. Debido a la naturaleza semisólida de las muestras biológicas, los métodos tradicionales no son la mejor opción para caracterizarlos. A continuación se describen los principales métodos empleados para la de medición de la velocidad de propagación y la atenuación del ultrasonido.

### 3.2.1. Velocidad de Propagación del Ultrasonido

La velocidad del ultrasonido puede ser medida por métodos directos o indirectos, el primero obtiene el valor de la velocidad del material en cuestión mientras que el segundo requiere de un material de referencia para hacer la medición. El cálculo de la velocidad de propagación en un medio requiere básicamente dos parámetros como son la distancia recorrida por el ultrasonido en la muestra a estudiar y el tiempo que se requirió para cubrir dicha distancia. Existen dos configuraciones básicas para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido: i) transmisión completa o a través (*Through Transmission*) y ii) Pulso - eco (*Pulse - Echo*).



Ambas técnicas pueden utilizarse para realizar mediciones directas o indirectas. En el caso de la técnica de transmisión completa se requieren dos transductores alineados, uno de ellos como emisor y el otro como receptor. El emisor envía un pulso ultrasónico a través de la muestra y se contabiliza el tiempo que le toma al ultrasonido llegar al receptor; este tiempo es comúnmente llamado tiempo de vuelo o TOF por sus siglas en inglés. En el caso de muestras líquidas la distancia que recorre el ultrasonido será la que existe entre transductores y para los sólidos esta distancia será el espesor de la muestra. Existen casos en los que no es posible contabilizar el TOF de manera precisa porque no se tiene idea de los retardos provocados por el equipo de excitación y registro, en estos casos es necesario realizar una medición indirecta, la principal diferencia entre esta técnica y la anterior es que se debe tomar una señal inicial en un material de referencia como puede ser agua (o otro material con un comportamiento bien definido) y posteriormente insertar entre los transductores la muestra a estudiar. El cálculo de la velocidad de propagación se puede realizar empleando la ecuación 3.2.

$$c_s = \frac{c_0}{1 + \frac{c_0}{\Delta x} (t_s - t_0)} \quad (3.2)$$

donde  $c_s$  es la velocidad de propagación del ultrasonido en la muestra estudiada,  $c_0$  es la velocidad de propagación en el material de referencia,  $t_0$  y  $t_s$  son los tiempos de vuelo sin muestra y con muestra respectivamente, y  $\Delta x$  es el espesor de la muestra [93].

Para realizar la medición por medio de la técnica pulso - eco solamente se requiere de un transductor trabajando como transceptor, es decir, como emisor y receptor. El transceptor envía un pulso ultrasónico que interactúa con la muestra; la interacción muestra - ultrasonido genera ecos debido a los cambios de interfaces o reflectores en el camino del haz ultrasónico. Por ejemplo, en el caso de muestras sólidas, la velocidad de propagación es calculada empleando el tiempo de vuelo que se obtiene a partir de la diferencia en tiempo de los ecos producidos por los cambios de interface a la entrada y salida del ultrasonido en el medio (líquido-muestra y muestra-líquido), y el espesor de la muestra. Cuando se tienen muestras líquidas, es necesario agregar al sistema de medición un reflector que produzca





un cambio de impedancia para que se generen los ecos necesarios para la medición. El reflector es colocado en una posición inicial para almacenar la señal inicial que muestra el eco resultante, posteriormente, el reflector es desplazado una distancia conocida para almacenar una segunda señal con el eco generado por el mismo reflector pero en diferente posición espacial. La velocidad de propagación del ultrasonido es obtenida con la diferencia en distancia entre la posición inicial y final, y con el tiempo de vuelo existente entre los dos ecos. La ecuación 3.3 es empleada para el cálculo de la velocidad de propagación cuando se usa la técnica pulso - eco. Es importante hacer notar que en esta configuración la distancia debe ser el doble debido a que el ultrasonido viaja dos veces por el mismo camino (ida y vuelta).

$$c_s = \frac{2d}{t}, \quad (3.3)$$

donde  $c_s$  es la velocidad de propagación del ultrasonido en la muestra,  $d$  puede ser el espesor de la muestra (sólidos) o la distancia entre la posiciones inicial y final del reflector (líquidos), y  $t$  es el tiempo de vuelo entre los ecos de interés.

La técnica pulso - eco ha sido empleada para la medición de la velocidad de propagación del sonido en líquidos a diferentes presiones y temperaturas [85,94], sin embargo, debido a las características del equipo de medición no es posible su uso cuando se requiere la caracterización de muestras biológicas. He y Zheng [95] propusieron una combinación de ambas técnicas (Transmisión completa y pulso - eco) como una opción para medir la velocidad de propagación del sonido y el espesor de sustitutos de tejido (*phantoms*). En esta técnica es necesario monitorizar diversas señales y además se requiere una etapa de postprocesamiento, así como el conocimiento previo de la velocidad del sonido en agua; esto significaría mayor tiempo de medición y por consecuencia la descomposición de las muestras biológicas. Tanto en las técnicas tradicionales como en las propuestas más recientes, la principal desventaja es la medición del espesor de las muestras biológicas semisólidas; ésta se vuelve una tarea aún mas complicada cuando se requiere tomar en cuenta los efectos de la temperatura. Al calentar la muestra, ésta sufre cambios en sus



dimensiones debido a la expansión térmica y entonces sería necesario y entonces sería necesario incluir un sistema que esté midiendo el continuamente el espesor. Estos efectos podrían compensarse si se conocieran los coeficientes de expansión de la muestra o si se realizara una medición que anulara o minimizara estos efectos; el conocimiento de los coeficientes de expansión térmica se vuelve complicado debido a las diferencias propias de cada individuo de un especie. En esta tesis se describe un sistema de medición de velocidad de propagación del ultrasonido que puede ser utilizado en tejidos biológicos suaves y en muestras líquidas; el diseño de este sistema fue pensado para disminuir los tiempos de medición así como los efectos de la expansión térmica de las muestras cuando éstas se someten a calentamiento.

### 3.2.2. Atenuación del Ultrasonido

La técnica de medición que se usa normalmente para la atenuación del ultrasonido es la llamada técnica de inserción. La medición de la atenuación del ultrasonido por la técnica de inserción consiste en tomar una señal de referencia cuando en el camino entre emisor y receptor hay solamente agua,  $r(t)$ , y posteriormente insertar la muestra que se va a medir para tomar una segunda señal,  $g(t)$ , que contiene la información de la atenuación. Utilizando los espectros de frecuencia de ambas señales y asumiendo que la aportación de la atenuación del ultrasonido en agua es despreciable cuando recorre distancias cortas se tiene que [96]:

$$G(\omega) = R(\omega) T_1 T_2 e^{-\alpha(\omega)x}, \quad (3.4)$$

donde  $R(\omega)$  y  $G(\omega)$  son los espectros de potencia de las señales  $r(t)$  y  $t(t)$  respectivamente;  $T_1$  y  $T_2$  son los coeficientes de transmisión en las interfaces de entrada y salida;  $x$  es el espesor de la muestras y  $\alpha(\omega)$  es la función de atenuación en el dominio de la



frecuencia. Aplicando logaritmo a ambos lados de la ecuación 3.4 se obtiene,

$$\frac{1}{x} [\ln R(\omega) - \ln G_0(\omega)] = \frac{1}{x} \ln \left( \frac{1}{T_1 T_2} \right) + \alpha_0 \omega^y \quad (3.5)$$

Si se ajusta la curva resultante de la parte izquierda de la ecuación 3.5 a la forma,

$$\alpha_a(f) = b_0 + \beta f^y \quad (3.6)$$

Podemos obtener la función de atenuación del material en el dominio de la frecuencia. El intervalo cubierto dependerá de la frecuencia central y el ancho de banda de los transductores empleados en la medición. De acuerdo con J. C. Bamber [91], la técnica de inserción requiere mínimas correcciones por difracción y alineación de los transductores. Tomando en consideración lo anterior, se reporta una exactitud de  $\pm 10\%$  usando esta técnica para medir atenuación. También menciona que los errores de medición con esta técnica pueden reducirse haciendo múltiples mediciones del mismo material pero variando el espesor de la muestra, sin embargo, como se ha venido mencionando la variabilidad entre especies e incluso entre secciones del mismo tejido dificulta este tipo de mediciones en tejidos biológicos.

### 3.3. Modelado de Terapia Térmica

Como se había mencionado anteriormente, la terapia térmica puede ser aplicada por medios externos, intersticiales e intracavitarios [5]. El HIFU es un método para la aplicación extracorpórea de esta terapia [97, 98]. Las distribuciones de temperatura inducidas por los transductores HIFU en tejidos biológicos ha sido motivo de múltiples estudios. Por un lado, Hynynen *et al.* [82] estudiaron los efectos de la tasa de perfusión sanguínea en la distribución de temperatura generada por un transductor focalizado cuando se radia *in vivo* un riñón de perro; los resultados obtenidos fueron comparados con un modelo que emplea la ecuación de bioalentamiento para describir la transferencia de calor. Encontraron que



las diferencias en las temperaturas alcanzadas son significativas cuando no se toman en cuenta los efectos de la perfusión sanguínea en los modelos y concluyeron que este tipo de simulaciones deben ser tomadas en cuenta para la optimización del diseño de sistemas de calentamiento, planeación de tratamientos y la evaluación de las temperaturas alcanzadas en la zona de tratamiento. Por otro lado, Davies *et al.* [83] utilizaron la simulación para la evaluación de un sistema robótico que emplea HIFU como una herramienta de neurocirugía; el objetivo principal del equipo es la destrucción de lesiones subcorticales utilizando ultrasonido focalizado de alta intensidad. Durante su trabajo obtuvieron el campo acústico generado por un arreglo de múltiples transductores focalizados mecánicamente; como trabajo a futuro se propone agregar a las simulaciones otras características como la atenuación, la propagación no lineal e incluso los efectos de los dispersores propios de cada tejido biológico. Con la evolución de la informática los modelos se han ido complementando al agregar diversas características que ayudan a realizar simulaciones cada vez más cercanas a la realidad. Recientemente se han estudiado los efectos que tienen tanto en el campo acústico de los transductores como en las distribuciones de temperatura logradas: la propagación no lineal [99], la refracción [100], las variaciones del espesor de las muestras [100] cuando son calentadas y las variaciones de la velocidad de propagación del ultrasonido [100, 101]. Hallaj *et al.* utilizó los resultados obtenidos por Bamber y Hill [16] de la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación en tejidos biológicos para estudiar los efectos termoacústicos en un modelo que incluye dos capas de tejido que son calentados por un transductor HIFU; en sus resultados encontraron que el tamaño y posición del foco del transductor puede verse afectado debido a las variaciones de la velocidad de propagación cuando cambia la temperatura.

Los programas de simulación pueden llegar a ser una herramienta muy importante en la planeación de terapias de hipertermia y ablación debido a que con la tecnología de hoy en día es posible llevar la anatomía del paciente por medio de los equipos de imagenología ya sea por tomografía computarizada o resonancia magnética. Con la anatomía del paciente en los modelos se puede hacer una planificación personalizada de las terapias, sin embargo, también es necesario incluir la mayor cantidad de variables en el modelo para que los resultados de la simulación sean lo más cercanos posible a la realidad.

---

### Planteamiento del Problema

---

#### 4.1. Definición del Problema

De acuerdo con el INEGI (México) y con la OMS, el cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial y se espera que para 2030 la cantidad de personas afectadas por este mal supere los 13 millones [1]. Si bien es cierto que la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia han sido empleados para curar la enfermedad o prolongar la vida de las personas, también es cierto que en algunos casos estos procedimientos son invasivos y provocan efectos secundarios que afectan la calidad de vida de los pacientes. Si bien los estudios sobre hipertermia datan de los años 20, no fue sino hasta 1984 que la FDA aprobó la hipertermia como un tratamiento para combatir el cáncer [102]. La hipertermia ha sido un tema de interés entre diversos grupos de investigación que buscan herramientas para combatir el cáncer debido a que puede ser aplicada de forma no invasiva y empleando energía no ionizante; además, la capacidad de los equipos aplicadores para focalizar la energía, la hacen ideal para tratar tumores afectando mínimamente los tejidos



circundantes.

La capacidad de producir transductores piezoeléctricos de casi cualquier forma y las bondades de la energía no ionizante del ultrasonido han hecho que este tipo de energía sea el centro de múltiples investigaciones encaminadas a producir equipos de hipertermia usando ultrasonido, sin embargo, la falta de retroalimentación sobre las temperaturas alcanzadas en la zona de tratamiento ha evitado que los sistemas de hipertermia sean completamente aceptados [49]. Hoy en día, la medición de la temperatura durante los tratamientos de hipertermia se realiza de forma invasiva con termistores o termopares de calibres menores a 1 mm; sin embargo, estos dispositivos podrían provocar diseminación de las células cancerígenas si no son manipulados correctamente [56]. Además, la medición de temperatura con estos sensores es de forma puntual, es decir, solamente registran los valores de temperatura en el lugar en que se encuentran insertados. Es necesario que los sistemas de hipertermia cuenten con un sistema no invasivo de medición de temperatura que permita obtener una imagen de la distribución de temperatura alcanzada en la zona de tratamiento para darle seguimiento y evitar puntos calientes fuera de la región de interés. Una vez resuelto el tema de la medición de temperatura, la hipertermia será una de las herramientas principales contra el cáncer a nivel mundial.

Por otro lado, la mejora de la focalización de la energía aplicada por los sistemas no invasivos de hipertermia es de vital importancia para tratar regiones cancerígenas con dimensiones menores a 1 cm sin la necesidad de realizar incisiones al paciente. Los aplicadores ultrasónicos y electromagnéticos han demostrado ser una opción viable para la concentración de la energía dentro del cuerpo humano. La focalización de la energía se puede lograr mediante la modificación de la geometría de los aplicadores o empleando múltiples aplicadores de forma sincronizada para concentrar la energía en un punto de interés. La focalización permitirá una mejor definición de la zona de tratamiento y por lo tanto una mayor eficiencia en la energía aplicada.

Aunque se ha demostrado que la hipertermia es una herramienta útil para combatir el cáncer por medio de la sensibilización de las células cancerígenas, aún faltan por resolver aspectos de los sistemas de aplicación como la estimación no invasiva de la temperatura



y la focalización de la energía. Las propuestas recientes de estimación no invasiva de la temperatura complementarán los sistemas de hipertermia existentes e impulsarán el uso de este tipo de tratamientos térmicos. De igual forma, una mejor definición espacial de la zona de calentamiento así como la optimización de la energía aplicada significarían mejoras al tratamiento y una menor afectación a los tejidos circundantes a la zona de interés. Sin lugar a dudas, la hipertermia es una técnica que ha probado su valía y tiene la posibilidad de beneficiar a miles de pacientes una vez que se hayan mejorado los equipos de aplicación.

## 4.2. Justificación

La hipertermia en general es una herramienta prometedora para combatir el cáncer; el uso del ultrasonido agrega a esta técnica las posibilidades de focalizar la energía en un punto determinado y de realizar la terapia por medios no invasivos. Existen algunos equipos comerciales con los cuales se está aplicando la ablación térmica [103–106], sin embargo, aún hace falta un equipo de monitorización de temperatura para aplicar la hipertermia de forma segura. Las propuestas de estimación no invasiva de la temperatura que emplean ultrasonido requieren del previo conocimiento de las propiedades acústicas. En México son pocas las instituciones que realizan investigación al respecto, en el Cinvestav - IPN por medio del grupo LAREMUS se ha estado trabajando con las técnicas de estimación de temperatura usando ultrasonido [65, 107] en *phantoms* con resultados prometedores. Con la idea de llevar estas técnicas a la práctica surgió la necesidad de contar con una base de datos propia en la cual se encontraran propiedades acústicas con su dependencia en temperatura de tejidos biológicos en el intervalo de la hipertermia. Si bien existen datos al respecto en la literatura [16, 91, 108], es necesario conocer las condiciones en las que se trabajaron las muestras, la obtención de las señales y el procesamiento de las mismas. Además, estas las curvas de las propiedades termodependientes también pueden ser usadas en modelos dedicados a estudiar los efectos que se presentan en los tejidos biológicos durante la aplicación de tratamientos de hipertermia y ablación. Se espera que



esta base de datos ayude en el desarrollo de las técnicas para la estimación no invasiva de la temperatura y que además sienta las bases de un modelo que ayude a la planeación de tratamientos de ablación e hipertermia *in vivo*. Por otra parte, se plantean la posibilidad de comenzar con el estudio de los transductores multielemento, este tipo de transductores podrían ser focalizados por medio de retardos temporales con la ventaja de provocar menor calentamiento y daño a los tejidos circundantes a la zona de tratamiento.

### 4.3. Objetivo General

Evaluar los efectos que tiene la dependencia térmica de las propiedades acústicas (velocidad de propagación y absorción acústica) de los tejidos biológicos en el campo acústico y la distribución de temperatura generada por un transductor ultrasónico focalizado durante la aplicación no invasiva de hipertermia.

### 4.4. Objetivos Parciales

- *Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Función de la Temperatura en Tejidos Biológicos*
  - Proponer un sistema de medición de la velocidad de propagación del ultrasonido capaz de evitar o minimizar los efectos de expansión térmica durante las mediciones a diferentes temperaturas.
  - Caracterizar y validar el sistema de medición obteniendo la dependencia térmica de la velocidad de propagación del ultrasonido en materiales de referencia como agua y aceite de ricino.
  - Realizar mediciones de la termodependencia de la velocidad de propagación del ultrasonido en simuladores de tejidos biológicos.
  - Realizar la medición de la termodependencia de la velocidad de propagación del ultrasonido en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C en tejidos





biológicos de cerdo.

■ ***Medición de la Atenuación del Ultrasonido en Función de la Temperatura***

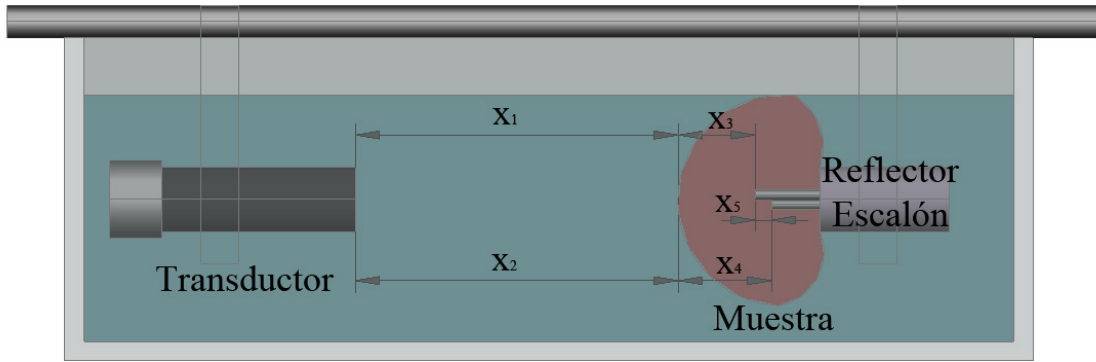
- Proponer un sistema de medición de la atenuación del ultrasonido que anule los errores debidos a la medición del espesor de las muestras biológicas.
- Verificar la técnica de medición obteniendo la termodependencia de la atenuación del ultrasonido en *phantoms* de tejido biológico suave.
- Medir la termodependencia de la atenuación del ultrasonido en tejidos biológicos en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C.

■ ***Generación de un Modelo para la Evaluación de la Terapia Térmica: Hipertermia y Ablación***

- Elaborar un modelo resuelto por el método de elementos finitos que incluya la propagación del ultrasonido y la interacción entre materiales contiguos con distintos valores de impedancia acústica.
- Obtener, por medio de la simulación, el campo acústico de un transductor tradicional y compararlo con el campo producido por un arreglo de anillos piezoeléctricos focalizados.
- Agregar al modelo de propagación acústica la ecuación de biocalentamiento para lograr simular la interrelación entre acústica y calentamiento de tejidos biológicos.
- Analizar los efectos de las propiedades ultrasónicas termodependientes en el campo acústico del transductor focalizado así como las distribuciones de temperatura generadas por este último en un modelo multicapa de tejidos biológicos empleando la ecuación de biocalentamiento.

#### 5.1. Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos

El método de medición de la velocidad de propagación del ultrasonido propuesto incluye una adaptación de lo que Papadakis *et al.* [109] nombraron *step-reflector*. El *step-reflector* o reflector tipo escalón propuesto en esta tesis incluye dos agujas metálicas con una distancia fija de separación entre sus puntas; las agujas son insertadas en una base para evitar cambios en la distancia entre agujas. La distancia entre las puntas de las agujas reflectoras debe ser suficiente para permitir que en las señales se distingan los dos ecos generados sin la presencia de solapamientos, ver figura 5.1. La distancia entre las puntas puede ser una fuente de error y es por ello que esta separación se debe medir cuidadosamente.



**Figura 5.1:** Diagrama del Sistema para la Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido.

### 5.1.1. Funcionamiento del Sistema de Medición

Partiendo del esquema que se presenta en la figura 5.1 tenemos que la velocidad de propagación del ultrasonido es diferente para el agua y la muestra. Entonces, el tiempo de vuelo que le toma al ultrasonido viajar ida y vuelta a través de los dos materiales es

$$t_1 = 2x_2/c_w + 2x_4/c_s, \quad (5.1)$$

para la punta más lejana, y

$$t_2 = 2x_1/c_w + 2x_3/c_s, \quad (5.2)$$

para la más cercana. Entonces, el tiempo de vuelo que le toma al ultrasonido cubrir la distancia entre las dos puntas de los reflectores es:

$$t_3 = t_1 - t_2. \quad (5.3)$$

Si la región donde el pulso ultrasónico cambia de interface (agua - muestra y muestra - agua) se puede considerar la misma para ambos ecos producidos por las puntas



reflectoras, *i.e.*  $x_1 = x_2$ , entonces

$$t_3 = 2(x_4 - x_3)/c_s = 2(x_5)/c_s. \quad (5.4)$$

Cuando en la medición se requiere de la dependencia en temperatura, es necesario calentar la muestra y, por lo tanto, ésta presentará cambios en sus dimensiones como consecuencia de la expansión térmica. Si se incluye este efecto en la ecuación 5.4, tenemos

$$t_3 = \frac{((x_3 + \Delta x_3) - (x_4 + \Delta x_4))}{c_s}, \quad (5.5)$$

donde  $\Delta x_3$  y  $\Delta x_4$  son las variaciones debidas a la expansión térmica de las distancias  $x_3$  y  $x_4$  respectivamente. Si el efecto de expansión térmica en ambas distancias ocurre en la misma dirección y produce la misma variación en distancia entonces,  $\Delta x_3 = \Delta x_4$  y la ecuación 5.5 vuelve a la ecuación 5.4. De aquí que, los efectos de expansión térmica cuando se realiza la caracterización en función de la temperatura, no tenga un impacto significativo en la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido usando el sistema de medición propuesto. Entonces la velocidad de propagación en el medio puede ser medida mediante la ecuación 5.6

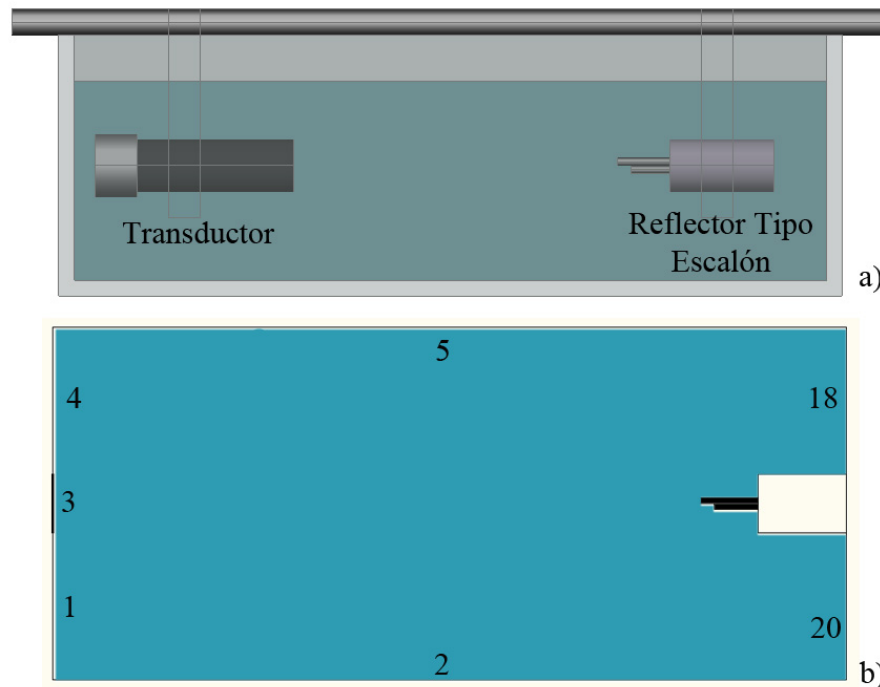
$$c_s = \frac{2(x_5)}{t_3}, \quad (5.6)$$

donde  $c_s$  es la velocidad de propagación del ultrasonido en la muestra,  $x_5$  es la distancia entre las puntas de los reflectores, y  $t_3$  es el tiempo de vuelo entre los ecos producidos por las puntas de los reflectores.



### 5.1.2. Verificación del Sistema Mediante el Método de Elementos Finitos

Antes de construir el dispositivo propuesto para la medición de la velocidad de propagación, su funcionamiento fue evaluado mediante el método de elementos finitos. Este método puede ser utilizado para simular la propagación del ultrasonido en diferentes medios así como la interacción de las ondas con los materiales; en este caso con el reflector tipo escalón. La figura 5.2 muestra una vista lateral en 2D del problema a resolver; éste consiste en un transductor ultrasónico y el reflector tipo escalón previamente descrito alineados. La onda ultrasónica que produce el transductor interactúa con el reflector colocado en el camino del haz y los ecos producidos por la diferencia de impedancias acústicas entre el agua o la muestra biológica y los reflectores metálicos son recibidos por el mismo transductor para ser almacenados y procesados posteriormente.



**Figura 5.2:** Diagrama 2D del Sistema para la Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido. a) Vista lateral del sistema propuesto para la medición (sin muestra). b) Geometría empleada en el modelo por elementos finitos.

La geometría del modelo consiste de las mismas partes: un transductor y el reflec-



**Tabla 5.1:** Velocidad de propagación del ultrasonido y densidad de los materiales usados en el modelo para evaluar el sistema para la medición de la velocidad.

Medio	Velocidad de Propagación [ $m/s$ ]	Densidad [ $kg/m^3$ ]
Agua	1480 - 1580	1000
Acero	5100	7850
Nylon	2600	1150

tor tipo escalón alineado con respecto al centro del transductor. El pulso ultrasónico se introduce en el modelo mediante una ecuación que describa un pulso en la frontera 3. Las fronteras 1, 2, 4, 5, 18 y 20 se definen con la impedancia acústica del agua para minimizar las interferencias por reflexiones en los bordes del modelo. El resto de los materiales usados en la simulación fueron acero para el reflector tipo escalón y nylon para la base donde se fijan las agujas reflectoras; como se mencionó anteriormente, se busca que con la gran diferencia en impedancias acústicas entre agua o tejidos biológicos suaves ( $1.480 \times 10^6 \text{Ns/m}^3$ ) y acero ( $40.035 \times 10^6 \text{Ns/m}^3$ ) se produzcan ecos de mayor amplitud. El resto de las propiedades usadas en el modelo se muestran en la tabla 5.1.

El modelo fue resuelto en estado transitorio debido a que se están buscando señales ultrasónicas dependientes del tiempo en las cuales se pueda calcular el tiempo de vuelo que existe entre los ecos generados por las puntas del reflector tipo escalón. El análisis transitorio se realizó con una resolución de  $10 \text{ ns}$ , que corresponde a una frecuencia de muestreo de  $100 \text{ MS/s}$ . El tiempo de simulación fue de 0 a  $30 \text{ }\mu\text{s}$ ; este tiempo es suficiente para que el pulso viaje a través del medio y regrese al transductor. El mallado del modelo se realizó de acuerdo con lo sugerido por Ke y Chaki [110] de tener al menos 4 elementos por longitud de onda, lo cual está relacionado con la máxima frecuencia de la onda que se desea simular. Las soluciones de este modelo fueron obtenidas usando una estación de trabajo Dell Precision T7400 con un procesador Intel Xeon a  $3.00 \text{ GHz}$  y  $64.0 \text{ GB}$  en RAM.

El transductor ultrasónico simulado en la frontera tres, fue simplificado a un pistón dentro de un baffle rígido que describe la forma de un pulso ultrasónico. Shankar [111] empleó la ecuación 5.7 para simular un pulso ultrasónico dentro de un modelo dedicado



a simular señales de retrodispersión del ultrasonido provenientes de tejidos biológicos.

$$P(t) = -te^{-4B^2t^2} \text{sen}(2\pi f_0 t), \quad (5.7)$$

donde  $B$  es el ancho de banda del pulso, y  $f_0$  es la frecuencia central del transductor. Por otra parte, Ke y Chai [110], en su estudio sobre ondas longitudinales críticamente refractadas, propusieron la ecuación 5.8 para generar un pulso ultrasónico que se propaga dentro de un medio sólido en el cual se presentan las ondas longitudinales, transversales y las llamadas *head waves* u ondas de borde.

$$f(t) = \frac{2}{\alpha\sqrt{\pi}} e^{-\frac{(t-t_0)^2}{2\alpha^2} \omega_c^2} e^{-i\omega_c t}, \quad (5.8)$$

donde  $\alpha$  controla el ancho del pulso,  $t_0$  es el tiempo de retardo del pulso, y  $\omega_c$  es la frecuencia angular central del pulso;  $\omega_c = 2\pi f_c$ . Debido a la similitud entre los ecos simulados con la ecuación 5.8 y los resultantes de los transductores existentes en LAREMUS, se decidió usar esta última para simular el pulso que se propaga el modelo de propagación del ultrasonido.

Se desarrollaron tres tipos de pruebas con el modelo por elementos finitos con la finalidad de comprobar el funcionamiento del sistema propuesto para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido. La primer prueba consistió en variar la distancia entre las puntas desde 1.0 mm hasta 3.0 mm en incrementos de 0.5 mm para analizar la interacción ultrasonido - reflectores en un medio de propagación uniforme, de igual forma se modificaron las frecuencias del pistón. La velocidad del medio uniforme se fijó en 1540 m/s que es la velocidad promedio de los tejidos biológicos suaves a 37 °C. La velocidad de propagación del ultrasonido fue obtenida empleando la ecuación 5.6 y a partir de las señales resultantes de la simulación donde se contenían ambos ecos generados por la forma del reflector tipo escalón; la distancia empleada en la ecuación usa las distancias predefinidas entre las puntas de los reflectores. La segunda prueba consistió en la variación de la velocidad de propagación del medio homogéneo mientras se dejaban fijos los valores



**Tabla 5.2:** Pruebas realizadas con en el modelo del sistema para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido.

Prueba	VARIABLES	Intervalos
Prueba 1	Distancia entre Puntas Frecuencia	1.0 mm a 3.0 mm (0.5 mm) 1 MHz, 2 MHz, 3.5 MHz
Prueba 2	Velocidad del Medio	1480 <i>m/s</i> a 1600 <i>m/s</i> (20 <i>m/s</i> )
Prueba 3	Velocidad del Medio Adicional	1500 <i>m/s</i> a 2500 <i>m/s</i> (500 <i>m/s</i> )

de distancia entre reflectores y la frecuencia del transductor; las variaciones de velocidad se hicieron desde 1480 *m/s* hasta 1600 *m/s* en incrementos de 20 *m/s*. Finalmente, la última prueba consistió en la adición de otro medio con velocidad diferente, el reflector tipo escalón es colocado dentro de este nuevo medio con la finalidad de obtener su velocidad de propagación; la velocidad de este nuevo medio fue variada desde 1500 *m/s* hasta 2500 *m/s* en incrementos de 500 *m/s*. El resumen de las pruebas de puede ver en la tabla 5.2.

### 5.1.3. Medición de la Distancia entre las Puntas del Reflector Tipo Escalón

Basados en los resultados de la simulación, se decidió construir el reflector tipo escalón con dos cilindros de acero inoxidable de 1 mm de diámetro, ambos fueron insertados en una base de Nylamid de 1.5 cm de diámetro para sujetarlos y evitar variaciones en la distancia entre las puntas; las caras de los cilindros fueron lijadas tratando de asegurar superficies planas que no produjeran dispersión del ultrasonido. La distancia que se existe entre las puntas de los reflectores puede ser una fuente importante de errores al calcular la velocidad de propagación y es por ello que una vez construido el dispositivo se procedió a medir esta distancia.

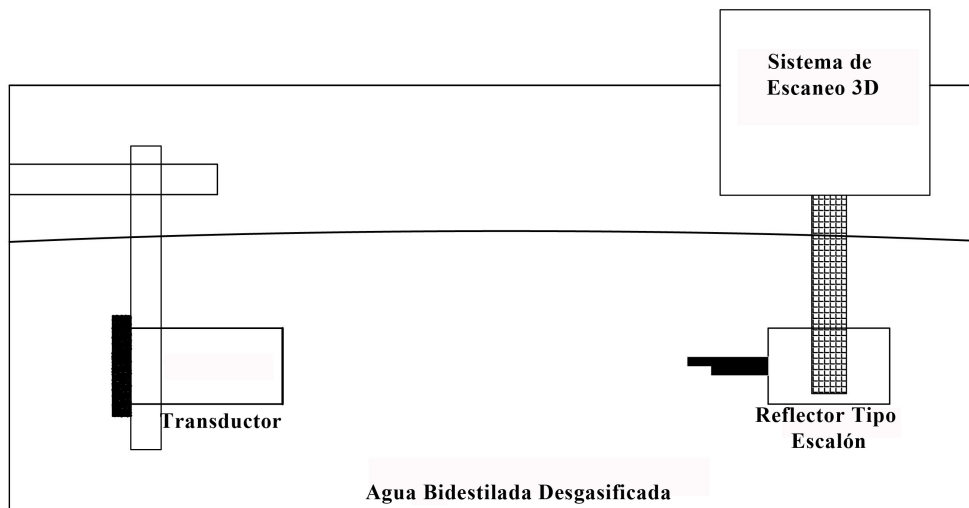
Se emplearon para la medición un transductor ultrasónico de inmersión (Panametrics-NDT, No. 531782 a 3.5 MHz), un amplificador (SEA Corporation, Mod. A17dB), y un sistema de escaneo automático en 3D controlado por motores a pasos con una resolución de movimiento de 6.37  $\mu\text{m}$  por cada paso. La medición de la distancia se lleva a cabo dentro de un tanque con agua bidestilada y desgasificada; un punto importante para la





medición es que la temperatura del agua durante todo el experimento debe ser la misma con el fin de evitar cambios en la velocidad de propagación del ultrasonido en agua. En este caso el experimento se desarrolló a temperatura ambiente con una duración no mayor a 15 min, la temperatura fue de 19.3 °C.

En primer lugar, el transductor es fijado mediante un brazo metálico en un extremo del tanque y el reflector tipo escalón se coloca en la barra que es controlada por el sistema de escaneo; para asegurar un campo uniforme y con un comportamiento predecible [112], se llevó el reflector más allá del foco del transductor. El transductor es excitado mediante un *pulser* y se envía una onda que choca con el reflector tipo escalón. En esta posición inicial se toma una señal ultrasónica,  $S_0$ , que contenga los ecos generados por las puntas del reflector. Posteriormente, mediante el sistema de escaneo se mueve el reflector 5 mm (alejándose de la cara del transductor) y se almacena una segunda señal,  $S_1$ , de igual forma que la anterior, ver figura 5.3.



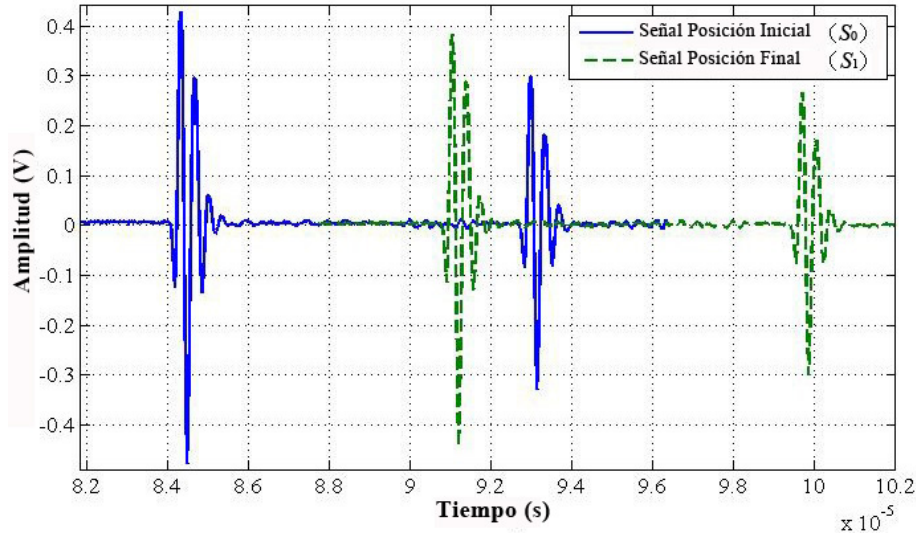
**Figura 5.3:** Esquema del Montaje Empleado en la Medición de la Distancia entre las Puntas del Reflector Tipo Escalón.

Las señales almacenadas ( $S_0$  y  $S_1$ ) son procesadas empleando MATLAB para encontrar la separación entre las puntas. Primero se necesita encontrar la velocidad el agua en la que fueron obtenidas las señales; para esto se usa la distancia que se recorrió de la posición inicial a la final y la diferencia en tiempo que existe entre los primeros ecos de ambas señales, ver figura 5.4. El cálculo se puede realizar de igual forma con el segundo



eco de ambas señales. Entonces tenemos que la velocidad de propagación del ultrasonido en el agua usada en el experimento es:

$$c_w = \frac{2d_{01}}{t_{eS1eS0}}, \quad (5.9)$$



**Figura 5.4:** Señales Obtenidas para la Medición de la Distancia entre las Puntas del Reflector Tipo Escalón.

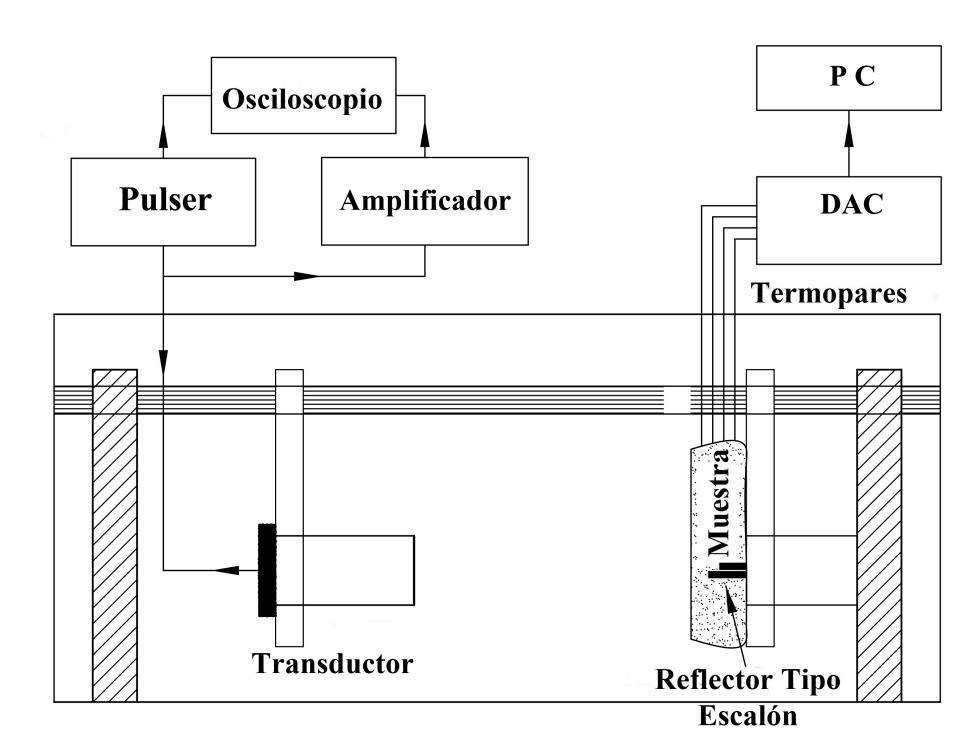
donde  $c_w$  es la velocidad de propagación del ultrasonido en el agua a la temperatura ambiente,  $d_{01}$  es la distancia que se recorrió desde la posición inicial hasta la final (5 mm), y  $t_{eS1eS0}$  es la diferencia en tiempo entre el primer eco de las señales. Una vez conocida esta velocidad, se puede encontrar la distancia entre las puntas del reflector tipo escalón usando  $c_w$  y el tiempo entre los dos ecos contenidos en cada una de las señales.

$$d_{r1r2} = \frac{t_{e1e2}c_w}{2}, \quad (5.10)$$

donde  $d_{r1r2}$  es la distancia entre las puntas de los reflectores y  $t_{e1e2}$  es la diferencia en tiempo existente entre los ecos producidos por los reflectores; una vez más puede emplearse cualquiera de las dos señales.

### 5.1.4. Descripción del Sistema Final para la Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido

El sistema de medición consta de un *pulser* desarrollado dentro de LAREMUS [113, 114] que mediante un pulso de alto voltaje (100 a 250 V) y corta duración ( $50 \text{ ns}$ ) excita al transductor empleado en la medición. La señal ultrasónica que se genera por el transductor viaja a través del agua y de la muestra hasta que se encuentra con el reflector tipo escalón y es reflejada; el reflector se encuentra dentro de la muestra. La señal resultante con los ecos generados por el reflector es acondicionada por un amplificador de ganancia variable para posteriormente ser enviada a un osciloscopio digital (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) donde las señales son almacenadas usando una frecuencia de muestreo de 10 GHz; las señales son procesadas posteriormente empleando MATLAB. En la figura 5.5 se puede observar un diagrama del sistema de medición.



**Figura 5.5:** Diagrama del Sistema Final para la Medición de la Velocidad del Ultrasonido Usando el Reflector Tipo Escalón.

Para obtener la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación en la muestra, las señales ultrasónicas fueron adquiridas mientras el material a caracterizar era



calentado dentro de un contenedor de acrílico inmerso en agua en un baño termostático (Techne, TU-20D Tempunit). El baño, con una resolución de 0.01 °C, era colocado a la temperatura deseada y la muestra era calentada por convección. El agua empleada en la medición fue previamente desgasificada para evitar artefactos por la presencia de burbujas. La temperatura dentro de la muestra fue monitorizada todo el tiempo usando 4 termopares tipo J insertados a los cuatro costados de la muestra donde no interfieren con el haz ultrasónico. Además, la temperatura del agua se verificó con un termómetro de mercurio con una resolución de 0.1 °C. El tiempo de espera entre dos mediciones consecutivas a diferentes temperaturas para asegurar que la temperatura fuera uniforme dependió de cada una de las muestras.

### **5.1.5. Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Materiales de Referencia usando el Reflector Tipo Escalón**

Una vez que el escalón tipo reflector se construyó y se midió la distancia entre las puntas, fue necesario realizar la caracterización del sistema mediante la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido en materiales de referencia [108]; estos materiales son llamados así porque sus propiedades ultrasónicas presentan un comportamiento bien definido. El agua está considerada como el principal material de referencia porque su velocidad de propagación [85–87] y atenuación [115] han sido estudiadas por diversos grupos y se encuentran bien definidas en condiciones de presión y temperatura controladas. Para realizar la caracterización del sistema propuesto en esta tesis se emplearon dos materiales: agua bidestilada desgasificada y aceite de ricino [20, 116]. En ambos casos se midió la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del ultrasonido en el intervalo de 25 °C a 50 °C con incrementos de 1 °C. Para la medición de la termodependencia de la velocidad de propagación en agua fue necesario esperar entre 60 y 90 s para la estabilización de la temperatura, mientras que para el aceite de ricino se requirieron entre 600 y 900 s para calentar la muestra hasta la temperatura deseada debido a que fue necesario colocarla dentro de un contenedor especial.

**Tabla 5.3:** Componentes de la solución salina empleada para la conservación de tejidos.

Componente	Cantidad
$NaCl$ (Cloruro de Sodio)	80.0 g
$KCl$ (Cloruro de Potasio)	2.0 g
$Na_2HPO_4$ (Fosfato Dibásico de Sodio)	14.4 g
$KH_2HPO_4$ (Fosfato Monobásico de Potasio)	2.4 g
$H_2O$	800 mL

### 5.1.6. Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Muestras Biológicas usando el Reflector Tipo Escalón

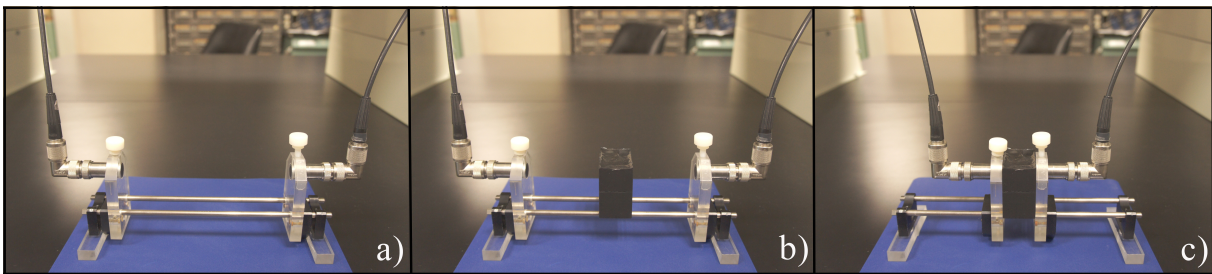
Una vez comprobada la exactitud del sistema de medición, se procedió a realizar la caracterización de muestras biológicas *in vitro* provenientes de cerdo. Se emplearon un total de 5 muestras por cada uno de los tejidos evaluados en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C con incrementos de 1 °C. El reflector tipo escalón fue insertado en las muestras biológicas de tal forma que se encontrara centrado con respecto a la cara del transductor, la temperatura dentro de las muestras fue monitorizada empleando 4 termopares tipo J. Todas las muestras fueron calentadas empleando el baño termostático; antes de realizar la adquisición de las señales, el sistema requería de entre 900 a 1200 s para lograr la estabilización de la temperatura en los 4 termopares.

Las muestras biológicas empleadas durante esta tesis fueron adquiridas directamente del rastro, aproximadamente 2 horas después del sacrificio de los animales. Con la finalidad de conservar los tejidos, éstos fueron almacenados a 4 °C dentro de solución salina con un pH de 7.4 la cual ayuda a retardar el proceso de descomposición; en la tabla 5.3 se pueden ver los componentes de la solución salina empleada [23]. La decisión de utilizar esta solución de conservación se hizo tomando en cuenta el estado en que se adquirieron las muestras y el costo de las soluciones más especializadas; no era necesario en este momento de la investigación un sistema de conservación tan sofisticado. La solución empleada tiene los componentes básicos necesarios para retardar la descomposición del tejido desde que es obtenido hasta que se comienza con la medición de las propiedades.

## 5.2. Medición de la Atenuación del Ultrasonido: Técnica de Inserción Modificada

Como se mencionó anteriormente, la técnica de inserción utiliza dos transductores para la medición de la atenuación. La señal de referencia se obtiene cuando entre el emisor y el receptor sólo hay agua; la segunda señal se obtiene cuando se coloca la muestra entre los transductores; en este caso, el pulso ultrasónico tiene que viajar por una porción de agua antes y después de la interacción con la muestra; es por ello que se tienen que agregar a la fórmula los coeficientes de transmisión  $T_1$  y  $T_2$ .

En este trabajo se propone fijar una distancia entre los transductores y tomar la segunda señal (con la muestra) sin que el pulso viaje por agua, es decir, que los cambios de interface de la técnica de inserción de entrada-salida sean transductor - tejido y tejido - transductor para evitar la medición del espesor de las muestras biológicas. Para fijar la distancia entre transductores se utilizó una barra de metal con un espesor conocido (12.7 mm) para separarlos y posteriormente insertar en ese espacio la muestra biológica, en la figura 5.6 se muestra como se realiza la medición de atenuación con la técnica de inserción original y con la modificación propuesta en este trabajo.



**Figura 5.6:** Ejemplo de la medición de la atenuación del ultrasonido por medio de la técnica de inserción. Configuración para tomar a) Señal de referencia, b) Señal con la información de atenuación de la muestra y c) Técnica de inserción modificada.

### 5.2.1. Descripción del Sistema de Medición de Atenuación

El sistema de medición de la atenuación cuenta con un pulser [113, 114] que excita al transductor emisor (PANAMETRICS - NDT-V383 No. 531782 @ 3.5 MHz) con un pul-



so eléctrico de 100 V a 250 V y 50 ns de duración. El pulso ultrasónico que contiene la información de la interacción con la muestra es recibido por el transductor receptor (PANAMETRICS - NDT-V383 No.299209 @ 3.5 MHz); la señal resultante es enviada a un osciloscopio digital (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) donde es almacenada a una frecuencia de muestreo de 5.0 GS/s para ser procesada posteriormente.

Todas las mediciones se realizaron con la misma configuración de transductores. La variación del rol de los transductores emisor y receptor no tendría consecuencias en las mediciones debido a que se realiza una medición relativa de la atenuación, i.e., lo que afecta a la señal de referencia también afecta a la señal cuando se inserta la muestra a evaluar. Los valores de atenuación obtenidos serán producto de la diferencia de amplitudes provocada por las características del material a estudiar. La alineación de los transductores se realizó por medio de un sistema de rieles de acero y soportes de acrílico, ver figura 5.6.

El arreglo de transductores y las muestras se encuentran sumergidos en agua bidestilada desgasificada; la temperatura del agua es controlada mediante un baño termostático (Techne, TU-20D Tempunit®) cuya resolución es de 0.1 °C. La temperatura del agua es monitorizada empleando un termómetro de mercurio con una resolución de 0.1 °C. En el caso de las muestras biológicas, la temperatura interior es registrada por cuatro termopares tipo J, con resolución de 0.01 °C, que son insertados en los bordes de la muestra de forma perpendicular a la dirección de propagación del ultrasonido, ver figura.

### 5.2.2. Medición de la Atenuación en *Phantom* de Grafito

Para comparar los resultados de las pruebas con los transductores pegados a la muestra y separados de ella (ver figura 5.6), se fabricó un *phantom* a base de agarosa, propanol y grafito [117]. El propanol junto con el agua bidestilada desgasificada afectan la velocidad de propagación del ultrasonido en el *phantom*; el grafito contribuye principalmente en la atenuación mientras que la agarosa sirve para solidificar la mezcla. En la tabla 5.4 se muestran las proporciones empleadas en la fabricación del *phantom* de grafito. Las dimensiones finales del *phantom* fueron 31.51 mm de ancho por 51.11 mm de largo y

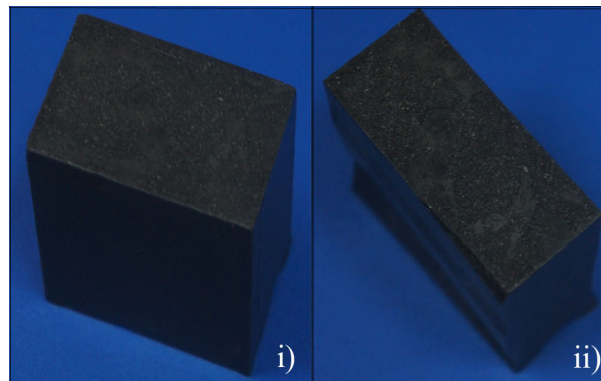


**Tabla 5.4:** Componentes del *phantom* a base de propanol, grafito y agarosa usado para comparar las técnicas de inserción original y modificada.

Componente	Porcentaje en Peso
Agua	88.2 %
Propanol	6.3 %
Agarosa	3.5 %
Grafito	2.0 %

50.15 mm de altura. La densidad fue de  $1057.72 \text{ kg/m}^3$  y se obtuvo una velocidad de propagación del ultrasonido de  $1591.27 \text{ m/s}$ .

Se realizó la medición de la atenuación en el phantom de grafito cuando tiene paredes planas y cuando las paredes tienen relieves irregulares, ver figura 5.7. Se presentan, en la sección de resultados, los valores de atenuación obtenidos utilizando la técnica de inserción y la variante propuesta. Las distancias transductor - muestra - transductor para la técnica original fueron de 60 mm en ambos casos. Antes de iniciar las mediciones el *phantom* se dejó sumergido por una hora en el baño termostático con el agua a temperatura ambiente; la temperatura del agua durante el proceso de medición fue de  $18.4 \text{ }^\circ\text{C}$ .



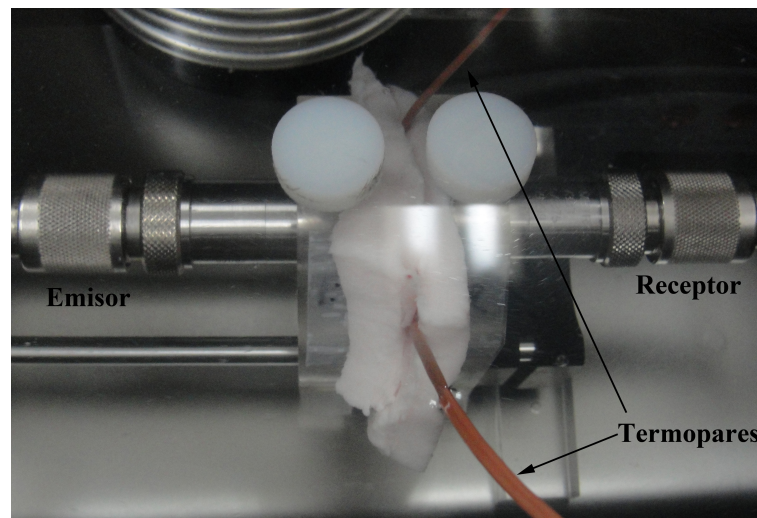
**Figura 5.7:** Phantom a base de etanol, agarosa y grafito. Se midió su atenuación cuando las paredes son i) paralelas y ii) irregulares.

El espesor de las muestras se midió con un Vernier y los resultados de la muestra fueron  $31.51 \text{ mm}$  con una desviación estándar de  $0.01 \text{ mm}$  cuando las paredes son planas y  $19.49 \text{ mm}$  con una desviación estándar de  $0.93 \text{ mm}$  cuando las paredes son irregulares; la distancia entre los transductores cuando se aprisiona entre ellos la muestra de paredes irregulares fue  $19.31 \text{ mm}$  con desviación estándar de  $0.01 \text{ mm}$ .



### 5.2.3. Medición de la Atenuación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos con la Técnica de Inserción Modificada

Una vez revisado el funcionamiento de la técnica de inserción modificada, se procedió a la medición en tejidos biológicos; de igual forma que en el caso de la velocidad de propagación se utilizaron tejidos frescos de cerdo. Parte importante de las pruebas *in vitro* es la conservación de los tejidos biológicos a estudiar. Las muestras fueron obtenidas directamente del matadero y almacenadas en solución salina 5.3 con un pH = 7.4 a 4.0 °C hasta que las pruebas iniciaron. En los materiales de tipo biológico, la medición sólo se puede realizar una vez debido a que con el aumento de temperatura y el tiempo fuera del organismo se presenta la desnaturalización de las células y el cambio de las propiedades en general; por este motivo, se decidió realizar y analizar los resultados de una muestra de cada tejido. Se cortaron rebanadas de 15 mm de espesor de cada una de las muestras biológicas y fueron colocadas en el espacio que existía entre los transductores, ver figura 5.8. El tiempo de estabilización de la temperatura entre cada incremento fue de entre 900 y 1200 s. Se consideró una temperatura uniforme cuando la diferencia entre los 4 termopares y la temperatura deseada estaba dentro de  $\pm 0.05$  °C. La temperatura del baño termostático se colocó 1.0 °C por encima de la temperatura deseada.



**Figura 5.8:** Fotografía del montaje utilizado en la medición de la atenuación del ultrasonido en tejidos biológicos suaves.



### 5.3. Simulación de Terapia Térmica por el Método de Elementos Finitos

Para realizar la simulación de la terapia térmica es necesario resolver un problema multifísica que combine la propagación ultrasónica con el calentamiento producido por este tipo de energía mecánica dentro de un tejido biológico. A continuación se presentan las condiciones tomadas en cuenta para el desarrollo del modelo a resolver por el método de elementos finitos. El modelo fue resuelto usando una estación de trabajo Dell Precision T7400 con un procesador Intel Xeon a 3.00 GHz y 64.0 GB en RAM.

La naturaleza del problema requiere de la obtención del campo acústico generado por un arreglo de anillos piezoeléctricos concéntricos focalizados así como del calor generado por este campo dentro de un tejido biológico. Para ello es necesario conocer las propiedades acústicas y térmicas del medio a simular. Las propiedades térmicas de los tejidos fueron tomadas de la literatura [118–120] mientras que las propiedades ultrasónicas son las que se midieron durante el desarrollo de esta tesis [23, 24, 121].

#### 5.3.1. Ecuaciones del Modelo

La ecuación que describe el comportamiento de una onda ultrasónica en un medio homogéneo sin pérdidas y sin la presencia de fuentes externas de ultrasonido está definida por

$$\nabla^2 p - \frac{1}{c_s^2(T)} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0, \quad (5.11)$$

donde  $\rho$  es la densidad del medio,  $c_s(T)$  es la velocidad de propagación en el medio a la temperatura  $T$  y  $p$  es la presión que se propaga a través del medio.

El calor que se produce por la interacción del ultrasonido con los tejidos biológicos depende tanto de la intensidad acústica como de la absorción del medio como se puede



ver en la ecuación 5.12.

$$Q = 2\alpha I, \quad (5.12)$$

donde  $\alpha$  es el coeficiente de absorción e  $I$  es la intensidad acústica además, la intensidad acústica y la presión están relacionadas entre si mediante la ecuación 5.13

$$I = \frac{p^2}{2\rho c_s}, \quad (5.13)$$

sustituyendo la ecuación 5.13 en la ecuación 5.12 tenemos que el calor producido por el paso del ultrasonido a través de un medio en función de la presión acústica estaría definido por:

$$Q = \frac{\alpha p^2}{\rho c_s}. \quad (5.14)$$

Por otra parte, la ecuación de Pennes [28] mejor conocida como la ecuación de bioalentamiento describe el comportamiento del calentamiento dentro de un tejido cuando éste se encuentra bajo al influencia de una fuente externa de calor. La ecuación de bioalentamiento está definida como

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} - k \nabla^2 T = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + Q_{met} + Q_{ext}, \quad (5.15)$$

donde  $C$  es la capacidad calorífica del medio,  $k$  es la conductividad térmica del medio,  $\rho_b$  es la densidad de la sangre,  $C_b$  es la capacidad calorífica de la sangre,  $\omega_b$  es la tasa de perfusión sanguínea,  $T_b$  es la temperatura de la sangre,  $Q_{met}$  es el calor generado por el metabolismo y  $Q_{ext}$  es el calor generado por una fuente externa. Dependiendo de las características de la terapia, puede presentarse el caso en el que el tiempo en que se lleva a cabo el calentamiento es muy corto y entonces se pueden despreciar las aportaciones de la perfusión sanguínea. En general, la mayoría de las simulaciones de terapia desprecian el



aporte del calor generado por el metabolismo debido a que los tratamientos normalmente son aplicados cuando el paciente tiene al menos dos horas de ayuno [8], esto deriva en que se tendrían básicamente 2 casos de modelos a resolver:

▪

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} - k \nabla^2 T = Q_{ext}, \quad (5.16)$$

para simulación de terapias de corta duración. Y

▪

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} - k \nabla^2 T = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + Q_{ext} \quad (5.17)$$

para simulación de terapias con mayor duración. En ambos casos, la fuente de calor externa  $Q_{ext}$  está definida por la ecuación 5.14.

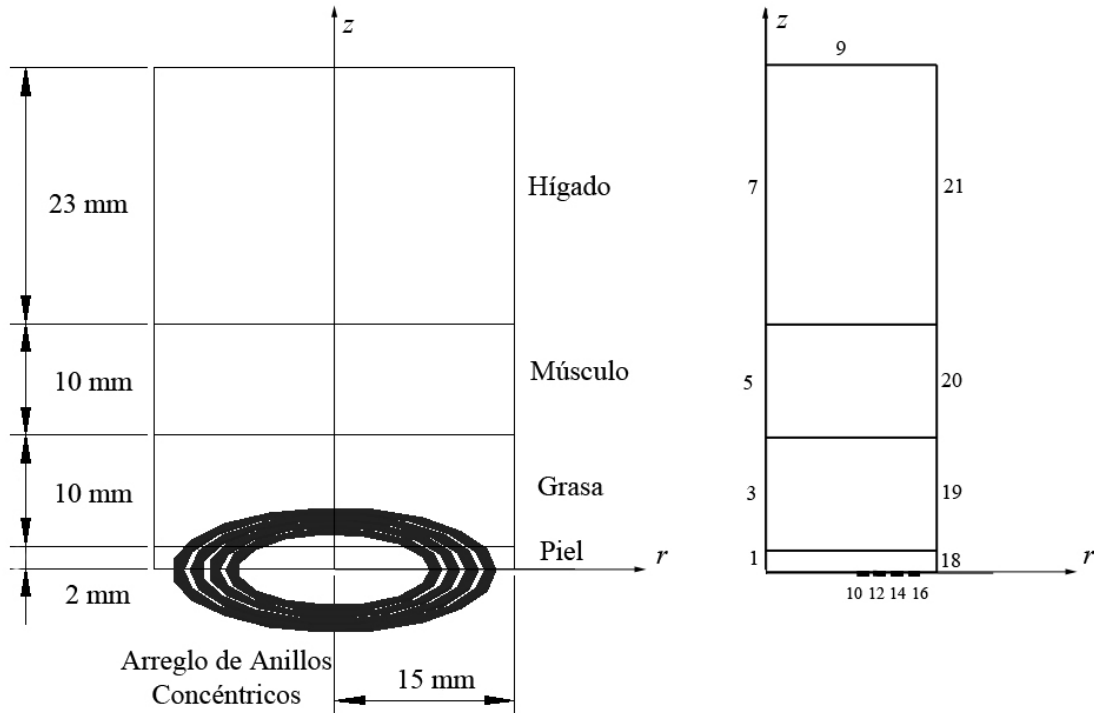
### 5.3.2. Geometría del Modelo

Cuando se desea aplicar terapia térmica no invasiva con ultrasonido en el cuerpo humano es necesario que la energía pase a través de diversas capas con propiedades acústicas diferentes. En este caso se propuso que la terapia ultrasónica fuera aplicada en hígado por lo que el ultrasonido debería pasar a través de piel, grasa y músculo antes de interactuar con el hígado.

De forma general, este problema puede ser propuesto como un transductor cilíndrico radiando cuatro capas de tejidos con diferentes grosores. En la capa más profunda (que representa al hígado) la energía ultrasónicas focalizada generará una zona de calentamiento elipsoidal con temperaturas arriba de los 43 °C. La forma cilíndrica del transductor y el perfil elipsoidal del campo acústico generado permiten que el problema a resolver pueda entenderse como una geometría 3D con un eje de simetría. Teniendo todo lo anterior en consideración, el problema puede ser simplificado a una geometría 2D con simetría axial donde la solución quedará expresada en coordenadas cilíndricas  $(r, z)$  como se puede observar en la figura 5.9. Con esta consideración el tiempo de procesamiento para obtener



la solución del modelo se verá reducido así como los recursos necesarios para resolverlo.



**Figura 5.9:** La geometría del problema consiste en 4 capas de tejidos (Piel, Grasa, Músculo e Hígado) y un arreglo de anillos piezoeléctricos concéntricos focalizados radiando los tejidos. Simplificación de la geometría real en 3D (izquierda) a un modelo 2D axisimétrico (derecha).

El software de elementos finitos empleado para resolver el problema utiliza coordenadas cilíndricas para este tipo de modelos. El arreglo de cuatro anillos concéntrico fue colocado en la base del modelo ( $z = 0$ ) y los subdominios que representan las cuatro capas de tejidos fueron dibujadas tomando la línea a lo largo de  $z = 0$  como base. El espesor de las capas de tejidos en la raza humana puede variar dependiendo del género, edad, complejión, etnia y región del cuerpo [122–128]; en este trabajo de tesis los espesores de los tejidos fueron definidos de la siguiente manera: 2 mm de piel, 10 mm de grasa, 10 mm de músculo y 23 mm de hígado. Una de las ventajas asociadas a los transductores con arreglos de anillos concéntricos es la posibilidad de variar la posición del foco empleando retardos temporales en la excitación de los piezoeléctricos; esto significa que el mismo dispositivo puede ser empleado para aplicar hipertermia a distintas profundidades.



### 5.3.3. Propiedades de los Subdominios y Condiciones de Frontera

Los números asignados por el software a cada una de las fronteras se pueden observar en la figura 5.9. Las fronteras 1, 3, 5 y 7 fueron definidas como el eje de simetría del modelo; es la misma para ambos módulos empleados en la simulación y define el tipo de geometría que se emplea. Una geometría axisimétrica indica que la solución puede ser obtenida a partir del análisis de una “rebanada” del modelo.

La periferia del modelo (9, 18, 19, 20 y 21) fue definida con la misma impedancia acústica que el tejido al cual pertenece cada una de las fronteras con la intención de reducir las interferencias en el modelo debidas a las reflexiones.

$$\mathbf{n} \cdot \left( \frac{1}{\rho_0} (\nabla p - q) \right) + \frac{1}{Z} \frac{\partial p}{\partial t} = 0 \quad (5.18)$$

Además, se estableció que el sistema en su totalidad sería térmicamente aislado con la temperatura de los bordes fija en 37 °C. También se decidió que todas las fronteras interiores del modelo fueran continuas tanto en la parte acústica como en la térmica con la finalidad de que el flujo de las energías acústica y térmica fuera constante durante toda la simulación.

Debido a que el modelado de la generación del ultrasonido no era el principal objetivo de la tesis, se decidió que los anillos piezoeléctricos fueran simplificados dentro del modelo. Los elementos piezoeléctricos son representados por las fronteras 10, 12, 14 y 16; estas fronteras se definieron de tal forma que emitieran una presión sinusoidal a 2 MHz. Como se ha venido mencionando, el arreglo de transductores consistió de 4 anillos de 1 mm de espesor (distancia entre radio interior y exterior de cada anillos) y 0.5 mm de separación entre anillos consecutivos. El proceso de focalización se logró usando retardos temporales en los anillos interiores (fronteras 10, 12 y 14) con respecto a la excitación inicial del anillo externo (frontera 16).

Los retardos entre elementos piezoeléctricos se calcularon a partir de la diferencia



en tiempo que le toma a la señal emitida por cada elemento llegar al foco. Estos tiempos se calcularon con la distancia que hay entre el elemento y el foco deseado y la velocidad de propagación del ultrasonido en el medio mediante las siguientes ecuaciones:

$$t_n = \frac{\sqrt{d_f^2 + \left(r_1 + (2n - 1) \frac{b}{2} + (n - 1) a\right)^2}}{c_s}, \quad (5.19)$$

cuando se tienen anillos empezando con un elemento de radio interior  $r_1$ , y

$$t_n = \frac{\sqrt{d_f^2 + \left(\frac{r_2}{2} + (2n - 1) \frac{b}{2} + na\right)^2}}{c_s}, \quad (5.20)$$

cuando se tiene un elemento piezoeléctrico central de radio  $r_2$ . En ambos casos  $c_s$  es la velocidad de propagación del ultrasonido en el medio,  $b$  es el espesor de los anillos (diferencia entre radio interior y exterior),  $a$  es la separación entre los anillos,  $d_f$  es la distancia focal deseada, y  $n$  es el número de anillo. Posteriormente se realizan las diferencias en tiempo partiendo siempre de que el anillo de mayor radio será el primero en ser excitado.

Parte importante del modelo es la construcción de la malla de elementos que se usa para resolver el problema. La malla del modelo fue construida con la característica principal de tener al menos 10 elementos por longitud de onda [10, 110, 129, 130] para disminuir los errores debidos a la dispersión; tomando en cuenta esta consideración, la malla del modelo consistió en 67500 elementos de forma rectangular.

Por otra parte, la presión acústica emitida por el arreglo de anillos concéntricos fue ajustada para obtener una temperatura de hipertermia máxima de 43 °C en el foco después de 15 s. Este ajuste se realizó considerando las propiedades acústicas de los tejidos biológicos constantes a una temperatura de 37 °C. Una vez que el valor de la presión acústica fue ajustado, este permaneció constante para los diferentes casos estudiados en esta tesis. El tiempo requerido para alcanzar los 43 °C variará dependiendo de los requerimientos de la terapia y de las propiedades de los tejidos entre otros factores. Un reto



importante en las terapias de hipertermia es mantener la temperatura ( $43\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) constante durante todo el tiempo que se aplica la terapia; una vez más, esto está relacionado con el tipo de tejido donde se aplica la terapia y las propiedades acústicas y térmicas del mismo.

Como se mencionó anteriormente, el principal objetivo de esta tesis es el estudio de los efectos provocados por la dependencia térmica de las propiedades acústicas, velocidad de propagación y absorción, durante la elevación inicial de la temperatura en tratamiento de hipertermia con ultrasonido. El campo acústico generado por el arreglo de transductores y la distribución de temperatura provocada por este arreglo después de 15 s de terapia térmica con ultrasonido fueron determinados para los siguientes casos:

- a. Con el modelo sin la dependencia en temperatura de las propiedades acústicas; se usaron los valores de velocidad de propagación y absorción a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- b. Con el modelo usando la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación y con la absorción a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- c. Con el modelo usando la dependencia en temperatura de la absorción y con la velocidad de propagación a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- d. Con el modelo usando la dependencia en temperatura de ambas propiedades.

Las propiedades térmicas y las densidades de todos los tejidos, así como la velocidad de propagación y absorción de la piel, fueron tomados de la literatura ; el resto de las propiedades utilizadas en la simulación (velocidad de propagación y absorción de grasa, músculo e hígado) son las que se obtuvieron durante las mediciones realizadas en el desarrollo de esta tesis, ver tablas 5.5. La termodependencia de las distintas velocidades de propagación del ultrasonido y las absorciones acústicas medidas por nuestro grupo fueron ajustadas a curvas de segundo orden con la finalidad de aplicarlas al modelo de elementos finitos. Las propiedades empleadas en el modelo son sintetizadas en las tablas 5.5 y 5.6. Es importante mencionar que las propiedades acústicas y la conductividad térmica de la sangre no fueron tomadas en cuenta en el modelo; sin embargo, la tasa de perfusión de





la sangre fue considerada constante para todos los tejidos con un valor fijo de  $3.6 \times 10^{-3}$  1/s [131].

De acuerdo a lo establecido por Moros et al. [8] y ter Har [132] entre el 60 y 80 % de la atenuación de la energía ultrasónica en tejidos biológicos es debida a la absorción; dado que el objetivo de la tesis está centrado en mostrar los efectos de la dependencia en temperatura de las propiedades acústicas de los tejidos y con la intención de simplificar el modelo, se decidió considerar que toda la atenuación del ultrasonido dentro del modelo fuera producto de la absorción.

Por otra parte, debido a la naturaleza de las simulaciones con elementos finitos, los problemas continuos deben ser discretizados en términos de pasos temporales. En nuestro caso, el tiempo de simulación fue establecido de 0 a 15 s con iteraciones de 0.25 s. Esto último implica que, cuando se toma en cuenta la termodependencia de las propiedades acústicas, éstas se verán actualizadas cada 0.25 al igual que el campo acústico.

**Tabla 5.5:** Propiedades Acústicas de Tejidos Biológicos Empleadas en la Simulación por Elementos Finitos de la Terapia Térmica. El valor de T está considerado en °C.

Tejido	Densidad ( $kgm^{-3}$ )	Absorción a 2 MHz ( $Npm^{-1}$ )	Velocidad de Propagación ( $ms^{-1}$ )
Piel	1100	0.4	1540
Grasa	918	$10.858 - 0.428T + 0.0045T^2$	$1662 - 8.657T + 0.063T^2$
Músculo	1049	$3.059 - 0.099T + 0.001T^2$	$1501 + 4.657T - 0.045T^2$
Hígado	1060	$20.28 - 1.165T + 0.0214T^2$	$1495 + 4.285T - 0.047T^2$
Sangre	1000	—	—

**Tabla 5.6:** Propiedades Térmicas de Tejidos Biológicos Empleadas en la Simulación por Elementos Finitos de la Terapia Térmica.

Tejido	Capacidad Calorífica ( $Jkg^{-1}K^{-1}$ )	Conductividad Térmica ( $Wm^{-1}K^{-1}$ )
Piel	3898.2	0.209
Grasa	3221.7	0.402
Músculo	3807.0	0.618
Hígado	3500.0	0.498
Sangre	4180.0	—

#### **6.1. Velocidad de Propagación del Ultrasonido**

A continuación se presentan los resultados de las pruebas para validar el sistema para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos. Los resultados de la simulación por elementos finitos dieron la pauta para la elección de los materiales y la distancia entre las agujas que conforman el reflector tipo escalón. Posteriormente se midió la velocidad en materiales de referencia para verificar la exactitud del sistema completo para finalmente realizar las mediciones en tejidos biológicos *in vitro*.



### 6.1.1. Sistema de Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido usando Elementos Finitos

Los resultados de la primera prueba con elementos finitos se pueden observar en la tabla 6.1. Se obtuvo la velocidad de propagación usando el reflector tipo escalón con diferentes distancias entre las puntas y emitiendo pulsos ultrasónicos a diferentes frecuencias en un medio homogéneo al cual previamente se le había asignado un valor de velocidad de propagación fijo de  $1540 \text{ m/s}$ . De la tabla 6.1 se puede observar que los resultados a  $3.5 \text{ MHz}$  muestran mayor consistencia conforme se varía la distancia entre las puntas del reflector. Estos resultados concuerdan con lo esperado debido a que a mayor frecuencia existe una mejor resolución espacial, i.e., es posible observar distancias menores entre elementos consecutivos. Por otro lado, se decidió que al construir el reflector tipo escalón se utilizaría la distancia entre puntas de  $1.5 \text{ mm}$  por ser la menor distancia que no presentó solapamiento entre los ecos resultantes.

**Tabla 6.1:** Velocidades de propagación del ultrasonido obtenidas del modelo por elementos finitos para diferentes distancias entre las puntas del reflector tipo escalón usando pulsos ultrasónicos a diferentes frecuencias. El medio homogéneo del modelo tiene una velocidad de propagación fija de  $1540 \text{ m/s}$ .

Distancia entre las Puntas del Reflector (mm)	Velocidad de Propagación ( $m/s$ )			Error Relativo (%)		
	1 MHz	2 MHz	3.5 MHz	1 MHz	2 MHz	3.5 MHz
1.0	1538.46	1538.46	1538.46	0.10	0.10	0.10
1.5	1546.39	1546.39	1538.46	0.41	0.41	0.10
2.0	1550.38	1544.40	1538.46	0.67	0.28	0.10
2.5	1552.79	1547.98	1538.46	0.83	0.51	0.10
3.0	1554.40	1538.46	1538.46	0.93	0.41	0.10

Una vez fijados la frecuencia de trabajo ( $3.5 \text{ MHz}$ ) y la distancia entre las puntas del reflector ( $1.5 \text{ mm}$ ), se procedió a variar la velocidad de propagación del medio homogéneo en el intervalo de  $1480$  a  $1600 \text{ m/s}$ ; estos valores se consideraron porque se esperaba que la velocidad de propagación en los tejidos biológicos se encontrara en este rango. Los resultados de las velocidades obtenidas usando el reflector tipo escalón se pueden ver en la tabla 6.2. La diferencias entre los valores predefinidos y los obtenidos entrega errores relativos que van desde  $0\%$  hasta  $0.35\%$ ; esto podría sugerir que las diferencias en los resultados de ambas tablas (6.1 y 6.2) son debidas a las resoluciones de la malla e



incrementos en tiempo empleados en el modelo. Finalmente, en la tercer prueba realizada con el modelo por elementos finitos (ver tabla 5.2), no hubo diferencias entre los valores propuestos y los obtenidos a partir de las señales ultrasónicas generadas por el reflector tipo escalón. Con estas 3 pruebas se verificó el funcionamiento del reflector tipo escalón y se procedió a la construcción del mismo.

**Tabla 6.2:** Velocidades de propagación del ultrasonido obtenidas del modelo por elementos finitos usando el reflector tipo escalón. Se varió la velocidad de propagación del medio homogéneo entre 1480 y 1600  $m/s$ .

Velocidad de Propagación Predefinida en el Modelo ( $m/s$ )	Velocidad de Propagación Obtenida del Modelo ( $m/s$ )	Error Relativo Relativo (%)
1480	1477.83	0.14
1500	1500.00	0
1520	1515.15	0.31
1540	1538.46	0.10
1560	1554.40	0.35
1580	1578.94	0.06
1600	1595.74	0.26

### 6.1.2. Características Finales del Reflector Tipo Escalón

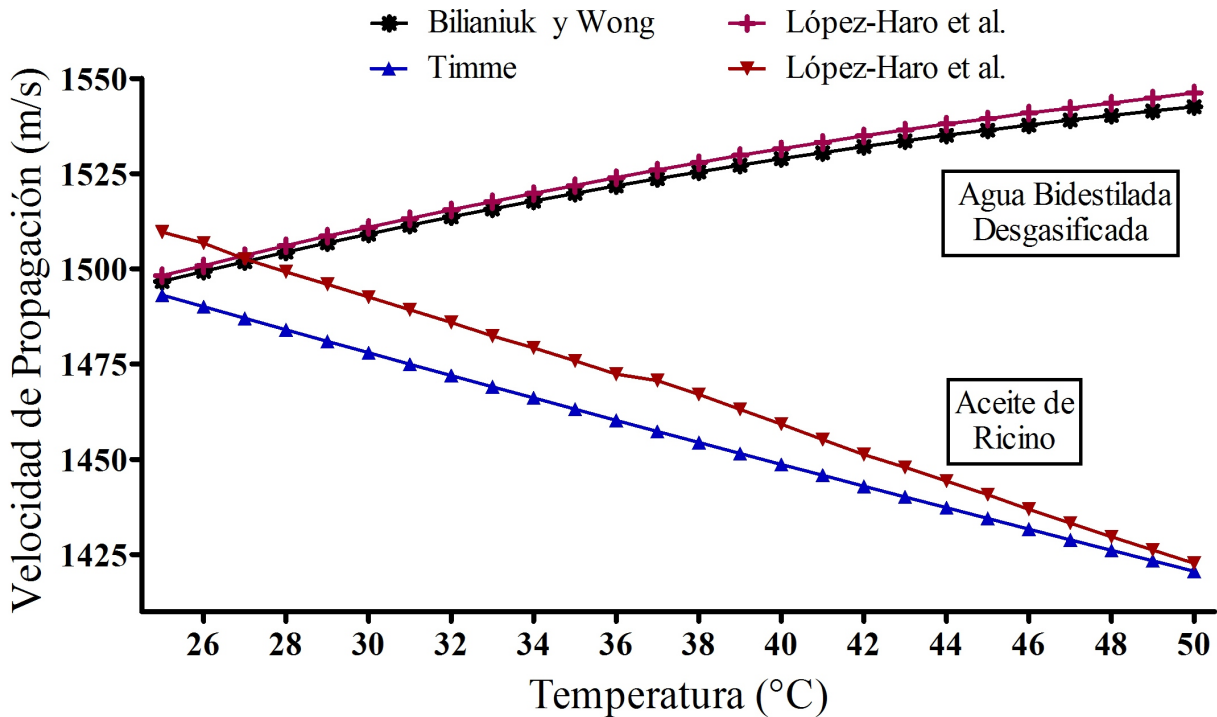
Basados en los resultados de las simulaciones del sistema de medición de la velocidad de propagación usando un reflector tipo escalón, se decidió construir este último con una distancia entre las puntas de 1.5 mm, además, se decidió emplear una transductor a 3.5 MHz durante la caracterización para tener una mejor resolución espacial. Si bien al momento de la elaboración del reflector se decidió dejar 1.5 mm entre las puntas, al momento de medir con la técnica descrita en la sección de Materiales y Métodos se encontró que la separación final fue de 1.65 mm con una desviación estándar de 1.63  $\mu m$ .

### 6.1.3. Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Materiales de Referencia

Una vez que se tenía el reflector tipo escalón y se conocía la distancia entre sus puntas se procedió a verificar la exactitud del sistema realizando mediciones en materiales de



referencia. En la figura 6.1, se puede observar el desempeño del sistema completo cuando se mide la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación en dos líquidos: agua y aceite de ricino. En ambos casos la velocidad de propagación se midió en el intervalo comprendido entre 25 °C y 50 °C.



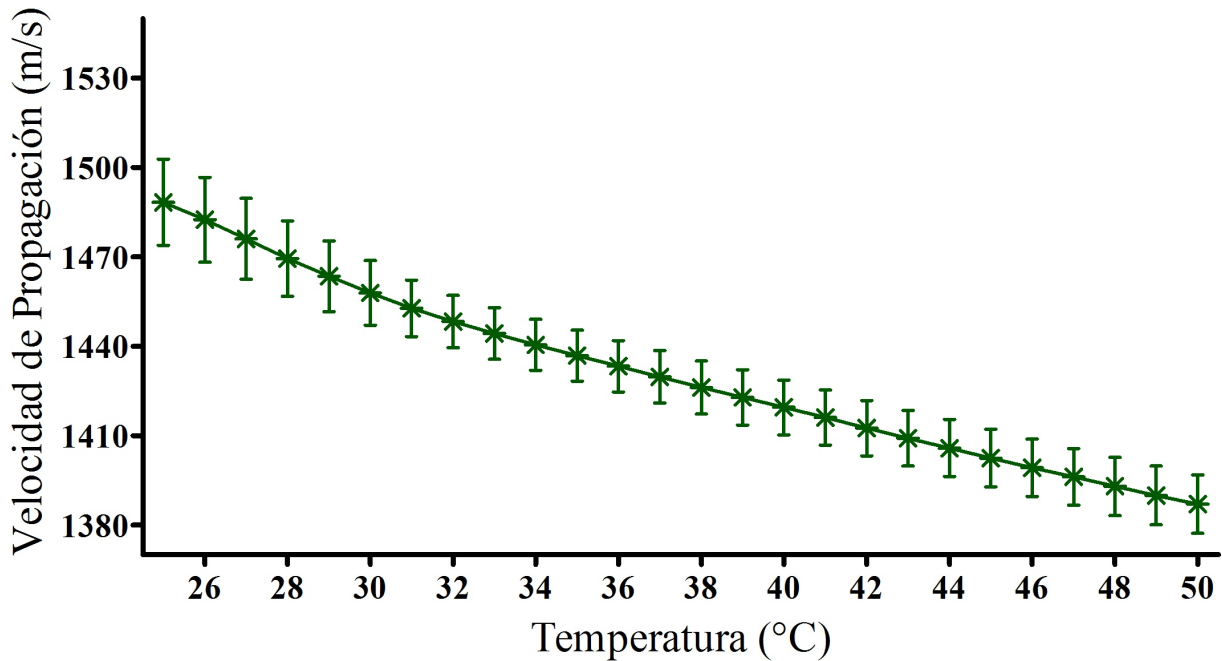
**Figura 6.1:** Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Agua Bidestilada Desgasificada y Aceite de Ricino.

Los resultados obtenidos se compararon con los reportados por otros grupos para estos materiales [86, 116], se encontraron diferencias máximas entre los valores medidos y los reportados de 0.23 % y 1.12 % para agua y aceite de ricino respectivamente. Estas diferencias se encontraron cuando la temperatura de los materiales se encontraba por encima de los 48 °C. De igual forma, se encontraron desviaciones estándar máximas de 2.99  $m/s$  y 6.884  $m/s$  que corresponden al 0.19 % y 0.48 % del valor promedio en agua y aceite, respectivamente. De acuerdo con lo reportado por Timme [116], las diferencias en el caso del aceite de ricino pueden ser debido a las variaciones en el nivel de refinamiento del aceite; otras fuentes de error pueden ser la no uniformidad de la temperatura dentro de los materiales al momento de la medición así como la formación de burbujas cuando la temperatura está por encima de los 40 °C.



### 6.1.4. Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos

En las siguientes figuras se presentan los resultados de la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del ultrasonido en el intervalo de 25 °C a 50 °C en tejidos biológicos *in vitro* pertenecientes a cerdo. La velocidad en tejido graso muestra una tendencia descendente que va desde los 1488.32  $m/s$  a 25 °C a los 1387.01  $m/s$  a 50 °C con comportamiento casi lineal en todo el intervalo evaluado, ver figura 6.2. Se realizaron mediciones en 5 muestras de tejido y la velocidad de propagación mostró una desviación estándar máxima de 14.48  $m/s$  a 25 °C.



**Figura 6.2:** Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Grasa de Cerdo.

En la figura 6.3 se muestra la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del ultrasonido en músculo de cerdo que varía desde 1584.84  $m/s$  a 25 °C hasta 1615.87  $m/s$  a 50 °C. Cabe mencionar que los resultados de la medición presentan un pico a 48 °C donde el valor de la velocidad es de 1620.37  $m/s$ . De igual forma que en el caso de la grasa se realizaron 5 mediciones; la desviación estándar máxima de este tejido fue de 8.61  $m/s$  a 38 °C.

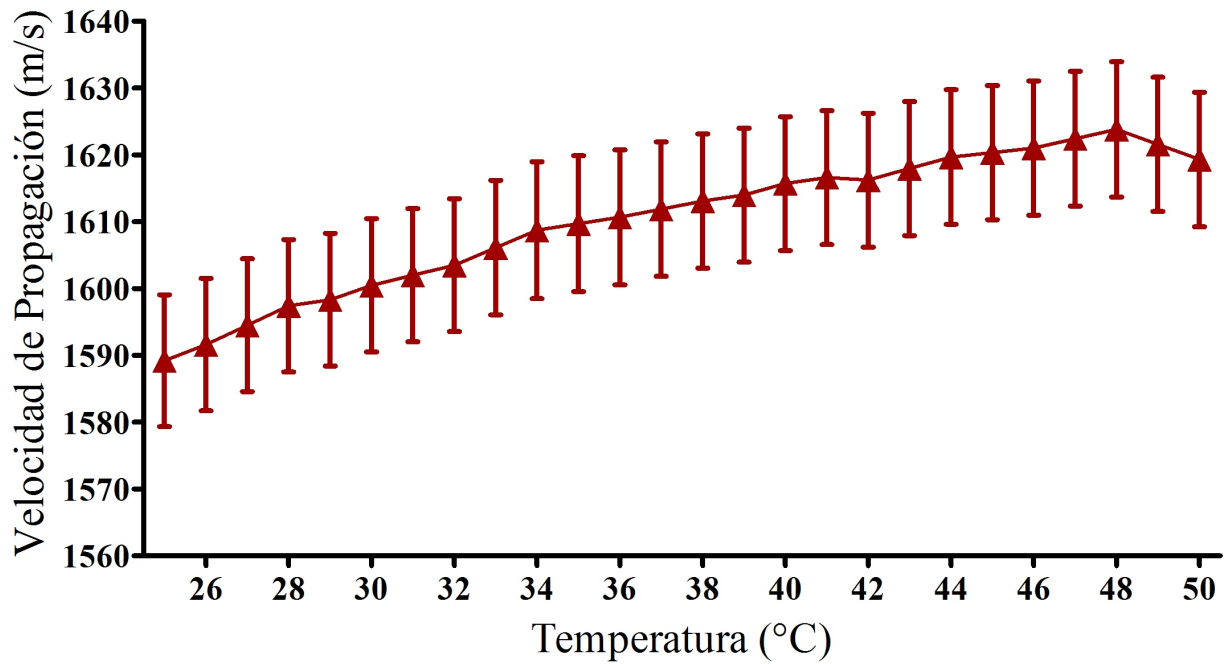


Figura 6.3: Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Músculo de Cerdo.

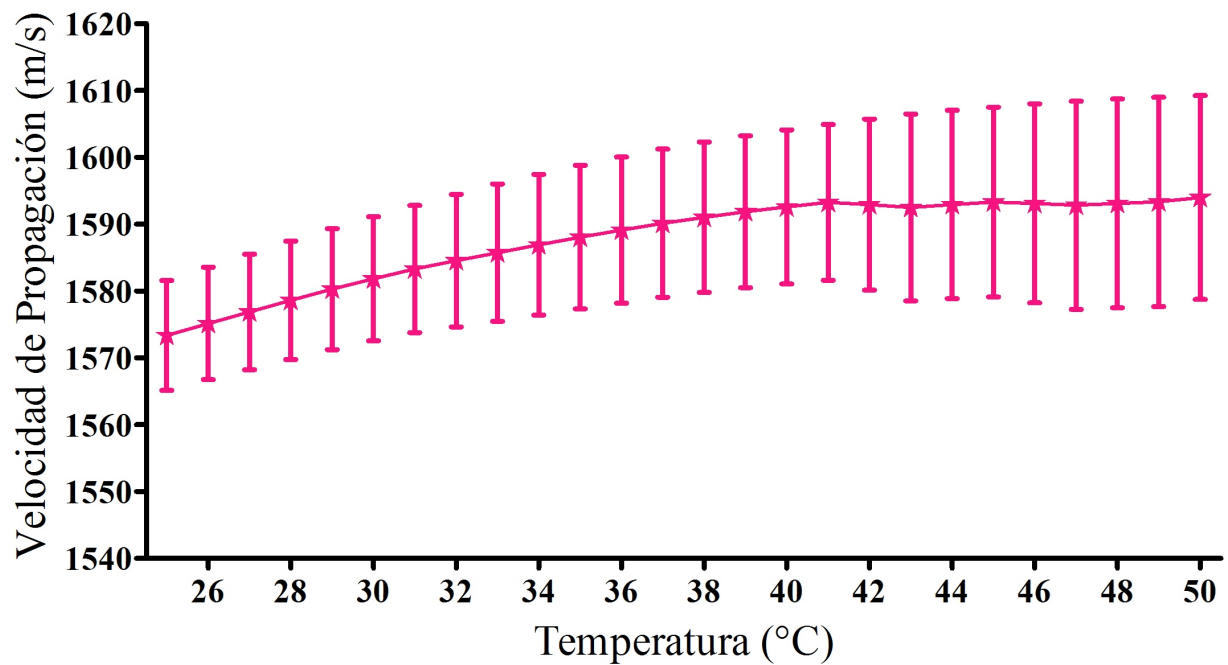


Figura 6.4: Dependencia en Temperatura de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido en Hígado de Cerdo.



**Tabla 6.3:** Ajuste con curvas de primer y segundo orden de los valores obtenidos de la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos. El valor de  $T$  está considerado en  $^{\circ}\text{C}$ .

Tejido	Orden de la Curva	Ecuación	Coefficiente de Determinación ( $R^2$ )
Grasa	Primer	$c = 1576 - 3.877T$	0.9858
	Segundo	$c = 1662 - 8.657T + 0.06374T^2$	0.9977
Músculo	Primer	$c = 1562 + 1.296T$	0.9406
	Segundo	$c = 1501 + 4.675T - 0.04506T^2$	0.9916
Hígado	Primer	$c = 1558 + 0.7826T$	0.8587
	Segundo	$c = 1495 + 4.285T - 0.04670T^2$	0.9957

Finalmente, la figura 6.4 muestra el comportamiento ascendente de la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del hígado. El intervalo de variación para este tejido fue de  $1547.98 \text{ m/s}$  a  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $1596.91 \text{ m/s}$  a  $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; en este tejido la desviación estándar máxima después de medir en 5 muestras diferentes fue de  $15.65 \text{ m/s}$ . Los promedios de los datos obtenidos para la velocidad de propagación de los tres tejidos caracterizados fueron ajustados a curvas de primer y segundo orden. En la tabla 6.3 se muestran las ecuaciones de las curvas obtenidas así como el coeficiente de determinación de cada una.

Debido a que en la naturaleza existen diferencias significativas incluso entre miembros de la misma especie, no es posible hacer comparaciones cuantitativas de los resultados obtenidos, sin embargo, la tendencia de las curvas muestra un resultado consistente con lo reportado por otros grupos [16, 17, 26, 108]. El caso del comportamiento descendente de la velocidad de propagación del ultrasonido en grasa de cerdo es propio de los tejidos con contenido alto de células adiposas.

## 6.2. Atenuación del Ultrasonido

Se presentan los resultados de la comparación entre la técnica de inserción usada comúnmente y una modificación que se realizó durante el desarrollo de esta tesis. Se tienen resultados de la medición con ambas técnicas de la atenuación en un *phantom* a base de agarosa y

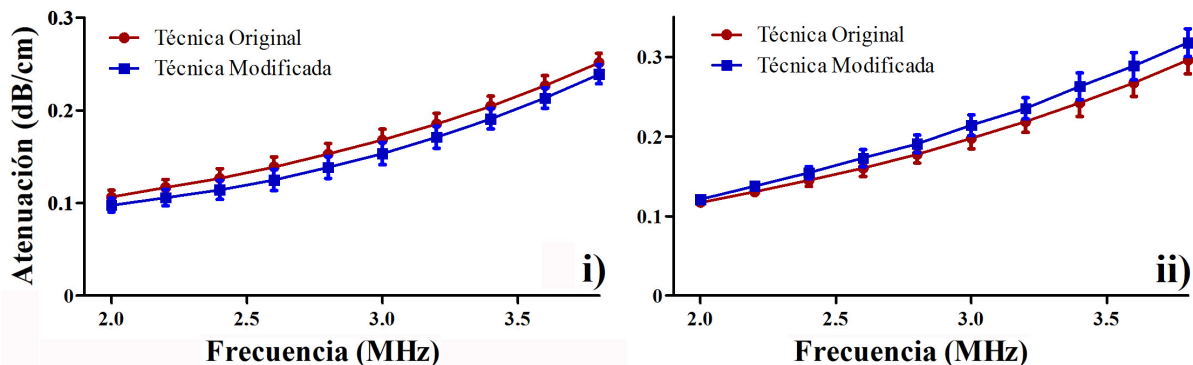




grafito; una vez comparados los resultados se procedió a la medición en muestras biológicas para encontrar la dependencia en temperatura de la atenuación.

### 6.2.1. Comparación entre las Técnicas de Inserción Original y Modificada: Pruebas en *Phantom*

En la figura 6.5 se aprecian los resultados de la atenuación en el phantom en función de la frecuencia aplicando las técnicas descritas anteriormente para los casos de la figura 5.7 donde el *phantom* tiene i) caras paralelas y ii) caras irregulares. El coeficiente de atenuación del phantom de grafito con caras paralelas en el ancho de banda de los transductores empleados va de  $0.106 \text{ dB/cm}$  a  $0.251 \text{ dB/cm}$  con la técnica original y de  $0.098 \text{ dB/cm}$  a  $0.239 \text{ dB/cm}$  con la técnica modificada; en ambos casos la máxima desviación estándar fue de  $0.012 \text{ dB/cm}$  a 3MHz. Para el phantom con superficies irregulares los valores del coeficiente de atenuación van de  $0.117 \text{ dB/cm}$  a  $0.296 \text{ dB/cm}$  para la técnica original y de  $0.121 \text{ dB/cm}$  a  $0.318 \text{ dB/cm}$  para la técnica modificada con desviación estándar máxima de  $0.017 \text{ dB/cm}$ . La mayor diferencia entre las dos formas de medición es de  $0.014 \text{ dB/cm}$  y  $0.022 \text{ dB/cm}$  cuando se tienen caras paralelas e irregulares respectivamente. Lo cual nos dice que la técnica de inserción modificada puede ser empleada para la medición en tejidos biológicos considerando que tiene un error de  $\pm 10\%$ .

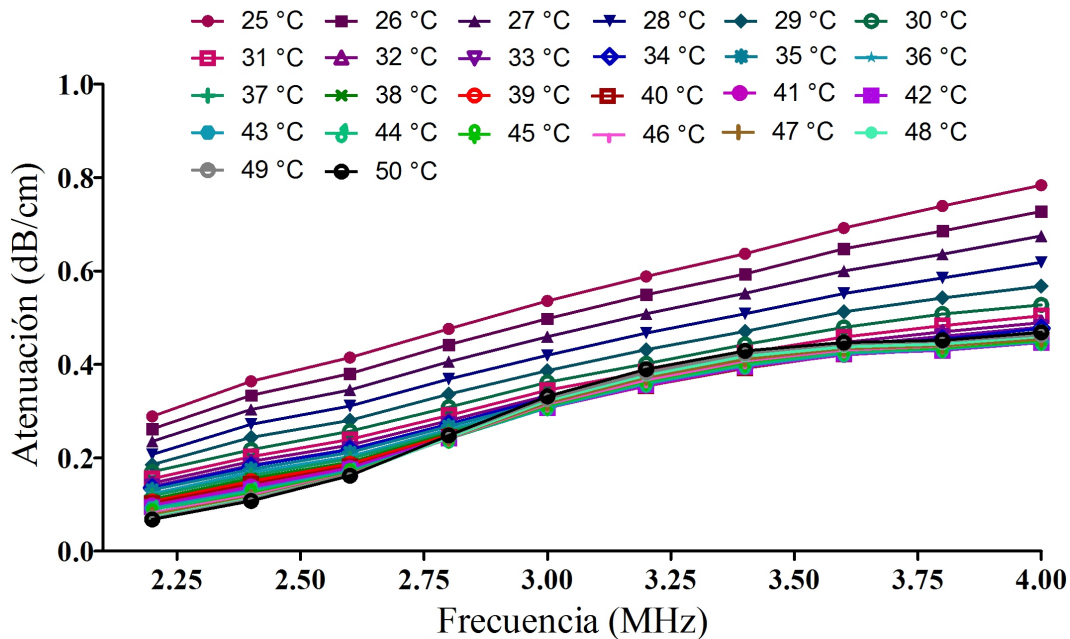


**Figura 6.5:** Resultados de la atenuación del ultrasonido a  $18.4 \text{ }^\circ\text{C}$  en *phantom* de grafito utilizando la técnica original de inserción y la modificación propuesta cuando tiene i) caras paralelas y ii) caras irregulares.



## 6.2.2. Dependencia en Temperatura de la Atenuación del Ultrasonido en Tejidos Biológicos

Una vez comprobado el comportamiento de las técnicas para medir atenuación en el *phantom* de grafito, se decidió emplear la técnica modificada para obtener el coeficiente de atenuación del ultrasonido en tejidos suaves y evitar los errores debidos a la medición del espesor de las muestras biológicas semisólidas. Se obtuvieron los valores de atenuación en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C. En las siguientes figuras se muestran los valores de atenuación obtenidos para grasa, músculo e hígado de cerdo en el intervalo de frecuencia de 2 a 4 MHz en cada una de las temperaturas con incrementos de 1 °C.

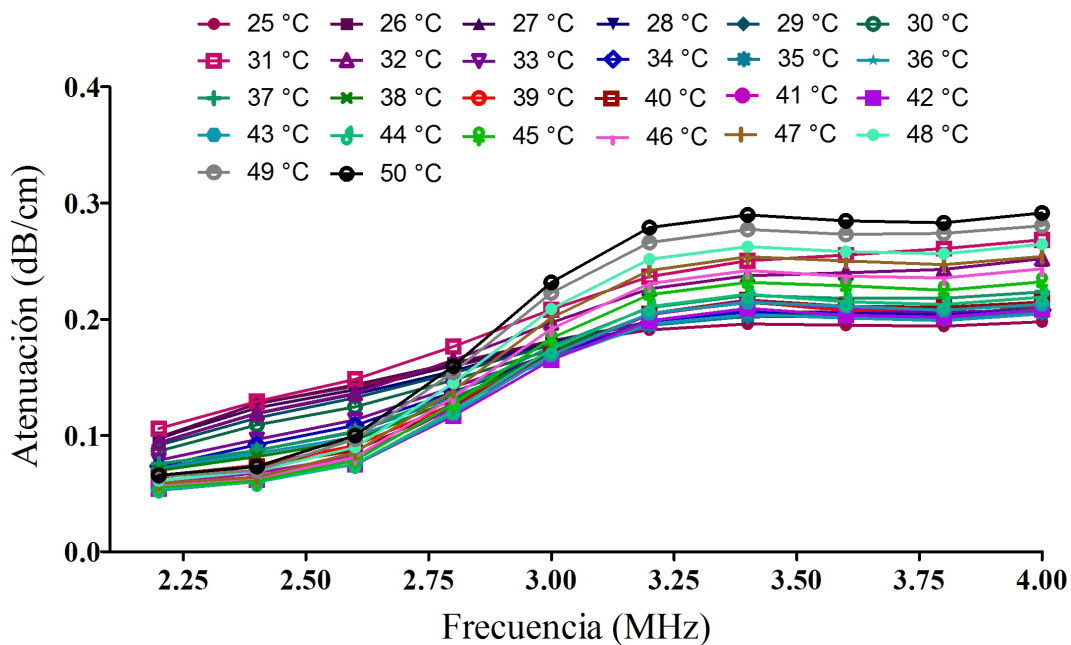


**Figura 6.6:** Resultados de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en función de la frecuencia en grasa de cerdo en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C usando la técnica de inserción modificada.

En el caso de la atenuación del ultrasonido en la grasa, ésta presenta un comportamiento lineal ascendente con respecto a la frecuencia y descendente con respecto de la temperatura que, a la frecuencia central del transductor empleado, va desde 0.53  $dB/cm$  a 25 °C hasta 0.33  $dB/cm$  a 50 °C; el aumento de la temperatura de la grasa de cerdo provoca una disminución en la atenuación hasta presentar un estado estacionario a partir de los 32 °C, ver figura 6.6. Los valores obtenidos en el músculo, figura 6.7, presentan un

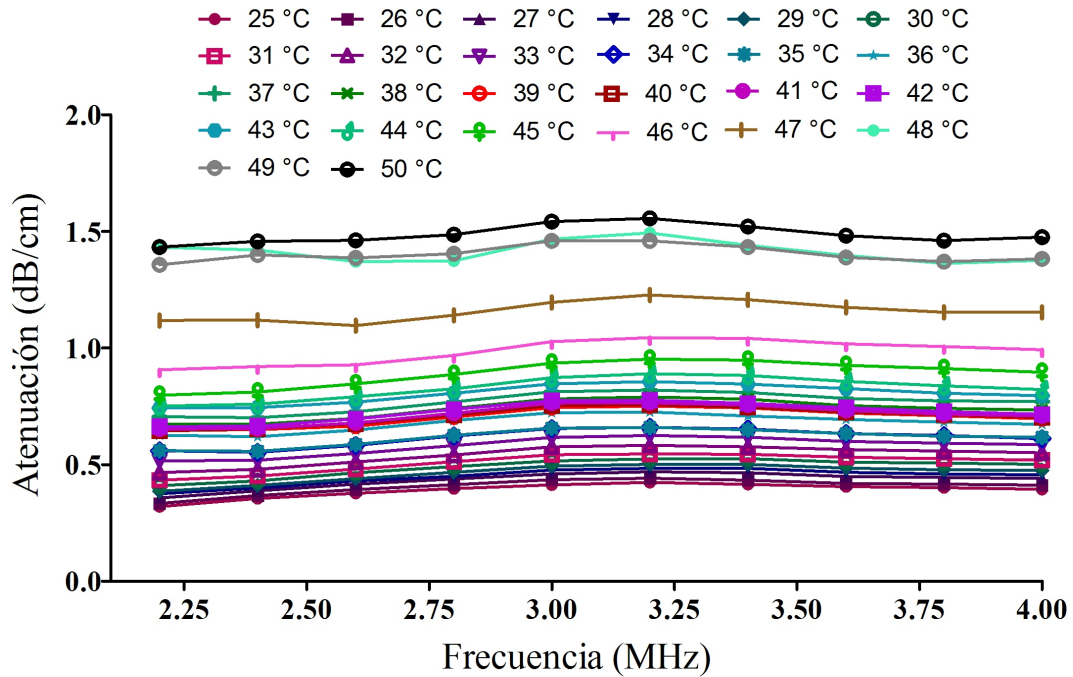


comportamiento ascendente con respecto a la frecuencia que se estabiliza después de la frecuencia central del transductor (3 MHz). La variación de la temperatura de la muestra eleva la atenuación del ultrasonido; los valores de atenuación a la frecuencia central van de  $0.17 \text{ dB/cm}$  a  $25 \text{ °C}$  a  $0.23 \text{ dB/cm}$  a  $50 \text{ °C}$ . La atenuación con respecto a la frecuencia en el hígado de cerdo parece ser constante en el ancho de banda de los transductores empleados; sin embargo, conforme se aumenta la temperatura la atenuación se eleva, por ejemplo, en la frecuencia central del transductor la atenuación pasa de  $0.72 \text{ dB/cm}$  a  $25 \text{ °C}$  hasta  $1.54 \text{ dB/cm}$  a  $50 \text{ °C}$ , ver figura 6.8.



**Figura 6.7:** Resultados de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en función de la frecuencia en músculo de cerdo en el intervalo de temperatura de  $25 \text{ °C}$  a  $50 \text{ °C}$  usando la técnica de inserción modificada.

Debido a que en el modelo de terapia térmica se decidió utilizar una frecuencia de 2 MHz para el arreglo de anillos piezoeléctricos, se decidió obtener las curvas de la dependencia en temperatura de la atenuación a esta frecuencia, ver tabla 6.4. El comportamiento de la atenuación en los tres tejidos muestra una mejor correlación con las curvas de segundo orden. Como se mencionó anteriormente, la atenuación en grasa muestra un claro comportamiento descendente con respecto a la temperatura, en músculo permanece casi constante y en hígado aumenta conforme la temperatura se eleva.



**Figura 6.8:** Resultados de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en función de la frecuencia en hígado de cerdo en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C usando la técnica de inserción modificada.

**Tabla 6.4:** Ajuste con curvas de primer y segundo orden de los valores obtenidos de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido a 2 MHz en tejidos biológicos. El valor de T está considerado en °C y la atenuación en dB/cm.

Tejido	Orden de la Curva	Ecuación	Coefficiente de Determinación ( $R^2$ )
Grasa	Primer	$\alpha = 0.4039 - 0.007234T$	0.8494
	Segundo	$\alpha = 0.9434 - 0.03721T + 0.0003996T^2$	0.9655
Músculo	Primer	$\alpha = 0.1448 - 0.001894T$	0.7692
	Segundo	$\alpha = 0.2657 - 0.008610T + 8.955 \times 10^{-5}T^2$	0.8462
Hígado	Primer	$\alpha = -0.7524 + 0.03839T$	0.8196
	Segundo	$\alpha = 1.762 - 0.1013T + 0.001862T^2$	0.9059

### 6.3. Simulación de Terapia Térmica

En esta sección se presentan los campos acústicos generados por el arreglo de anillos piezoeléctricos junto con la distribución de temperatura que este produce en un modelo multicapa que incluya las propiedades ultrasónicas y térmicas de tejidos biológicos. La duración de la simulación de terapia es de 15 s.



### 6.3.1. Campo Acústico y Distribución de Temperatura

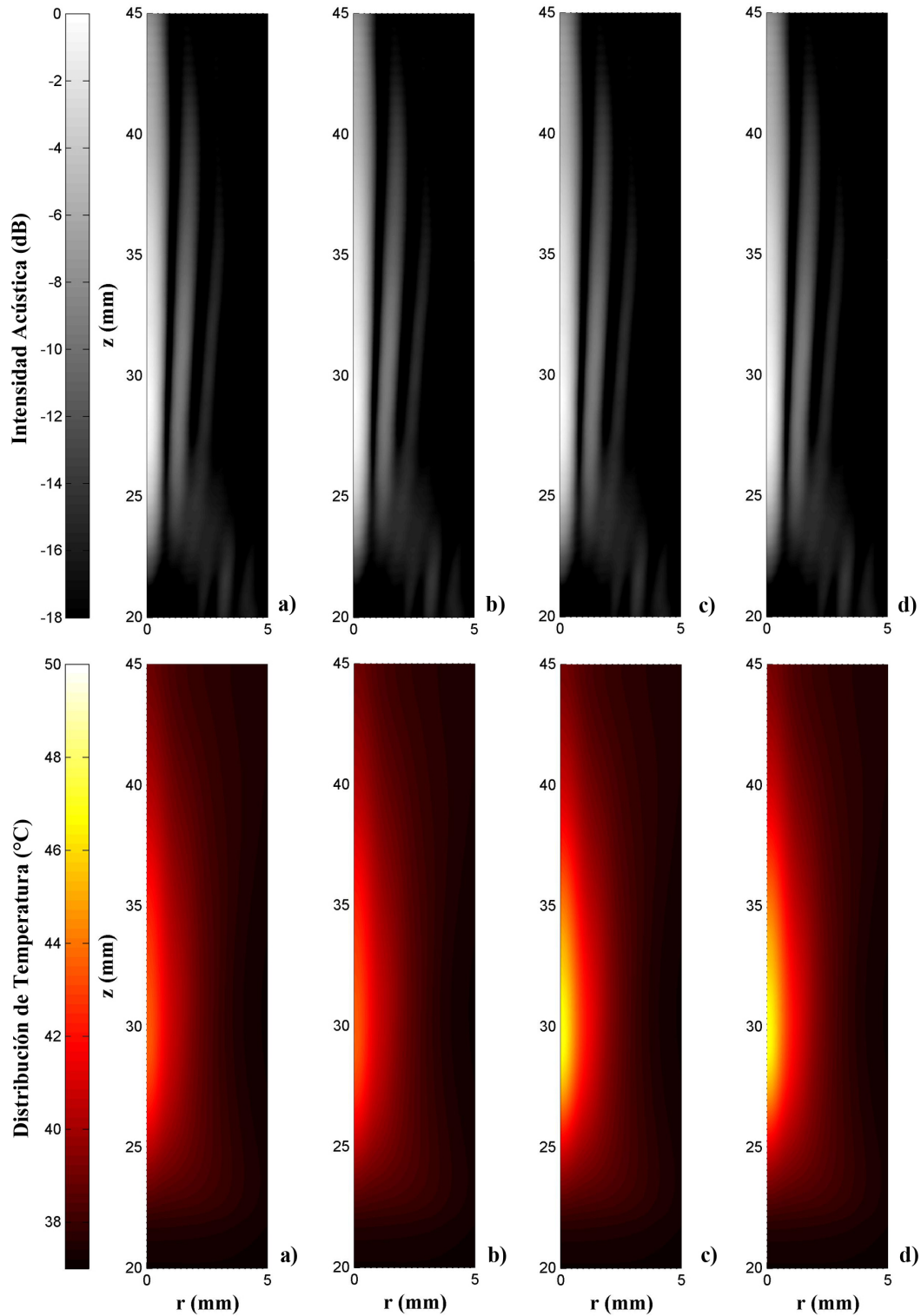
En la figura 6.9 se muestra el campo acústico y la distribución de temperatura generada por el arreglo de 4 anillos piezoeléctricos concéntricos después de 15 s en los cuatro casos estudiados en este trabajo. a) con los valores de velocidad de propagación y absorción del ultrasonido a 37 °C, b) con la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación y con la absorción a 37 °C, c) con la dependencia en temperatura de la absorción y con la velocidad de propagación a 37 °C, y d) con la dependencia en temperatura de ambas propiedades.

En la figura 6.9 se puede observar que el arreglo de anillos piezoeléctricos generó una zona focal bien definida en los cuatro casos. Analizando los datos de presión acústica a lo largo del eje  $z$  ( $r = 0$ ) se encuentra que la presión máxima está a 29.00 mm en todos los casos estudiados. Los retardos temporales para excitar los anillos fueron calculados para obtener un foco a 30 mm usando la velocidad de propagación del ultrasonido en hígado a una temperatura de 37°C y sin tomar en cuenta el resto de los tejidos. Los cambios en la velocidad de propagación de los otros tres tejidos (piel, grasa y músculo) en el modelo son los responsables de provocar las variaciones en el punto focal de la simulación.

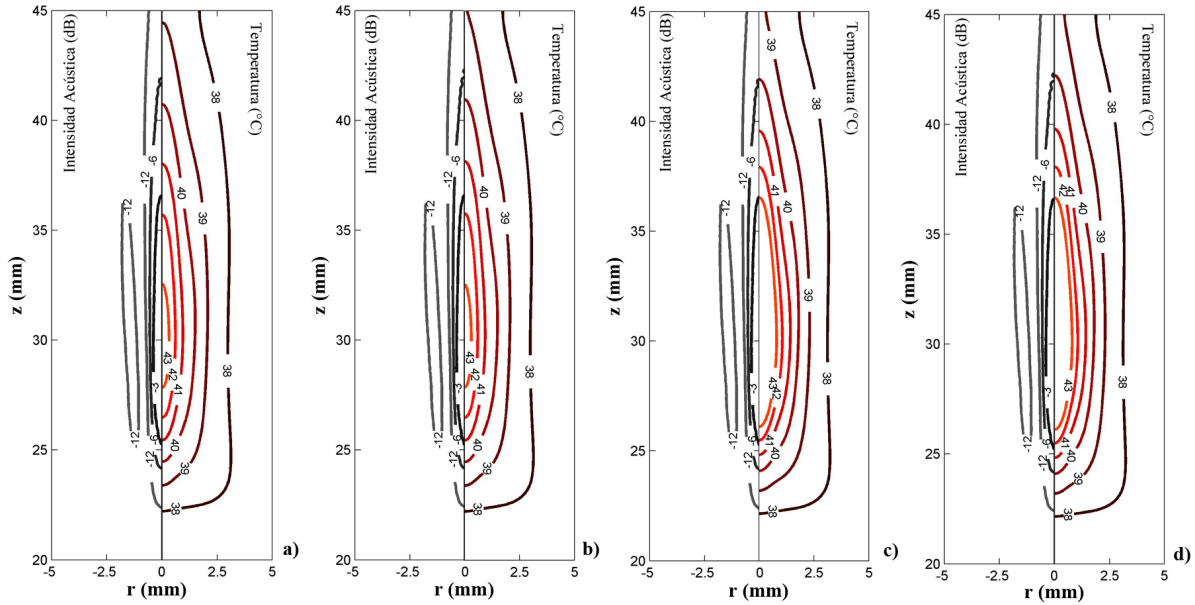
En el caso de la distribución de temperatura, el punto con la temperatura máxima se encuentra a 29.45 mm en todos los casos. De acuerdo a lo mostrado en la figura 6.9, se puede observar que se alcanzan mayores temperaturas en los casos *c* y *d* donde la dependencia térmica de la absorción acústica es tomada en cuenta.

Los efectos de la termodependencia de las propiedades acústicas puede ser mejor observada cuando se obtienen isolíneas desde -12 dB hasta -3 dB para las gráficas de campo acústico e isothermas desde 38 °C hasta 43 °C para la distribución de temperatura. En la figura 6.10 se puede observar una mejor definición de la zona focal cuando se incluyen estas líneas. La distribución de temperatura muestra un incremento del área de tratamiento (zona con temperatura mayor a 43 °C) cuando la termodependencia de la absorción es incluida en la solución de los modelos, ver figura 6.10.

De acuerdo a lo reportado por Shaw y ter Haar [133], uno de los parámetros más



**Figura 6.9:** Campo acústico (parte superior) y distribución de temperatura (parte inferior) obtenidos después de 15 segundos de simulación de temperatura para los casos a) con los valores de velocidad de propagación y absorción del ultrasonido a 37 °C, b) con la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación y con la absorción a 37 °C, c) con la dependencia en temperatura de la absorción y con la velocidad de propagación a 37 °C, y d) con la dependencia en temperatura de ambas propiedades.



**Figura 6.10:** Isolneas (desde -12 dB hasta -3 dB) e isotermas (desde 38 °C hasta 43 °C) en la zona focal del campo acústico y de la distribución de temperatura respectivamente. La zona con temperatura mayor a 43 °C incrementa cuando la termodependencia de la absorción del ultrasonido es incluida. La zona de hipertermia se ve afectada en 5.8 mm a lo largo y 1 mm a lo ancho.

importantes en la evaluación del campo acústico de un transductor focalizado es la zona focal; esta zona es la que se encuentra delimitada por el contorno donde la intensidad del ultrasonido decae hasta los -6 dB, esto es conocido como *full-width half-maximum* o FWHM por sus siglas en inglés. Basados en la definición de la zona FWHM se calcularon los ejes horizontal y vertical de la zona focal en cada uno de los casos. La inclusión de la termodependencia de la velocidad de propagación del ultrasonido (casos *b* y *d*) generó un incremento en la longitud del eje paralelo a  $z$ ; en el caso *a* éste midió 17.70 mm. En el caso del eje perpendicular a la dirección de propagación, no se presentaron cambios; este eje permaneció constante en todos los casos con un valor de 1 mm. Para el caso *a*, el área y volumen FWHM fueron 13.90 mm<sup>2</sup> y 9.27 mm<sup>3</sup> respectivamente. Estos valores se vieron afectados con en los casos *b* y *d* como consecuencia de la variación de longitud en el eje principal (paralelo a  $z$ ). Los incrementos fueron de 0.32 mm<sup>2</sup> en lo que respecta al área y de 0.21 mm<sup>3</sup> en volumen.

Al igual que en el caso del campo acústico, la distribución de temperatura fue analizada para encontrar las consecuencias de la inclusión de la termodependencia de las



propiedades acústicas. Se encontraron, al final de la simulación de cada uno de los casos, el punto de máxima temperatura, el largo ( $x$ ) y ancho ( $y$ ) de la zona de hipertermia (la zona con temperatura mayor a 43 °C). Con los resultados anteriores se calcularon el área y volumen de tratamiento; estos valores son reportados en la tabla 6.5

**Tabla 6.5:** Resumen de punto de máxima temperatura, el largo ( $x$ ) y ancho ( $y$ ) de la zona de hipertermia, así como área y volumen de tratamiento (la zona con temperatura mayor a 43 °C) en cada uno de los casos. Cuando se incluye en el modelo la termodependencia de la absorción se pueden apreciar mayores temperaturas e incrementos en la zona de hipertermia.

Caso	Temperatura	Largo de la zona de Hipertermia $x$ (mm)	Ancho de la zona de Hipertermia $y$ (mm)	Área de	Volumen de
	Máxima en el Foco (°C)			Hipertermia	Hipertermia
				$A = \frac{\pi \cdot a \cdot b}{4}$ (mm <sup>2</sup> )	$V = \frac{1}{6} \pi \cdot a \cdot b^2$ (mm <sup>3</sup> )
a	43.52	4.70	0.50	1.84	0.61
b	43.50	4.60	0.50	1.80	0.60
c	46.98	10.35	1.50	12.19	12.19
d	46.94	10.45	1.50	12.31	12.31

Mientras que en los casos  $a$  y  $b$  (sin la inclusión de la termodependencia de la absorción del ultrasonido) la máxima temperatura obtenida se encuentra cerca de los 43 °C, en los otros dos casos ( $c$  y  $d$ ) la máxima temperatura alcanzada fue de casi 47 °C. Como se puede observar, la termodependencia de la absorción provoca efectos importantes tanto en la máxima temperatura alcanzada como en el tamaño de la zona de tratamiento. La principal diferencia se encontró en la temperatura dentro del foco, ésta sufrió un incremento de cerca de 3.5 °C en los casos donde se incluyó la termodependencia de la absorción (casos  $c$  y  $d$ ). Por otra parte, cuando se incluye la dependencia térmica de la absorción, los ejes de la zona de hipertermia incrementaron su longitud en 5.8 mm y 1 mm en largo y ancho respectivamente. Esta misma variación dio como resultado que el área de hipertermia pasara de 1.84 mm<sup>2</sup> en el caso  $a$  a 12.31 mm<sup>2</sup> en el caso  $d$ .

### 6.3.2. Intensidad Acústica y Temperatura sobre el Eje $z$

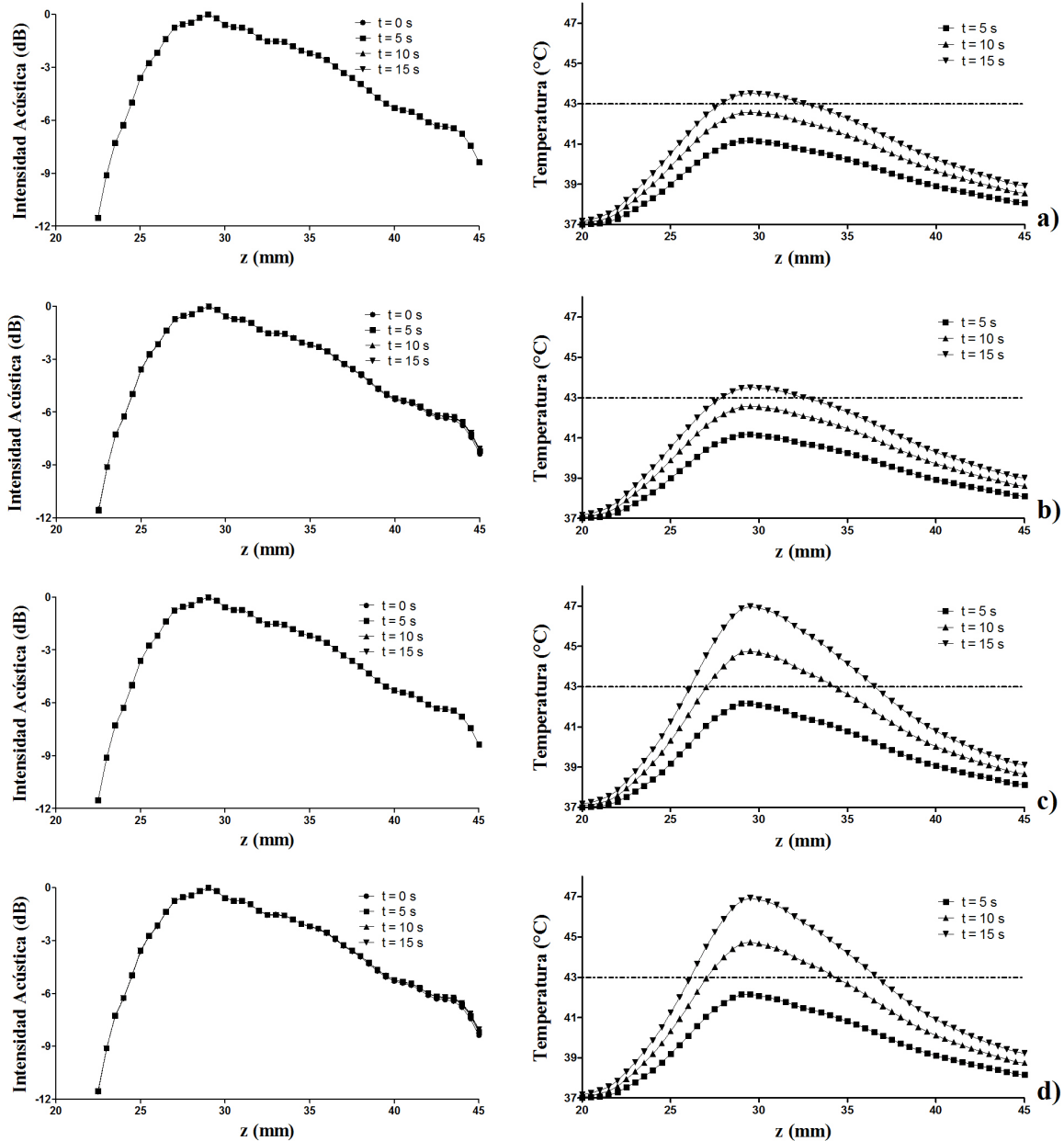
En la figura 6.11 se obtuvieron la intensidad acústica y la temperatura en el eje central de la geometría del modelo con la intención de comparar cualitativamente el foco a lo largo del eje  $z$  durante los 15 s de simulación de terapia; se muestran en la figura 6.11 datos de





la presión y la temperatura cada 5 segundos para cada uno de los casos resueltos.

De acuerdo con lo observado en las gráficas de intensidad acústica de la figura 6.11, la ubicación del foco del transductor no sufrió variaciones en ninguno de los cuatro casos resueltos; sin embargo, como era de esperarse, se pueden observar los efectos de la termodependencia de la velocidad de propagación en los casos *b* y *d*. En estos dos casos se presentaron variaciones de 0.94 dB y 0.93 dB al comparar los campos acústicos inicial ( $t = 0s$ ) y final ( $t = 15s$ ). Por otra parte, las gráficas térmicas muestran como la temperatura alcanza valores mayores mucho más rápido cuando la termodependencia de la absorción se encuentra presente en el modelo, ver tabla 6.5. La tasa de cambio promedio en el foco en los primeros 5 s fue de  $0.80\text{ }^{\circ}C/s$  para los casos *a* y *b*, y de  $1.11\text{ }^{\circ}C/s$  para los casos *c* y *d*. La tasa promedio en los siguientes 10 s fue de  $0.30\text{ }^{\circ}C/s$  para los primeros dos casos y de  $0.57\text{ }^{\circ}C/s$  para los últimos dos. Finalmente, mientras que en los casos donde no está presente la termodependencia de la temperatura se requirieron 10 s para alcanzar los  $43\text{ }^{\circ}C$ , en los casos sin la termodependencia de la absorción solamente se requirieron 5 s para alcanzar la misma temperatura.



**Figura 6.11:** Evolución de la intensidad acústica (izquierda) y de la temperatura (derecha) a lo largo del eje  $z$  después de 5 s, 10 s y 15 s. Al campo acústico no sufrió variaciones significativas al final de la simulación cuando se incluyó la termodependencia de la velocidad de propagación y la absorción del ultrasonido; sin embargo, la termodependencia de la absorción provocó que la temperatura incrementara con mayor velocidad. La tasa de cambio fue de  $0.46\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{s}$  para los casos *a* y *b*, y de  $0.73\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{s}$  para los casos *c* y *d*

---

### Conclusiones y Trabajo a Futuro

---

#### **7.1. Medición de la Velocidad de Propagación del Ultrasonido**

El modelo por elementos finitos permitió evaluar el desempeño del sistema de medición de la velocidad de propagación del ultrasonido empleando un reflector tipo escalón, definir las características de los materiales y la geometría del reflector tipo escalón. En el modelo se observó la interacción que se produce entre el ultrasonido y las puntas del reflector cuando se varía la frecuencia del ultrasonido y la distancia entre las puntas. Al mismo tiempo, sirvió para comprobar que las diferencias de impedancia acústica eran las adecuadas para producir los dos ecos necesarios para la medición de la velocidad de propagación.

Los resultados mostrados en las tablas 6.1 y 6.2 sugieren que las diferencias que existen entre los valores definidos en los modelos y los obtenidos después de la simulación son debidos a la resolución en los incrementos de tiempo definidos para la solución. Incremen-



tos de tiempo menores significarían que la solución del problema estuviera más cercana a la realidad, sin embargo, también significa un mayor consumo de recursos computacionales debido a que, en el caso de las soluciones temporales, se almacenan las soluciones de cada uno de los pasos resueltos.

El proceso de manufactura del reflector tipo escalón no fue el adecuado para alcanzar las condiciones ideales planteadas a partir de las simulaciones. Las diferencias entre la distancia deseada y la medida podrían significar un error relativo del 9% al medir la velocidad de propagación. Una vez corroborada la distancia real entre puntas del reflector tipo escalón se procedió a la medición en materiales de referencia y los resultados de velocidad de propagación en agua bidestilada desgasificada mostraron el sistema tiene un nivel de exactitud elevado con un error relativo máximo de 0.23% al comparar los valores obtenidos con los reportados por Bilaniuk y Wong [86]; esta diferencia se encuentra dentro de los rangos aceptables publicados por Bamber [108](5%) para equipos destinados a la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido en tejidos biológicos.

Los resultados de la medición de la termodependencia de la velocidad de propagación en tejidos biológicos entregó resultados interesantes. Si bien es difícil que los valores de velocidad sean los mismos para todos los miembros de una especie, la tendencia se repite en las 5 muestras empleadas para cada tejido con desviaciones estándar no mayores a los 15 m/s. Si bien el ajuste de los resultados a curvas de segundo orden muestra una mejor correlación, es necesario llevar la caracterización de los tejidos a niveles mayores de temperatura si es que se desea emplear estos datos en simulaciones de ablación de tejidos empleando ultrasonido donde las temperaturas alcanzadas están por encima de los 50 °C. De igual forma, se debe realizar un estudio de la contribución que tiene el proceso de descomposición de los tejidos en la velocidad de propagación del ultrasonido para tomarla en cuenta y agregarla al proceso de medición para tener mejores resultados. Finalmente, aunque este sistema de medición de la velocidad de propagación resulta ser mínimamente invasivo, tiene una exactitud aceptable, compensa o minimiza los errores debidos a la expansión térmica, disminuye el tiempo de medición y no requiere de la medición previa de una señal en materiales de referencia.



Si se desea realizar una caracterización *ex vivo*, es posible que sea necesario realizar modificaciones al sistema entre las cuales podrían estar el uso de frecuencias mayores en los transductores ultrasónicos para poder reducir la distancia entre las puntas del reflector tipo escalón o el aumento del diámetro de las puntas con la intención de evitar la inserción del reflector en la muestra biológica a estudiar. Factores como la perfusión sanguínea y la presencia de otros tejidos o líquido intersticial podrían significar variables que modifiquen el comportamiento de la velocidad de propagación en los tejidos cuando estos se encuentran *ex vivo*.

## 7.2. Medición de la Atenuación del Ultrasonido

Se comprobó el funcionamiento de la técnica de inserción modificada propuesta en esta tesis con ayuda de un *phantom* a base de grafito y agarosa. Los resultados muestran que las curvas obtenidas por ambas técnicas tienen la misma tendencia y las posibles variaciones caen dentro de la desviación estándar de la técnica de medición.

Se midió la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en muestras biológicas de tejidos suaves. Los resultados muestran comportamientos opuestos entre tejidos conformados principalmente por agua y grasa. La atenuación en grasa de cerdo muestra una tendencia descendente y mientras que la curva del hígado y el músculo muestra una pendiente ascendente cuando se habla de variación con respecto de la temperatura. Al igual que en el caso de la velocidad de propagación, es necesario realizar una caracterización más minuciosa para mejorar los resultados de la medición. La monitorización de los cambios de la atenuación debido al proceso de desnaturalización y la medición de segmentos del tejido con diferentes espesores son algunas de las cuestiones a tomar en cuenta para futuras mediciones. Aunque en este trabajo se realizó la medición de las propiedades de tejidos *in vitro*, se demostró que con la técnica de inserción modificada es posible aprisionar los tejidos *in vivo* para caracterizarlos y obtener una tendencia aceptable del comportamiento de la atenuación.



### 7.3. Simulación de Terapia Térmica

Si se analizan los resultados de los campos acústicos es fácil pensar que los cambios por la termodependencia de las propiedades acústicas también generaran variaciones en la localización del máximo de presión acústica; sin embargo, el uso de un arreglo de anillos piezoeléctricos para generar la focalización permite que el calentamiento sea mínimo en los tejidos más superficiales y máxima en el punto focal y sus alrededores. Como consecuencia, la velocidad de propagación del ultrasonido no se ve afectada y por lo tanto no el campo acústico sufre cambios mínimos. Los cambios de la velocidad de propagación en el punto focal (lugar de máximo calentamiento) afectan el campo acústico que se encuentra posterior a esta zona. Esto último es visible en la parte izquierda de la figura 6.11 en los casos *b* y *d*; se aprecian variaciones en el campo acústico después del punto focal alrededor de los 40 mm. Esto nos lleva a la conclusión de que los cambios debidos a termodependencia de las propiedades acústicas no afectarán la posición del punto focal del campo acústico.

Si se comparan las posiciones de los máximos en presión (29.00 mm) y temperatura (29.45 mm) podemos observar que existe cierta variación entre ellos. En este punto es importante mencionar la aportación de la conductividad térmica en este tipo de modelos; incluso una pequeña variación de esta propiedad provoca que las posiciones de los máximos en temperatura y presión no coincidan. Esto es aún más notorio cuando el campo acústico empleado no es simétrico. Esta falta de simetría con respecto al eje *z* puede ser observada en la figura 6.11 si se coloca una línea vertical a la altura del punto máximo de presión; la mayor parte de la energía estará después de esta línea y la asimetría provocará un gradiente de temperatura y por lo tanto la falta de concordancia entre los focos acústico y térmico.

Al comparar los resultados de los 4 casos resueltos en la simulación tenemos que cuando se incluye la termodependencia de la velocidad de propagación (casos *b* y *d*), la máxima temperatura alcanzada en el foco decreció 0.02 °C del caso *a* al caso *b* y 0.04 °C del caso *c* al caso *d*; esta variación puede ser entendida como un efecto disipador



provocado por la velocidad de propagación. En el caso del campo acústico, los efectos de la termodependencia de la velocidad de propagación se pueden observar en las dimensiones de la región FWHM. El área FWHM incrementó un 2.3% en los casos donde la termodependencia de la velocidad de propagación fue incluida.

Por otro lado, los efectos de la termodependencia de la absorción acústica fueron evidentes en las distribuciones de temperatura. La máxima temperatura focal incrementó considerablemente (casi 3.5 °C) cuando la dependencia térmica de la absorción fue tomada en cuenta en el modelo. En el caso del campo acústico, los efectos de la absorción pueden ser entendidos al analizar la interrelación entre las temperaturas alcanzadas y la termodependencia de las propiedades, caso *d*. La absorción produce incrementos de temperatura cuando el ultrasonido pasa a través de los tejidos biológicos, estos cambios en temperatura producen variaciones de la velocidad de propagación y, como consecuencia, cambios en los campos acústicos. Debido a que en este trabajo la variación de la velocidad de propagación en hígado es de solo 1.37 m/s en el rango de temperatura entre 40 °C y 47 °C, los campos acústicos no sufren cambios significativos. Los efectos de la absorción en los campos acústicos podrían ser más notorios si las variaciones de la termodependencia de la velocidad de propagación fueran mayores en el rango de evaluación.

Es importante hacer notar que algunas condiciones dentro del modelo fueron idealizadas y que además las propiedades acústicas de los tejidos biológicos deben ser consideradas como aproximaciones. Primero, como ya se había mencionado, dependiendo de la composición del tejido la absorción puede ser responsable de entre 60% y 80% de la atenuación. En el modelo, con la intención de simplificarlo, se consideró que la absorción es responsable por el 100% de la atenuación. Segundo, los valores de velocidad de propagación y absorción del ultrasonido en tejidos biológicos usados en este trabajo fueron medidos *in vitro*, i.e., sin tomar en cuenta la influencia de otros factores como la desnaturalización de los tejidos. De acuerdo con Lewin y Busk [134] las variaciones en valores de velocidad de propagación pueden ser de algunas decenas de m/s cuando se comparan mediciones de tejidos *in vivo* e *in vitro*. Finalmente, la perfusión sanguínea fue considerada como constante en el modelo y, durante una terapia real de hipertermia, este valor



cambia conforme sube la temperatura; la inclusión de esta característica podría resultar en temperaturas menores en el foco térmico así como en zonas de tratamiento menores a las predichas con el modelo.

Si bien se usaron propiedades de tejidos medidas *in vitro* y esto podría significar variaciones considerables con la realidad, es necesario hacer notar que la termodependencia de las propiedades acústicas está presente en los tejidos biológicos y puede ser un factor capaz de afectar el campo acústico y la distribución de temperatura generada durante un tratamiento de hipertermia o ablación.

Este estudio se enfocó en identificar la contribución de la termodependencia de sólo algunas de las propiedades acústicas de tejidos biológicos, velocidad de propagación y absorción del ultrasonido. Además de esto es importante considerar que existen otros factores a destacar. Por ejemplo, los datos de velocidad de propagación y absorción utilizados fueron obtenidos a partir de muestras de tejido porcino; si bien estos valores presentan un comportamiento termodependiente, éstos podrían encontrarse por arriba o por debajo de los propios de tejidos humanos. Por este motivo es importante continuar con una minuciosa y amplia caracterización de tejidos biológicos humanos para complementar y mejorar los modelos y sus resultados. La caracterización deberá incluir factores como la dependencia en temperatura de propiedades térmicas como la capacidad calorífica y la conductividad térmica. De igual manera se deben incluir a los modelos propiedades tanto acústicas como térmicas de células cancerígenas. Todo esto se deberá incluir en los modelos con la intención de evaluar la influencia de cada uno en los resultados y para obtener una mejor aproximación a la terapia real. Por otro lado, es posible que a temperaturas superiores a 50 °C o en otros tejidos, el comportamiento de la velocidad de propagación del ultrasonido sea diferente y presente variaciones considerables; consecuentemente, la contribución de estas variaciones podría ser mas notoria tanto en el campo acústico como en la distribución de temperatura obtenidos.

Los resultados de este trabajo de tesis demostraron que la termodependencia de la absorción del ultrasonido es un parámetro importante a tener en cuenta durante las terapias térmicas; la inclusión de esta propiedad resultó en variaciones considerables de





temperatura y en un incremento de la zona de tratamiento. Esto último podría generar que durante las terapias de hipertermia se presente sobrecalentamiento en regiones no deseadas y tejidos adyacentes. Las contribuciones de las propiedades termodependientes podrían ser más notorias en tratamientos con mayor duración. De igual forma es necesario una caracterización de tejidos biológicos más allá de los 50 °C para poder emplear los datos en la simulación de terapias de ablación; no se puede asegurar que la tendencia vista en las mediciones realizadas prosiga sin cambios, es posible que la desnaturalización y la deshidratación de las muestras a causa del calentamiento afecten el comportamiento de las propiedades.

Los resultados de esta tesis sientan las bases para comenzar a trabajar sobre arreglos de transductores focalizados que presentan como ventaja principal la mínima afectación de las zonas de entrada de la radiación debido a que se aplican menores cantidades de energía por elemento y además, se logra una mejor definición del foco. De igual forma se desarrollaron y comprobaron técnicas de medición de la velocidad de propagación y atenuación del ultrasonido en tejidos biológicos que, en caso de ser necesario, pueden ser empleadas en la caracterización de las muestras a mayores temperaturas o bien en la medición de propiedades de tejidos *in vivo*. Se proponen las bases para el inicio de la investigación en modelos multicapa, los cuales pueden ser comprobados mediante la construcción de phantoms o con la integración *in vitro* de diversos tejidos. Finalmente, aun que las propiedades ultrasónicas pueden variar entre tejidos de cerdo y de humano, es un hecho que la termodependencia de la velocidad de propagación y la absorción del ultrasonido deben ser consideradas en la planeación de terapias de hipertermia con la intención de evitar sobrecalentamiento en regiones no deseadas.

## 7.4. Trabajo a Futuro

Realizar multiples mediciones en una misma muestra al mismo tiempo. Se cuenta con el diseño de un sistema de medición multipunto concebido para medir las propiedades acústica termodependientes en 3, 4 o 5 puntos a la vez para elaborar un promedio de



los valores obtenidos por muestra y no por especie. Es necesario este desarrollo para que los diversos puntos del tejido a ser caracterizado se encuentre bajo el mismo proceso de calentamiento.

Los resultados de la termodependencia de las propiedades acústicas pueden ser contemplados en la evaluación y mejora de las técnicas de estimación no invasiva de temperatura con ultrasonido que se han venido estudiando y desarrollando en LAREMUS. De igual forma, la medición de las propiedades acústicas con los protocolos desarrollados en muestras biológicas antes y durante la aplicación de hipertermia *in vivo* contribuirán en la mejora de las técnicas de estimación no invasiva de la temperatura.

Planeación personalizada de tratamientos de hipertermia y ablación. Es necesario comenzar con la investigación y desarrollo sobre planeación de tratamientos con terapia térmica en modelos computacionales. Se partiría de la anatomía de cada paciente (obtenida por alguno de los métodos de imaginología) y se colocarían las propiedades acústicas de los tejidos involucrados así como de las células cancerígenas; con esto se podrían realizar terapias personalizadas que permitirían una mejor planeación de los tratamientos. Para esto sería necesario continuar con la caracterización de otros tejidos y comenzar con la caracterización acústica de tumores.

Continuar con el uso de arreglos de múltiples anillos o elementos para lograr diversos focos con los cuales se podrían tratar tumores a diferentes distancias con sólo un aplicador. Además, este tipo de arreglos presentan una menor afectación en la zona de entrada del ultrasonido así como una mejor definición del foco que evita dañar los tejidos circundantes.

---

## Bibliografía

---

- [1] OMS. (2012, Febrero) Cáncer, nota descriptiva no. 127. Online. Organización Mundial de la Salud. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>
- [2] INEGI. (2012, Febrero) Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Online. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [Online]. Available: <http://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=&source=web&cd=1&sqi=2&ved=0CCAQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.inegi.org.mx%2Finegi%2Fcontenidos%2Fespanol%2Fprensa%2FContenidos%2Festadisticas%2F2012%2Fcancer0.doc&ei=45w3UOnZMsPcggHZt4Bw&usg=AFQjCNFJvZ8qDIe6cdnpYJeuK7fZOchiMA&cad=rja>
- [3] ——. (2011, Febrero) Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer: Datos nacionales. Online. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [Online]. Available: <http://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=&source=web&cd=1&sqi=2&ved=0CCAQFjAA&url=http%3A%2F%2Fhttp://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2011/cancer11.asp?s=inegi&c=2781&ep=51>
- [4] P. R. Stauffer and S. N. Goldberg, "Introduction: Thermal ablation therapy," *Int J Hyperthermia*, vol. 20, no. 7, pp. 671–677, 2004.
- [5] P. R. Stauffer, "Evolving technology for thermal therapy of cancer," *Int J Hyperthermia*, vol. 21, no. 8, pp. 731–44, 2005, journal Article Review England the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group.
- [6] A. Vera, J. E. C. Quero, L. Leija, Y. H. Mier, and C. Marchal, "Electromagnetic hyperthermia, an alternative to cancer treatment: history, physical and biological aspects. hipertermia electromagnética, una alternativa para el tratamiento del cáncer: antecedentes, aspectos físicos y biológicos," *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, vol. XXII, no. 2, pp. 78–88, 2001.
- [7] J. O'Brien, W. D., C. X. Deng, G. R. Harris, B. A. Herman, C. R. Merritt, N. Sanghvi, and J. F. Zachary, "The risk of exposure to diagnostic ultrasound in postnatal subjects: thermal effects," *J Ultrasound Med*, vol. 27, no. 4, pp.



- 517–35; quiz 537–40, 2008, r37 EB002641-10/EB/NIBIB NIH HHS/United States R37 EB002641-11/EB/NIBIB NIH HHS/United States R37EB002641/EB/NIBIB NIH HHS/United States Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural Review United States official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine.
- [8] E. G. Moros, A. W. Dutton, R. B. Roemer, M. Burton, and K. Hynynen, “Experimental evaluation of two simple thermal models using hyperthermia in muscle in vivo,” *Int J Hyperthermia*, vol. 9, no. 4, pp. 581–98, 1993, nCI CA36428/CA/NCI NIH HHS/United States Journal Article Research Support, U.S. Gov’t, P.H.S. England the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group.
- [9] E. G. Moros, X. Fan, W. L. Straube, and R. J. Myerson, “Numerical and in vitro evaluation of temperature fluctuations during reflected-scanned planar ultrasound hyperthermia,” *Int J Hyperthermia*, vol. 14, no. 4, pp. 367–82, 1998, cA63121/CA/NCI NIH HHS/United States Journal Article Research Support, U.S. Gov’t, P.H.S. England the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group.
- [10] E. G. Moros, W. L. Straube, R. J. Myerson, and X. Fan, “The impact of ultrasonic parameters on chest wall hyperthermia,” *Int J Hyperthermia*, vol. 16, no. 6, pp. 523–38, 2000, cA63121/CA/NCI NIH HHS/United States CA71638/CA/NCI NIH HHS/United States Journal Article Research Support, U.S. Gov’t, P.H.S. England the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group.
- [11] W.-C. Cui, J. Tu, J.-H. Hwang, Q. Li, T.-B. Fan, D. Zhang, J.-H. Chen, and W.-Z. Chen, “In vivo hyperthermia effect induced by high-intensity pulsed ultrasound,” *Chinese Physics B*, vol. 21, no. 7, p. 074301, 2012.
- [12] C. J. Trujillo-Romero, S. Garcia-Jimeno, A. Vera, L. Leija, and J. Estelrich, “Using nanoparticles for enhancing the focusing heating effect of an external waveguide applicator for oncology hyperthermia: Evaluation in muscle and tumor phantoms,” *Progress in Electromagnetics Research-Pier*, vol. 121, pp. 343–363, 2011, times Cited: 2.
- [13] C. J. Trujillo-Romero, L. Leija, and A. Vera, “Fem modeling for performance evaluation of an electromagnetic oncology deep hyperthermia applicator when using monopole, inverted t, and plate antennas,” *Progress in Electromagnetics Research-Pier*, vol. 120, pp. 99–125, 2011, times Cited: 6.
- [14] D. C. Ellinger, F. S. Chute, and F. E. Vermeulen, “Evaluation of a semi-cylindrical solenoid as an applicator for radio-frequency hyperthermia,” *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, vol. 36, no. 10, pp. 987–994, 1989, 0018-9294.
- [15] R. M. Arthur, J. W. Trobaugh, W. L. Straube, and E. G. Moros, “Temperature dependence of ultrasonic backscattered energy in motion-compensated images,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 52, no. 10, pp. 1644–52, 2005, r21-CA90531/CA/NCI NIH HHS/United States In Vitro Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov’t United States.
- [16] J. C. Bamber and C. R. Hill, “Ultrasonic attenuation and propagation speed in mammalian tissues as a function of temperature,” *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 5, no. 2, pp. 149–157, 1979, 0301-5629 doi: DOI: 10.1016/0301-5629(79)90083-8.
- [17] T. Bowen, W. Connor, R. Nasoni, A. Pifer, and R. Sholes, “Measurement of the temperature dependence of the velocity of ultrasound in soft tissues,” in *Ultrasonic Tissue Characterization II*, M. Linzer, Ed. Washington, D.C.: US Government Printing Office, 1979, vol. Spec Publ 525, pp. 57–61.
- [18] C. A. Damianou, N. T. Sanghvi, F. J. Fry, and R. Maass-Moreno, “Dependence of ultrasonic attenuation and absorption in dog soft tissues on temperature and thermal dose,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 102, no. 1, pp. 628–634, 1997.



- [19] M. A. El-Brawany, D. K. Nassiri, G. Terhaar, A. Shaw, I. Rivens, and K. Lozhken, "Measurement of thermal and ultrasonic properties of some biological tissues," *J Med Eng Technol*, vol. 33, no. 3, pp. 249–56, 2009, 1216912/Department of Health/United Kingdom Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't England.
- [20] A. A. El-Sariti, J. A. Evans, and J. G. Truscott, "The temperature dependence of the speed of sound in bovine bone marrow at 750 khz," *Ultrasound Med Biol*, vol. 32, no. 6, pp. 985–9, 2006, journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't England.
- [21] K. H. Fraser, T. L. Poepping, A. McNeilly, I. L. Megson, and P. R. Hoskins, "Acoustic speed and attenuation coefficient in sheep aorta measured at 5-9 mhz," *Ultrasound Med Biol*, vol. 32, no. 6, pp. 971–80, 2006, journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't England.
- [22] S. A. Goss, R. L. Johnston, and F. Dunn, "Comprehensive compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues," *J Acoust Soc Am*, vol. 64, no. 2, pp. 423–57, 1978, journal Article Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review United states.
- [23] S. A. Lopez-Haro, L. Leija, L. Favari, and A. Vera, "Measurement of ultrasonic properties into biological tissues in the hyperthermia temperature range," *Physics Procedia*, vol. 3, no. 1, pp. 551–558, 2010, 1875-3892 doi: DOI: 10.1016/j.phpro.2010.01.071.
- [24] S. A. Lopez-Haro, L. Leija, and A. Vera, "Ultrasonic characterization of biological tissues in the temperature range of 26 °c to 50 °c," in *Health Care Exchanges, 2009. PAHCE 2009. Pan American*, México, D. F., 2009, pp. 78–83.
- [25] P. H. Nicholson and M. L. Bouxsein, "Effect of temperature on ultrasonic properties of the calcaneus in situ," *Osteoporos Int*, vol. 13, no. 11, pp. 888–92, 2002, aR44661/AR/NIAMS NIH HHS/United States Journal Article Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. England a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.
- [26] U. Techavipoo, T. Varghese, Q. Chen, T. A. Stiles, J. A. Zagzebski, and G. R. Frank, "Temperature dependence of ultrasonic propagation speed and attenuation in excised canine liver tissue measured using transmitted and reflected pulses," *J Acoust Soc Am*, vol. 115, no. 6, pp. 2859–65, 2004, 1 R01CA39224/CA/NCI NIH HHS/United States Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. United States.
- [27] R. T. Towa, R. J. Miller, L. A. Frizzell, J. F. Zachary, and J. O'Brien, W. D., "Attenuation coefficient and propagation speed estimates of rat and pig intercostal tissue as a function of temperature," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 49, no. 10, pp. 1411–20, 2002, hL58218/HL/NHLBI NIH HHS/United States Comparative Study Journal Article Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. United States.
- [28] H. H. Pennes, "Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm. 1948," *J Appl Physiol*, vol. 85, no. 1, pp. 5–34, 1998, biography Classical Article Clinical Trial Historical Article Journal Article United states 1985).
- [29] Wikipedia. (2010, June) Ultrasound range diagram. On line. [Online]. Available: [http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Ultrasound\\_range\\_diagram.svg&page=1](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=File:Ultrasound_range_diagram.svg&page=1)
- [30] B. W. Drinkwater and P. D. Wilcox, "Ultrasonic arrays for non-destructive evaluation: A review," *NDT & E International*, vol. 39, no. 7, pp. 525–541, 2006, 0963-8695 doi: DOI: 10.1016/j.ndteint.2006.03.006.
- [31] R. Goldman, *Ultrasonic Technology*, C. . Hold, Ed. Reinhold Publishing Corporation, 1962.



- [32] D. A. Christensen, *Ultrasonic bioinstrumentation*. John Wiley & Sons Inc, 1988.
- [33] D. Russell. (2012, May) Acoustics and vibration animations. On line. [Online]. Available: <http://www.acs.psu.edu/drussell/demos.html>
- [34] S. A. Goss, L. A. Frizzell, and F. Dunn, "Ultrasonic absorption and attenuation in mammalian tissues," *Ultrasound Med Biol*, vol. 5, no. 2, pp. 181–6, 1979, comparative Study Journal Article Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. England.
- [35] M. O. Culjat, D. Goldenberg, P. Tewari, and S. R. S, "A review of tissue substitutes for ultrasound imaging," *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 36(6), pp. 861–873, 2010.
- [36] A. Dukhin and P. Goetz, *Ultrasound for characterizing colloids: Particle sizing, zeta potential, rheology*, D. Möbius and R. Miller, Eds. Elsevier Science, 2002.
- [37] D. Colton and R. Kress, *Inverse acoustic and electromagnetic scattering theory*, A. M. Science, Ed. Springer, 1998.
- [38] C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, *Physical Principles of Medical Ultrasonics*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Ltd, 2004, vol. 1.
- [39] M. Gutierrez, L. Leija, and A. Vera, "Modeling the acoustic field of physiotherapy ultrasound transducers using non uniform acoustic pressure distributions," in *2010 7th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE 2010)*. Chiapas, Mexico: IEEE, Sep 8 2010.
- [40] HRSA. (2012, November) Organ procurement and transplantation network. U.S. Department of Health and Human Services. [Online]. Available: <http://optn.transplant.hrsa.gov/>
- [41] M. Sandeep. (2011, September) Organ preservation. Medscape Reference. [Online]. Available: <http://emedicine.medscape.com/article/431140-overview#showall>
- [42] H. Janssen, P. H. Janssen, and C. E. Broelsch, "Uw is superior to celsior and htk in the protection of human liver endothelial cells against preservation injury," *Liver Transpl*, vol. 10, no. 12, pp. 1514–23, 2004, evaluation Studies Journal Article United States official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.
- [43] —, "Celsior solution compared with university of wisconsin solution (uw) and histidine-tryptophan-ketoglutarate solution (htk) in the protection of human hepatocytes against ischemia-reperfusion injury," *Transpl Int*, vol. 16, no. 7, pp. 515–522, 2003.
- [44] F. Belzer and J. Southard, "Principles of solid-organ preservation by cold storage," *Transplantation*, vol. 45, no. 4, pp. 673–676, April 1988.
- [45] J. McAnulty, P. Vreugdenhil, J. Southard, and B. FO, "Use of uw cold storage solution for machine perfusion of kidneys," *Transplant Proc*, vol. 22, no. 2, pp. 458–459, 1990.
- [46] J. Karlsson, "Cryopreservation: freezing and vitrification," *Science*, vol. 296, pp. 655–656, 2002.
- [47] G. Fahy, B. Wowk, J. Wu, J. Phan, C. Rasch, and A. Chang, "Cryopreservation of organs by vitrification: perspectives and recent advances," *Cryobiology*, vol. 48, no. 2, pp. 157–178, 2004.



- [48] J. L. Roti Roti, "Cellular responses to hyperthermia (40-46°C): Cell killing and molecular events," *Int J Hyperthermia*, vol. 24, no. 1, pp. 3–15, 2008.
- [49] 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, no. 6, pp. 589–600, 2005, journal Article Review England the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group.
- [50] R. A. Steeves, "Hyperthermia in cancer therapy: where are we today and where are we going?" *Bull N Y Acad Med*, vol. 68, no. 2, pp. 341–50, 1992, journal Article Review United states.
- [51] C. J. Diederich, "Thermal ablation and high-temperature thermal therapy: Overview of technology and clinical implementation," *Int J Hyperthermia*, vol. 21, no. 8, pp. 745–753, 2005.
- [52] K. Obara, N. Matsumoto, M. Okamoto, H. Kobayashi, M. and Ikeda, H. Takahashi, Y. Katakura, K. Matsunaga, T. Ishii, C. Okuse, M. Suzuki, and F. Itoh, "Insufficient radiofrequency ablation therapy may induce further malignant transformation of hepatocellular carcinoma," *Hepatology International*, vol. 2, no. 1, pp. 116–123, 2008.
- [53] E. Y. K. Ng, "A review of thermography as promising non-invasive detection modality for breast tumor," *International Journal of Thermal Sciences*, vol. 48, no. 5, pp. 849–859, 2009, 1290-0729 doi: DOI: 10.1016/j.ijthermalsci.2008.06.015.
- [54] W. Grassi, D. Testi, D. Della Vista, and G. Torelli, "Calibration of a sheet of thermosensitive liquid crystals viewed non-orthogonally," *Measurement*, vol. 40, no. 9-10, pp. 898–903, 2007, 0263-2241 doi: DOI: 10.1016/j.measurement.2006.10.020.
- [55] B. Stea, T. C. Cetas, J. R. Cassady, A. N. Guthkelch, R. Iacono, B. Lulu, W. Lutz, E. Obbens, K. Rossman, J. Seeger, A. Shetter, and D. S. Shimm, "Interstitial thermoradiotherapy of brain-tumors - preliminary-results of a phase-i clinical-trial," *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, vol. 19, no. 6, pp. 1463–1471, 1990, iSI Document Delivery No.: EQ580 Times Cited: 22 Cited Reference Count: 50.
- [56] J. J. W. Lagendijk, "Hyperthermia treatment planning," *Physics in Medicine and Biology*, vol. 45, no. 5, p. R61, 2000.
- [57] D. Holder, *Electrical impedance tomography: methods, history, and applications*. Taylor & Francis, 2005.
- [58] J. Conway, "Electrical impedance tomography for thermal monitoring of hyperthermia treatment: an assessment using in vitro and in vivo measurements," *Clin Phys Physiol Meas*, vol. 8 Suppl A, pp. 141–6, 1987, journal Article England an official journal of the Hospital Physicists' Association, Deutsche Gesellschaft fur Medizinische Physik and the European Federation of Organisations for Medical Physics.
- [59] Y. Nawata, "Measurement of temperature distribution in a phantom body by an ultrasonic ct method," *Heat Transfer - Asian Research*, vol. 28, no. 6, pp. 463–473, 1999, 10.1002/(SICI)1523-1496(1999)28:6<463::AID-HTJ4>3.0.CO;2-3.
- [60] M. Kowalski, B. Behnia, A. G. Webb, and J. Jian-Ming, "Optimization of electromagnetic phased-arrays for hyperthermia via magnetic resonance temperature estimation," *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, vol. 49, no. 11, pp. 1229–1241, 2002, 0018-9294.
- [61] M. Nathan, H. Kullervo, and J. Ferenc, "Mri monitoring of the thermal ablation of tissue: Effects of long exposure times," *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 13, no. 3, pp. 421–427, 2001.



- [62] I. Marshall, B. Karaszewski, J. M. Wardlaw, V. Cvoró, K. Wartolowska, P. A. Armitage, T. Carpenter, M. E. Bastin, A. Farrall, and K. Haga, "Measurement of regional brain temperature using proton spectroscopic imaging: validation and application to acute ischemic stroke," *Magnetic Resonance Imaging*, vol. 24, no. 6, pp. 699–706, 2006, 0730-725X doi: DOI: 10.1016/j.mri.2006.02.002.
- [63] J. Delannoy, C. Ching-Nien, R. Turner, R. L. Levin, and D. L. Bihan, "Noninvasive temperature imaging using diffusion mri," *Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 19, no. 2, pp. 333–339, 1991, 10.1002/mrm.1910190224.
- [64] M. Nathan, L. K. Randy, and H. Kullervo, "Mri monitoring of heating produced by ultrasound absorption in the skull: In vivo study in pigs," *Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 51, no. 5, pp. 1061–1065, 2004.
- [65] I. Bazan, M. Vazquez, A. Ramos, A. Vera, and L. Leija, "A performance analysis of echographic ultrasonic techniques for non-invasive temperature estimation in hyperthermia range using phantoms with scatterers," *Ultrasonics*, vol. 49, no. 3, pp. 358–76, 2009, comparative Study Evaluation Studies Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't Netherlands.
- [66] R. M. Arthur, W. L. Straube, J. D. Starman, and E. G. Moros, "Noninvasive temperature estimation based on the energy of backscattered ultrasound," *Med Phys*, vol. 30, no. 6, pp. 1021–9, 2003, r01 CA63121/CA/NCI NIH HHS/United States R01 CA71638/CA/NCI NIH HHS/United States R21 CA90531/CA/NCI NIH HHS/United States Comparative Study Evaluation Studies Journal Article Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Validation Studies United States.
- [67] 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, no. 4 Pt 1, pp. 2514–21, 1996, comparative Study Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't United states.
- [68] R. Maass-Moreno, C. A. Damianou, and N. T. Sanghvi, "Tissue temperature estimation in-vivo with pulse-echo," in *Ultrasonics Symposium, 1995. Proceedings., 1995 IEEE*, vol. 2, 1995, pp. 1225–1229 vol.2.
- [69] R. Seip and E. S. Ebbini, "Noninvasive estimation of tissue temperature response to heating fields using diagnostic ultrasound," *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 42, no. 8, pp. 828–39, 1995, 2 S07 RR07050-25/RR/NCRR NIH HHS/United States Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. United states.
- [70] M. I. Gutierrez, "Modelado del calentamiento de radiación acústica generada por equipos de fisioterapia ultrasónica, validación experimental en medios homogéneos y diseño de la instrumentación," Ph.D. dissertation, Cinvestav - IPN, Ingeniería Eléctrica - Bioelectrónica, 2011.
- [71] Ablatherm-HIFU. (2012, October) History of ablatherm hifu. On line. [Online]. Available: <http://www.hifu.ca/history-ablatherm-hifu.htm>
- [72] J. Caballero, P. Borrat, M. Paraira, L. Mart<sup>Á</sup> and J. Ristol, "Ultrasonidos extracorpóreos de alta intensidad: alternativa terapéutica del tumor renal," *Actas Urol Esp*, vol. 34, pp. 403 – 411, 05 2010.
- [73] G. Pelosi, "The finite-element method, part i: R. l. courant [historical corner]," *Antennas and Propagation Magazine, IEEE*, vol. 49, no. 2, pp. 180 – 182, April 2007.
- [74] E. Stein, "Olgierd c. zienkiewicz, a pioneer in the development of the finite element method in engineering science," *Steel Construction*, vol. 2, no. 4, pp. 264–272, 2009. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1002/stco.200910036>





- [75] G. J. F. Gilbert Strang, *An Analysis of the Finite Element Method*, W.-C. Press, Ed. Prentice Hall, 1973.
- [76] J. J. Pierce, "Quantitative characterization of tissue using ultrasound," *IEEE Trans Nuclear Science*, vol. 27, no. 3, pp. 1168–1175, 1980, journal Article.
- [77] V. Singh, S. Chauhan, S. Yadav, and S. Chakarvarti, "Ultrasonic velocity as a non-invasive measure of temperature in biological media," *Applied Acoustics*, vol. 29, no. 1, pp. 73–80, 1990, uK Journal-Paper English.
- [78] G. Guglielmi and F. de Terlizzi, "Quantitative ultrasound in the assessment of osteoporosis," *European Journal of Radiology*, vol. 71, no. 3, pp. 425–431, 2009, 0720-048X doi: 10.1016/j.ejrad.2008.04.060.
- [79] Y. Itoh and K. Akamatsu, "Relationships between echo level and histologic characteristics in small hepatocellular carcinomas," *Journal of Clinical Ultrasound*, vol. 26, no. 6, pp. 295–301, 1998, iSI Document Delivery No.: ZT516 Times Cited: 1 Cited Reference Count: 35.
- [80] R. Kuc, "Clinical application of an ultrasound attenuation coefficient estimation technique for liver pathology characterization," *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, vol. BME-27, no. 6, pp. 312–319, 1980, 0018-9294.
- [81] M. Moris, A. Peretz, R. Tjeka, N. Negaban, M. Wouters, and P. Bergmann, "Quantitative ultrasound bone measurements - normal values and comparison with bone-mineral density by dual x-ray absorptiometry," *Calcified Tissue International*, vol. 57, no. 1, pp. 6–10, 1995, iSI Document Delivery No.: RE820 Times Cited: 78 Cited Reference Count: 41.
- [82] K. Hynynen, D. Deyoung, M. Kundrat, and E. Moros, "The effect of blood perfusion rate on the temperature distributions induced by multiple, scanned and focused ultrasonic beams in dogs' kidneys in vivo," *Int J Hyperthermia*, vol. 5, no. 4, pp. 485–497, 1989.
- [83] B. Davies, S. Chauhan, and M. Lowe, "A robotic approach to hifu based neurosurgery," in *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention MICCAI 1998*, ser. Lecture Notes in Computer Science, W. Wells, A. Colchester, and S. Delp, Eds. Springer Berlin - Heidelberg, 1998, vol. 1496, pp. 386–396.
- [84] R. Maass-Moreno, C. A. Damianou, and N. T. Sanghvi, "Noninvasive temperature estimation in tissue via ultrasound echo-shifts. part ii. in vitro study," *J Acoust Soc Am*, vol. 100, no. 4 Pt 1, pp. 2522–30, 1996, in Vitro Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't United states.
- [85] G. Benedetto, R. Gavioso, P. Albo, S. Lago, D. Ripa, and R. Spagnolo, "Speed of sound in pure water at temperatures between 274 and 394 k and at pressures up to 90 mpa," *International Journal of Thermophysics*, vol. 26, no. 6, pp. 1667–1680, 2005, 10.1007/s10765-005-8587-2.
- [86] 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, no. 3, pp. 1609–1612, 1993.
- [87] V. A. Del Grosso and C. W. Mader, "Speed of sound in pure water," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 52, no. 5B, pp. 1442–1446, 1972.
- [88] O. W. Haney MJ, *Tissue characterization with ultrasound*. CRC Press, 1986, vol. 1, ch. Temperature dependency of ultrasonic propagation properties in biological materials, pp. 15 –51.
- [89] M. O'Donnell, J. W. Mimbs, B. E. Sobel, and J. G. Miller, "Ultrasonic attenuation of myocardial tissue: dependence on time after excision and on temperature," *J Acoust Soc Am*, vol. 62, no. 4, pp. 1054–7, 1977, journal Article Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. United states.



- [90] M. B. Tavakoli and J. A. Evans, "Dependence of the velocity and attenuation of ultrasound in bone on the mineral content," *Physics in medicine and biology*, vol. 36, pp. 1529–1537, 1991.
- [91] J. C. Bamber, "Attenuation and absorption," in *Physical Principles of Medical Ultrasonics*, 2nd ed., C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, Eds. England: John Wiley & Sons, 2004, pp. 93 – 166.
- [92] R. M. Arthur, W. L. Straube, J. W. Trobaugh, and E. G. Moros, "In vivo change in ultrasonic backscattered energy with temperature in motion-compensated images," *Int J Hyperthermia*, vol. 24, no. 5, pp. 389–98, 2008, r01-CA107558/CA/NCI NIH HHS/United States R21-CA90531/CA/NCI NIH HHS/United States Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural England the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group.
- [93] E. L. Madsen, J. A. Zagzebski, and G. R. Frank, "Oil-in-gelatin dispersions for use as ultrasonically tissue-mimicking materials," *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 8, no. 3, pp. 277–287, 1982, 0301-5629 doi: DOI: 10.1016/0301-5629(82)90034-5.
- [94] A. Zak, M. Dzida, M. Zorebski, and S. Ernst, "A high pressure device for measurements of the speed of sound in liquids," *Review of Scientific Instruments*, vol. 71, no. 4, pp. 1756–1765, 2000.
- [95] P. He and J. Zheng, "Acoustic dispersion and attenuation measurement using both transmitted and reflected pulses," *Ultrasonics*, vol. 39, no. 1, pp. 27–32, 2001, 0041-624X doi: 10.1016/S0041-624X(00)00037-8.
- [96] P. He, "Simulation of ultrasound pulse propagation in lossy media obeying a frequency power law," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 45, no. 1, pp. 114–25, 1998, journal Article United States.
- [97] G. t. Haar and C. Coussios, "High intensity focused ultrasound: Past, present and future," *International Journal of Hyperthermia*, vol. 23, no. 2, pp. 85–87, 2007, 0265-6736.
- [98] G. T. Haar and C. Coussios, "High intensity focused ultrasound: physical principles and devices," *Int J Hyperthermia*, vol. 23, no. 2, pp. 89–104, 2007, historical Article Journal Article Review England the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group.
- [99] F. P. Curra, P. D. Mourad, V. A. Khokhlova, R. O. Cleveland, and L. A. Crum, "Numerical simulations of heating patterns and tissue temperature response due to high-intensity focused ultrasound," *Ieee Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control*, vol. 47, no. 4, pp. 1077–1089, 2000, iSI Document Delivery No.: 334FK Times Cited: 40 Cited Reference Count: 34.
- [100] D. H. Li, G. F. Shen, J. F. Bai, and Y. Z. Chen, "Focus shift and phase correction in soft tissues during focused ultrasound surgery," *Ieee Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 58, no. 6, pp. 1621–1628, 2011, iSI Document Delivery No.: 765UA Times Cited: 0 Cited Reference Count: 23.
- [101] I. M. Hallaj, R. O. Cleveland, and K. Hynynen, "Simulations of the thermo-acoustic lens effect during focused ultrasound surgery," *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 109, no. 5, pp. 2245–2253, 2001, iSI Document Delivery No.: 431AC Times Cited: 32 Cited Reference Count: 35 Part 1.
- [102] LMRIH. (2012, October) Hyperthermia history. On line. Latvian Medical Research Institute of Hyperthermia. [Online]. Available: [http://hyperthermia-treatment.com/aids\\_history.html](http://hyperthermia-treatment.com/aids_history.html)
- [103] CMT. (2012, October) Fep-by hifu therapy system overview. On Line. China Medical Technologies. [Online]. Available: <http://www.chinameditech.com/eng/product/fep.by.htm>



- [104] SUMO. (2012, October) Hifu - 2001. On Line. SUMO. [Online]. Available: <http://www.sumo.com.hk/HIFU-2001.html>
- [105] FSI. (2012, October) Sonablate 500. On Line. Focus Surgery, Inc. [Online]. Available: <http://www.focus-surgery.com/Sonablate500.htm>
- [106] EDAP-TMS. (2012, October) Ablatherm hifu features, treatment procedure and safety features. On Line. EDAP TMS. [Online]. Available: <http://www.edap-tms.com/products-services/ablatherm-hifu/ablatherm-hifu-device.html>
- [107] M. Vazquez, A. Ramos, L. Leija, and A. Vera, "Noninvasive temperature estimation in oncology hyperthermia using phase changes in pulse-echo ultrasonic signals," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 45, pp. 7991–1998, 2006.
- [108] J. C. Bamber, "Speed of sound," in *Physical Principles of Medical Ultrasonics*, 2nd ed., C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, Eds. England: John Wiley & Sons, 2004, pp. 167–190.
- [109] E. P. Papadakis, "New, compact instrument for pulse-echo-overlap measurements of ultrasonic wave transit times," *Review of Scientific Instruments*, vol. 47, no. 7, pp. 806–813, 1976.
- [110] W. Ke and S. Chaki, "Finite element simulation of the critically refracted longitudinal wave in a solid medium," in *10ème Congrès Français d'Acoustique*, 12-16 April 2010.
- [111] P. M. Shankar, "A model for ultrasonic scattering from tissues based on the k distribution," *Phys Med Biol*, vol. 40, no. 10, pp. 1633–49, 1995.
- [112] M. I. Gutierrez, H. Calas, A. Ramos, A. Vera, and L. Leija, "Acoustic field modeling for physiotherapy ultrasound applicators by using approximated functions of measured non-uniform radiation distributions," *Ultrasonics*, vol. 52, no. 6, pp. 767–777, 2012, 0041-624X doi: 10.1016/j.ultras.2012.02.006.
- [113] 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, no. 1-8, pp. 553–558, 2000, 0041-624X doi: DOI: 10.1016/S0041-624X(99)00072-4.
- [114] A. Ramos, A. Ruáz, J. L. San Emeterio, and P. T. Sanz, "Pspice circuitual modelling of ultrasonic imaging transceivers including frequency-dependent acoustic losses and signal distortions in electronic stages," *Ultrasonics*, vol. 44, no. Supplement 1, pp. e995–e1000, 2006, 0041-624X doi: DOI: 10.1016/j.ultras.2006.05.045.
- [115] J. M. M. Pinkerton, "A pulse method for the measurement of ultrasonic absorption in liquids: Results for water," *Nature*, vol. 160, no. 4056, pp. 128–129, 1947.
- [116] R. W. Timme, "Speed of sound in castor-oil," *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 52, no. 3, pp. 989–992, 1972, times Cited: 7.
- [117] E. L. Madsen, G. R. Frank, P. L. Carson, P. D. Edmonds, L. A. Frizzell, B. A. Herman, F. W. Kremkau, J. O'Brien, W. D., K. J. Parker, and R. A. Robinson, "Interlaboratory comparison of ultrasonic attenuation and speed measurements," *J Ultrasound Med*, vol. 5, no. 10, pp. 569 – 576, 1986.
- [118] D. Haemmerich, I. d. Santos, D. J. Schutt, J. G. Webster, and D. M. Mahvi, "In vitro measurements of temperature-dependent specific heat of liver tissue," *Medical Engineering & Physics*, vol. 28, no. 2, pp. 194–197, 2006, 1350-4533 doi: 10.1016/j.medengphy.2005.04.020.
- [119] K. R. Holmes, "Thermal properties appendix," <http://users.ece.utexas.edu/~valvano/research/Thermal.pdf>, Tech. Rep., Last accessed 11 July 2012.



- [120] A. R. Moritz, "Studies of thermal injury: Iii. the pathology and pathogenesis of cutaneous burns. an experimental study," *Am J Pathol*, vol. 23, no. 6, pp. 915–41, 1947, journal Article United States.
- [121] S. A. Lopez-Haro, A. Vera, and L. Leija, "Speed of sound measurement of biological tissue by using fixed reflectors. medición de la velocidad de propagación del ultrasonido en tejido animal empleando reflectores fijos." in *Simposio CENAM 2010*. Centro Nacional de Metrología, 2010.
- [122] S. M. Bunce, A. P. Moore, and A. D. Hough, "M-mode ultrasound: a reliable measure of transversus abdominis thickness," *Clin Biomech*, vol. 17, no. 4, pp. 315–7, 2002, comparative Study Journal Article England.
- [123] M. El-Domyati, S. Attia, F. Saleh, D. Brown, D. E. Birk, F. Gasparro, H. Ahmad, and J. Uitto, "Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin," *Exp Dermatol*, vol. 11, no. 5, pp. 398–405, 2002, comparative Study Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't Denmark.
- [124] H. Kanehisa, M. Miyatani, K. Azuma, S. Kuno, and T. Fukunaga, "Influences of age and sex on abdominal muscle and subcutaneous fat thickness," *Eur J Appl Physiol*, vol. 91, no. 5-6, pp. 534–7, 2004, clinical Trial Controlled Clinical Trial Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't Germany.
- [125] S. K. Kim, H. J. Kim, K. Y. Hur, S. H. Choi, C. W. Ahn, S. K. Lim, K. R. Kim, H. C. Lee, K. B. Huh, and B. S. Cha, "Visceral fat thickness measured by ultrasonography can estimate not only visceral obesity but also risks of cardiovascular and metabolic diseases," *Am J Clin Nutr*, vol. 79, no. 4, pp. 593–9, 2004, clinical Trial Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't United States.
- [126] A. Laurent, F. Mistretta, D. Bottiglioli, K. Dahel, C. Goujon, J. F. Nicolas, A. Hennino, and P. E. Laurent, "Echo-graphic measurement of skin thickness in adults by high frequency ultrasound to assess the appropriate microneedle length for intradermal delivery of vaccines," *Vaccine*, vol. 25, no. 34, pp. 6423–30, 2007, journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't Netherlands.
- [127] N. J. Surovy, M. M. Billah, S. Haowlader, G. D. Al-Quaderi, and K. S. Rabbani, "Determination of abdominal fat thickness using dual electrode separation in the focused impedance method (fim)," *Physiol Meas*, vol. 33, no. 5, pp. 707–18, 2012, journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't England.
- [128] D. S. Teyhen, J. L. Rieger, R. B. Westrick, A. C. Miller, J. M. Molloy, and J. D. Childs, "Changes in deep abdominal muscle thickness during common trunk-strengthening exercises using ultrasound imaging," *J Orthop Sports Phys Ther*, vol. 38, no. 10, pp. 596–605, 2008, journal Article United States.
- [129] N. N. Abboud, G. L. Wojcik, D. K. Vaughan, J. Mould, D. J. Powell, and L. Nikodym, "Finite element modeling for ultrasonic transducers," *Proc. SPIE Int. Symp. Medical Imaging*, pp. 19–42, February 1998.
- [130] S. Jeyaraman and G. Baskaran, "Ultrasonic beam steering in isotropic media," in *COMSOL Users Conference*, Bangalore, 2006.
- [131] T. Jiao, H. Wang, Y. Zhang, X. Yu, H. Xue, H. Lv, X. Jing, H. Zhan, and J. Wang, "A coaxial-slot antenna for invasive microwave hyperthermia therapy," *Journal of Biomedical Science and Engineering*, vol. 5, no. 4, pp. 198–202, 2012.
- [132] G. ter Haar, "Therapeutic ultrasound," *European Journal of Ultrasound*, vol. 9, no. 1, pp. 3–9, 1999.
- [133] A. Shaw and G. R. Ter Haar, *Requirements for measurement standards in High Intensity Focused (HIFU) Ultrasound Fields*, National Physical Laboratory (NPL), 2006.



- [134] P. A. Lewin and H. Busk, "In vivo ultrasonic measurements of tissue properties," in *Ultrasonics Symposium*, 1982, pp. 709–712.



# APÉNDICES

## APÉNDICE A

---

### Publicaciones en Revistas Internacionales

---

*Modeling the thermo-acoustic effects of thermal-dependent speed of sound and acoustic absorption of biological tissues during focused ultrasound hyperthermia*

**S. A. López-Haro, M. I. Gutiérrez,  
A. Vera & L. Leija**

**Journal of Medical Ultrasonics**

ISSN 1346-4523

J Med Ultrasonics

DOI 10.1007/s10396-015-0643-3





**Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by The Japan Society of Ultrasonics in Medicine. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at [link.springer.com](http://link.springer.com)".**

# Modeling the thermo-acoustic effects of thermal-dependent speed of sound and acoustic absorption of biological tissues during focused ultrasound hyperthermia

S. A. López-Haro<sup>1</sup> · M. I. Gutiérrez<sup>2</sup> · A. Vera<sup>1</sup> · L. Leija<sup>1</sup>

Received: 3 November 2014 / Accepted: 11 May 2015  
© The Japan Society of Ultrasonics in Medicine 2015

## Abstract

**Purpose** To evaluate the effects of thermal dependence of speed of sound (SOS) and acoustic absorption of biological tissues during noninvasive focused ultrasound (US) hyperthermia therapy.

**Methods** A finite element (FE) model was used to simulate hyperthermia therapy in the liver by noninvasive focused US. The model consisted of an ultrasonic focused transducer radiating a four-layer biological medium composed of skin, fat, muscle, and liver. The acoustic field and temperature distribution along the layers were obtained after 15 s of hyperthermia therapy using the bio-heat equation. The model solution was found with and without the thermal dependence of SOS and acoustic absorption of biological tissues.

**Results** The inclusion of the thermal dependence of the SOS generated an increment of 0.4 mm in the longitudinal focus axis of the acoustic field. Moreover, results indicate an increment of the hyperthermia area (zone with temperature above 43 °C), and a maximum temperature difference of almost 3.5 °C when the thermal dependence of absorption was taken into account.

**Conclusion** The increment of the achieved temperatures at the treatment zone indicated that the effects produced by

the thermal dependence of SOS and absorption must be accounted for when planning hyperthermia treatment in order to avoid overheating undesired regions.

**Keywords** Absorption · Speed of sound · Temperature dependence · Finite element · Hyperthermia · Ultrasound

## Introduction

In recent years, thermal therapy has emerged as a promising tool against cancer. This therapy includes all treatments based on heat transfer, and it can be classified according to the temperatures achieved and their effects in the human body. Stauffer [1] proposes a classification for thermal therapies from cryotherapy ( $T < -50$  °C) to thermal ablation ( $T > 50$  °C); hyperthermia is included in this classification. The purpose of hyperthermia is to increase the temperature of cancer cells between 4 and 8 °C above their regular temperature during a specific period of time in order to produce inability of cell division [2] and sensitization to chemotherapy and radiotherapy [1–3]. Hyperthermia effectiveness depends on factors like applied energy, treatment time, temperature maintenance, and biological tissue properties [2, 4, 5], among others. These treatments must have a well-defined treatment zone in order to avoid damage to surrounding tissues; moreover, these treatments should be either null or minimally invasive [6, 7].

Therapeutic hyperthermia can be produced by ultrasound (US) by means of external, interstitial, and intracavitary transducers [1]. External thermal therapy can be applied using high-intensity focused ultrasound (HIFU) [8, 9], which involves focusing the US on a point by means of spherical transducers (geometric focalization) or using transducer arrangements [10, 11]. These arrangements can

✉ S. A. López-Haro  
slopezh84@gmail.com

<sup>1</sup> Electrical Engineering Department, Bioelectronics Section, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Cinvestav-IPN, Av. IPN 2508, Col. San Pedro Zacatenco, Del. Gustavo A. Madero, 07360 Mexico City, Mexico

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Rehabilitación, CONACyT, Subdirección de Investigación Tecnológica, Calz. México Xochimilco No. 289, Col. Arenal de Guadalupe, Del. Xochimilco, 14389 Mexico City, Mexico

be focused by spatial configurations or with delays in the excitation of the transducers.

Temperature distributions induced by HIFU transducers in biological tissues have been studied by several groups. Hynynen et al. [12] studied the blood perfusion effects in the temperature distribution when an ultrasonic focused transducer radiates an in vivo dog kidney. Results were compared with a model using the bio-heat equation, from which they found greater differences between experimental and modeled heating when the blood perfusion effects were not included. On the other hand, Davies et al. [10] used a simulation process to evaluate the acoustic field of a multi-transducer HIFU robotic system used as a neurosurgery tool to treat subcortical injuries. They obtained the acoustic field of the multi-transducer system and finally suggested adding other characteristics to the model as acoustic attenuation, tissue heterogeneity, and scatterers of each tissue in order to have a model closer to in vivo situations.

The effects of nonlinear wave propagation [13], refraction, and sample thickness variations due to heating [14], as well as speed of sound (SOS) changes in acoustic field and temperature distribution [14, 15] have been studied recently. Hallaj et al. [15] used the data of temperature-dependent SOS (obtained by Bamber and Hill [16]) and fixed values of acoustic absorption to study the thermal lens effect produced by SOS variations in a biological tissue model with two layers during HIFU radiation. They found variations in the focus size and position due to SOS thermal dependence. More recently, Li et al. [14] used numerical methods to calculate focus shifts in multiple layered tissues and proposed a formula to estimate the focus variations in a model with two layers (water and tissue). They concluded that even without the thermal dependence of SOS, the acoustic speed and thickness of tissues can provoke a focus shift during focused ultrasound surgery.

In this work, finite element (FE) modeling was used in order to evaluate the effects of two thermal-dependent acoustic properties (SOS and acoustic absorption) of in vitro biological tissues in a transducer acoustic field, and the temperature distribution generated when applying hyperthermia treatment. Considering that the acoustic absorption is partly responsible for tissue heating and the SOS for focus displacement, we decided to include the thermal dependence of both acoustic properties in order to compare their contribution to the heating process. These properties were taken into account in the simulation of focused noninvasive US hyperthermia treatments. Our group has previously measured the absorption and SOS thermal dependence of in vitro pig liver, muscle, and fat samples; the results from those studies were used in the multi-layered FE model presented in this work.

We modeled the temperature elevation in biological tissues heated by an annular array transducer composed of four

concentric rings focused using time delays. Pennes' bio-heat transfer equation [17] was used to find the temperature distribution along the four tissue layers, which represent skin, fat, muscle, and liver, in that same order. Temperature distributions and acoustic fields with and without considering thermal dependency of acoustic properties were obtained to determine the quantitative effect in the final therapy.

## Materials and methods

An FE model was used to simulate noninvasive hyperthermia therapy applied with a US focused transducer. The US energy must pass through different tissue layers before reaching the treatment zone. In the present work, the model simulated liver US hyperthermia therapy with the focus of the treatment zone at 30 mm from the surface. Annular array transducers have been proposed for HIFU applications [18]. In this case, the source of US energy consisted of an array of four concentric rings focused using time delays in the excitation of each element. The geometry to be heated consisted of four tissue layers: skin (2 mm), fat (10 mm), muscle (10 mm), and liver (23 mm). The nature of the problem also required the combination and coupling of both the wave and the bio-heat transfer equations. The FE analysis was implemented on a work station: Dell Precision T7400 with an Intel® Xeon® processor at 3.00 GHz and 64.0 GB of RAM memory.

## Model equations

The second-order partial differential equation that describes the wave propagation in a homogeneous medium without losses is [19]

$$\nabla^2 p - \frac{1}{c_s^2(T)} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0, \quad (1)$$

where  $c_s$  is the media longitudinal SOS at the temperature  $T$ ,  $t$  is the time, and  $p$  is the acoustic pressure.

Ultrasound traveling through tissues produces heat [1]. The heat ( $Q$ ) produced by the interaction between US energy and soft tissues is [20]

$$Q = 2\alpha I, \quad (2)$$

where ( $I$ ) is the acoustic intensity and ( $\alpha$ ) is the media absorption coefficient. Moreover, the acoustic intensity for planar or spherical waves in the direction of propagation is [21].

$$I = \frac{p^2}{2\rho c_s}. \quad (3)$$

If  $I$  from Eq. 3 is substituted in Eq. 2, the heat produced by the ultrasonic energy in soft tissue is

$$Q = \frac{\alpha(T)p^2}{\rho c_s(T)}, \quad (4)$$

where the effects of the thermal dependence of the acoustic properties are taken into account. As can be seen, the heat produced by US is affected by the thermal dependence of acoustic properties. The temperature increment produced by an external source of heat in soft tissues is [17]

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} - k \nabla^2 T = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + Q_{\text{met}} + Q_{\text{ext}} \quad (5)$$

As can be observed, the temperature distribution into tissues depends on tissue heat capacity ( $C$ ), tissue thermal conductivity ( $k$ ), blood density ( $\rho_b$ ), blood heat capacity ( $C_b$ ), blood perfusion rate ( $\omega_b$ ), blood temperature ( $T_b$ ), metabolism heat ( $Q_{\text{met}}$ ), and the external source of heat ( $Q_{\text{ext}}$ ) in terms of acoustic pressure (Eq. 4).

Because this kind of therapy is usually applied to 2-h fasting patients [22],  $Q_{\text{met}}$  becomes zero. If the metabolism effects are not considered and the thermal dependence of both acoustic absorption and SOS is included, then

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} - k \nabla^2 T = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + \frac{\alpha(T)p^2}{\rho c_s(T)}. \quad (6)$$

### Model geometry and properties

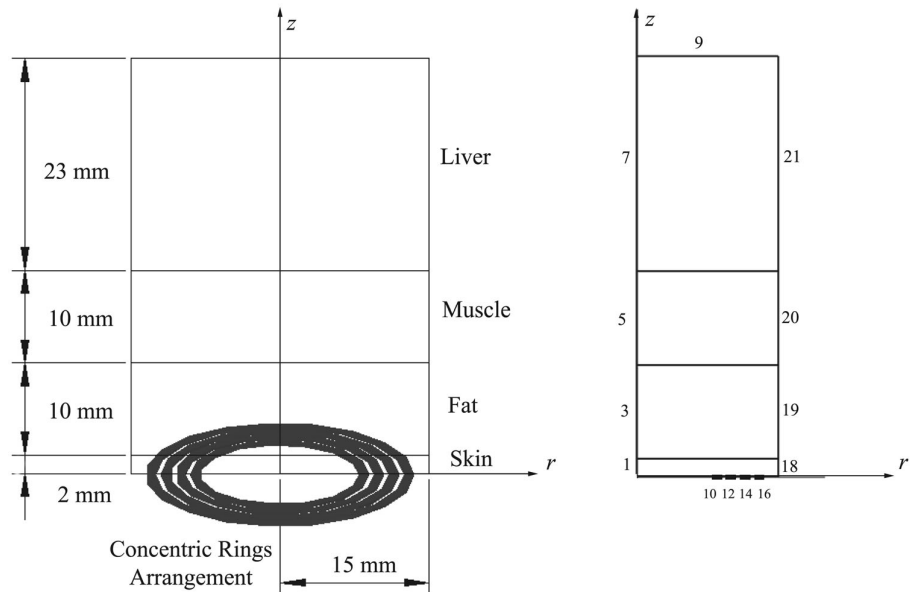
In order to apply thermal therapy by external means, US must pass through different layers, each one with different acoustic properties. In this case, the simulation is representing liver thermal therapy, and US must travel through skin, fat, and muscle before it interacts with the liver. This

problem can be proposed as a cylindrical transducer radiating four layers with different thicknesses. In the deepest layer (representing liver), the focused ultrasound energy will generate an ellipsoidal hyperthermia zone with temperatures above 43 °C. Due to the cylindrical shape of the transducer and the ellipsoidal profile of the generated acoustic field, the real problem can be seen as a 3D geometry with an axis of symmetry. Then, the entire problem can be simplified in a 2D axial symmetric geometry, and the solution will be expressed with cylindrical coordinates ( $r, z$ ), as can be seen in Fig. 1. Taking this consideration into account, the processing time will be reduced and less computer resources will be required to achieve the model solution.

The array of four concentric rings was placed in  $z = 0$ , and the subdomains which represent tissue layers were drawn using the line along  $z = 0$  as the base. Tissue layer thicknesses in humans can vary according to the gender, age, complexion, ethnicity, and region of the body [23–29]; in the present work, the tissue thicknesses were defined as 2 mm of skin, 10 mm of fat, 10 mm of muscle, and 23 mm of liver.

Boundaries were numbered as shown in Fig. 1. Boundaries 1, 3, 5, and 7 were defined as the symmetry axis of the model. The peripheral boundaries of the model (9, 18, 19, 20, and 21) were adjusted to the same acoustic impedance of the corresponding tissue in order to reduce the interference on the model due to reflections. The whole system was established as thermally isolated with the temperature of the peripheral boundaries fixed at 37 °C. The interior boundaries were considered continuous for both acoustic and thermal parts of the model. Model mesh

**Fig. 1** The geometry model consisted of four tissue layers representing biological tissues (skin, fat, muscle, and liver) and an arrangement of four concentric piezoelectric rings (left) radiating the tissues. A simplification of the 3D geometry (right) can be used in the FE model to solve the problem and minimize the required resources (2D axial symmetric). Boundary numbers are shown on the right side of the figure



**Table 1** Biological tissue acoustic properties for the FE acoustic model (T is in °C)

Tissue	Density (kg/m <sup>3</sup> )	Absorption at 2 MHz (Np/m)	Speed of Sound (m/s)
Skin	1100	0.4	1540
Fat	918	$0.00457T^2 - 0.43T + 10.86$	$0.0637T^2 - 8.657T + 1662$
Muscle	1049	$0.0017T^2 - 0.099T + 3.06$	$-0.0457T^2 + 4.657T + 1501$
Liver	1060	$0.02147T^2 - 1.17T + 20.28$	$-0.0477T^2 + 4.285T + 1495$
Blood	1000	–	–

was built with at least 10 elements per wavelength [30–33] to avoid dispersion errors; the entire mesh consisted of 67,500 rectangular elements.

Because modeling the US generation is not the scope of the present work, the piezoelectric rings were simplified in the model. Piezoelectric elements were represented by boundaries (boundaries 10, 12, 14, and 16) radiating a sinusoidal pressure of 2 MHz. The arrangement consisted of four rings 1.0 mm in length with 0.5 mm of separation between consecutive rings. Focalization process was achieved using temporal delays at the inner rings (boundaries 10, 12, and 14) with respect to the activation of the external ring (boundary 16).

The acoustic pressure emitted by the rings was adjusted in order to achieve a maximum hyperthermia temperature (43 °C) at the focus after 15 s when the acoustic properties are constant at 37 °C. Once this pressure value was adjusted, it remained constant for the other three studied cases. The time to reach 43 °C at the focus could vary depending on therapy requirements and tissue properties, among other factors. An important challenge in hyperthermia therapies is the preservation of this temperature (43 °C) during the treatment time; once again, this is related to the kind of treated tissue and its acoustic and thermal properties.

The aim of the present work was to study the effects provoked by thermal dependence of the acoustic properties (SOS and acoustic absorption) during the initial rise of temperature in hyperthermia treatments. The acoustic field of the arrangement and the temperature distributions generated after 15 s of thermal therapy were determined for these different cases: (a) without the thermal dependence of SOS and absorption; (b) with the thermal dependence of SOS; (c) with the thermal dependence of absorption, and (d) with the thermal dependence of both SOS and absorption. When the thermal dependence of the properties was not used, the properties at 37 °C were taken in the model. The thermal properties and the densities of all tissues, as well as the skin SOS and absorption, were taken from reported data [34–36]; our group previously measured the SOS and the absorption of the other tissues (fat, muscle, and liver), shown in Table 1. The thermal dependence of SOS and acoustic absorption measured by our group was fitted to second-order curves in order to use them in the FE model. The acoustic and thermal properties employed are summarized in Tables 1 and 2.

**Table 2** Biological tissue thermal properties for FE thermal model

Tissue	Heat capacity (J/kg/°C)	Thermal conductivity (W/m/°C)
Skin	3898.2	0.209
Fat	3221.7	0.402
Muscle	3807.0	0.618
Liver	3500.0	0.498
Blood	4180.0	–

Acoustic properties and thermal conductivity of blood were not included; however, the blood perfusion rate was considered constant for all tissues and was fixed at  $3.6 \times 10^{-3}$  l/s [37]. According to Moros et al. and ter Har [11, 22], 60–80 % of the energy attenuation is due to the absorption; because our objective was to show the effect of the temperature dependence of tissue acoustic properties (specifically absorption and speed of sound) and in order to simplify the model, all acoustic attenuation was considered as a product of the tissue absorption.

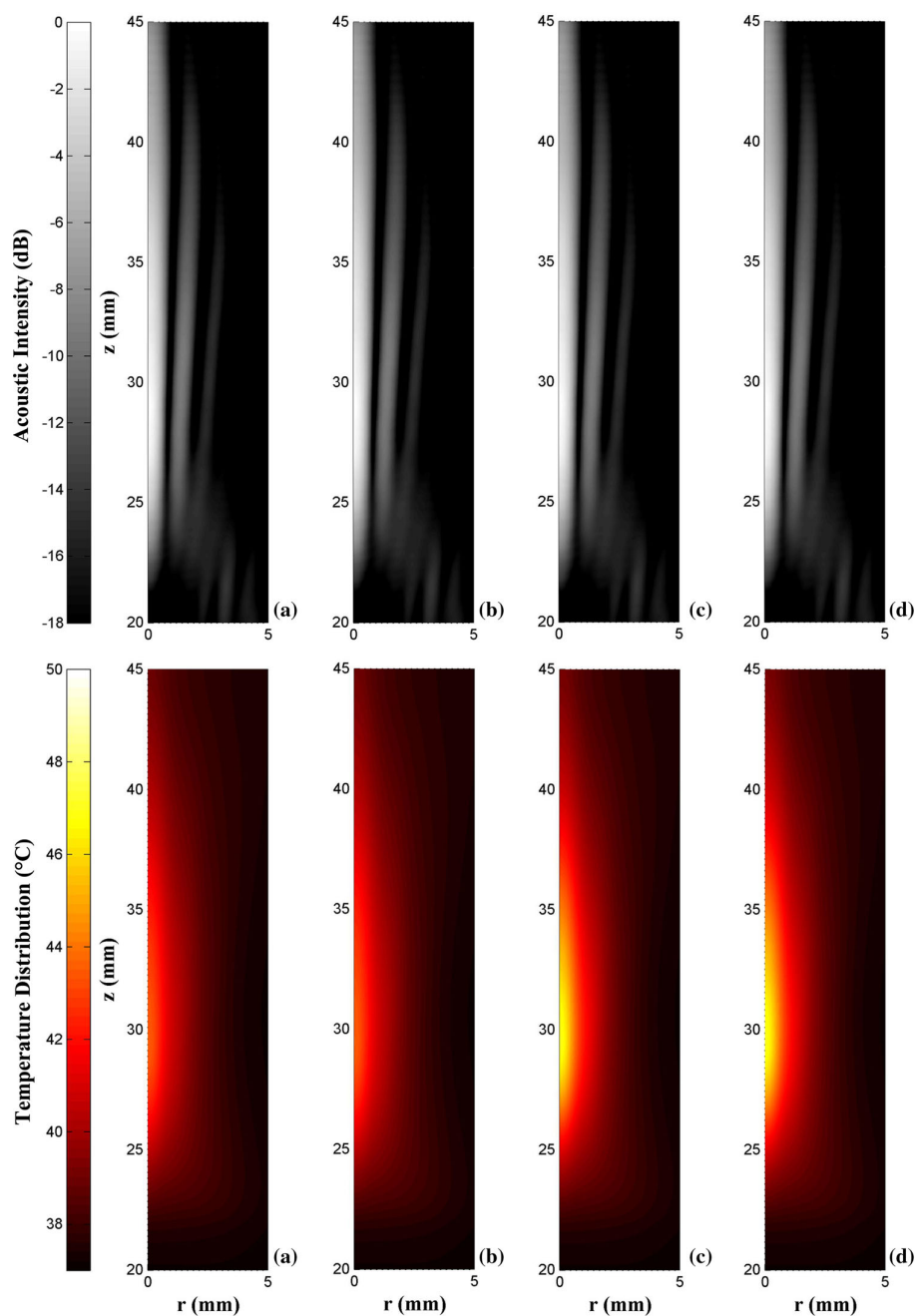
Due to the nature of FE simulations, the continuous effect should be discretized in terms of the time step. When the temperature dependence of the acoustic properties was taken into account, the changes were accounted for at each time step. Simulation time was set from 0 to 15 s to evaluate the initial heating. SOS and absorption values were updated every 0.25 s.

## Results

### Acoustic field and temperature distribution

The acoustic field and the temperature distribution generated by the four-ring arrangement for the cases described above are shown in Fig. 2. Results presented a well-defined focal zone generated by the four piezoelectric rings in all cases. The maximum acoustic pressure along the central axis  $z$  ( $r = 0$ ) was found at 29.00 mm in all cases. Time delays to excite the rings were calculated using the SOS of liver at 37 °C (1589.20 m/s) without taking into account the other tissue SOSs; changes of the SOS in the first three tissues (skin, fat, and muscle) could provoke a focal point shift. On the other hand, the maximum temperature was found at 29.45 mm for all cases. Regarding the temperature

**Fig. 2** Acoustic field (*top*) and temperature distribution (*bottom*) achieved after 15 s of simulated therapy are presented for cases **a** without the thermal dependence of both SOS and absorption; **b** with the thermal dependence of SOS; **c** with the thermal dependence of absorption, and **d** with the thermal dependence of both SOS and absorption. Maximum acoustic intensity and temperature were found at 29.00 and 29.45 mm, respectively, in the four cases. The influence of thermal-dependent absorption was important, and it can be observed in cases *c* and *d* where a difference of almost 3.5 °C was found

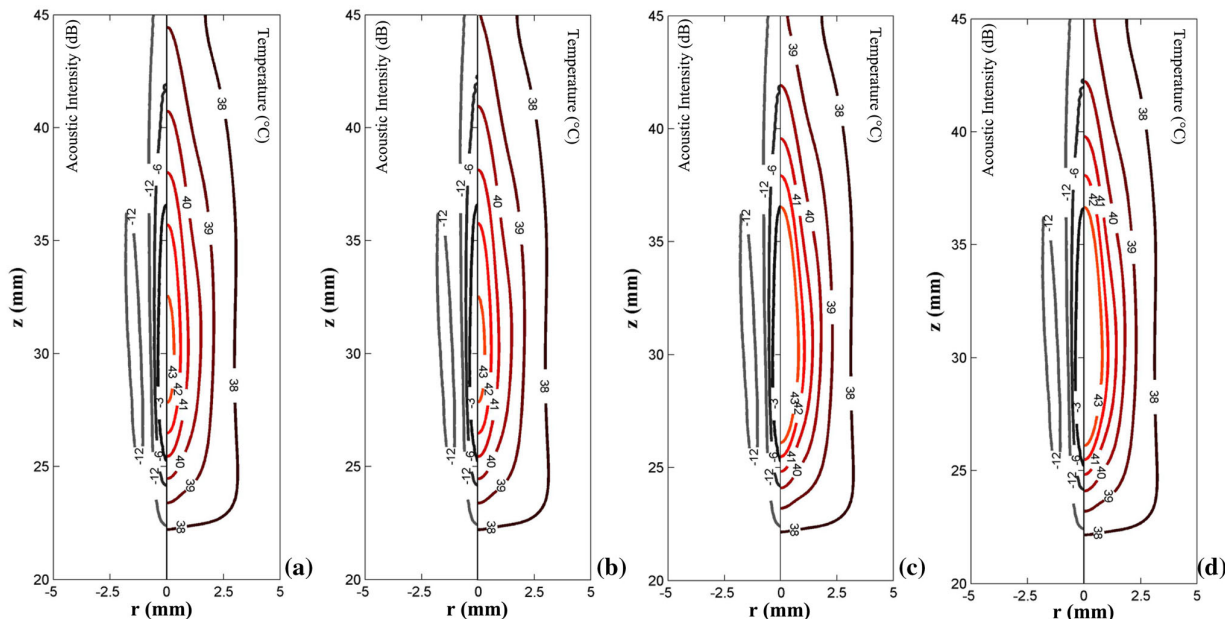


distributions, shown in Fig. 2, it can be observed that greater temperatures were achieved in cases *c* and *d* where the thermal dependence of the acoustic absorption was taken into account.

The effects of the thermal dependence of the acoustic properties can be observed by obtaining isolines from  $-12$  to  $-3$  dB for the acoustic field and from  $38$  to  $43$  °C for the temperature distribution at the focal zone (Fig. 3). Temperature distribution showed an increment of the area of

treatment (zone with temperature above  $43$  °C) when the thermal dependence of absorption was included in the model.

According to Shaw and ter Haar [38], one of the focusing parameters for US transducers is the full-width half-maximum (FWHM) zone, which is the focal zone where the amplitude of the US intensity decays  $-6$  dB in the perpendicular and parallel axes regarding the direction of propagation. Based on this, the FWHM was calculated



**Fig. 3** Isolines at the focal zone from  $-12$  to  $-3$  dB for the acoustic field and from  $38$  to  $43$  °C for the temperature distribution. The zone with temperature above  $43$  °C increased when the thermal

dependence of the absorption was included in the model. Length and width of the hyperthermia zone grew  $5.8$  and  $1.0$  mm, respectively

for the simulated cases. The inclusion of the thermal dependence of the SOS (cases *b* and *d*) generated a longitudinal increment of  $0.4$  mm in the axis parallel to  $z$ , which in case *a* measured  $17.70$  mm. There were no changes in the axis perpendicular to the direction of propagation; this axis remained constant in all cases with a value of  $1.0$  mm. In case *a*, the FWHM area and volume were  $13.90$  mm<sup>2</sup> and  $9.27$  mm<sup>3</sup>, respectively. These values suffered increments of  $0.32$  mm<sup>2</sup> and  $0.21$  mm<sup>3</sup> in cases *b* and *d*, respectively, as a consequence of the parallel axis length variation.

The temperature distribution was evaluated in order to find the maximum focal temperature achieved in each case as well as the hyperthermia focus length ( $x$ ) and width ( $y$ ) (zone with temperature above  $43$  °C). The longitudinal hyperthermia area and volume were determined for temperatures above  $43$  °C; these results are shown in Table 3 for the studied cases. While in the first two cases (without the thermal dependence of the absorption), the maximum achieved temperature was near  $43$  °C, in the other two cases the maximum temperature was almost  $47$  °C. The thermal dependence of absorption had a significant effect in both the maximum temperature and the treatment zone size. The main difference was found in the focal temperature, which increased almost  $3.5$  °C more in cases *c* and *d* than in cases *a* and *b*. Length and width grew  $5.8$  and  $1.0$  mm, respectively, when the thermal dependence of absorption was taken into account in the model. This

variation showed that there was an increment of the treatment zone, the area with temperature over  $43$  °C, which changed from  $1.84$  mm<sup>2</sup> in case *a* to  $12.31$  mm<sup>2</sup> in case *d*. On the other hand, the volume changed from  $0.61$  mm<sup>3</sup> for case *a* to  $12.31$  mm<sup>3</sup> for case *d* when the thermal dependence of both acoustic properties was added into the model.

### Acoustic intensity and temperature along $z$ axis

In Fig. 4, acoustic intensity and temperature in the central axis of the model were obtained in order to compare the focus shape along central axis ( $z$ ) during therapy; pressure and temperature data are shown every  $5$  s for each solved case. According to the acoustic intensity graphs in Fig. 4, the localization of the focus did not suffer variation in any of the four cases; nevertheless, the effects of thermal-dependent SOS can be observed in cases *b* and *d* where there were variations of  $0.94$  and  $0.93$  dB when initial ( $t = 0$  s) and final ( $t = 15$  s) acoustic fields were compared. Temperature graphs show that the temperature increased faster and higher when the thermal dependence of the absorption was included in the model (see Table 3). The average temperature change rate at focus in the first  $5$  s was  $0.80$  °C/s for cases *a* and *b*, and  $1.11$  °C/s for cases *c* and *d*. The average rate in the next  $5$  s was  $0.30$  °C/s for the first two cases and  $0.57$  °C/s for the last two. Finally, cases *a* and *b* took  $10$  s to reach  $43$  °C,

**Table 3** Summary of maximum focal temperature and hyperthermia focus length, width, longitudinal area, and volume at the end of simulation processes

Case	Maximum temperature at the focus (°C)	Hyperthermia zone length $x$ (mm)	Hyperthermia zone width $y$ (mm)	Hyperthermia area $A = \frac{\pi xy}{4}$ (mm <sup>2</sup> )	Hyperthermia volume $V = \frac{1}{6} \pi xy^2$ (mm <sup>3</sup> )
<i>a</i>	43.52	4.70	0.50	1.84	0.61
<i>b</i>	43.50	4.60	0.50	1.80	0.60
<i>c</i>	46.98	10.35	1.50	12.19	12.19
<i>d</i>	46.94	10.45	1.50	12.31	12.31

Greater temperature and larger hyperthermia zone were found when the thermal dependence of the acoustic absorption was taken into account (*a*) Case without the thermal dependence of SOS and absorption, (*b*) Case with the thermal dependence of SOS, (*c*) Case with the thermal dependence of absorption, and (*d*) Case with the thermal dependence of both SOS and absorption

while cases *c* and *d* only required 5 s to achieve the same temperature.

Transient temperature at the maximum temperature point (29.45 mm) can be observed in Fig. 5. Once again, thermal dependence of biological tissue's acoustic absorption caused significant variations; while cases *a* and *b* required 12 s to achieve the hyperthermia temperature, cases *c* and *d* only needed 6.5 s to reach 43 °C.

## Discussion

It can be easily predicted from the acoustic field results that changes due to temperature in SOS and absorption of tissues also shift maximum acoustic pressure; however, focalization of ultrasound beams that fall on different points allows minimal heating on upper tissues and maximal heating in tissues around the focus. As a consequence, SOS before focus is not affected, and the acoustic field suffers minimal changes. Changes in the speed of sound generated in the maximal heating region affect the acoustic field behavior in the after zone. The aforementioned behavior is visible in the left side of Fig. 4b and d, where shifts of about 40 mm in the acoustic profile are observed. These shifts in the acoustic field do not affect the depth of the maximum pressure.

It can be noticed that maximum values of pressure and temperature are not at the same depth. It is important to mention that even a small thermal conductivity in media (as that of tissues) produces a shift in the maximum temperature at the acoustic focus, when the acoustic intensity profile is not symmetric. This can be seen in Fig. 4, where the acoustic intensity is not symmetric with respect to  $z$  axis (if we draw a vertical line at the maximum of acoustic intensity, the most energy will be after this point). This asymmetry produces a temperature gradient that provokes a displacement of maximum temperature (thermal focus). This shift increases with treatment time.

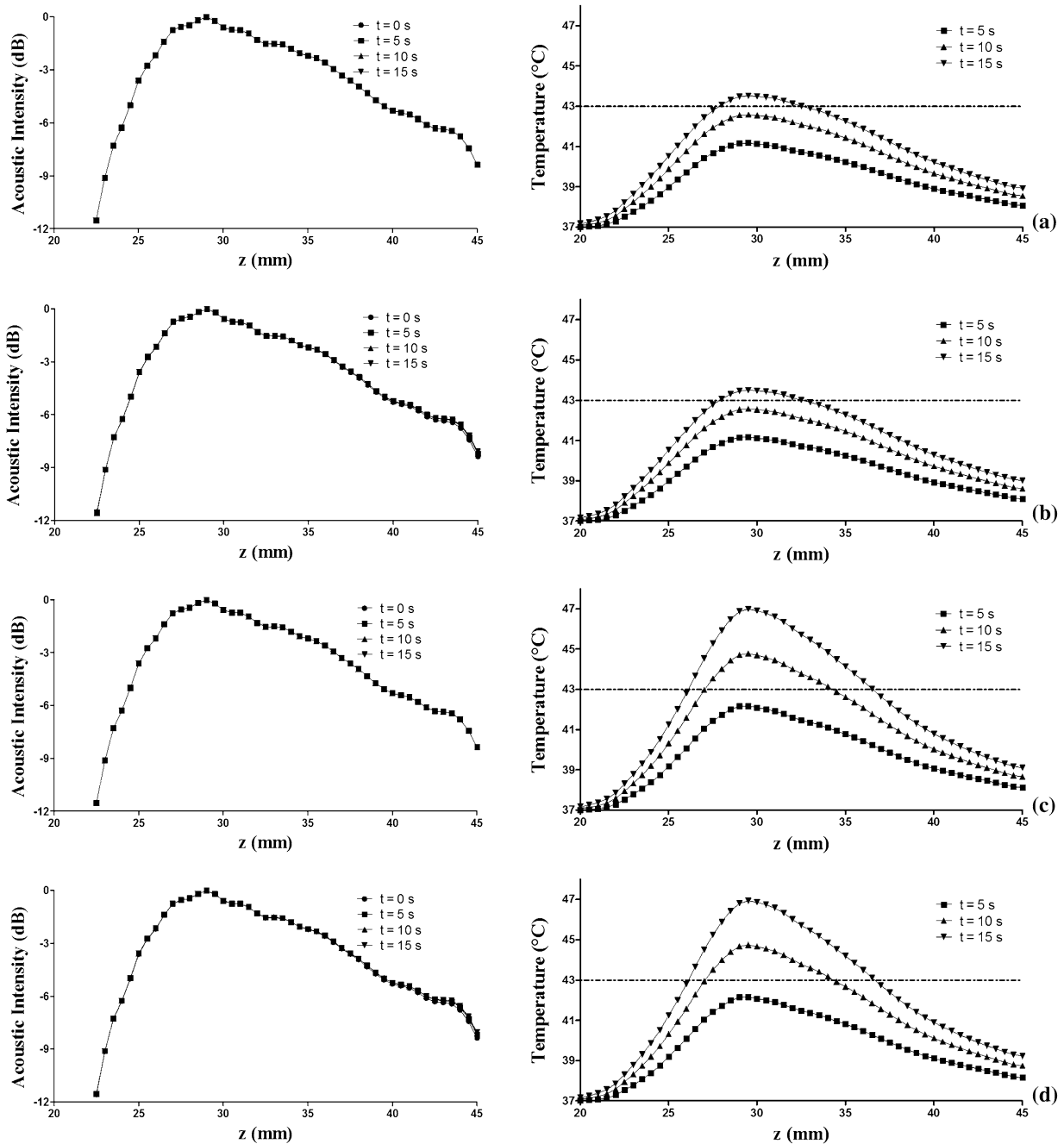
When the effect of the SOS thermal dependence was included (cases *b* and *d*), the final maximum temperature

achieved at focus decreased 0.02 °C from case *a* to case *b* and 0.04 °C from case *c* to case *d*; this could be understood as a heat sink effect of the SOS. For the acoustic field, the effects of the thermal dependence of SOS can be observed in the dimensions of the FWHM zone. The longitudinal axis suffered minimal changes that were reflected in the focusing zone; the FWHM area increased 2.3 % in cases where the thermal dependence of the SOS was present. The acoustic intensity in the central axis revealed that the variations occurred in zones where the amplitude of energy decreased more than half (after 40 mm).

On the other hand, the effects of the thermal dependence of acoustic absorption were evident in the temperature distribution. The maximum focal temperature achieved increased considerably (almost 3.5 °C) when the thermal dependence of absorption (cases *c* and *d*) was taken into account in the model. In the case of the acoustic field, the effects of the thermal dependence of the absorption in the shape of the fields could be understood analyzing the interrelation between generated temperatures and thermal-dependent properties observed in case *d*. The acoustic absorption produced temperature increments when US passed through the tissues; these temperature changes generated SOS variations and, as a consequence, changes in the acoustic fields. Because the SOS variation in the range from 40 to 47 °C was just 1.37 m/s, the acoustic field did not suffer significant changes. The effects of the absorption in the acoustic field could be more noticeable if the variations of the thermal dependence of the SOS curves in the evaluated range were bigger.

It is important to note that some model conditions were idealized for this work, and therefore the acoustic properties used must be considered as an approximation. First, in the present work, the absorption was considered responsible for the total attenuation. Actually, the absorption is responsible for only part of the attenuation process, and depending on the composition of the tissue [11, 22], it can be between 60 and 80 %. Second, SOS and acoustic absorption used in this work's model were measured in vitro, i.e., without taking into account the possible



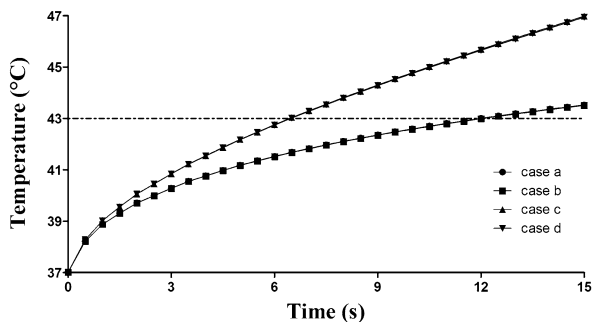


**Fig. 4** Evolution of the acoustic intensity (*left*) and temperature (*right*) along  $z$  axis is presented for 5, 10, and 15 s. The acoustic field suffered no significant variations at the end of the simulation when the thermal dependence of both SOS and absorption was added to the

models; nevertheless, the thermal dependence of the absorption provoked a faster and higher temperature increase with an average temperature change rate of  $0.46\text{ }^{\circ}\text{C/s}$  for cases *a* and *b*, and  $0.73\text{ }^{\circ}\text{C/s}$  for cases *c* and *d*

influence of other factors like denaturalization. According to Lewin and Busk [39], there could be variations of tens of m/s in the tissue SOS when in vitro and in vivo values are compared. Finally, blood perfusion was considered constant in the model, and changes of this value during real

therapies could result in lower temperatures at the focus and, consequently, in treatment zones smaller than those predicted by the model. Although ideal in vitro conditions have been used in the model, it is necessary to realize that the thermal dependence of the acoustic properties is present



**Fig. 5** Transient temperature for the cases studied at the maximum temperature point (29.45 mm) on the central axis. Hyperthermia temperature was achieved after 12 s for cases *a* and *b*. Cases *c* and *d*, which took into account the thermal dependence of the absorption, only needed 6.5 s to reach 43 °C. Cases *a* and *b* overlapped on one upward trend, while *c* and *d* overlapped on another; *a* and *b* reached 43.8 °C, while *c* and *d* reached 47.9 °C (Table 3)

in biological tissue, and it can be a factor affecting the acoustic field and the temperature distribution generated during hyperthermia treatments. This study was done in order to identify the contribution of the thermal dependence of each one of the acoustic properties mentioned above.

Furthermore, there are still other factors to consider. On one hand, although pig tissue acoustic properties used in the present work presented thermo-dependent behavior, these values and their variations could be above or below the corresponding values for biological human tissues. Therefore, it is important to continue with a thorough and extended characterization as well as the experimental evaluation in order to compare and improve the model results. The characterization must include factors like temperature dependence of thermal properties, e.g., heat capacity and thermal conductivity, as well as the acoustic and thermal characterization of cancer cells. These values must be included in the model in order to evaluate their influence on the results and obtain a better approach to actual therapy. On the other hand, it is possible that either at greater temperatures (above 50 °C) or in other tissues, the behavior of the SOS values presents more considerable differences. Consequently, the contribution of these variations to both temperature distribution and acoustic field could be more noticeable.

## Conclusion

The results of this work demonstrate that thermal dependence of absorption is an important parameter to take into account during thermal therapies; its inclusion meant considerable variations of temperature and the increment of affected area and volume, which could produce

overheating in undesired regions and adjacent organs during treatments. Finally, although the properties may vary between pig and human tissues, it is a fact the thermal dependence of SOS and absorption should be considered when planning hyperthermia treatments in order to avoid overheating in undesired regions.

**Acknowledgments** The authors thank Rubén Pérez Valladares for his invaluable technical support and assistance during this work. S.A. López-Haro acknowledges Conacyt Mexico for the fellowship 210059. This work was partially supported by the projects M10-S02 of program ECOS-ANUIES-CONACYT and ICyTDF-340.10.

**Conflict of interest** Sergio Alfonso López Haro, Mario Ibrahín Gutiérrez, Arturo Vera Hernández, and Lorenzo Leija Salas declare that they have no conflict of interest.

**Ethical standards** This article does not contain any studies with human or animal subjects performed by any of the authors.

## References

1. Stauffer PR. Evolving technology for thermal therapy of cancer. *Int J Hyperthermia*. 2005;21:731–44.
2. ter Haar G. Therapeutic applications of ultrasound. *Prog Biophys Mol Biol*. 2007;93:111–29.
3. Roti Roti JL. Cellular responses to hyperthermia (40–46 °C): cell killing and molecular events. *Int J Hyperther*. 2008;24:3–15.
4. O'Brien WD Jr, Deng CX, Harris GR, et al. The risk of exposure to diagnostic ultrasound in postnatal subjects: thermal effects. *J Ultrasound Med*. 2008;27:517–35 (**quiz 37–40**).
5. Steeves RA. Hyperthermia in cancer therapy: where are we today and where are we going? *Bull NY Acad Med*. 1992;68:341–50.
6. Diederich CJ. Hyperthermal ablation and high-temperature thermal therapy: Overview of technology and clinical implementation. *Int J Hyperther*. 2005;21:745–53.
7. Stauffer PR, Goldberg SN. Introduction: thermal ablation therapy. *Int J Hyperther*. 2004;20:671–7.
8. Gt Haar, Coussios C. High intensity focused ultrasound: past, present and future. *Int J Hyperther*. 2007;23:85–7.
9. Haar GT, Coussios C. High intensity focused ultrasound: physical principles and devices. *Int J Hyperther*. 2007;23:89–104.
10. Davies BL, Chauhan S, Lowe MJS. A robotic approach to HIFU based neurosurgery. In: *Proceedings of the first international conference on medical image computing and computer-assisted intervention*. Springer; 1998. p. 386–96.
11. ter Haar G. Therapeutic ultrasound. *Eur J Ultrasound*. 1999;9:3–9.
12. Hynnen K, Deyoung D, Kundrat M, et al. The effect of blood perfusion rate on the temperature distributions induced by multiple, scanned and focused ultrasonic beams in dogs' kidneys in vivo. *Int J Hyperther*. 1989;5:485–97.
13. Curra FP, Mourad PD, Khokhlova VA, et al. Numerical simulations of heating patterns and tissue temperature response due to high-intensity focused ultrasound. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2000;47:1077–89.
14. Li DH, Shen GF, Bai JF, et al. Focus shift and phase correction in soft tissues during focused ultrasound surgery. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2011;58:1621–8.
15. Hallaj IM, Cleveland RO, Hynnen K. Simulations of the thermo-acoustic lens effect during focused ultrasound surgery. *J Acoust Soc Am*. 2001;109:2245–53.

16. Bamber JC, Hill CR. Ultrasonic attenuation and propagation speed in mammalian tissues as a function of temperature. *Ultrason Med Biol.* 1979;5:149–57.
17. Pennes HH. Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm. 1948. *J Appl Physiol.* 1998;85:5–34.
18. Zanelli CI, Hennige CW, Sanghvi NT. Design and characterization of a 10 cm annular array transducer for high intensity focused ultrasound (HIFU) applications, 1994. In: *Proceedings of ultrasonics symposium, 1994 IEEE 1887–1890 vol 3.*
19. Rose JL. *Ultrasonic waves in solid media.* Pennsylvania State University: Cambridge University Press; 2004.
20. Nyborg WL. Heat-generation by ultrasound in a relaxing medium. *J Acoust Soc Am.* 1981;70:310–2.
21. Beranek LL, Mellow T. *Acoustics: sound fields and transducers.* Academic Press; 2012.
22. Moros EG, Dutton AW, Roemer RB, et al. Experimental evaluation of two simple thermal models using hyperthermia in muscle in vivo. *Int J Hyperth.* 1993;9:581–98.
23. Bunce SM, Moore AP, Hough AD. M-mode ultrasound: a reliable measure of transversus abdominis thickness? *Clin Biomech (Bristol, Avon).* 2002;17:315–7.
24. El-Domyati M, Attia S, Saleh F, et al. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Exp Dermatol.* 2002;11:398–405.
25. Kanehisa H, Miyatani M, Azuma K, et al. Influences of age and sex on abdominal muscle and subcutaneous fat thickness. *Eur J Appl Physiol.* 2004;91:534–7.
26. Kim SK, Kim HJ, Hur KY, et al. Visceral fat thickness measured by ultrasonography can estimate not only visceral obesity but also risks of cardiovascular and metabolic diseases. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:593–9.
27. Laurent A, Mistretta F, Bottiglioli D, et al. Echographic measurement of skin thickness in adults by high frequency ultrasound to assess the appropriate microneedle length for intradermal delivery of vaccines. *Vaccine.* 2007;25:6423–30.
28. Surovy NJ, Billah MM, Haowlader S, et al. Determination of abdominal fat thickness using dual electrode separation in the focused impedance method (FIM). *Physiol Meas.* 2012;33:707–18.
29. Teyhen DS, Rieger JL, Westrick RB, et al. Changes in deep abdominal muscle thickness during common trunk-strengthening exercises using ultrasound imaging. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2008;38:596–605.
30. Abboud NN, Wojcik GL, Vaughan DK, et al. Finite element modeling for ultrasonic transducers. *Proc. SPIE Int. Symp. Medical: Imaging;* 1998. p. 19–42.
31. Jeyaraman S, Baskaran G. Ultrasonic beam steering in isotropic media. In: *Proceedings of the COMSOL users conference.* 2006.
32. Ke W, Chaki S. Finite element simulation of the critically refracted longitudinal wave in a solid medium. *10ème Congrès Français d'Acoustique.* 2010.
33. Moros EG, Straube WL, Myerson RJ, et al. The impact of ultrasonic parameters on chest wall hyperthermia. *Int J Hyperth.* 2000;16:523–38.
34. Haemmerich D, Santos Id, Schutt DJ, et al. In vitro measurements of temperature-dependent specific heat of liver tissue. *Med Eng Phys.* 2006;28:194–7.
35. Holmes KR. Thermal properties appendix. <http://users.ece.utexas.edu/~valvano/research/Thermal.pdf>; Accessed 11 July 2012.
36. Moritz AR. Studies of Thermal Injury: III. the pathology and pathogenesis of cutaneous burns. An experimental study. *Am J Pathol.* 1947;23:915–41.
37. Jiao T, Wang H, Zhang Y, et al. A coaxial-slot antenna for invasive microwave hyperthermia therapy. *J Biomed Sci Eng.* 2012;5:198–202.
38. Shaw A, Ter Haar GR. Requirements for measurement standards in high intensity focused (HIFU) ultrasound fields. *National physical laboratory (NPL);* 2006.
39. Lewin PA, Busk H. In vivo ultrasonic measurements of tissue properties. *Ultrason symp.* 1982:709–12.



International Congress on Ultrasonics, Universidad de Santiago de Chile, January 2009

## Measurement of Ultrasonic Properties into Biological Tissues in the Hyperthermia Temperature Range

S.A. López-Haro<sup>a</sup>, L. Leija<sup>a</sup>, L. Favari<sup>b</sup>, A. Vera<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Electrical Engineering Department, CINVESTAV-IPN, México DF 07360, Mexico

<sup>b</sup>Pharmacology Department, CINVESTAV-IPN, México DF 07360, México

---

### Abstract

During hyperthermia treatments, for determining internal temperature by using non-invasive ultrasound estimation, it is necessary to know some tissue ultrasonic characteristics around the hyperthermia range. The aim of this work was to determine in detail the changes of some ultrasonic properties (velocity and attenuation) of muscle, fat and liver tissues in the specific range of 26°C to 50°C. We proposed an experimental setup which allows minimizing the expansion effects in the biological samples. The ultrasonic signal passes through tissue and it is reflected by a 1-mm needle arrangement, inserted in the tissue sample. The results in the propagation speed behaviour, for the three studied tissues, appear to be quasi-linear with temperature changes. The attenuation coefficients are also presented for different temperatures.

*Keywords:* attenuation; ultrasound velocity; hyperthermia; ultrasound properties of biological media

---

### 1. Introduction

It is important, during hyperthermia treatments, to measure temperature distribution in the treated area. This allows identifying hotspots and getting a quantitative measurement of temperature increase, i.e. clinical assessment. Optimization of efficiency in hyperthermia requires a precise and non-invasive estimation of temperature distribution. Some of the non-invasive techniques that have been proposed to estimate temperature in a non-invasive way are shown in Table 1.

The use of the ultrasound to estimate temperature in a non-invasive way is one of the most promising techniques due to its advantages: signal processing and recording in real time, high tissue penetration, excellent spatial and time

---

\* Corresponding author. Tel.: +52-55-57 47 38 00; fax: +52-55-57 47 39 81.  
E-mail address: lleija@cinvestav.mx (L. Leija); arvera@cinvesta.mx (A. Vera).

resolutions, compatibility with the current therapy systems and a relative low cost compared with other techniques like Nuclear Magnetic Resonance and Computed Tomography.

Some of the approximations that have been proposed to estimate the temperature distribution using ultrasound are based on the analysis of attenuation, the backscattered power, the time of flight (TOF) and the estimation of the average distance between scatterers, i.e. changes in the sound speed and thermal expansion [1].

Table1. Non –invasive techniques proposed to estimate temperature distribution.

Energy	Active	Passive
Microwaves	Transmission computed tomography (CT)	Radiometry
	Diffraction tomography	
Ultrasound (on trial)	Distance between scatterers: velocity and thermal expansion	Radiometry
	Wave attenuation	
	Backscattered power	
	Time of flight	
Nuclear Magnetic Resonance	Magnetization	-
	Spin – Relaxation time	
	Diffusion	
	Chemical displacement	
CT-X	Absorption	-
Dielectric Properties	Electric impedance	-

Our laboratory has evaluated and developed some ultrasonic non-invasive methods to estimate the temperature in a non-invasive way [1]. Some of these methods are based on, or partially use, the estimation of the changes in the propagation speed due to temperature increase. These methods have been tested under controlled conditions using phantoms with scatterers and they have shown promising results to estimate temperature inside tissues. In order to go further with our researches dealing with the estimation of temperature inside phantoms at hyperthermia range, it is necessary to study deeply ultrasonic and scattering characteristics of biological tissues at different temperatures.

There are well-know the general techniques employed for velocity and attenuation measures in materials. But, for hyperthermia range, most of the tissue ultrasonic characteristics were reported at one temperature (body or room temperature) or as an average within a specific temperature range. In order to develop a phantom with similar characteristics to those of biological tissue, it is necessary to get an ample characterization of tissue ultrasonic properties within hyperthermia temperatures; for this reason, the main goal of this work is the characterization of some specific behaviour into certain biological tissues: propagation speed and attenuation coefficient. Fat, muscle and liver of pig were tested to create a phantom with similar characteristics to those of tissues in order to be used in the evaluation of the non–invasive temperature estimation techniques.

## 2. Methodology

In order to obtain the biological tissue propagation speed and attenuation coefficient, it is necessary to use a preservative solution to keep in good conditions the specimen without changing its properties. The pulse–eco

technique, using two 1-mm diameter needles as reflectors, was used to perform these measurements and finally the obtained signals were stored for its farther processing.

### 2.1. Tissue Conservation

A saline solution with a 0.1 M concentration and a 7.4 pH was prepared to preserve the biological tissues before and during the measurement procedure. The solution compounds and quantities are shown in Table2.

In order to prepare the solution, the compounds must be dissolved in small quantities with distilled water, and then they are kept in a 1-liter gauge flask. If it is necessary, the pH has to be adjusted. Once the tissue is placed in the preservative solution, it must be cooled at temperatures between 2°C and 4°C to assure a better conservation. The tissues were obtained at a slaughterhouse immediately after the slaughtering to have fresher tissues for the measurements.

Table2. Saline solution compounds.

Compounds	Quantity
NaCl (Sodium Chloride)	80 g
KCl (Potassium Chloride)	2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Sodium Dibasic Phosphate)	14.4 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Potassium Monobasic Phosphate)	2.4 g
H <sub>2</sub> O	800 mL

### 2.2. Propagation speed measurement by using the pulse-echo technique

In order to optimize the resulting signal-to-noise ratio in the ultrasonic echoes, a home-made pulse generator [2-3] was made for driving a 3.5 MHz central frequency ultrasonic transducer (Harisonic, USA), with a high voltage short-duration pulse (spike). The transducer was immersed in a methacrylate container with saline solution, with the tissue placed in front of the transducer and the reflectors inside the tissue. A distance of 5.5 mm was kept between reflectors (Fig.1 and Fig.2). The echo signals were received by the same transducer and were amplified by a home-made amplifier. These signals were digitalized by a digital oscilloscope (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) using a sampling frequency of 5 GHz.

The echo-signals were acquired while the methacrylate container with the tissue was being heated in a temperature range of 26°C to 50°C, in successive increments of 2°C. In order to ensure that the measurements were performed at an accurate temperature, degassed water temperature, outside the container, was controlled by a thermostatic bath (CD10-P5, Haake, Germany) and the temperature inside the phantom was monitored with a thermocouple (HI 935002, Hanna Instruments), inserted inside the tissue near the transducer. The thermocouple resolution was 0.1°C and measured two temperatures at the same time. An Hg thermometer monitored temperature inside the thermostatic bath but outside the tissue. The time allowed between two measurements was long enough (20 min) to ensure a uniform temperature inside the phantom

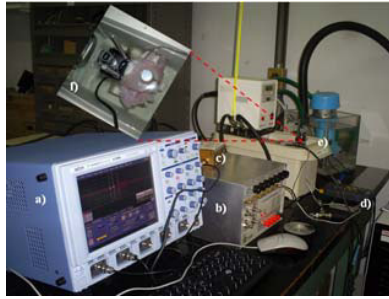


Fig.1 Experimental setup: a) digital oscilloscope, b) home-made pulser, c) home-made amplifier, d) thermocouple, e) thermostatic bath and f) arrangement transducer-tissue-reflector.

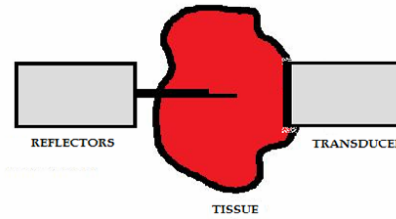


Fig.2 Diagram of the reflectors (needles) used for the propagation speed measurement.

Cross-correlation method was employed to calculate the time-of-flight between the two main echoes (the first and the last needle echoes). The highest value from the correlation, which indicated the time between echoes in number of samples, was found and then its position indicated, in sample number, the displacement that exists between the echoes. The displacement in seconds was obtained by the multiplication of the number of samples and the inverse of the sampling frequency. Finally, a TOF measurement, between the reflector echo signal maxima, was calculated (Fig.3).

The propagation speed in the tissue was obtained by using the time-of-flight and the distance between the first and last needles, using the following expression:

$$TPS = \frac{2 \cdot D_{n_1 n_2}}{t_{e_1 e_2}} \tag{1}$$

where *TPS* is the Tissue Propagation Speed,  $D_{n_1 n_2}$  is the distance between the needles and  $t_{e_1 e_2}$  is the time-of-flight between needle echoes.

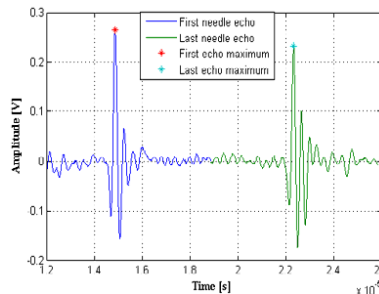


Fig.3 Example of the signals obtained by using two needle reflectors.

2.3. Measurement of the ultrasonic propagation speed in degassed bi-distilled water as standard material.

To estimate the error of the propagation speed measurements, the degassed bi-distilled propagation speed was measured, with the previously proposed system, in a temperature range of 24°C to 50°C, with successive increments of 0.5°C. We wait for the stabilization of the water temperature inside the container before recording the echo

signal. Water was chosen because its acoustic properties are well known at different temperatures; it is a good standard material [4]. The experimental results were compared with those reported for pure water characterization by Bilianuk and Wong [5].

2.4. Attenuation coefficient measurement with the pulse-echo technique

In order to carry out the measurements, the same experimental setup was employed but in this case just one reflector was used. Two signals were taken, the first using the reflector on the tissue surface and the second introducing the needle in the tissue at a precise distance measured by a micrometer that controlled the needle displacement (Fig.4), with a resolution of 10 μm. The recorded signals inside and outside the tissue were stored for processing, every 2°C within the range of 26°C to 50°C.

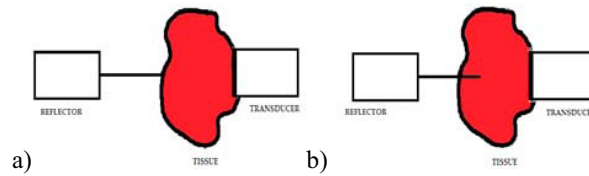


Fig.4 Technique used for the attenuation coefficient measurement: a) at the surface and b) inside the tissue.

The attenuation coefficient was obtained by using the following equation:

$$\alpha = \frac{20 \cdot \log\left(\frac{V_{rms2}}{V_{rms1}}\right)}{2 \cdot d \cdot f}, \tag{2}$$

where  $V_{rms2}$  is rms voltage obtained at the tissue surface,  $V_{rms1}$  is the rms voltage inside the tissue,  $d$  is the distance between the surface tissue and the last point where the needle was placed, and  $f$  is the transducer frequency.

3. Results

Five ultrasonic propagation speed measurements in water were done with the proposed system. The results of each measurement, the average of the five measurements and the obtained values by Bilianuk and Wong [5] in a temperature range of 24°C to 50°C, are shown in Fig. 5. The differences between the obtained and the previous values can be clearly observed; also, it can be observed that this difference was minimal in the range of 24°C to 38°C, but after these values some peaks were presented due to the blistering on the surface of the reflector needles.

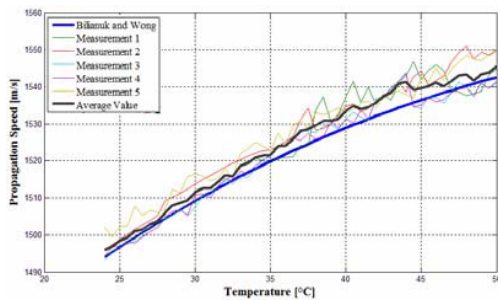


Fig.5 Water propagation speed; comparative behavior.

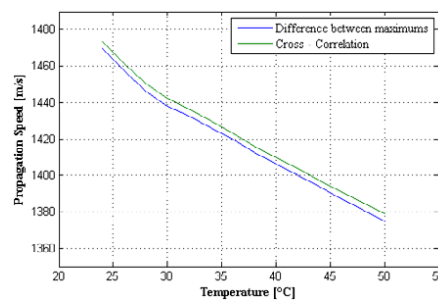


Fig.6 Propagation speed in fat at different temperatures, obtained by using the difference between maxima and cross-correlation methods.



In Figure 6, the propagation speeds are shown. They were obtained from fat by using cross-correlation and time difference between maxima methods; note that they had almost a linear behavior in the specific range with very similar values to those that have been previously reported at 37°C [6-8].

The fat attenuation coefficient (Figure 7) presented a downward behavior up to 36°C. After that temperature, it presented variation ranging between 1 and 1.2 [dB/(cm MHz)]. The fat average attenuation coefficient reported by [6] is 0.6 dB/cm using a 1 MHz transducer.

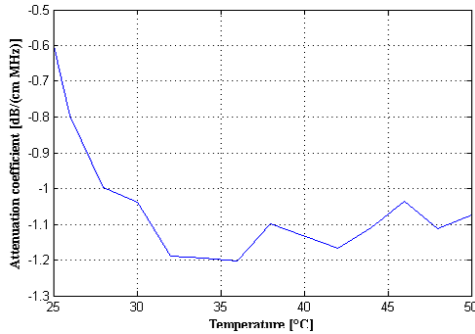


Fig.7 Fat attenuation coefficient at different temperatures.

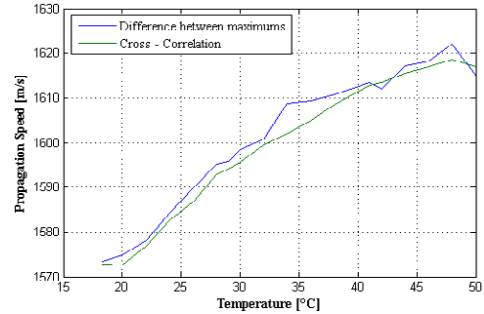


Fig.8 Propagation speed in skeletal muscle, at different temperatures, obtained by using the “difference between maxima” and cross-correlation.

The differences observed between the methods (cross-correlation and difference between maxima) in the propagation speed, are due to the reflectors arrangement; they cause a phase shift in the second echo signal that introduces an error in the measurement when cross-correlation is employed.

In Figure 8, the obtained speeds of the skeletal muscle sample are shown. The speed variation can be observed with an upward behavior in almost all the temperature range. The cross-correlation curve presents a smoother behaviour than that obtained with the difference between maxima. The propagation speed values vary between 1570 and 1620 m/s, whereas the value reported by [7] at 24°C is 1580 m/s, which is similar to the value obtained at that temperature. The results of the muscle attenuation coefficient measurement had an upward behavior and with variations between -0.3 y -0.5 [dB/(cm MHz)]; they are shown in Fig. 9.

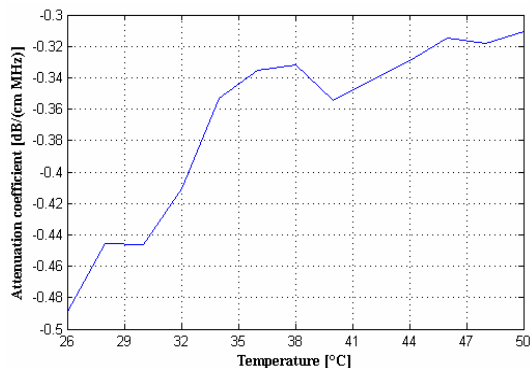


Fig.9 Muscle attenuation coefficient at different temperatures.

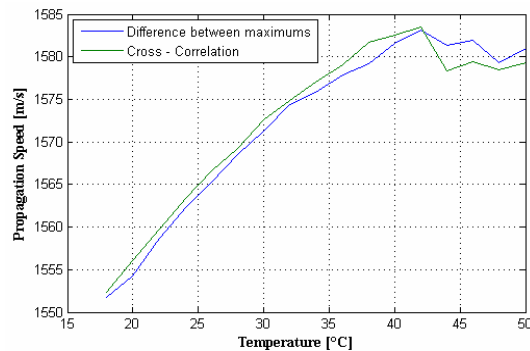


Fig.10 Propagation speed in liver at different temperatures obtained by using difference between maxima and cross-correlation methods.

The liver ultrasound speed and the attenuation coefficient behavior are shown in Fig. 10 and Fig. 11, respectively.

In Figure 10, the propagation speeds of a pig liver sample are shown. The speed variation can be observed with an upward behavior from 18°C to 42°C. The cross-correlation and difference between maxima had a similar behavior in all the temperature measurement range. The propagation speed values vary between 1550 and 1585 m/s, the average values reported by [6] are 1550 m/s and 1607 m/s which agree reasonably with the values presented in this paper.

The liver attenuation coefficient presented a downward behavior up to 34°C; after that temperature, it presented variations between 1 and 1.2 [dB/(cm MHz)]. The liver attenuation coefficients reported is in the range of 0.1 to 5 dB/cm [6]-[8], using a 1 MHz transducer.

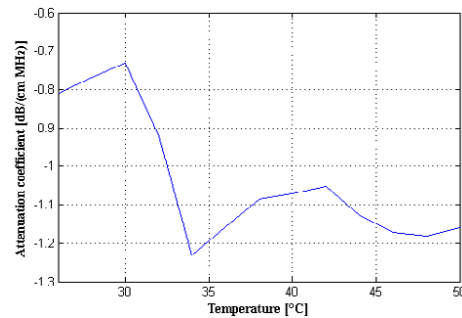


Fig.11 Muscle Attenuation coefficient at different temperatures.

#### 4. Discussion

Some ultrasonic propagation speed measurements in three types of biological tissues were made considering several conditions in order to have a small error in the results.

A first consideration was the alignment of the reflector needles and the transducer. The reflector needles were inserted in the center of a Nylamid base. This base was constructed with the same diameter that the transducer and using the same mechanism to make the measurements, so it could be possible to align the transducer and the reflector needles.

A second consideration was the separation between the reflector needles. This distance was measured with a micrometer several times and then those results were averaged; however, to have reliable results, it was necessary to make a new experiment. A needle arrangement was placed in front of the transducer inside the water and a first signal containing the echoes of the needles was recorded, and also the temperature was recorded. After that, the arrangement was displaced through a known distance, in this case 5mm, with a micrometer and a second signal was recorded. Both measurements were made with the water at the same temperature. The last step was to make a calculus series using the time between the first needle echoes in both signals and the arrangement displacement distance; from these data, the water propagation speed at a specific temperature was obtained. With this speed value and the time between both the first and the second needle echoes, the calculus of the distance between needles was carried out. This result was close to the previous data obtained with the micrometer.

Another error source that was minimized is related to the time between the needles echoes. By using both methods, measurements between echoes maxima and correlation, we obtained similar results; however, the first method had the disadvantage of several and equal values generation in the peak signals due to the oscilloscope sampling frequency and it was also considered as maximum the first value of the data series.

Finally, the temperature measurement in tissues was made with a thermocouple embedded near the point where the signals were taken; once the temperature was reached, the tissue was maintained at this temperature during 20 minutes in order to get a uniform temperature inside. This process could be improved if optical fibre temperature measurement equipment was used to monitor the temperature in four different points inside the tissues.

## 5. Conclusions

It was confirmed that the changes in propagation speed of ultrasound in biological tissues, such as muscle, fat and liver, could be employed to linearly estimate the temperature inside them. This is due to the almost lineal response presented by these tissues when they are interrogated by pulses of ultrasound at the megahertz range.

It is necessary to continue the characterization of other tissues to generate a data base of their characteristics within the temperature range used in therapy procedures. With the data obtained so far, the fabrication of phantoms with similar behaviour to the tissues, with temperature increments, can be done.

The tissue conservation could be better if an organ transplant solution is used instead of the saline solution.

By using as reflector setup two parallel needles, for the ultrasound speed measurement, it is possible to get reasonably accurate results, in spite of some parasitic phase shifts observed in the second needle echo.

The results can be improved if the measurements are made in thin tissue slices, approximately of the order of one centimetre, to reduce attenuation in the ultrasonic signal. In addition, it will be of interest to advance in order to improve the signal-to-noise ratio in echoes.

## Acknowledgments

This work was supported by CONACyT-Mexico, Project CONACYT No. 68799. Authors would like to thank the precious aid of H. Zepeda Peralta.

## References

- [1] I. Bazán, “Evaluación y Mejora de Técnicas Ultrasonicas para Estimación No-invasiva de Distribuciones Térmicas Internas en Phantoms Biológicos con Dispersores”, Tesis de Grado Doctor en Ciencias, CINVESTAV-IPN, Mexico, 2008
- [2] 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, 1-8, Marz, pp. 553-558, 2000.
- [3] A. Ramos, A. Ruiz, J.L. San Emeterio, P.T. Sanz. “Pspice circuitial modelling of ultrasonic imaging transceiver including frequency-dependent losses and signal distortions in electronic stages”, *Ultrasonics*, Vol. 44e, pp. 995-1000. (2006).
- [4] Joie Pierce Jones, “Quantitative characterization of tissue using ultrasound”, *IEEE Transactions on Nuclear Science*, Vol. NS-27, No. 3, June 1980
- [5] S.A. Goos, R.L. Johnson and F. Dunn (1978) “Comprehensive compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues” *J. Acoustical Soc. Am.* 64: 423-457
- [6] S.A. Goos, R.L. Johnson and F. Dunn (1980), “Compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues. II” *J. Acoust. Soc. Am.* 68: 93-108

## APÉNDICE B

---

### Publicaciones en Congresos Internacionales

---

## Ultrasound Propagation Speed Measurement of Mimicking Soft Tissue Phantoms Based on Agarose in the Range of 25°C to 50°C

S.A. López-Haro, I. Bazán-Trujillo, L. Leija-Salas and A. Vera-Hernández

Department of Electrical Engineering, CINVESTAV-IPN, Mexico D. F., Mexico

Phone (+52 55) 57473800 Ext 6212

E-mail: arvera@cinvestav.mx; lleija@cinvestav.mx

*Abstract* — To simulate the real conditions where the ultrasound will be applied, it is necessary the employment of materials to mimic the ultrasound behavior of tissues; these kind of materials are called *phantoms*. Therefore, it is important to measure the basic characteristics that must be mimicked; one of them is the ultrasound propagation speed. This characteristic could be employed to estimate the soft tissue temperatures in a non-invasive way. Agarose was used, for phantom preparation, in this work because it is an easy material to work with and also because the change of the ultrasound propagation speed in the phantoms only depends on the quantity of agarose concentration; it makes easier the phantom preparation. Ultrasound signals obtained from the phantom, using the pulse-echo transmission technique, were processed by using cross-correlation to calculate the time-of-flight, which is defined as the difference between the time of the first and the last phantom echo signal, with this information, and the phantom thickness, it is possible to calculate the propagation speed. The results are compared with the ultrasound speed obtained from degassed water, in the range from 25°C to 50°C. The phantom propagation speed with 1.5% agarose concentration had a behavior close to that of the water. A non-linear behavior after 43°C was observed.

*Keywords* — phantom, propagation speed, time-of-flight, ultrasound.

### I. INTRODUCTION

In ultrasound experiments, most of the time, it is not possible to use the real tissues in which the technique will be applied. For this reason, it is necessary to simulate real tissues, but keeping the main characteristics upon the expected phenomena.

*Phantoms* or tissue simulators are those test materials used to mimic some particular characteristic of the human tissues; they are used in experiments, in this case in ultrasound experiments. The main problems of the phantom conception are their construction, storage, and conservation [2].

Ultrasound phantoms are classified in two types: those which try to approximate the basic acoustic properties like propagation speed and attenuation coefficient, and those which are used in the study of the ultrasound effects on organs and tumors [3].

Propagation speed in human tissues ranges between 1460 m/s and 1650 m/s for hard and soft tissues. In general, the simulated speed is that of soft tissues, 1540 m/s [2].

Agarose is a polysaccharide formed by alpha and beta galactoses extracted from seaweeds of the *Gellidium* and *Gracillaria* kinds. The agarose is water soluble at temperatures upper to 65°C and the solidification temperature varies between 17°C and 40°C. The agarose is a natural product which forms an inert and non-toxic matrix that is an indispensable tool in a big quantity of techniques of Molecular Biology, Biochemistry, and Cellular Biology. Its more extended use is to fabricate gels that enable the separation of the DNA molecules by electrophoresis. Other less extended uses are the employment of the gels as damaged tissue repair matrices and, in the last years, as ultrasound phantom material.

### II. METHODOLOGY

#### *Phantoms construction*

The following general protocol was established to fabricate agarose phantoms (Invitrogen: UltraPure™ Agarose):

- i. Measure the quantity of agarose and water necessary upon the desired concentration.
- ii. Mix the agarose and desionized tridistillate water to avoid the bubbles formation.
- iii. Heat the mix with medium stirring as far as obtains a homogenous and transparent solution.
- iv. Get the solution colder until 55°C with constant stirring, add 10 units of antimycotic and pour it in a mould.

If it is necessary to store the phantom, it is advisable to refrigerate it, submerged with antimycotic to preserve it.

### Propagation speed measurement with the pulse-echo technique

A home-made pulser [4,5] was developed for the driving of a 2.25 MHz central frequency ultrasonic transducer (Mod. 12C-0204-S, Harisonic, USA), with a high voltage short-duration spike. The transducer was immersed in a degassed water thermostatic bath with the phantom placed in front of it, fixing the distance between the face of the transducer and the phantom (38.1 mm) through a firm support for the transducer during experiments. The measurements were made under far field conditions. A rubber reflector was placed at the bottom of the phantom to distinguish the end of the phantom. The echo signals were received by the same transducer and were amplified by a home-made amplifier. These signals were digitalized by a digital oscilloscope (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) using a sampling frequency of 1 GHz [6].

The mentioned echo-signals were acquired, as a function of time, while the phantom was being heated in a temperature range from 25°C to 50°C, in successive increments of 1°C. To ensure that the measurements were performed in accurate temperature values, degassed water temperature was controlled by a thermostatic bath (CD10-P5, Haake, Germany) and the temperature inside the phantom was monitored with a probe of an optical fiber thermometer (Luxtron M3300, USA) inserted in the middle of the phantom. A thermometer of mercury was monitoring temperature into the thermostatic bath but outside the phantom. The time allowed between two measurements was long enough (15 min) to ensure a uniform temperature inside the phantom (see Fig. 1).



Fig. 1 Experimental setup: assembly of the propagation speed measurement equipment based on the pulse-echo technique.

The signals were processed with MATLAB® (The MathWorks, Inc.). First, the signal noise, due to the thermostatic bath operation, was eliminated with a first order band-pass Butterworth filter with cutoff frequencies of 2 MHz a 3 MHz (Fig. 2).

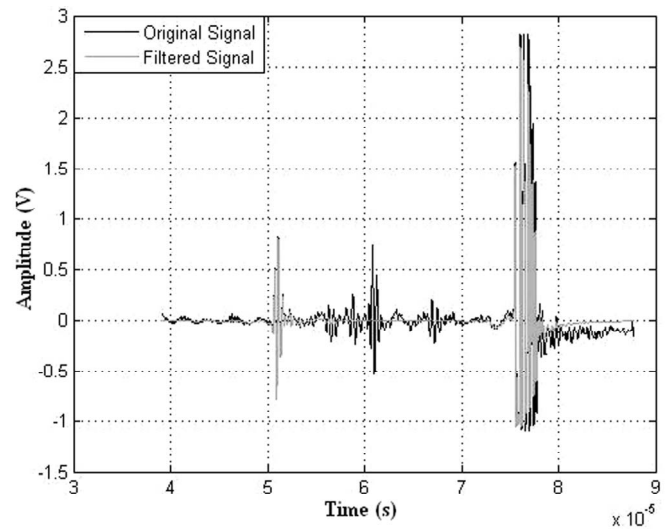


Fig. 2 Original and filtered ultrasound signal obtained from the soft tissue mimicking phantom at a stable temperature.

Cross-correlation processing was employed to calculate the time-of-flight between the two main echoes (the phantoms first and last echoes). The complete signal was not considered to reduce the processing time (Fig. 3). First, the highest point from the correlation, which indicates where the similar echoes are, was found; its position indicates, in samples number, the displacement that exists between the echoes. The displacement in seconds was obtained by the multiplication of the samples number derivated of the inverse of the sampling frequency. Finally, the time that was not considered in the correlation is added, it means the time between the end of the first echo and the beginning of the second, to obtain de time-of-flight.

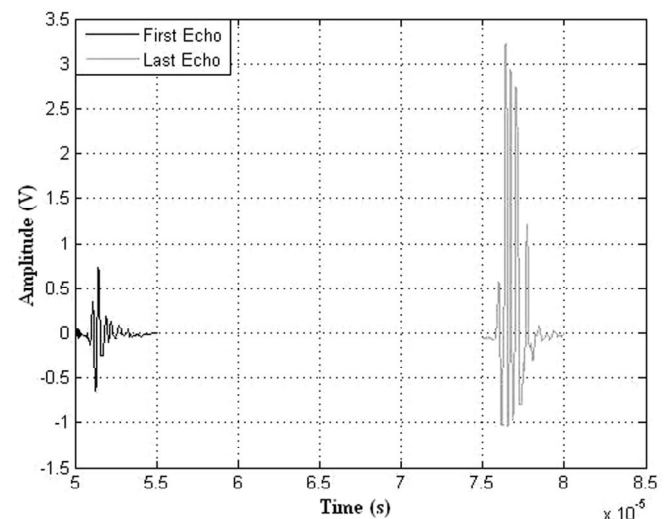


Fig. 3 The first and last echoes from the ultrasound soft tissue mimicking phantoms at stabilized temperature.

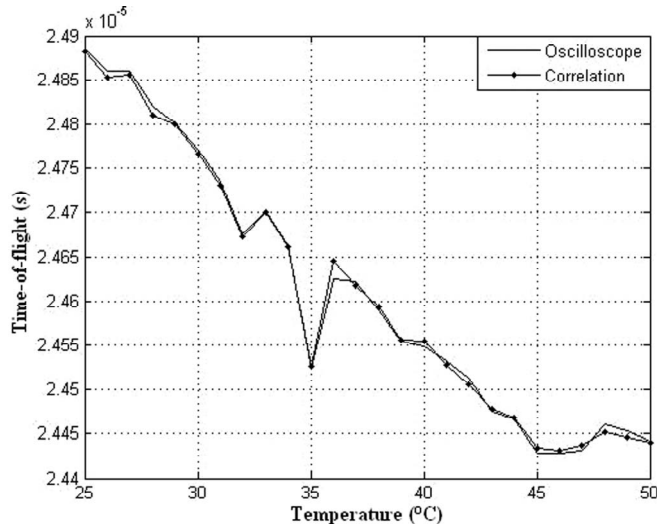


Fig. 4 Time-of-flight comparison between the cross correlation technique and the direct time measurement by using the oscilloscope.

To corroborate the calculated time-of-flight data, a comparison with the oscilloscope data was made (Fig. 4).

Finally, the propagation speed in the phantom was quantified using the half time-of-flight and the phantom thickness. The time-of-flight is the time in which the echo goes and backs trough the phantom; for this reason, the half time-of-flight is used.

The following equation was used to calculate the propagation speed:

$$\text{Propagation Speed} = \frac{\text{Phantom thickness}}{\text{Time - of - flight}/2} \quad (1)$$

### III. RESULTS

Following the protocol before established, two agarose phantoms were fabricated with the characteristics showed in the Table I.

The agarose melt temperature, in both cases, was 65°C.

Five scanning were taken for each temperature, but just one of them was taken to make the processing. Twenty six signals of each phantom were processed.

TABLE I  
AGAROSE PHANTOMS CONCENTRATION AND THICKNESS

Sample	Agarose (%)	Thickness (mm)
Phantom 1	1.5	18.64
Phantom 2	0.7	17.15

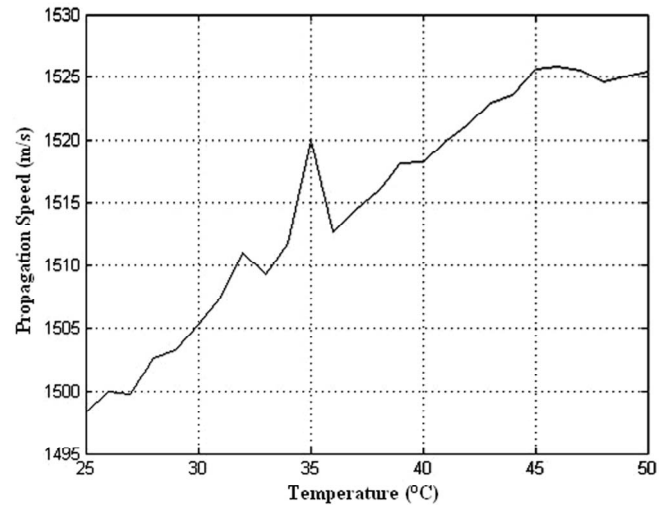


Fig. 5 Phantom-1 propagation speed in the range from 25°C to 50°C.

The propagation speed was calculated, in both cases, with the time-of-flight data obtained with the MATLAB® algorithm which employed cross-correlation.

The propagation speeds at different temperatures are showed in Fig. 5 and 6.

Phantom 1 had a lineal behavior in two ranges, from 25°C to 34°C and from 36°C to 45°C. The general propagation speed values vary between 1500 and 1525 m/s.

Phantom 2 had a lineal behavior in the range from 28°C to 40°C. The general propagation speed values are between 1595 and 1630 m/s.

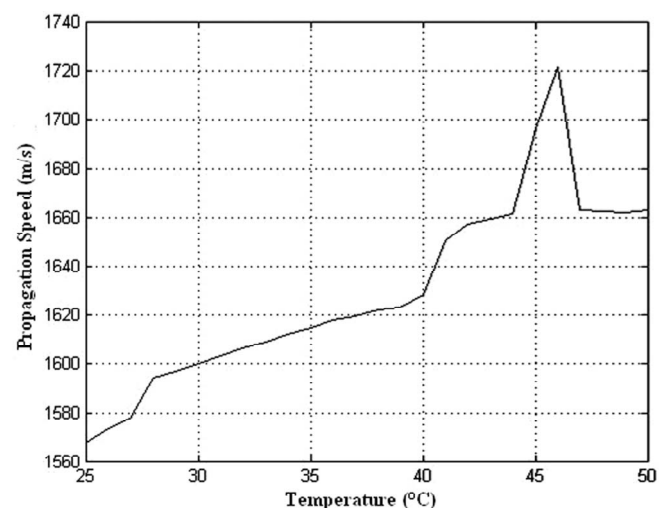


Fig. 6 Phantom-2 propagation speed in the range from 25°C to 50°C.

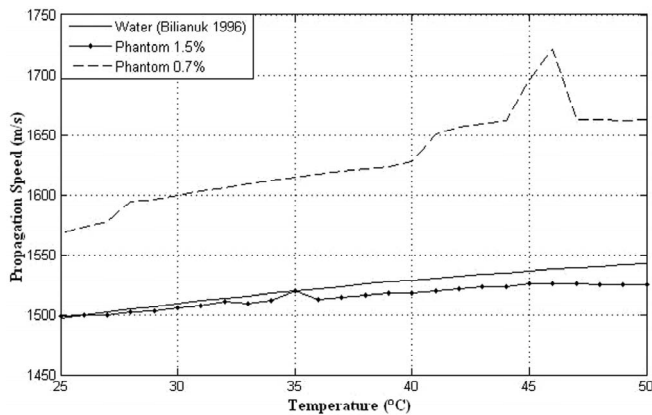


Fig. 7 Propagation speed comparative graph between phantoms and water.

The comparison between both phantoms and water showed that the behavior of the phantom 1 is similar to that of the water.

#### IV. DISCUSSION

In the phantom 1 propagation speed graph, a peak at 35°C was found. This peak was due to the equipment was turned off during two hours at 34°C, the scanning was restarted at 35°C and at 36°C. The lineal behavior that was observed before turning off the equipment is shown in the curve.

From the comparison showed in Fig. 7, the behavior and propagation speed similarities between the phantom with a 1.5% agarose concentration and the water is appreciated. However, with a decrease in the agarose concentration, the lineal behavior was kept only in the range from 28°C to 40°C and the propagation speed increase almost in 100 units with respect to the phantom with a 1.5% agarose concentration.

#### V. CONCLUSION

A relation between phantom propagation speed and the agarose concentration was found; a greater agarose concentration decreases propagation speed in the phantom.

It was observed that it is mandatory that the measurement process of the time-of-flight be made without pauses.

These results are the beginning of more experiments destined to find a soft tissue phantom for ultrasound applications, especially for non invasive temperature estimation; therefore, it will be necessary to have a comparison point doing the same tests in animal tissue.

#### ACKNOWLEDGMENT

We are particularly grateful to M. en C. José Hugo Zepeda Peralta for his instructions for the correct use of the equipment.

This work was supported by CONACyT-Mexico.

#### REFERENCES

- [1] Bilaniuk N., Wong, G.S.K., "Speed of sound in pure water as a function of temperature", J. acoust. Soc. Am., vol. 99, pp. 3257, 1996.
- [2] Reyna A., "Ultrasonido Enfocado de Alta Intensidad como una Alternativa No Invasiva en el Tratamiento Oncológico: Estudio Acústico, Eléctrico y Térmico de un Transductor HIFU". Tesis de Grado Maestro en Ciencias. CINVESTAV, México D. F. 2007.
- [3] Rivera M. A., Reiszal F., Pereira W., Machado J. C., *Phantoms para Ultrasonido con Variación Continua de la Velocidad de Propagación de la Onda*. Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica. Vol. 23, Núm. 1. Marzo 2002
- [4] 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, 1-8, Marz, pp. 553-558, 2000.
- [5] A. Ramos, A. Ruiz, J.L. San Emeterio, P.T. Sanz. "Pspice circuital modelling of ultrasonic imaging transceiver including frequency-dependent losses and signal distortions in electronic stages", Ultrasonics, Vol. 44e, pp. 995-1000. (2006).
- [6] Bazán I., Ramos A., Vera A. and Leija L., "Development of a phantom to mimic soft tissue with a regular-scatterer structure for ultrasonic use", Proceedings of the Pan American Health Care Exchanges, January 28 - February 1, 2008, Long Beach-Los Angeles, California



## Synthesis of HAp/chitosan composites via electrospinning: Preliminary results

F. Vázquez-Hernández<sup>1</sup>, S.A. Lopez-Haro<sup>1</sup>, M.A. Meléndez Lira<sup>2</sup>, María de Lourdes Albor-Aguilera<sup>3</sup>, V. Altuzar<sup>4</sup>, C. Mendoza-Barrera<sup>4</sup>,

<sup>1</sup>Department of Electrical Engineering and <sup>2</sup>Department of Physics, CINVESTAV-IPN, Mexico D.F., Mexico

<sup>3</sup>IPN, ESFM, UPALM, Mexico City 07738, DF Mexico

<sup>4</sup>Center of Research in Micro and Nanotechnology, Universidad Veracruzana, Veracruz, Mexico

Phone (229) 7752000 Ext 25119 Fax (229) 92165 32

E-mail: omendoza@uv.mx /fvazquez@cinvestav.mx

**Abstract** — Human bone is a hydroxyapatite HAp ( $\text{HCa}_5\text{O}_8\text{P}_2$ ) and type I collagen based composite. Nowadays, many methods and techniques have been developed and applied to design advanced materials for bone replacement. A strategy for imitating in a tridimensional way the structure, composition and mechanical properties of a bone is mimicking it at nanometric scale. This can be carried out, by incorporating selective of nanoparticles of apatites into a polymeric matrix by controlling structure and composition of the fibers. In this work we present the preliminary results of HAp/Chitosan composites prepared by the electrospinning technique. HAp/Chitosan fibers were spun from different aqueous solutions, all of them with a pH= 3. The compositional and structural characteristics were obtained by using scanning electron microscopy SEM, energy dispersive spectroscopy EDS, X-ray diffraction XRD, and infrared spectroscopy IRS. EDS and XRD confirmed that the mineral deposits correspond to hydroxyapatite and calcium phosphate monobasic MCP ( $\text{CaH}_4\text{O}_8\text{P}_2$ ), which are present in the human bones. Comparative studies were made from chitosan and HAp/Chitosan solutions. In this respect IRS analysis showed that the characteristic chitosan stretch band in the 1020-1220  $\text{cm}^{-1}$  range was attenuated when HAp was added. Additionally, from a precursor solution prepared at pH=3, 1% w/v chitosan, and 1% w/v HAp and spun at 20 V, a Ca/P ratio close to bone composition ( $\text{Ca/P}_{\text{bone}} = 1.67$ ) was obtained.

**Keywords** — bone; chitosan; composite; hydroxyapatite.

### I. INTRODUCTION

Worldwide around 200 million people are annually afflicted by musculoskeletal system problems from accidents or diseases [1]. According to the World Health Organization WHO, the high energy fractures are the highest problem for a hospital due mainly to the slow bone regeneration and expensive health care [2].

The combined use of synthetic or natural bone grafts, and growth factors play an important role in long bone regeneration. The ideal synthetic biomaterial should be biodegradable, biocompatible, osteoconductive or osteoinductive, cheap, and with high surface area to volume ratio. A strategy for imitating in a tridimensional way the structure, composition and mechanical properties of a bone is mimicking it at nanometric scale. It means, selectively incorporate nanoparticles of apatites inside a polymeric matrix by controlling the structure and composition of the fibers.

Chitosan (MW= 650kD) is a natural, plenty, and biocompatible polysaccharide rich in amine ions, obtained from crustacean shells which offers promissory possibilities for applications in Tissue Engineering [3]. At pH's lower than  $\text{pK}_a = 6.3$  ( $\text{pK}_a$ : is pH where the non-ionized fraction corresponds to 50%), most of the amine groups ( $-\text{NH}_2$ ) are protonated, becoming the chitosan in a water-soluble compound, and a cationic polyelectrolyte ( $-\text{NH}_3^+$ ) [3,4]. Particularly, with a pH= 3 and 5 it is possible to get several morphologies such as fibers, tubes, and flakes.

With respect to the named hydroxyapatite, HAp:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , is the most important biological calcium phosphate presents in the vertebrate bones, which shows a stable hexagonal crystallographic phase [5]. The HAp nanoparticles used in this work were manufactured by the hydrothermal technique (results do not showed here).

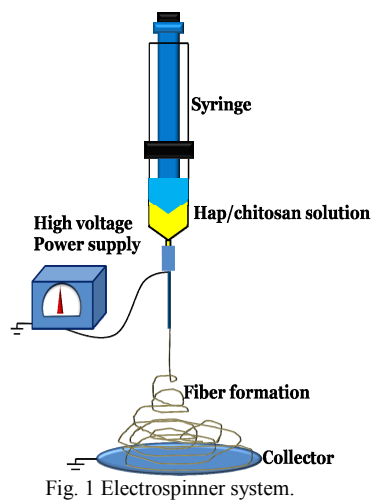
In this work fibers of HAp/chitosan by the co-electrospinning technique were synthesized. The composite was characterized by using X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and infrared spectroscopy (IRS). X-ray diffraction confirmed that the mineral deposits were HAp and calcium phosphate monobasic MCP ( $\text{CaH}_4\text{O}_8\text{P}_2$ ), both of them present in human bones, whereas IRS studies showed the chitosan characteristic peak at a number wave around 1020 – 1220  $\text{cm}^{-1}$ . SEM images show the morphology of the fibers synthesized.

### II. METHODOLOGY

**Solution preparation:** The starting solutions were prepared from HAp powders and chitosan flakes (Sigma-Aldrich: 75% of deacetylated).

The preparation conditions of chitosan solution were pH= 3, and concentrations of 1 and 2 % w/v. The HAp particles at different ratios, 1, 2, and 5 %w/v were added to the chitosan solution previously prepared. The final solution was stirred during 30 min.

**Electrospinning technique:** Electrostatic fiber formation, or “electrospinning,” is a method to produce fibers with diameters ranging from nanometers to microns by accelerating a jet of charged natural or synthetic polymeric



solution in a constant electric field (See Fig. 1) [6]. Briefly, it is based on using high voltages (between 10-30 kV) to generate a potential difference adequate to overcome the surface tension in a pendant drop of a polymeric fluid. Under the presence of the strong electric field, the pendant drop at the capillarity is deformed into a conical shape (Taylor cone) because some ions in the solution are neutralized by the high electric potential and leads to charge imbalance. Then, if the polymeric solution has a high molecular weight, it will be ejected through a nozzle depositing the fiber on a grounded collector. Otherwise, as the solvent is evaporated, the drops are smaller and the charge repulsion between the solution and the voltage source increases, leading to a reduction of the drop-size, which produces the named “*electro-spraying*” The final HAp/chitosan solutions were electrospun using a potential of 12, 15, 17, and 18 kV. The electrodes separation was of 5 cm. Table I resumes the synthesis conditions of the HAp/chitosan fibers.

*Fibers characterization:* XRD employing the Cu-K $\alpha$  line (Siemens D5000 diffractometer with a 0.2° step, 40 mA and 20 kV), SEM (JSM 6300 JEOL at 5 and 10kV), EDS (system NORAN 1100/1110EDX), and IRS (Nicolet 750, 400-4000 cm $^{-1}$ ) were used to characterize the HAp/chitosan composites.

TABLE I  
SYNTHESIS CONDITIONS OF THE HAP/CHITOSAN COMPOSITES

Sample	Chitosan (%w/v)	HAp(%w/v)	V(kV)
MA	1	1	18
MB	1	5	15
MC	2	1	17
MD	2	2	12

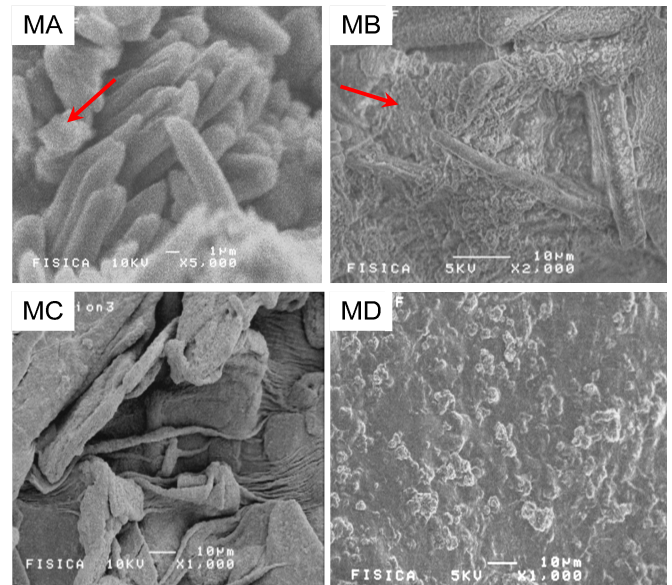


Fig. 2 SEM micrographs of samples obtained from solutions containing different HAp/chitosan ratios, and two magnifications, 5 and 10 kV.

### III. RESULTS

Fig. 2 shows the SEM micrographs of four HAp/chitosan samples synthesized by the electrospinning technique. The MA sample (1% w/v chitosan, 1%w/v HAp, 18 kV) shows a surface covered by elongated and parallel fibers and a few irregular shape HAp particles (see arrow). The fibers present uniform shape and geometry, with an average diameter in the order of 2  $\mu\text{m}$ . The MB sample (1% w/v chitosan, 5% w/v HAp, 15 kV), with a different magnification, shows a surface covered with an irregular matrix of HAp/chitosan (see arrow) and very few long fibers. The MC sample (2% w/v chitosan, 1% w/v HAp, 17 kV) seems to be formed by stacks of lamellas with different sizes. Finally, the MD sample (2% w/v chitosan, 2% w/v HAp, 12kV), presents a highly rough surface but more compact, which does not show the presence of fibers. From these results, it is evident that, the morphology is strongly influenced by both deposition parameters, the HAp/ chitosan ratio and the spun voltage.

The EDS microanalysis results were obtained over an area of 100  $\mu\text{m}^2$ . By this characterization technique can be quantified the concentration of C, Ca, P, O and N. Table II shows the Ca and P contents in the composites, and the respective Ca/P ratios. The Ca/P ratio is an important parameter when the obtaining of a bone substitute is attempted. In the table II bone and HAp Ca/P ratios are included in order to compare our results with the standard values.

TABLE II  
CA AND P CONCENTRATION IN HAP/CHITOSAN SAMPLES ESTIMATED  
FROM EDS MICROANALYSIS

Sample	Calcium Ca (%)	Phosphorus P (%)	Ca/P ratio
MA	12.05	9.34	1.30
MB	43.39	10.76	4.04
MC	67.81	32.18	2.10
MD	6.32	12.55	0.5
HAp(teo)	5	3	1.67
Bone	59.29	32.81	1.4 – 1.7

The HAp hexagonal phase of the samples synthesized was confirmed by the XRD patterns. Fig. 3 shows the HAp, Chitosan, and MCP standard patterns, together with the spectra of MA and MC samples. Three HAp characteristic peaks, (211), (112) and (300) are present in the spectra, but also the (-1-21) and (-121) peaks corresponding to calcium phosphate (MCP) are present [7]. The presence of the MCP in the composites is justified for being a precursor in the HAp synthesis. MB and MD samples presented the Hap/chitosan characteristic peaks (results not shown here) as well. According to the spectra, we can say that, the composites synthesized preserve the structural characteristics of HAp.

Fig. 4 shows the IR transmission spectra in a range of 400 to 4000  $\text{cm}^{-1}$  for chitosan, and the samples defined as MA, MB, MC, and MD. The IR spectrum of chitosan shows the  $-\text{OH}$  stretching broad band between 3140 and 3500  $\text{cm}^{-1}$ , and the aliphatic  $\text{C}-\text{H}$  stretching between 2830 and 2990  $\text{cm}^{-1}$ . As the  $-\text{OH}$  stretching band and the aliphatic  $\text{C}-\text{H}$  stretching band are aligned, it appears as a broad band from 2850 and 3450  $\text{cm}^{-1}$  in the spectrum.

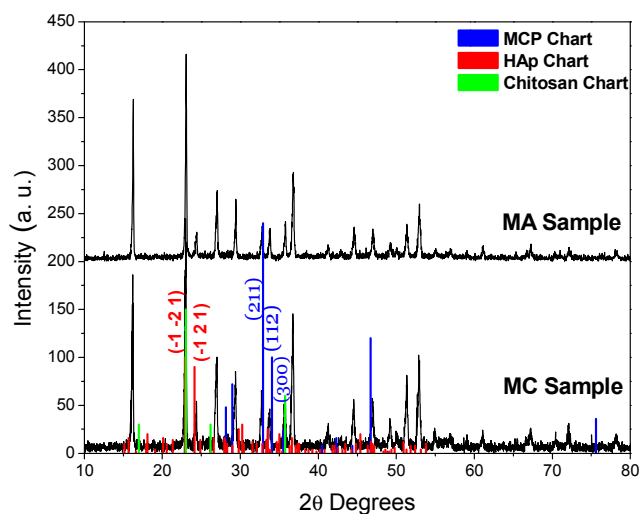


Fig. 3 XRD spectra of the MA and MC samples.

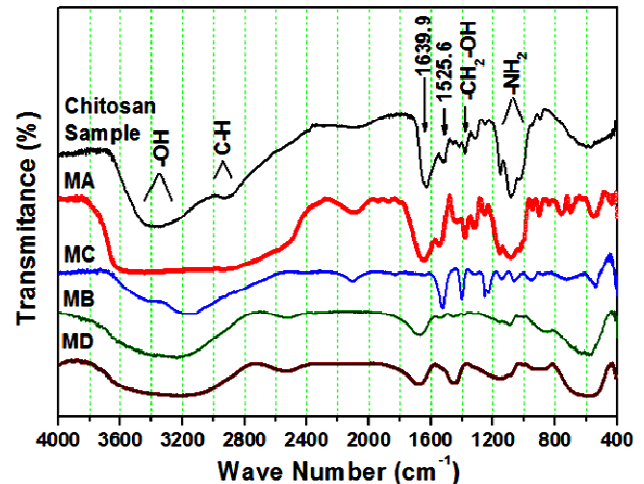


Fig. 4 IR spectra of samples obtained from solutions with different HAp/chitosan ratios.

Another major absorption band between 1020 and 1220  $\text{cm}^{-1}$  can be observed, which is associated to the free primary amino group ( $-\text{NH}_2$ ) at  $\text{C}_2$  position of glucosamine, a major group present in the chitosan compound. The peak presented at 1313  $\text{cm}^{-1}$  represents the  $-\text{C}-\text{O}$  stretching of the primary alcoholic group ( $-\text{CH}_2-\text{OH}$ ).

The MC sample shows the  $-\text{NH}_2$  amine group with a considerable intensity, whereas in the MA sample can be hardly observed. In the MB and MD samples it is presented with a minimum magnitude. The chitosan amide I and II regions positioned at 1639.9 and 1525.6  $\text{cm}^{-1}$ , show a shift to 1553.0 and 1647.0  $\text{cm}^{-1}$ , respectively, when the relation Hap/chitosan is 1:2 (MC sample). The peak corresponding to amide II is preserved when concentrations of HAp are 1% w/v (MA and MC samples). When the HAp concentration increases, beyond 1% w/v, this peak is vanished (MB and MD samples). As the HAp concentration is increased the  $-\text{C}-\text{H}$  broad band from 2900 to 3750  $\text{cm}^{-1}$ , as well as the  $-\text{CH}_2-\text{OH}$  and  $-\text{NH}_2$  chitosan characteristic groups are attenuated (MB and MD samples). The  $-\text{NH}_2$  group gives the guide to the HAp to be chemically coupled to the chitosan and begins the polymerization to form the fibers (MA and MC samples).

#### IV. DISCUSSION

HAp/chitosan composite bone substitutes were manufactured using different % w/v ratios of the precursors and spun voltages in a range of 12 to 18 kV. The results show that MCP mixed with the characteristic hexagonal HAp phase is formed due to the high voltage application. Moreover, at higher HAp concentrations, the structure and the composites chemical composition are modified. Samples with a HAp/chitosan concentration 1:1 showed a surface morphology composed by fibers with diameters of 2–3  $\mu\text{m}$

(MA sample). As the HAp concentration increases at 5 % w/v (MB sample) the fibers number was reduced. As the chitosan concentration increases from 1 to 2 % w/v, a surface covered by fibers mixed with lamellas (MC sample) was obtained.

In this work we can notice that, by using voltages under 15kV it was not possible the formation of fibers at all (MD sample). This observation is in agreement with the obtained IR studies. IR results suggest that chitosan, especially the NH<sub>2</sub> group, may initiate the HAp in the acidic polymerization medium, leading to a stable HAp/chitosan composite. The shift and attenuation peaks of chitosan spectrum, confirm that chemical reaction has taken place between the individual components. Finally, by using a HAp/chitosan concentration of 1:1, we found a Ca/P ratio close to the bone ratio.

## V. CONCLUSION

Biomaterials for bone replacement should have not only structural but chemical characteristics close to bone as well. In fact, due to bone is a HAp/collagen type I composite, it is possible replace it by using another biocompatible and bioactive composite. In this respect, chitosan and synthetic HAp are by themselves biocompatible and bioactive materials, so a HAp/chitosan composite can be suitable as graft material for orthopedic defects.

In fact, further studies are in progress to improve the electrospinning technique in order to obtain a tridimensional HAp/chitosan scaffold.

## ACKNOWLEDGMENT

We are particularly grateful to PhD. Elvia Diaz-Valdez (ESFM-IPN) for the acquisition of IR data, to Marcela Guerrero and Ana B. Soto for the analysis by SEM, EDS and XRD, to PhD. María de la Luz Olvera Amador and to UPIITA-IPN for the facilities given during the development of this work. This work was supported by CONACyT-Mexico and PROMEP (PTC-226).

## REFERENCES

- [1] E.A. Pancorbo-Sandoval, J.C. Martín-Tirado, A.D. Quiñones, R.N. Patou, A.D. Piedra, and L. Trimiño Galindo, "Tratamiento de urgencia de las fracturas con hidroxiapatita coralina® HAp-200"; *Rev. Cub. Ortoped. Traumatol.*, vol. 20, no. 1, pp. 2-9, 2006.
- [2] "World health report 2002 statistical annex" in The world health report, <http://www.who.int/whr/2002/annex/en/index.html>.
- [3] L.Q. Wu, A. P. Gadre, H. Yi, M. J. Kastantin, G. W. Rubloff, W. E. Bentley, G. F. Payne, and R. Ghodssi, "Voltage-Dependent Assembly of the Polysaccharide Chitosan onto an Electrode Surface"; *Langmuir*, vol. 18, pp. 8620-8625, 2002.
- [4] G. Saraswathy, S. Pal, C. Rose and T. P. Sastry, "A novel bio-inorganic bone implant containing deglued bone, chitosan and gelatin"; *Bull. Mater. Sci.*, vol. 24, no. 4, pp. 415-420, August 2001.
- [5] C.Mendoza-Barrera, "Interactions of Sthaterin with hydroxyapatite surfaces: Biomineralization process"; *Rev. Sup. Vacio*, vol. 10, no. 4, pp 31-34, 2005.
- [6] J. Doshi and D. H. Reneker, "Electrospinning Process and Applications of Electrospun Fibers"; *Journal of Electrostatic*, vol. 35, pp. 151-160, 1995.
- [7] T. Mikołajczyk, M. Bogun, M. Błazewicz, I. Piekarczyk, "Effect of Spinning Conditions on the Structure and Properties of PAN Fibers Containing Nano-Hydroxyapatite"; *J. Appl. Polymer Sci*, vol. 100, pp. 2881-2888, 2006.
- [8] JCPDS International Centre for Diffraction Data (database software), See 1.30; Newton Square, PA, 1997

# Ultrasonic Characterization of Biological Tissues in the Temperature Range of 26°C to 50°C

S.A. López-Haro, L. Leija, A. Vera

Department of Electrical Engineering, Bioelectronic  
 CINVESTAV  
 Mexico, D. F.

[slopez@cinvestav.mx](mailto:slopez@cinvestav.mx), [lleija@cinvestav.mx](mailto:lleija@cinvestav.mx), [arvera@cinvestav.mx](mailto:arvera@cinvestav.mx)

**Abstract**— This work describes the methodology employed to measure the ultrasonic propagation speed and the ultrasonic attenuation coefficient in the temperature range of 26°C to 50°C, in increments of 2°C, of three porcine biological tissues *in vitro*: fat, muscle and liver. The characterization was carried out by heating the container with saline solution within a thermostatic bath using the pulse – echo technique, the transducer which sends the pulse and gets the echoes has in front of it 1mm needles to work as reflectors. The results show, in first term, the echoes generated by the needles. Because the echoes move with the temperature increment, the ultrasonic propagation speed and the attenuation coefficients depending on the temperature can be obtained for the three analyzed tissues. The ultrasonic propagation speed of the three tissues had an almost lineal behavior in the range of temperature while the attenuation coefficient showed peaks throughout most of the range.

**Keywords** *Ultrasonic Propagation Speed, Attenuation Coefficient, Biological Tissues, Pulse – Echo*

## I. INTRODUCTION

It is important, during a hyperthermia treatment, the monitoring of the temperature distribution inside the treated area to control the amount of energy applied and to prevent damage in the neighbor tissues. In recent years, several groups have been researching different ultrasonic techniques to estimate the body temperature using phase, time or frequency echoes shifts which could be produced by tissues natural scatterers or some reflectors included to estimate the temperature [1, 2, 3]. To apply the developed techniques using biological tissues it is necessary to know their anatomical and ultrasonic properties.

TABLE I. ULTRASONIC PROPAGATION SPEED [4] AND ULTRASONIC ATTENUATION COEFFICIENT [5] IN SEVERAL MEDIA AND TISSUES.

Media	Ultrasonic Propagation Speed [m/s]	Ultrasonic Attenuation Coefficient [dB/cm at 1 MHz]
Air	330	12 $f^2$
Water	1,480	0.002 $f^2$
Fat	1,450	0.63
Blood	1,570	0.18
Kidney	1,560	1.0
Liver	1,550	0.94
Muscle	1,580	-----
Bone	4,080	15

There are many reports of some ultrasonic characteristics of biological tissues but only at room temperature or as a temperature average. The propagation speed in human tissues is between 1460 m/s and 1650 m/s so there is an average propagation speed for soft tissues, which is 1540 m/s (Table I). About attenuation coefficient, there are reported some values for biological media, it is difficult to propose an average due to the differences between the tissues (Table I).

The aim of this work is the ultrasonic characterization of porcine biological tissues to generate a data base about the parameters presented in these tissues during the temperature rising in the range from 26°C to 50°C to make phantoms with an ultrasonic behavior similar to the biological tissues for experiments using the temperature estimation techniques that have been studied in the CINVESTAV Ultrasonic and Electromagnetic Radiations Laboratory.

## II. METHODOLOGY

### A.

#### *Tissues Preservation*

The biological tissues were bought at a slaughterhouse immediately after the slaughtering to have fresh tissues for the measurements. A saline solution was prepared to preserve the biological tissues since they were acquired until the measurement was realized and even during the measurement procedure.

TABLE II. QUANTITIES OF SALINE SOLUTION COMPOUNDS.

Compound	Quantity
NaCl (Sodium Chloride)	80 g
KCl (Potassium Chloride)	2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Sodium Dibasic Phosphate)	14.4 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Potassium Monobasic Phosphate)	2.4 g
H <sub>2</sub> O	800 mL

The saline solution pH was adjusted at 7.4 and when the tissue was immersed in the saline solution both of them were cooled to have better tissue preservation. The tissues were kept in the preservative solution during the measurement time. The saline solution compounds are shown in the Table II.

B. Pulse – Echo Technique

The pulse – echo technique consists in a transducer which sends an ultrasonic pulse through studied media and carries out the echoes reception. These echoes are produced by the scatterers or interface changes.

1) Propagation Speed Measurement

The following system was used for the propagation speed measurement. First, there is a home-made pulser [6, 7] developed for driving a 3.5 MHz central frequency ultrasonic transducer (Panametrics – NTD, USA) with a high voltage short-duration pulse. The transducer was fixed in one of the container walls and the tissue was placed in front of the transducer face. Opposite to the transducer face was inserted a needles arrangement aligned with the transducer center. The generated echo signals (due the needles) were received by the same transducer and were amplified by a home-made amplifier. These signals were digitalized by a digital oscilloscope (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) using a sampling frequency of 5 GHz and storage to process them later (See Fig. 1).

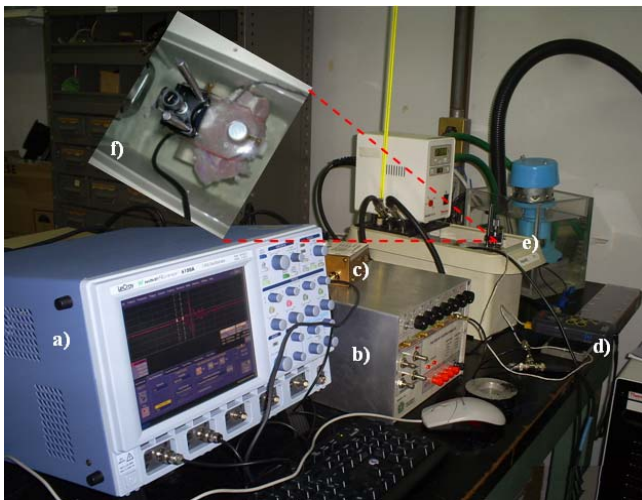


Figure 1. Experimental setup: a) digital oscilloscope, b) home-made pulser, c) home-made amplifier, d) thermocouple, e) thermostatic bath and f) arrangement transducer-tissue-reflector.

The signals were acquired whereas the container (with the tissue inside it) was heated in a 0.01 resolution thermostatic bath (CD10-P5, Haake, Germany), the temperature range for the measurement was from 26°C to 50°C, in successive increments of 2°C and an echo signal was saved each increment. The container temperature was checked with a 0.1°C resolution mercury thermometer and the inside tissues temperature was measured with a 0.1°C resolution thermocouple (HI 935002, Hanna Instruments).

The Figure 2a shows the assembly used for the propagation speed measurement, and the designed reflectors arrangement to generate an echoes couple, which had to stick out among the echoes that could be generated by the tissue reflectors. With the needles arrangement, the measure was made in only one step instead of two steps having one reflector in two different deeps.

Therefore, the measurement was made with the same denaturalization grade in the tissue (See Figure 2b).

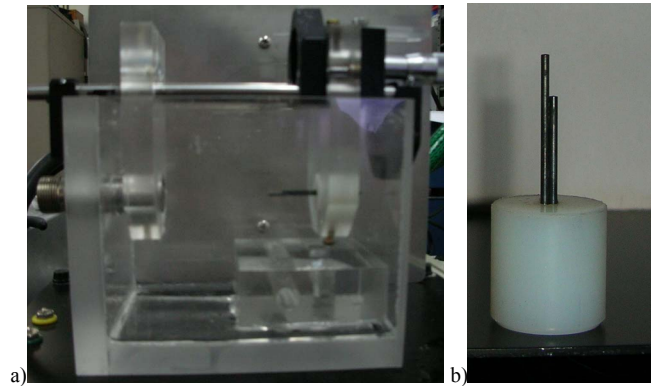


Figure 2. a) Tissues container with the transducer and the reflectors arrangement for the propagation speed measurement. b) Reflector needles arrangement.

The obtained signals with this technique and the described configuration present two well defined ultrasonic echoes, which were used to calculate the propagation speeds in the tissues using (1).

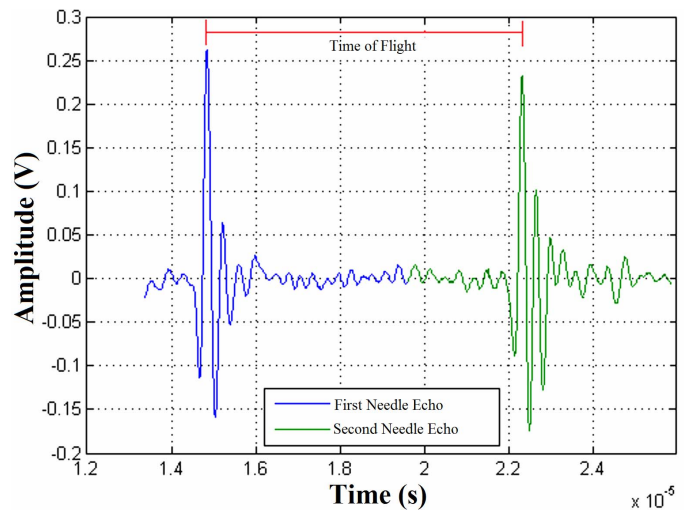


Figure 3. Example of the produced signals by the reflectors inside the tissue using the described technique.

$$TPS = \frac{2 \cdot D_{n1n2}}{t_{e1e2}} \quad (1)$$

Where  $TPS$  is the Tissue Propagation Speed,  $D_{n1n2}$  is the distance between the needles and  $t_{e1e2}$  is the time-of-flight between needles echoes.

2) Attenuation Coefficient Measurement

Basically, the same equipment described to obtain the propagation speed was used for the attenuation coefficient measurement. The main differences were the assembly and the reflector (See Figure 4).

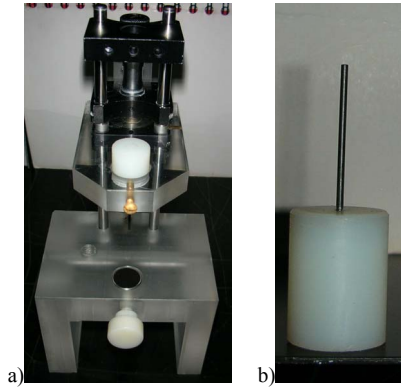


Figure 4. a) Arrangement to measure the attenuation coefficient, b) Reflector needle.

Two signals were taken, the first one by using the reflector on the tissue surface and the second one by introducing the needle in the tissue at a determinate distance given by a micrometer that controls the needle's displacement with a resolution of 10  $\mu\text{m}$ . The signals gotten inside and outside the tissue were stored to be processing, each 2°C within the range of 26°C to 50°C were taken. The attenuation coefficient was calculated using (2)

$$\alpha = 20 \cdot \log \left( \frac{V_{rms2}}{V_{rms1}} \right) / 2 \cdot d \cdot f \quad (2)$$

Where  $V_{rms2}$  is the tissue surface rms voltage,  $V_{rms1}$  is the rms voltage inside the tissue,  $d$  is the distance between the surface tissue and the last point where the needle was placed, and  $f$  is the transducer frequency.

The purpose to obtain two echo signals to measure the attenuation is to compare the echo amplitudes at the surface and inside the tissue to get a relation between the amplitude attenuation and the covered distance by the ultrasound. An example of the obtained signals to calculate the attenuation coefficient is presented in the Figure 5.

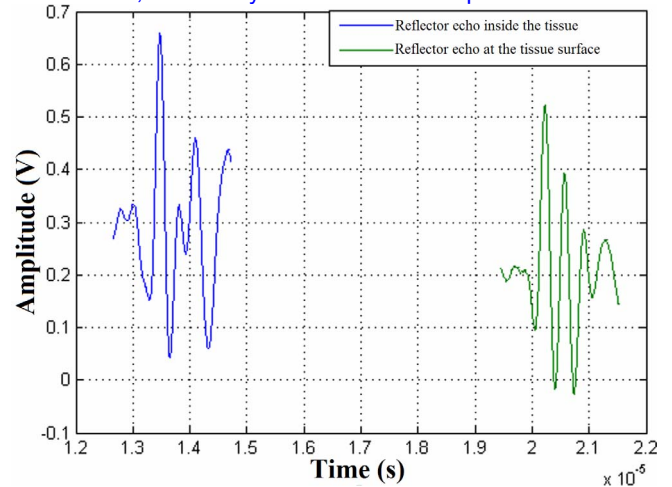


Figure 5. Example of produced signals by the reflector at the surface and inside the tissue.

### III. RESULTS

#### A.

#### Propagation Speed

In the following series of figures, Figures 6 – 8, the first echo, in each case, corresponds to the deepest needle, i.e. the one that is the nearest to the transducer whereas the second echo is the produced for the farthest needle. In these images the influence that the temperature increase has in the biological tissue propagation speed change can be seen.

In the Figure 6 the obtained signals for the calculus of the fat propagation speed at seven different temperatures can be appreciated. There is an echoes general displacement to the right which indicates an ultrasonic propagation speed decrease. The first echo signals group is more compact than the second as result of a larger distance from the transducer to the second needle and the propagation speed change due to the temperature increase; if the propagation speed decrease then the time between echoes increase.

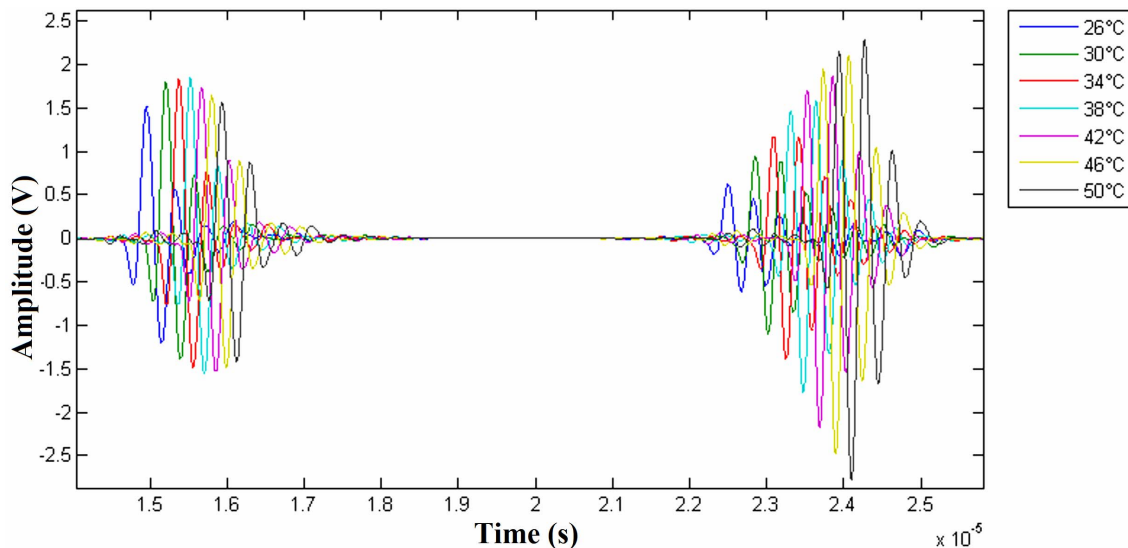


Figure 6. Ultrasonic signals used for the fat propagation speed measurement at different temperatures.

In the Figure 7 the obtained signals for the calculus of the muscle propagation speed at seven different temperatures can be observed. These signals include the two echoes due to the reflectors and a signals general displacement to the left

indicating an increase in the muscle propagation speed can be appreciated; the time between echoes is decreasing confirming the propagation speed increase.

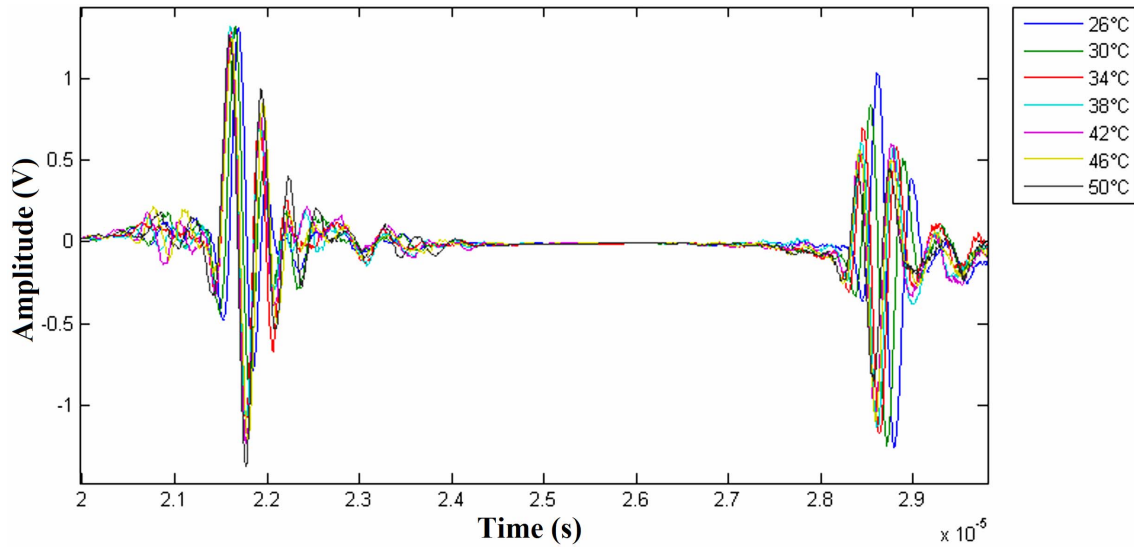


Figure 7. Ultrasonic signals used for the muscle propagation speed measurement at different temperatures.

The obtained signals for the liver characterization also showed displacements to the left and consequently propagation speed increases. In the Figure 8 a decrease in the time of flight between the first and second echoes with the temperature increase can be seen.

Finally, the propagation speed calculus for the biological tissues in the range from 26°C to 50°C can be realized using the obtained signals and applying (1).

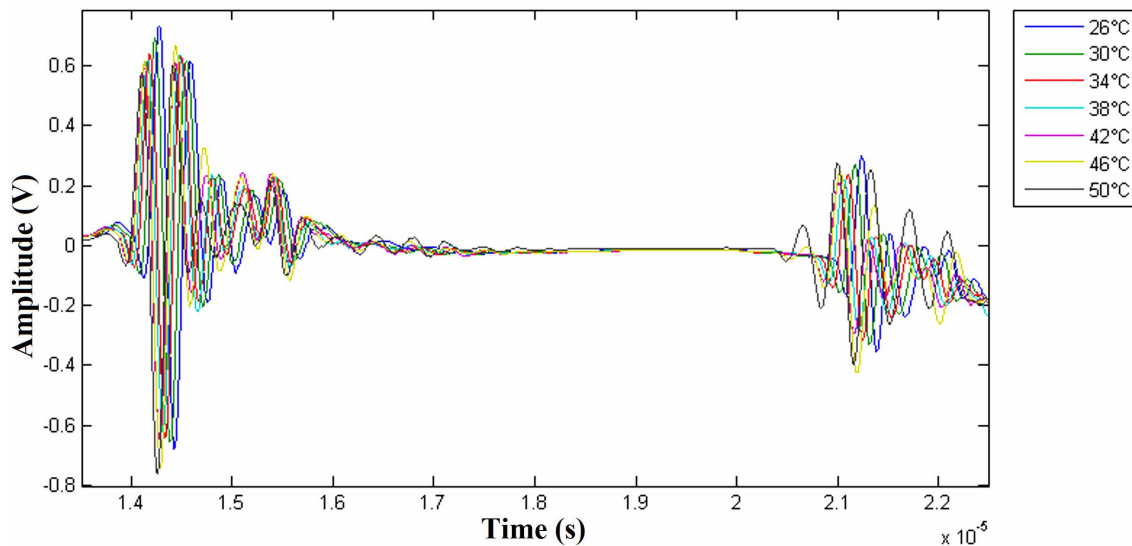


Figure 8. Ultrasonic signals used for the liver propagation speed measurement at different temperatures.

The ultrasonic propagation speed in fat has an almost linear behavior during the specific temperature range with a

downward trend; the values of the fat propagation speed are between 1473.3 m/s and 1378.82 m/s corroborating a



propagation speed decrease with the temperature increase showed in the fat ultrasonic signals (See Figure 9).

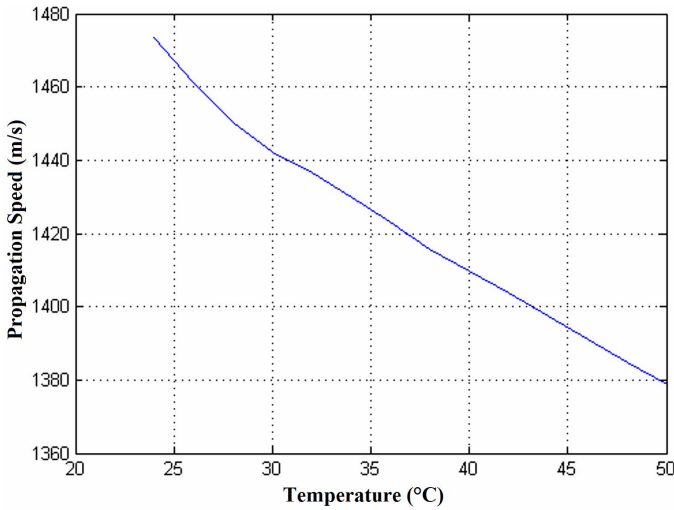


Figure 9. Fat ultrasonic propagation speed in the range form 26°C to 50°C.

The muscle propagation speed has an upward behavior with speeds between 1586 m/s at 26°C and 1618 m/s at 48°C presenting some variations and a fall at 50°C. This propagation speed increase agrees with the ultrasonic signals behavior presented previously (See Figure 10).

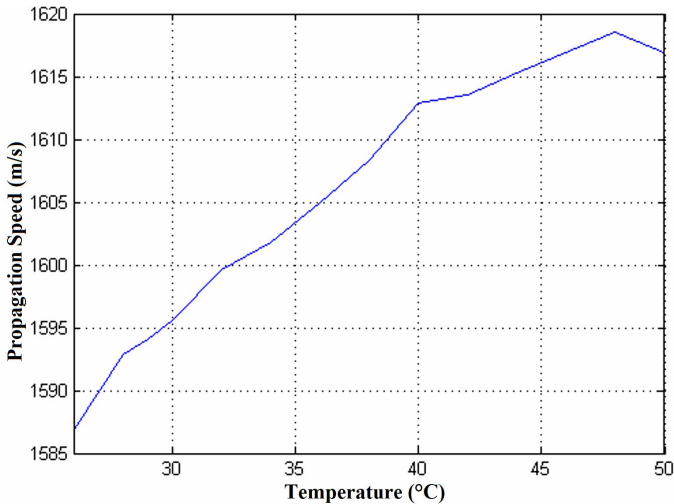


Figure 10. Muscle ultrasonic propagation speed in the range form 26°C to 50°C.

Regarding liver characterization, Figure 11, the propagation speed has an almost linear behavior from 26°C to 42°C with values between 1580.95 m/s and 1597.91 m/s; there is a negative slop at 44°C and subsequently a uniform behavior with values between 1593 m/s and 1594 m/s.

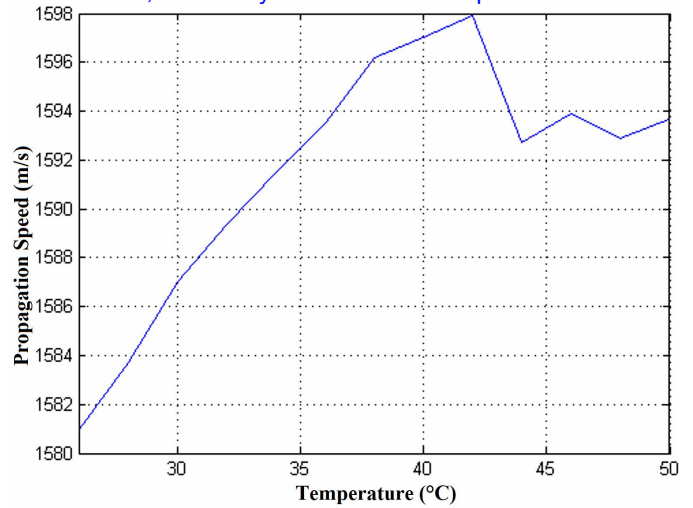


Figure 11. Liver ultrasonic propagation speed in the range form 26°C to 50°C.

### B. Attenuation Coefficient

The attenuation coefficient measurements in fat, muscle and liver at different temperatures are shown in the following figures. The attenuation coefficient calculus was made using (2).

The fat attenuation coefficient at different temperatures is shown in the Figure 12 presenting a negative slope from 25°C to 36°C with values from -0.6 dB/ (cm MHz) to -1.2 dB/ (cm MHz); there are variations between -1 and -1.2 dB/ (cm MHz) after 36°C.

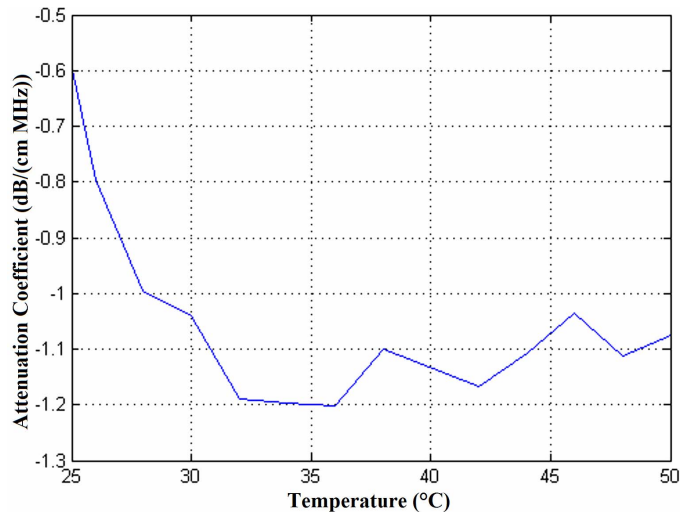


Figure 12. Fat Attenuation Coefficient at different temperatures.

The muscle attenuation coefficient results presented an upward behavior with values between -0.5 and -0.3 dB/ (cm MHz), it has some temperature ranges with linear segments (See Figure 13).

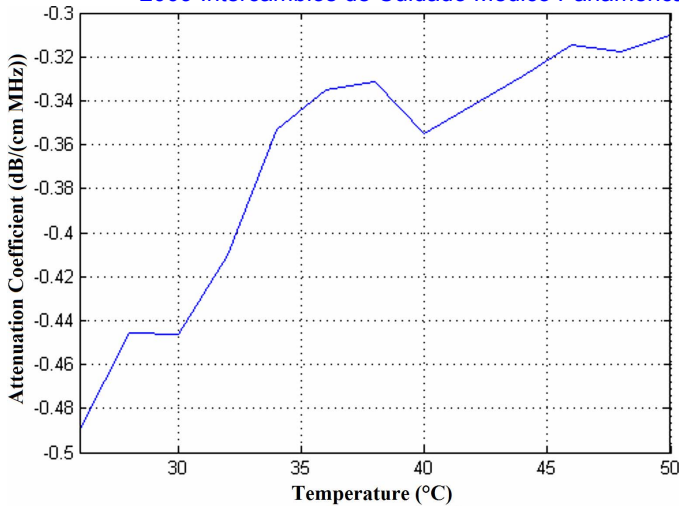


Figure 13. Muscle Attenuation Coefficient at different temperatures.

Finally, the liver attenuation coefficient (Figure 14) presented values between -1.3 and -0.7 dB/ (cm MHz) but without a well defined trend; there is a downward behavior in the range from 30°C to 34°C where the maximum and minimum are present.

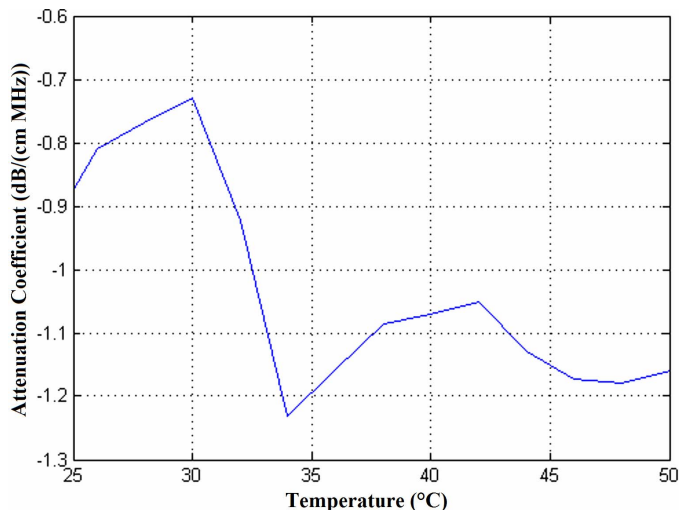


Figure 14. Liver Attenuation Coefficient at different temperatures.

#### IV. DISCUSSION

The obtained values for the propagation speed were compared with values reported in [4] and [5]. The reported fat propagation speed at 37°C is 1436 m/s, this value is similar to the measured value in this job at the same temperature that is approximately 1420 m/s; the fat attenuation coefficient at the same temperature is reported between 0.6 and 1.5 dB/cm at 1MHz whereas the results of this work are in the range of 0.6 to 1.2 dB/ (cm MHz).

Regarding liver propagation speed results, the reported values are between 1550 m/s and 1660 m/s and the measurements in this work are in the range from 1550 m/s to 1585 m/s; the checked attenuation coefficient values are between 0.1 and 5 dB/cm at 1 MHz whereas the attenuation coefficient in this work is between 0.75 and 1.25 dB/ (cm MHz).

The muscle propagation speed reported is 1580 m/s at 24°C whereas the propagation speed obtained is between 1580 and 1620 m/s in the range from 26°C to 50°C.

#### V. CONCLUSIONS

The reflector arrangement used for the propagation speed measurement had good results and the values are very similar to the previously reported for biological tissues. The assembly for the attenuation coefficient measurement has to be improved to avoid mistakes due to the biological tissues surface irregularity.

The propagation speed has an almost linear behavior in the three analyzed tissues; however these results present variations when the temperature is upper than 40°C. This work is the beginning to obtain a data base with the principal ultrasonic characteristics of biological tissues in the hyperthermia range; these results can be used to make phantoms, which are going to be auxiliary in the evaluation of the temperature estimation techniques using ultrasound.

#### REFERENCES

- [1] Seip R., Ebbini E. S., Noninvasive estimation of tissue temperature response to heating fields using diagnostic ultrasound, IEEE Trans. on Biom. Eng., Vol. 42, No. 8, pp. 828 - 839, Agosto 1995.
- [2] Maass-Moreno R., Damianou C. A., Noninvasive temperature estimation in tissue via ultrasound echo-shifts. Part I and II, J. Acoust. Soc. Am., Vol. 100. No. 4, pp. 2514 – 2530, Junio 1996.
- [3] Vázquez M., Ramos A., Leija L., Vera A., Noninvasive temperature estimation in oncology hyperthermia using phase changes in pulse-echo ultrasonic signals, Japanese Journal of Applied Physics, Vol. 45, No. 10A, pp. 7991-7998, Octubre 2006.
- [4] S.A. Goos, R.L. Johnson and F. Dunn (1978) "Comprehensive compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues" J. Acoustical Soc. Am. 64: 423-457.
- [5] Joie Pierce Jones, "Quantitative characterization of tissue using ultrasound", IEEE Transactions on Nuclear Science, Vol. NS-27, No. 3, June 1980
- [6] 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, 1-8, Marz, pp. 553-558, 2000.
- [7] A. Ramos, A. Ruiz, J.L. San Emeterio, P.T. Sanz. "Pspice circuitual modelling of ultrasonic imaging transceiver including frequency-dependent losses and signal distortions in electronic stages", Ultrasonics, Vol. 44e, pp. 995-1000. (2006).

# Evaluation of an Ultrasonic Propagation Speed Measurement System in the Temperature Range from 20°C to 45°C

S.A. Lopez-Haro, A. Vera and L. Leija

Department of Electrical Engineering, CINVESTAV-IPN, Mexico D. F., Mexico  
Phone (52) 55 57 47 38 00 Ext 6212 E-mail: slopez@cinvestav.mx

**Abstract** — The aim of this work is the evaluation of a device for the ultrasonic propagation speed measurement in biological tissues as well as its possible error sources during signal acquisition process. The proposed measurement system basically consists of an immersion transceiver, which was excited by a home-made pulser. The transducer radiates the interrogated material and a needles arrangement inserted in it. This arrangement generates a well defined echo pair. These echoes combine with the echoes generated in the characterized medium after they have been amplified. In the case of the measurement of the temperature dependence of ultrasonic propagation speed, the measurement system must be submerged inside a thermostatic bath which is capable of regulating the temperature within a 0.1°C resolution.

The measurement of the distance between the needles that work as reflectors, and the vibrations caused by the hydraulic pump could generate artifacts in the acquired ultrasonic signals. These variations would induce error in the ultrasonic propagation speed measurements. A method to measure the distance between the reflector needles is proposed, and an evaluation of the effects of the vibrations as well as the advantages of using a fixed distance between the reflector needles is presented. The obtained results show that the thermostatic bath operation has effect on the ultrasonic signals; however, it could be neglected due to its minimal contribution in the propagation speed measurement. It is also proved that the needles arrangement is a good option to measure the propagation speed showing values near to the reported in degasified bidistilled water.

**Keywords** — Error Sources, Temperature Dependence, Ultrasonic propagation speed

## I. INTRODUCTION

The measurement of ultrasonic properties in biological tissues is necessary to predict the behavior of an ultrasonic wave when it propagates through the biological media. One of the most important properties is the ultrasonic propagation speed or speed of sound (SOS), which is different for each material. Measurement of ultrasonic propagation speed in biological tissues is more difficult due to its consistency and shape. There are several reports of ultrasonic propagation speed in biological tissues at one temperature [1, 2]. These data were used to define an average SOS for soft tissues. The reported propagation speeds in human soft tissues varies between 1460 m/s and 1650 m/s

(see Table I).

TABLE I  
ULTRASONIC PROPAGATION SPEED

Media	Ultrasonic Propagation Speed	
	[m/s]	
Air	330	
Water	1,480	
Fat	1,450	
Blood	1,570	
Kidney	1,560	
Liver	1,550	
Muscle	1,580	
Bone	4,080	

In recent years, the ultrasonic characterization has been performed taking into account the effects of the temperature variations [3-5]. These properties changes could be used in the noninvasive estimation of temperature using ultrasound.

The ultrasonic propagation speed could be usually measured by using two kinds of configurations

1) *Through transmission*. This technique employs two transducers; the first one as transmitter and the second one as receiver. They have a fixed distance between them and they are immersed in a liquid, which has a well known speed of sound. The transmitter sends a pulse through the liquid and the time that it takes to arrive to the receiver is registered. This time is often called time-of-flight and it is used to calculate the propagation speed. When another material is placed in the beam path this time-of-flight is modified and the difference with the original time is used to calculate the material speed of sound.

2) *Pulse – Echo*. The main difference between this technique and the last one is that it only needs one transducer; it is going to work as transmitter and receiver so it could be call transceiver. First, the transceiver sends an ultrasonic pulse that interacts with the medium to characterize and generates echoes due to either change of interfaces or reflectors in the beam path. First, in solid materials the echoes are produced by the interfaces (i.e. when the ultrasonic pulse travels from one to another medium with different impedance), and the time-of-flight is measured with the time difference between echoes. Then, the speed of sound is calculated using the time-of-flight and the sample thickness. On the other hand, liquid

measurements need a reflector to produce echoes. This is placed in an initial position to storage a first echo-signal and then it is moved a known distance and a second echo-signal is collected. With the distance and the time-of-flight between echoes, the ultrasonic propagation speed of the medium can be calculated. It is important to remember that in this kind of configuration the distance for the calculus have to be considered as the double of the distance between the reflectors and the transducer, because the echo travels twice through the path.

In this work a system for the propagation speed measurement using the pulse-echo technique is proposed and evaluated. The system was designed to be used *in vitro* characterization of biological tissues. The main advantage is that the two echoes needed for the calculus are in only one signal and the distance between them is fixed and known, which is useful when the temperature dependence of the speed of sound is required.

## II. METHODOLOGY

### A. Needles Arrangement Design

An important part of the system for the ultrasonic propagation speed measurement is the reflector arrangement. It was designed to generate the two echoes needed for the speed of sound calculus. The arrangement includes two steel needles ( $1.55 \times 10^{-3}$  mm of diameter) which were inserted into a Nylamid® base with a separation between their tips that is going to be measured during the work development (Fig. 1). The distance between reflectors allows distinguishing two echoes in the ultrasonic signals. First one is due the nearest needle and the second one is due to the more distant needle.

Moreover, such configuration would minimize the expansion effect on biological samples when temperature dependence characterizations of the propagation speed were required. This can be demonstrated from the schema in Fig. 2.

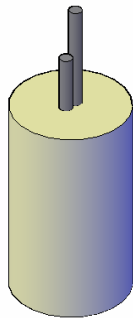


Fig. 1. Design of the needles arrangement for the ultrasonic propagation speed measurement.

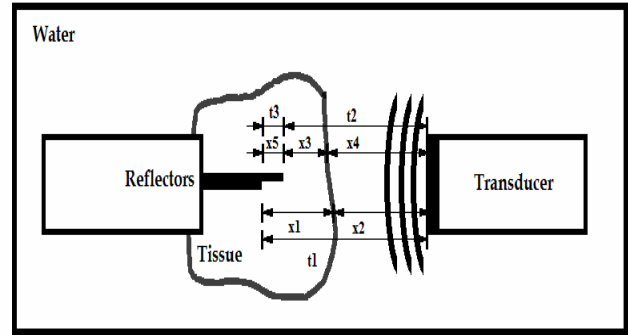


Fig. 2. Schema of the system for the ultrasonic propagation speed measurement.

The speed of sound is different in water and tissue therefore the time which ultrasonic signal takes to travel through the two materials is, for the farthest needle:

$$t_1 = \frac{2x_2}{v_{water}} + \frac{2x_1}{v_{tissue}} \quad (1)$$

and for the nearest:

$$t_2 = \frac{2x_4}{v_{water}} + \frac{2x_3}{v_{tissue}} \quad (2)$$

Then, for the time that echo takes to travel the distance between the two reflectors:

$$t_3 = t_1 - t_2 \quad (3)$$

If  $x_2 \approx x_4$  then,

$$t_3 = \frac{2(x_1 - x_3)}{v_{tissue}} = \frac{2(x_5)}{v_{tissue}} \quad (4)$$

When the temperature dependence of the propagation speed is needed, the sample must be heated and therefore it is going to suffer thermal expansion. Including this effect in (4)

$$t_3 = \frac{((x_1 + \Delta x_1) - (x_3 + \Delta x_3))}{v_{tissue}} \quad (5)$$

But the thermal expansion in both regions is due the same material and in the same direction then,  $\Delta x_1 \approx \Delta x_3$ , and (5) is (4) again. Then, the expansion effect does not impact in the propagation speed measurement and the propagation speed could be calculate from (6)

$$v_{tissue} = \frac{2(x_5)}{t_3} \quad (6)$$

### B. Distance between Reflectors Measurements

The proposed measurement system basically consists of a 3.5 MHz (Panametrics – NDT™) immersion transceiver, which was excited by a home-made pulser with a short duration (50 ns) high voltage (250 V) spike [6, 7]. The transducer radiates the interrogated material and a needles arrangement is inserted in the medium. This arrangement generates a well defined echoes pair. These echoes overlap above the echoes generated in the characterized medium after they have been amplified by a home-made amplifier. The ultrasonic signals coming from the characterization medium are sampled at a 5GS/s frequency and stored by an oscilloscope (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA).

The distance between reflectors is an important source of errors. Therefore, it must be carefully measured to avoid problems in the speed of sound calculus. The next procedure was used to find the distance between needles tips.

First, the transducer is fixed near a methacrylate tank end with a metallic arm. The tank is filled with degasified bidistilled water, which has a well known propagation speed behavior at different temperatures. Then, the needles arrangement is centered to the transducer by using a digital controlled positioning system. The positioning system has a resolution of 6.37 μm for each step (157 steps = 1 mm). Reflectors are placed in the transducer's Fraunhofer zone to ensure a uniform field when it interacts with them (Fig. 3).

To make the distance measurement, a first signal with the two needles echoes is stored. This is the initial position signal  $S_0$ . Then, the positioning system moves the reflectors arrangement a known distance (5 mm from the original position) and a second signal  $S_1$  with both echoes is stored. Water temperature must remain constant during the whole measurement process in order to avoid errors due to the speed of sound changes because of temperature variations.

The stored signals were processed off-line to find the separation between reflectors with the following calculus:

a) First, the speed of sound in degasified bidistilled water was obtained with the distance from initial position to final position (5 mm), and the time difference between  $S_0$  and  $S_1$  first echo (Fig. 4). The calculus could be done with the second echo of both signals too. Then

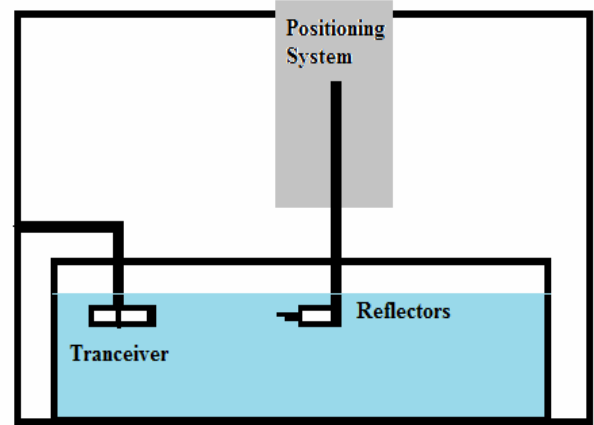


Fig. 3. Configuration to measure the distance between reflectors.

$$SOS_{water} = \frac{d_{01}}{t_{eS_1eS_0}} \quad (7)$$

Where  $SOS_{water}$  is the speed of sound in water at experimental temperature,  $d_{01}$  is the distance from initial position to final position and,  $t_{eS_1eS_0}$  is the time difference between both signal first echo.

b) The distance among reflectors tips can be found using the propagation speed in water, and the time difference between needles echoes of any signal. Then,

$$d_{r_1r_2} = t_{e_1e_2} SOS_{water} \quad (8)$$

Where  $d_{r_1r_2}$  is the distance between needles reflectors and,  $t_{e_1e_2}$  is the time difference existing between reflectors echoes in any of the stored signals. After this, obtained distance was compared with measurements made with a Vernier scale.

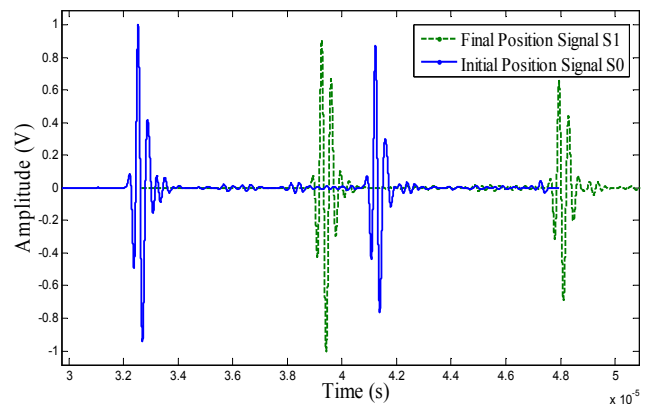


Fig. 4. Signals for the distance between reflector measurements.

### C. Effects of the thermostatic bath pump

The thermostatic bath pump of the system stirs the water to ensure a uniform temperature in the medium. Nevertheless, its operation induces vibrations on the worktable and movement in the water. Both effects could generate artifacts in the ultrasonic signals used for the propagation speed calculus.

A series of experiments with the bath on and off were developed in degasified bidistilled water to evaluate these effects with echo-signals from the needles arrangement. In the experiment the temperature dependence of the speed of sound in water was calculated and the results with the thermostatic bath on and off were compared.

The system is basically the same as that used for the distance between reflectors measurement. In this case, the system was immersed in a thermostatic bath (Techne, TU-20D Tempunit®) which is capable of regulating the temperature with a 0.1°C resolution. It is responsible of the temperature regulation and maintains it for as long as is necessary. The water temperature was increased in steps of 1°C; each step lasted from 5 to 7 minutes to have uniform temperature. After the stabilization time, five signals were stored in both states with the bath on and off in the interval from 25°C to 50°C.

## III. RESULTS

### A. Needles Arrangement Design

The reflectors arrangement was built with a Nylamid® cylindrical base of 1.5 mm diameter and two steel needles of 1.55 mm diameter. The needles were inserted in the base centre using a drill and then, they were fixed with glue to avoid displacements between themselves. Needles tips were filed to have plane faces and ensure a maximum energy reflection to the transceiver.

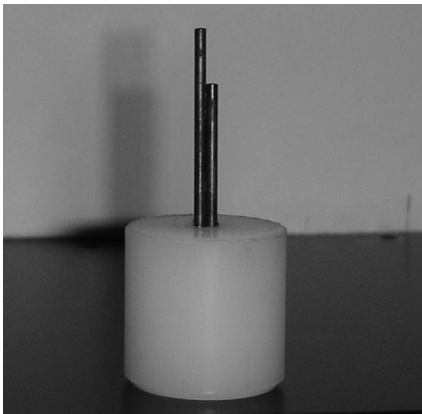


Fig. 5. Final needles arrangement for the ultrasonic propagation speed measurement.

### B. Distance Between Reflectors Measurement

Ten pairs of echo-signals were used to found the ultrasonic propagation speed of the employed water in the measurement of the reflectors distance. The time difference among echoes was obtained using (7) for each stored pair; both echoes of each signal were used. The water speed of sound obtained was  $1487.88 \pm 0.185$  m/s at 21°C, which is near the value reported by [8] at the same temperature.

The distance between needles was calculated with the resulting values. Both initial and final position signals were included in the calculus. Employing (8) the distance between reflectors was  $6.465 \times 10^{-3} \pm 0.306 \times 10^{-6}$  m.

### C. Effects of the thermostatic bath pump

Once the distance between reflectors is known the measurement system accuracy was evaluated finding the propagation speed in degasified bidistilled water in the range from 25°C to 50°C. During the same process, the effects of the thermostatic bath pump were analyzed comparing the propagation speed results of the stored signals with the bath on and off.

Five echo-signals in both states of the thermostatic bath were used for each temperature. The propagation speed results were averaged for each step and the standard deviation was calculated. The maximum standard deviation was 0.029 m/s at 32°C with the bath off and 0.024 m/s at 26°C with the bath on.

Figure 6 shows the water speed of sound at different temperatures. The values proposed in [8] marked with blue triangles, and the results of this work with the thermostatic bath on and off marked with black cross and red squares are included.

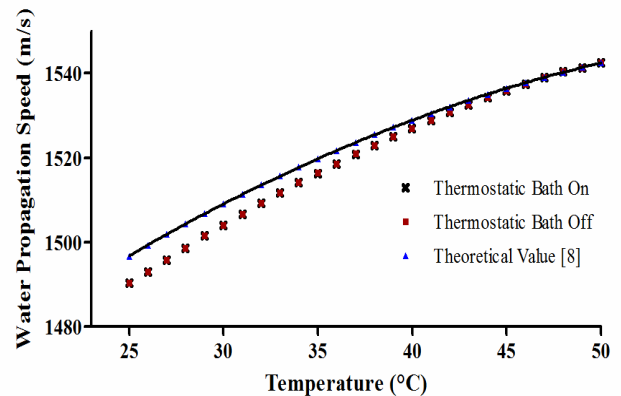


Fig. 6. Water Speed of Sound. Comparison between theoretical and obtained values in the range from 25°C to 50°C

The average difference between both states of the thermostatic bath was 0.019 m/s with a maximum difference value of 0.073 m/s at 41°C.

The results of this work were compared with reported values to evaluate the accuracy of the measurement system. The water propagation speed presents an upward behavior with values from 1490.38 m/s at 25°C to 1542.46 m/s at 50°C having a maximum difference of 6.447 m/s at 26°C.

#### IV. DISCUSSION

The needles arrangement performance was acceptable to the propagation speed measurement because the used signals had the two needles echoes needed for the calculus therefore, only one signal was necessary per degree centigrade. The complete measurement system produced appropriate values when they were compared with the data reported by [8] in the temperature dependence characterization of the ultrasonic propagation speed in pure water.

The thermostatic bath pump operating didn't affect the measurements, in one part because to get them the signals are averaged out to take off the noise and because the same transducer works as a band-pass filter; if the vibrations frequency is not in the frequency range that generate a bigger piezoelectric effect in the transducer, (2.25 MHz to 4.32 MHz for the 3.5 MHz transducer) these are attenuated and not reflected in the measurements. Then, the effects of the thermostatic bath pump can be neglected and it could be working whereas the ultrasonic signals are stored. This would improve the temperature uniformity in the characterized medium because the experiment environment would be at the same temperature in all the time and heat losses caused by the temperature difference with the environment at high temperatures would be reduce.

#### V. CONCLUSION

A system that measures the propagation speed with a two reflector configuration was made and designed. This configuration allows making a measurement with only one signal in liquids or soft tissues. The water speeds of sound values gotten with this system are really near to those previously proposed by others groups. The effects of the thermostatic bath pump were evaluated and it was proved that the signal variations generated are not significant when the propagation speed calculus was made. The system is ready to be used in the *in vitro* measurement of the dependence on propagation speed temperature in soft tissues.

#### ACKNOWLEDGMENT

We are particularly grateful to José Hugo Zepeda Peralta and Rubén Pérez Valladares for their help in the design and characterization of the system.

This work was supported by CONACyT-Mexico.

#### REFERENCES

- [1] 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.
- [2] J. J. Pierce, "Quantitative Characterization of Tissue Using Ultrasound," *IEEE Trans Nuclear Science*, vol. 27, pp. 1168-1175, 1980.
- [3] A. A. El-Sariti, J. A. Evans, and J. G. Truscott, "The temperature dependence of the speed of sound in bovine bone marrow at 750 kHz," *Ultrasound Med Biol*, vol. 32, pp. 985-9, Jun 2006.
- [4] U. Techavipoo, T. Varghese, Q. Chen, T. A. Stiles, J. A. Zagzebski, and G. R. Frank, "Temperature dependence of ultrasonic propagation speed and attenuation in excised canine liver tissue measured using transmitted and reflected pulses," *J Acoust Soc Am*, vol. 115, pp. 2859-65, Jun 2004.
- [5] R. T. Towa, R. J. Miller, L. A. Frizzell, J. F. Zachary, and W. D. O'Brien, Jr., "Attenuation coefficient and propagation speed estimates of rat and pig intercostal tissue as a function of temperature," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 49, pp. 1411-20, Oct 2002.
- [6] A. Ramos, A. Ruíz, J. L. San Emeterio, and P. T. Sanz, "PSpice circuital modelling of ultrasonic imaging transceivers including frequency-dependent acoustic losses and signal distortions in electronic stages," *Ultrasonics*, vol. 44, pp. e995-e1000, 2006.
- [7] 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.
- [8] B. Nykolai and S. K. W. George, "Speed of sound in pure water as a function of temperature." vol. 93: ASA, 1993, p. 2306.

# Echo Shifts and Energy Changes in Ultrasonic Signals due to Temperature Variations Induced in Pig Extremity

S. A. López-Haro, A. Vera, L. Leija

**Abstract**— Hyperthermia has been used in conjunction with chemotherapy and radiotherapy in the treatment of cancer. The principal hyperthermia drawback is the fact that the temperature distribution in the region under treatment could not be measure to assure a uniform temperature in the cancer region. In recent years, some ultrasonic techniques have been proposed to estimate non-invasively the temperature distribution based on echo shifts (ES), frequency shifts, and changes in backscattering energy (CBE). Some research groups have proposed a technique combination to solve the temperature estimation issue. The aim of this work is the evaluation and the combination of echo shift and energy changes (EC) techniques principles applied to ultrasonic signals obtained from a pig extremity in the temperature range from 23°C to 41°C. Calculations of both techniques were realized with the whole signal and using windowing. Windows width and overlapping were varied; ES and EC were quantified in each resulting window. Windows results were separated in three cases: when ES were linear, when EC were linear, and when both of them were linear at the same time. Results showed windows with linear variations of both techniques and an expected diminution of the windows with linear behavior when both size and overlapping increase. Narrow windows detect more details than wide windows do. When a linearity of both characteristics is analyzed at the same time the number of windows and zones is almost constant in spite of the windowing size and overlapping. The combination of different techniques could be used to find zones of interest in the ultrasonic signals for the temperature estimation.

**Keywords** – Biological Tissue, Echo Shifts, Energy Changes, Temperature Estimation, Ultrasound, Windowing

## I. INTRODUCTION

Hyperthermia has been combined with chemotherapy and radiotherapy to improve their effects in the treatment of cancer tumors [1, 2]. Hyperthermia treatment is based on the rise of cells temperature for a period of time to provoke them structural changes, even death. Due to blood perfusion variations, cancer cells reach higher temperatures than those of the surrounding tissues [3] when energy is applied; the temperature increase depends on tissue, energy intensity, and exposure time [4]. The

principal drawback of clinical hyperthermia is the fact that the temperature distribution in the region of interest could not be exactly measured in order to control the therapy-system and to assure a uniform temperature in the carcinogenic region. There are invasive options to measure the temperature inside the tissues but they have the risk of inducing cell cancer dissemination. In recent years, some non-invasive solutions using impedance tomography [5], microwave radiometry, magnetic resonance imaging (MRI) [6-8], and ultrasound have been proposed [1, 9]. Low cost, simple signal processing, non-ionizing energy and the possibility to create almost any shape transducers make the ultrasound techniques the most promising way to achieve the non-invasive temperature estimation during hyperthermia treatments.

Ultrasonic techniques to estimate non-invasively the temperature distribution are based on speed of sound changes, thermal expansion, and amplitude changes. There are three main methods to measure these variations: i) echo shifts (ES) [10], ii) frequency shifts [11], and iii) changes in backscattering energy (CBE) [12]. Bazan et al. [9] made an evaluation of frequency and time ultrasonic techniques; each one has advantages and disadvantages, and they proposed that a combination of two or more methods could be useful in the non-invasive temperature estimation. However, they do not include changes in backscattering energy technique and this could be useful in the localization of the main echoes in the resultant echo-signal. The aim of this work is the analysis and the quantification of ultrasonic echoes coming from a pig extremity radiated when the temperature is changing. This pork piece has different kinds of tissues like muscle, fat, connective tissue, and bone. Interfaces between tissues generate echoes in the resultant signal, which are modified in their amplitude and position with temperature variations. Amplitude variations of the interfaces echoes were quantified by using energy changes (EC) techniques and echoes time variations were quantified employing cross-correlation. All calculations were done with whole signals and applying windowing.

## II. METHODOLOGY

### A. Sample Preparation

The chosen pig piece was the calf because it contains

Manuscript received May 31, 2010

This work was supported in part by CONACYT-Mexico, project 45041.

Sergio Alfonso López Haro, Arturo Vera, Lorenzo Leija are with the Electrical Engineering Department, Bioelectronics, CINVESTAV – IPN, Mexico, Distrito Federal 07360, México (phone: 0152-55 57473800 ext. 6212; fax: 0152-5557473981; e-mail: [slopezh84@gmail.com](mailto:slopezh84@gmail.com); [arvera@cinvestav.mx](mailto:arvera@cinvestav.mx); [lleija@cinvestav.mx](mailto:lleija@cinvestav.mx); [laremus@cinvestav.mx](mailto:laremus@cinvestav.mx))



several interfaces and different kinds of tissues. Tissues contained in this part of the pig are muscle, connective tissue, fat, and bone. The piece was immediately stored in a saline solution with pH=7.4 at around 4°C, after cleaning it in the abattoir. During the experimentation, the sample was fixed by using clamps to avoid movements due to the thermostatic bath pump operation; it was submerged into a thermostatic bath to control the temperature variations.

### B. System Description

Measurement system uses pulse – echo technique to obtain echo – signals. It consists of a pulser [13, 14] that generates a high voltage (250 V) short duration (50 ns) pulse that drives a 5 MHz immersion transducer placed in the middle of the sample, which sends an ultrasonic pulse through the sample. The pig calf and the transducer were submerged in bidistilled degasified water within the thermostatic bath, which rise and control the temperature of the water, the temperature of the sample is raised by induction. The pulse interacts with the tissues and interfaces contained in the sample; this generates echoes that are received with the same transducer and they are amplified by a home-made amplifier, Fig. 1. Received signals are shown in an oscilloscope screen to identify the region of interest and are stored each 2°C with a sampling frequency of 5 GS/s to be processed off line.

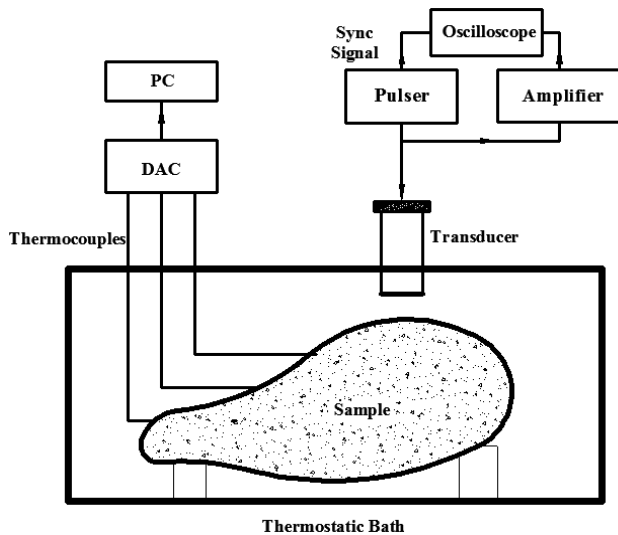


Fig. 1 Diagram of the system employed for the signal acquisition. Sample and transducer were submerged in bidistilled degasified water within a thermostatic bath.

### C. Signal Processing

Signal processing was done by using MATLAB® software and it consisted of three stages. The first one is the filtering; signals were filtered using cross-correlation with a Mexican-hat wavelet tuned at the transducer frequency. This kind of filtering remove DC component and maintain the echoes at the interest frequency. The second one is the compensation due to the travel of ultrasound in water. Ultrasonic pulse is sent through water and then it interacts

with the sample, temperature dependence of the speed of sound in water generates time displacements in the echo corresponding to the water – sample interface. These displacements were calculated and compensated in all signals to assure that the displacements obtained after the compensation were only due to the changes inside the sample. Finally, the windowing; this consists of the whole signals separation in parts to be independently processed. The developed program permits width variations and changes in the overlapping to avoid the exclusion of data. Computational environment allows the use of rectangular windows; this kind of window was selected because it does not modify signals amplitude. It is important to bear in mind that the window should be wide enough to contain the same echo in all signals despite echo shifts due to temperature variations.

### D. Time Echo Shifts

Changes in the ultrasonic propagation speed and thermal expansion due to temperature variations provoke time displacements in the echo – signals. These changes can be quantified using cross-correlation technique. It consists of the comparison between a base signal (at the initial temperature) and the signals at other temperatures. The cross-correlation is a measure of similarity that magnifies the moment when both signals are perfectly overlapped; it calculates how many steps were needed to reach the maximum level of similarity. These steps are multiplied by the sampling frequency period to calculate the time echo shifts. If the signals are obtained in the same place during the whole experiment, then this technique can be employed to obtain the echoes displacements in time due to temperature variations.

### E. Energy Changes

Changes in the echoes amplitude are due to the temperature dependence of the attenuation and scattering. These changes can be quantified by calculating the signal energy. The energy of a base signal at the initial temperature is compared with the others signals at different temperatures. For a scalar wave the energy can be calculated by using (1), where  $n$  is the number of samples of the signal  $x$ .

$$E = \frac{1}{n} \sum_{n=-\infty}^{\infty} |x(n)|^2 . \quad (1)$$

The energy variations between signals can be quantified employing a comparison in decibels by using (2).

$$\text{Energy Changes} = 10 \log \left( \frac{E_T}{E_{T_0}} \right), \quad (2)$$

where  $E_{T0}$  is the energy of the base signal and  $E_T$  is the energy of the signal at the temperature of interest.

### III. RESULTS

#### a) Signal Processing

Signal filtering was necessary to have the signals at different temperatures without interfering frequencies. Cross-correlation between signals obtained and a 5 MHz Mexican-hat signal removes DC components and it maintains the shape of the signals at the frequency of interest. An example of the ten resulting signals can be seen in Fig. 2. The slope at the beginning of the signal is corrected and the echoes of interest remain in the filtered signals. After filtering process, a time compensation stage was needed. The three main echoes correspond to i) water – sample interface, ii) calf bone, and iii) thermostatic bath base.

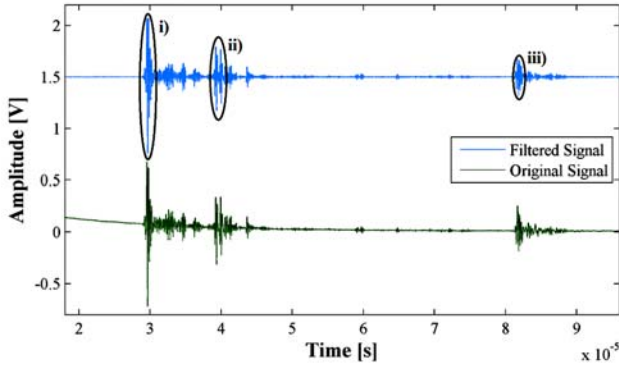


Fig. 2. Example of the filtering results. Original signal (down) has a DC component and other frequencies. After the cross-correlation the resulting signal (up) does not have DC component but maintain the shape of the original signal.

#### b) Compensation of Variations in Speed of Sound in Water

Time compensation is needed because of the temperature dependence of the speed of sound in water; its increment generates time displacements in the first echo corresponding to the water – sample interface. The alignment was done by quantifying the displacements of the first echo of the signals regarding the first echo of the base signal at 23°C. Then, these data were used to compensate the displacements and all signals were aligned at the first echo as can be seen in Fig. 3. This compensation assures that the displacements in water do not interfere with the echo shifts calculated inside the sample echo – signals at different temperatures.

#### c) Echo Shifts and Energy Changes

Windowing was done to divide whole signals in sections of different widths and to evaluate their echo shifts and energy changes in each part of the signals. Widths of 500,

1000, 1500, 3000, 5000, 6000, and, 8000 points were proved with overlapping of 1/5, 1/2, and 4/5 of the window width and without it. Echo shifts and energy changes linearity was quantified to discriminate the interest zones from the rest of data.

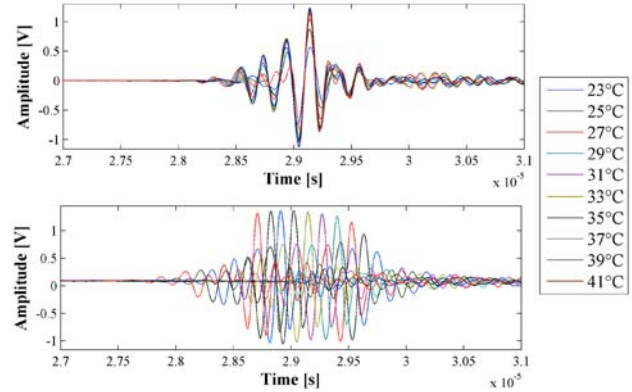


Fig. 3. Alignment of signals at different temperatures at the echo corresponding to the water – sample interface. Original signals start at different times (down); compensated signals have the same initial time of the first echo (up).

Table I shows the quantity of windows with a linear behavior in three cases: i) when only echo shifts have a linear behavior, ii) when only energy changes have a linear behavior, and iii) when both of them have a linear behavior. Only windows with a linear behavior in their changes were stored for the three cases. An expected diminution of the windows quantity regarding the increments of window width and overlapping can be observed in Table I. Energy changes provoke more windows than echo shift.

TABLE I. TOTAL WINDOWS WITH LINEAR BEHAVIOR OF ECHO SHIFTS, ENERGY CHANGES AND BOTH OF THEM WITH DIFFERENT OVERLAPPING.

Overlap	Echo Shifts			Energy Changes			Echo Shifts & Energy Changes						
	1/5	1/2	4/5	1	1/5	1/2	4/5	1	1/5	1/2	4/5	1	
Window Width													
500	65	32	18	14	161	69	39	33	13	7	4	3	
1000	43	16	10	10	120	49	30	27	13	5	3	5	
1500	37	13	7	6	106	38	26	19	13	3	4	1	
3000	35	13	8	8	80	32	22	17	11	5	3	4	
5000	29	13	6	6	60	21	16	10	11	5	2	2	
6000	29	11	7	5	52	19	12	10	14	7	4	3	
8000	26	10	7	6	45	18	11	9	13	5	3	2	

Energy calculations with 500 and 1000 points windows can detect variations that the other windows cannot, due to the others included more points in the calculus and the contribution of these small variations is minimum. Peaks in energy indicate the zones where there is an echo of interest; energy amplitude presents its maximum points at the water – sample interface and when the ultrasonic pulse interacts with the bone of the sample nevertheless there are others local maximums of less amplitude between them as can be seen in Fig. 4, where energy results with 500 and 5000 points windows and 1/2 of overlapping are shown. Peaks

are well defined when the 500 points window is used and small changes can be detected, see Fig. 4 a). If the window size is 5000, 6000 or 8000 and the overlapping is near 1, the principal energy peaks are well defined too, but the information between main peaks cannot be observed. Figure 5 shows an example of 5000 points window without overlapping where the information between interface water-tissue and bone echoes disappears regarding windows of less points. It can be noticed that local maximums showed in Fig. 4 a) are not detected with these windowing characteristics.

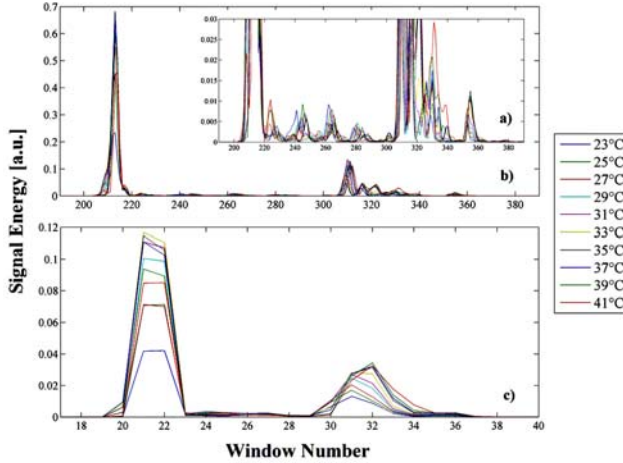


Fig. 4. b) Energy results at different temperatures obtained by using a 500 points window and overlapping of 250 samples. a) Vertical zoom of b). c) Energy results at different temperatures obtained by using a 5000 points window and overlapping of 2500 samples.

A wide window does not stand out small changes whereas narrow windows can enhance them. Latter results in more windows with linear behavior and more information when narrow windows are used, however, some consecutive windows have the same information and they must be grouped or removed to avoid data duplication.

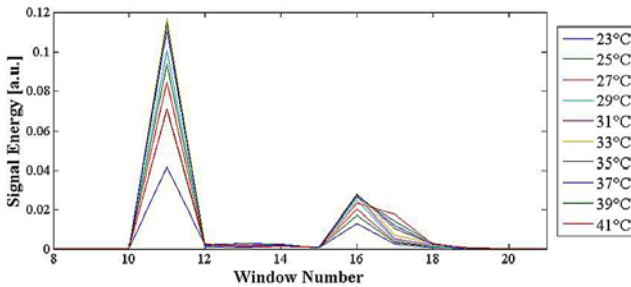


Fig. 5. Energy of the signals at different temperatures using windowing of 5000 points without overlapping. Principal peaks are well defined but there is no information between them.

When both techniques linearity is evaluated at the same time and only windows with linear behavior of both characteristics are stored, the number of windows that accomplish this condition remains almost constant when overlapping exists as can be seen in the third column of Table I. At least four zones can be separated if consecutive windows are grouped. In Figs. 6 and 7 are shown examples

of the resulting echo shift and energy change of the signals at different temperatures for 500 and 5000 points windows width with an overlapping of 1/5. They show upward and downward behaviors at different windows that can be related with the composition and temperature in the zone. Echo shifts are in the order of ns whereas energy changes are between -10 dB and 20 dB.

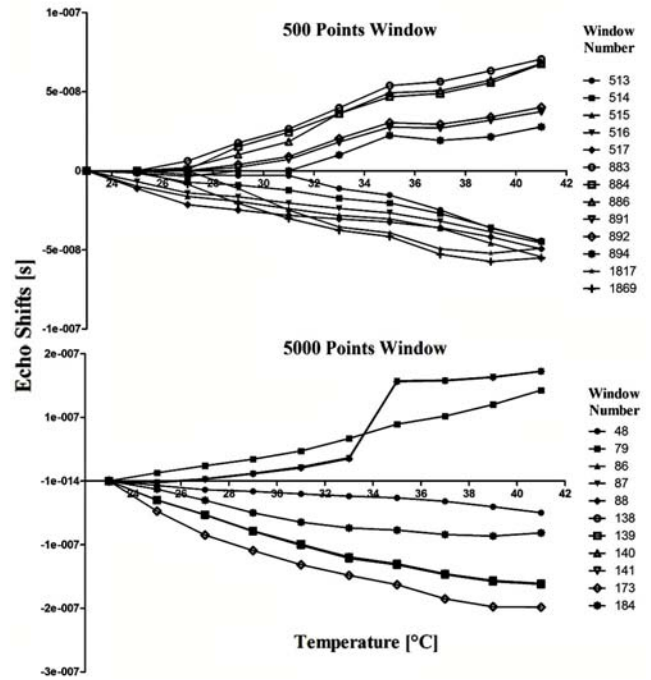


Fig.6. Resulting ES for windows of 500 and 5000 points with an overlapping of 1/5.

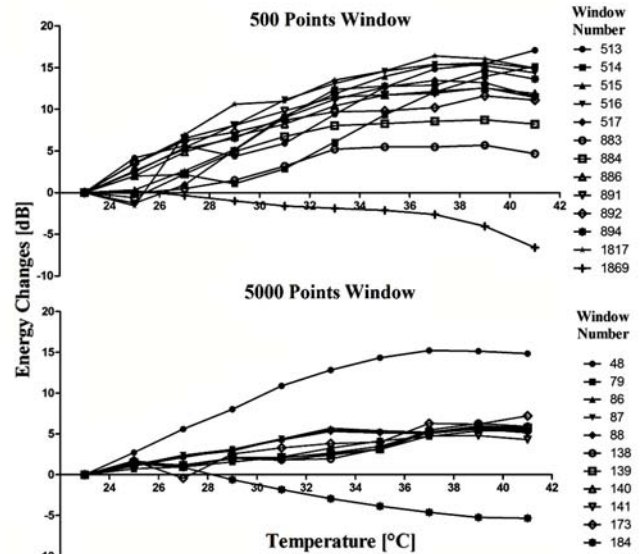


Fig.7. Resulting EC for windows of 500 and 5000 points with an overlapping of 1/5.

#### IV. DISCUSSION

Results show an interesting behavior when ES and EC techniques principles are combined. The linearity of both variations at the same time could be an indicator of zones of

interest to focus the temperature estimation to that zone. The beginning of the energy peak corresponds to the moment when the windows start to cover the echoes and the maximum corresponds to the instant when the echo is just in the middle of the windows. These consecutive windows present upward and downward behavior of ES and/or EC; according to Arthur et al. [12] when the slope of the energy changes is negative, it can be a fatty zone and when the slope is positive it can be a watery zone. Similar conclusion are presented by Mass-Moreno et al. [10]; if the speed of sound decrease while the temperature increase, as happen with fatty tissue, the shifts will be negative and if the speed of sound increase, while the temperature is risen, the shifts will be positive. There are some cases when these proposals appear in the results obtained but it is necessary to evaluate them carefully to determine if the zone is fatty or watery. Windowing performance seems to be a good way to detect the zones of interest with windows size of more than 1500 points and to analyze carefully the zones of interest by using windows size of less than 1500 points. Overlapping should be used of at least 1/2 of the window width to avoid the data duplication.

## V. CONCLUSION

Combination of two non-invasive temperature estimation techniques were proved to determine the zones of interest and quantify echo shifts and energy changes by using different sizes of windows and overlapping in the temperature range from 23°C to 41°C. The echo signals coming from a pig extremity show their principal echoes at the water – sample interface, the interfaces between soft tissues, and at the soft tissue – bone interface. Combinations of different non-invasive ultrasonic techniques will be evaluated in different parts of the body and they could be a good way to estimate temperature.

## REFERENCES

- [1] 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.
- [2] J. Overgaard, D. Gonzalez Gonzalez, M. C. Hulshof, G. Arcangeli, O. Dahl, O. Mella, and S. M. Bentzen, "Hyperthermia as an adjuvant to radiation therapy of recurrent or metastatic malignant melanoma. A multicentre randomized trial by the European Society for Hyperthermic Oncology. 1996," *Int J Hyperthermia*, vol. 25, pp. 323-34, Aug 2009.
- [3] A. Vera, J. E. C. Quero, L. Leija, Y. H. Mier, and C. Marchal, "Hipertermia electromagnética, una alternativa para el tratamiento del cáncer: antecedentes, aspectos físicos y biológicos," *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, vol. XXII, pp. 78-88, 2001.
- [4] W. D. O'Brien, Jr., C. X. Deng, G. R. Harris, B. A. Herman, C. R. Merritt, N. Sanghvi, and J. F. Zachary, "The risk of exposure to diagnostic ultrasound in postnatal subjects: thermal effects," *J Ultrasound Med*, vol. 27, pp. 517-35; quiz 537-40, Apr 2008.
- [5] J. Conway, "Electrical impedance tomography for thermal monitoring of hyperthermia treatment: an assessment using in vitro and in vivo measurements," *Clin Phys Physiol Meas*, vol. 8 Suppl A, pp. 141-6, 1987.
- [6] J. Delannoy, C. Ching-Nien, R. Turner, R. L. Levin, and D. L. Bihan, "Noninvasive temperature imaging using diffusion MRI," *Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 19, pp. 333-339, 1991.
- [7] M. Kowalski, B. Behnia, A. G. Webb, and J. Jian-Ming, "Optimization of electromagnetic phased-arrays for hyperthermia via magnetic resonance temperature estimation," *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, vol. 49, pp. 1229-1241, 2002.
- [8] I. Marshall, B. Karaszewski, J. M. Wardlaw, V. Cvoró, K. Wartolowska, P. A. Armitage, T. Carpenter, M. E. Bastin, A. Farrall, and K. Haga, "Measurement of regional brain temperature using proton spectroscopic imaging: validation and application to acute ischemic stroke," *Magnetic Resonance Imaging*, vol. 24, pp. 699-706, 2006.
- [9] I. Bazan, M. Vazquez, A. Ramos, A. Vera, and L. Leija, "A performance analysis of echographic ultrasonic techniques for non-invasive temperature estimation in hyperthermia range using phantoms with scatterers," *Ultrasonics*, vol. 49, pp. 358-76, Mar 2009.
- [10] 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.
- [11] R. Seip and E. S. Ebbini, "Noninvasive estimation of tissue temperature response to heating fields using diagnostic ultrasound," *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 42, pp. 828-39, Aug 1995.
- [12] R. M. Arthur, W. L. Straube, J. D. Starman, and E. G. Moros, "Noninvasive temperature estimation based on the energy of backscattered ultrasound," *Med Phys*, vol. 30, pp. 1021-9, Jun 2003.
- [13] A. Ramos, A. Ruíz, J. L. San Emeterio, and P. T. Sanz, "PSPICE circuital modelling of ultrasonic imaging transceivers including frequency-dependent acoustic losses and signal distortions in electronic stages," *Ultrasonics*, vol. 44, pp. e995-e1000, 2006.
- [14] 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.

# SWR and Temperature Test of a Novel Superficial Applicator for Hyperthermia with a New Antenna: Measurements in Solid Muscle Phantom and *In vitro* Liver Tissue

C. J. Trujillo, S.A. López-Haro, L. Leija and A. Vera

**Abstract**— This paper describes the evaluation by means of SWR and temperature test of a superficial applicator, with a new *plate antenna*, for its use in oncology hyperthermia treatments. The applicator with the plate antenna achieves the highest temperature concentration over the tissue. In the first stage, the optimized applicator, which work frequency is 250 MHz, was constructed in aluminum and copper, taking into account results achieved previously by the FEM modeling. Finally, it was evaluated in order to know its viability in clinical therapies. SWR, incident and reflected waves and temperature measurements carried out in solid muscle phantom and *In vitro* liver tissue are presented in this paper.

**Keywords** — FEM Modeling, Coaxially fed, Oncology treatments, Phantom, Hyperthermia, SWR.

## I. INTRODUCTION

Oncology hyperthermia refers to an artificial heating above 45°C, in order to damage and kill cancer cells.

One of the most often used heating sources is the electromagnetic radiations. Nowadays, an ideal system for hyperthermia treatments is that one which uses the electromagnetic energy like heating source. The operation of this kind of applicators is based on power absorption that produces a temperature increase in tumors; however, there are different challenges that need to be solved in order to obtain a regulation of the EM energy deposition. Hyperthermia is still in its starting phase because up to now not enough scientific studies have been collected yet.

One of the main challenges is design new applicators. These applicators must achieve the highest concentration of EM energy over the tumor. Waveguides and other several kinds of devices can be used as hyperthermia applicators. Waveguide dimensions depend on frequency and dielectric

Manuscript received June 28, 2010. This work was supported by the European Project ALFA - Contract N° AML/B7-311/97/0666/II-0343-FA-FCD-FI, and the Mexican projects Conacyt 45041 and 68799.

C.J. Trujillo. Author is with the Electrical Engineering Department, Bioelectronics, Research and Advanced Studies Center of the National Polytechnic Institute of Mexico (Cinvestav - IPN), (e-mail: [ctrujillo@cinvestav.mx](mailto:ctrujillo@cinvestav.mx)).

S.A.Lopez-Haro. Author is with the Electrical Engineering Department, Bioelectronics, Research and Advanced Studies Center of the National Polytechnic Institute of Mexico (Cinvestav - IPN), (e-mail: [slopez@cinvestav.mx](mailto:slopez@cinvestav.mx)).

L. Leija. Author is with the Electrical Engineering Department, Bioelectronics, Research and Advanced Studies Center of the National Polytechnic Institute of Mexico (Cinvestav - IPN), (e-mail: [lleija@cinvestav.mx](mailto:lleija@cinvestav.mx)).

A. Vera. Author is with the Electrical Engineering Department, Bioelectronics, Research and Advanced Studies Center of the National Polytechnic Institute of Mexico (Cinvestav - IPN), (e-mail: [arvera@cinvestav.mx](mailto:arvera@cinvestav.mx)).

inside it. In general, the higher the frequency, the lower the depth of penetration, hence, by choosing a small frequency (MHz) and by filling the waveguide with dielectrics ( $\epsilon_r=1-150$ ) [1], it is possible to obtain a small (cm) applicator and enough EM energy penetration.

Even though there are some waveguide applicators for cancer treatments, like ridged waveguide [2], AMC-4 waveguide phased array [3] or two tilted waveguide applicators [4], as yet the effect to use other antenna, as a radiator element, in a rectangular waveguide has not been studied. All the studies are carried out about the monopole antenna [5, 6]. Some studies about waveguides in cancer treatments are the microwave phased array thermotherapy in treatments of primary breast carcinomas in where the waveguide was feed with a monopole antenna [6] or the RF hyperthermia array that consist of 4 waveguides [3]. Even though there are these waveguides for hyperthermia treatments, all of them have used a monopole antenna coaxially fed and up to now there are not studies about the advantage or disadvantage of using other antennas.

The aim of this study was to determine the effect of a new antenna that feed the waveguide for oncology treatments. Here, it is presented the evaluation of the RF applicator which was used to irradiate the solid muscle phantom and the *in vitro* liver tissue. Finally, the SWR, the transmitted power and temperature distributions generated by the applicator inside of each test material are presented.

## II. METHODOLOGY

### A. Waveguide construction

The physical implementation was made taking into account dimensions obtained by the previous FEM modeling [7]. The applicator was made of aluminum. Aluminum was chosen due to its mechanical properties as resistance and hardness, as well as its high thermal and electric conductivity. Applicator walls have a thickness of 1 cm; these were chosen to give a proper strength to the applicator, so it does not undergo deformations during radiation. The plate antenna proposed was made of cooper with the proper dimensions obtained in the modeling stage. Plate antenna was connected to an N-male connector.

### B. Solid Muscle Phantom @ 250 MHz

A phantom based on agarose (Invitrogen: UltraPure™ Agarose), tri-distilled water, ethanol and NaCl [8, 9] was built to simulate the relative permittivity and electrical conductivity of muscle tissue. There were used several concentrations of each material, but the best concentrations to mimic electrical properties are shown in Table 1. This phantom was used in SWR and temperature tests. Phantom permittivity, reported in literature, is 60.7 and electrical

conductivity is 0.74307 S/m. Phantom permittivity was measured by using a dielectric probe kit (85070C, Hewlett Packard, USA). Phantom conductivity was obtained by means of the Equation (1).

$$\sigma = \epsilon'' \epsilon_0 \omega \quad (1)$$

where  $\sigma$  is the electrical conductivity,  $\epsilon''$  is the loss factor,  $\epsilon_0$  is the permittivity of free space and  $\omega = 2\pi f$  is the angular frequency. Fig. 1 depicts the experimental setup to measure the electrical properties of solid muscle phantom.

TABLE I  
PHANTOM CONCENTRATIONS

Ingredient	Quantity
Ethanol	100 ml
Tri-distilled water	100 ml
NaCl	1.2 g
Agarose	1.562 g

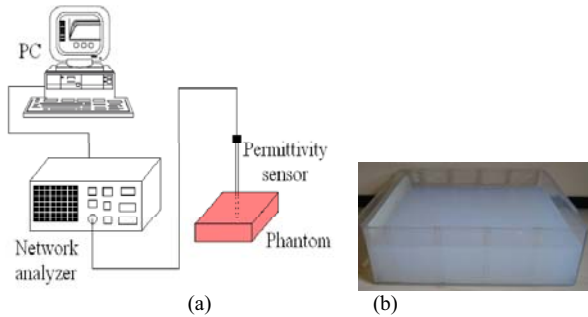


Fig. 1. (a) Experimental setup to measure the electrical properties of phantom, (b) solid muscle phantom created.

### C. Liver Tissue

Several parts of the pig body, because of its similarity to the human body, can be used in human medicine. For this reason, the thermal test of the applicator was carried out in pig liver tissue. The liver properties were measured to compare the similarities to the human liver tissue properties. The experimental setup, to characterize the liver tissue that would be subjected to the process of radiation with the applicator, is depicted on Fig. 2. Tissue permittivity was measured by using a dielectric probe kit (85070C, Hewlett Packard, USA). The permittivity of liver tissue, reported in literature, is 55.24 and electrical conductivity is 0.568 S/m.

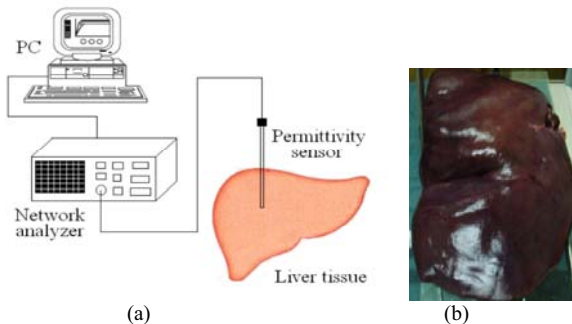


Fig. 2. (a) Experimental setup to measure the electrical properties of liver tissue, (b) liver tissue.

### D. Waveguide SWR measurements

So as to evaluate the applicator, SWR measurements were made using a network analyzer (E5071B ENA, Agilent Technologies, USA). Two SWR measurements were carried out: SWR of the applicator with load in contact with the muscle phantom and in contact with the pig liver tissue. These parameters were obtained in order to choose the working frequency to prevent wave reflection and avoid damage to patients or equipment.

### E. Temperature measurements in the solid muscle phantom

To characterize the waveguide, it also was carried out a series of temperature measurements. Fig. 3 describes the experimental setup; it consists of a radiofrequency generation system: a signal generator (SML03, Rohde&Schwartz, Germany), a power amplifier (500A250, Amplifier Research, USA), a power meter (PM2002, Amplifier Research, USA). On the other hand, a thermometry system was used to register temperature inside the phantom. Four non-electromagnetic interfering temperature sensors (M3300, Luxtron, USA) were used to monitor temperature inside the phantom. These sensors are based on optical fiber. Optical fiber sensors were chosen because they do not interfere with the electric field generated by the applicator; therefore, do not modify its radiation pattern. Temperature data were recorded by a PC.

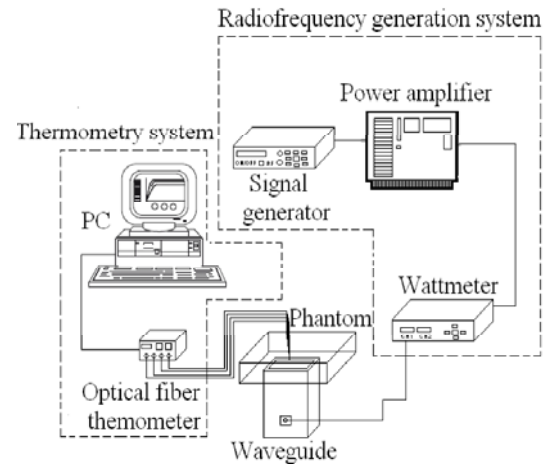


Fig. 3. Experimental setup to carry out the thermal tests.

The solid muscle phantom was radiated (66 W) by the applicator during 10 minutes. The temperature rise was recorded at different depths (1 cm, 1.5 cm, 2 cm and 2.5 cm) by 4 temperature probes aligned in the same plane (see Fig. 4). Temperature probes were placed at 1 cm from each other in the same line. Each temperature test carried out at each depth was made in parallel and vertical orientation respect to the longer dimension of the applicator aperture. After the temperature increases were recorded in each plane (parallel and vertical), these measurements were combined and interpolated to form thermal distribution planes. Positions of the temperature probe inside the phantom are depicted in Fig. 4. It Also was registered the incident and reflected wave

in order to obtain the transmitted power and to know the mismatch level of the hyperthermia system during the radiation time.

#### F. Temperature measurements in the liver tissue

The four temperature sensors were placed to record temperature increases, which were generated in the liver tissue, just above to the central point of the aperture of the applicator (see Figure 4). The sensors were placed with a separation of 1 cm in a vertical line; therefore, the region covered was approximately 4 cm of thickness in the pig liver.

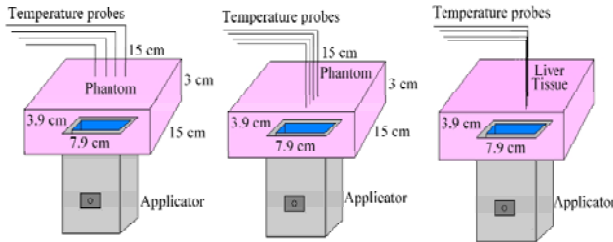


Fig. 4. Experimental setup to measure the increments of temperature inside the phantom and inside of liver tissue.

### III. RESULTS

#### A. Waveguide construction

Fig. 5 depicts the body and each component of the applicator constructed whit aluminum and cooper. The applicator was polished in order to improve the transmission of the electromagnetic waves.

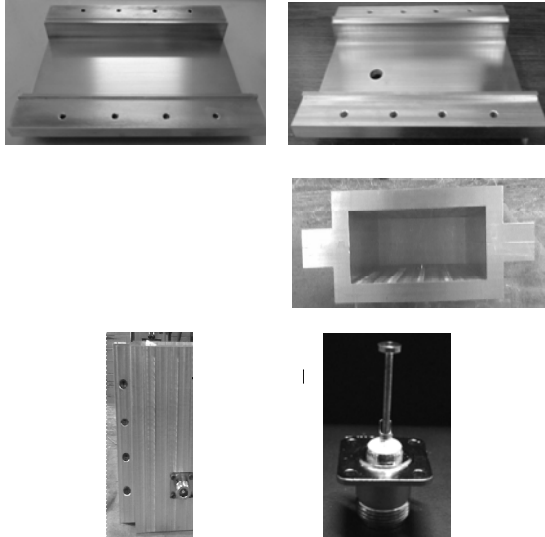


Fig.5. Physical implementation.

#### B. Solid Muscle Phantom @ 250 MHz

The relative permittivity and conductivity achieved at 250 MHz were  $\epsilon_r = 60.86$  and  $\sigma = 0.84$  S/m. The values of this parameters reported in literature are  $\epsilon_r = 60.7$  and  $\sigma = 0.74307$  S/m. Fig. 6 depicts a comparison between relative permittivity and electrical conductivity of the homemade

solid muscle phantom and that values of these parameters reported in literature. The dielectric properties of the homemade muscle phantom showed a 90 % of similarity with the dielectric properties of muscle tissue properties in a range from 200 MHz to 300 MHz.

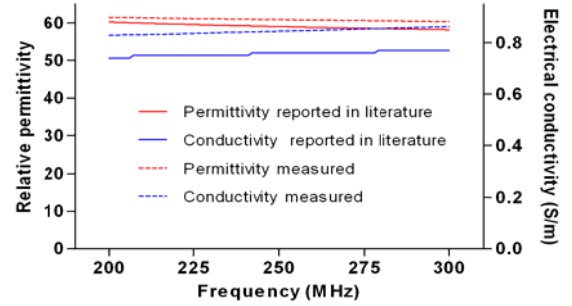


Fig.6. Relative permittivity and conductivity measured in the solid muscle phantom vs. relative permittivity and conductivity of human muscle obtained in a frequency range 200 MHz to 300MHz.

#### C. Liver Tissue

Figure 7 describes the performance of the relative permittivity and conductivity, which characterize the pig liver in a frequency range from 200 MHz to 300 MHz. The values obtained at 250 MHz were:  $\epsilon_r = 54.6184$  and  $\sigma = 0.495$  S / m, while values reported for human liver at the same frequency are  $\epsilon_r = 55.24$  and  $\sigma = 0.568$  S / m. By means of these, a great similarity between the values reported in the literature and the values obtained by our measurements is observed. Here, it is important to mention that although the pig liver is commonly used in several medical tests, it is not completely equal to the human liver.

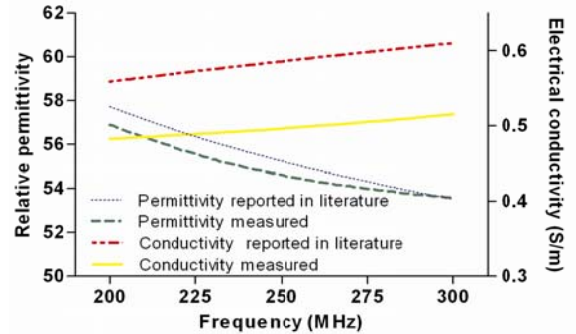


Fig.7. Relative permittivity and conductivity measured in the pig liver tissue vs. relative permittivity and conductivity of human liver obtained in a frequency range 200 MHz to 300MHz.

#### D. Waveguide SWR measurements

*SWR of the applicator in contact with phantom:* Two frequency values showed an SWR close to 1, which indicate a maximum power transmission, these frequencies were: 224 MHz and 225 MHz with SWR of 1.08 and 1.06 respectively. By this analysis the working frequency chosen for the entire test were 225 MHz.

*SWR of the applicator in contact with pig liver tissue:* The measured SWR at 250 MHz was 11.76; this SWR value indicates a low level of coupling between the waveguide and the RF system. Because it is impossible to work at this

frequency, other frequency with the SWR closer to 1 was chosen. The working frequency chosen was 225 MHz with the SWR of 1.21.

### E. Temperature measurements in solid muscle phantom

Figure 8(a) depicts the interpolated planes of thermal distributions obtained by means of the combination of each temperature recorded for the temperature sensors. The interpolations were carried out by using a spline function. According to the temperature measurements and the interpolating planes the heating area can be varied from 4 cm X 4 cm to 8 cm X 6.5 cm; this heating areas are smaller than those obtained with other waveguide applicators [10]. Figure 8(b) depicts the heating area achieved by a conventional applicator fed by a monopole antenna. The heating area was 10 cm X 10 cm and the depth achieved was about 1.5 cm; while the heating area reported by us is smaller and the depth achieved is superior to 2.5 cm. In order to know the real heating area produced by the RF hyperthermia, a matrix of temperature probes or other devices, which allow obtaining planes of temperature, are necessities.

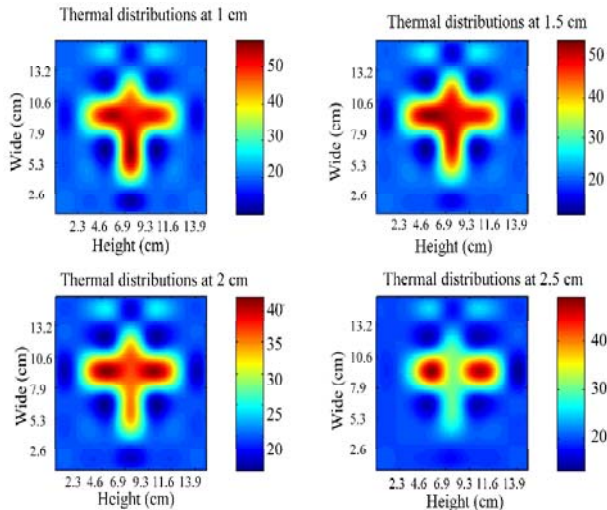


Fig.8(a). Extrapolated plans of thermal distributions.

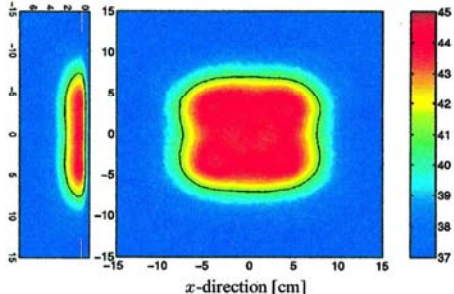


Fig.8(b). Temperature distributions obtained by an applicator fed by a conventional monopole antenna[10].

Table II and III describe the temperature increase obtained by each temperature probe at different depths. From these Tables, we can observe a temperature increase up to 9.5 °C at 2.5 cm; however, it is necessary to use a water bolus in order to regulate the superficial temperature, which can be

achieve increments of 30 °C. In hyperthermia therapies are required tumors temperatures between 42 °C and 47 °C. For this reason, we have two options in order to regulate the tissue temperatures. The first one is to include a bolus in order to control de superficial temperature. The second one is to reduce the input power, which can be an extra advantage of this applicator. Finally, Figure 9 depicts the transmitted power from the RF system to the muscle phantom. It is possible to observe that the coupling of the RF system is affected by some parameters that causes that not all the power could be transmitted. During the therapy time the level of coupling of the whole system is affected by the temperature increases which suffer the body of the applicator (See Fig. 9). Here, it is needed to control the temperature of the applicator body in order to avoid this effect.

TABLE II

TEMPERATURE INCREASE RECORDED BY EACH TEMPERATURE PROBE DURING 10 MINUTES AT DIFFERENT DEPTHS (HEIGHT)

	Temperature increase (°C)			
	(1 cm)	(1.5 cm)	(2 cm)	(2.5 cm)
Probe 1	20.86	20.85	15.96	12.67
Probe 2	32.63	28.67	19.89	27.48
Probe 3	29.86	24.59	19.77	22.88
Probe 4	21.98	19.93	15.28	6.2

TABLE III

TEMPERATURE INCREASE RECORDED BY EACH TEMPERATURE PROBE DURING 10 MINUTES AT DIFFERENT DEPTHS (WIDE)

	Temperature increase (°C)			
	(1 cm)	(1.5 cm)	(2 cm)	(2.5 cm)
Probe 1	21.99	19.25	9.28	10.37
Probe 2	30.13	24.5	11.31	12.57
Probe 3	35.11	26.1	10.45	11.24
Probe 4	33.02	17.22	9.33	9.53

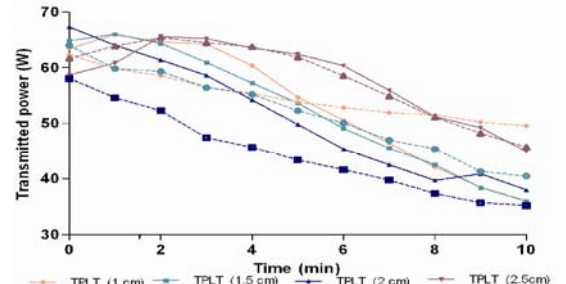


Fig. 9. Transmitted power during each temperature test. TPLT: transmitted power length test and LTWT: transmitted power wide test.

### F. Temperature measurements in liver tissue

Figure 10 depicts temperature increase produced by the irradiation of the pig liver tissue from the applicator. It could be possible observed from Fig. 10 that temperature probes near to the aperture of the applicator recorded the highest temperature increments; however, temperature probes far to the aperture of the applicator recorded the smallest temperature increments (See Table IV). This study evidence a temperature rise in a short period of time; 3 °C at 4 cm of depth in only 10 minutes of radiation with the new



hyperthermia applicator. In spite of the maximum temperature increment at 1 cm was 28.8 °C; this temperature could be regulated by means of a saline water bolus.

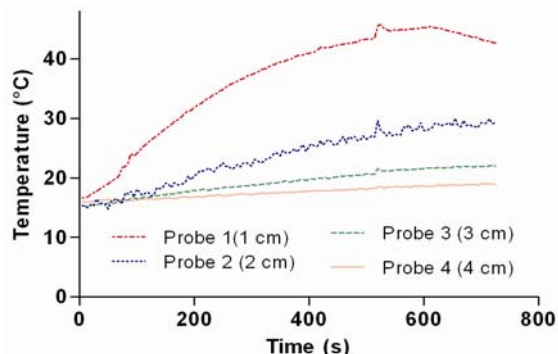


Fig.10. Temperature recorded inside de pig liver tissue.

TABLE IV  
TEMPERATURE INCREASE RECORDED BY EACH TEMPERATURE PROBE DURING 10 MINUTES AT DIFFERENT DEPTHS (LIVER TISSUE)

	T = 0 min (°C)	T=10 min (°C)	Temperature increase (°C)
Probe 1 (1 cm)	16.87	45.66	28.8
Probe 2 (2 cm)	16.36	30.31	14
Probe 3 (3 cm)	15.37	21.58	6.21
Probe 4 (4 cm)	15.9	18.8	3

#### IV. DISCUSSION

In the phantom elaborated the electrical property values obtained presents a variation of 0.26% in permittivity and 13.04% in conductivity. Even though 13.04% of variation could be considered as much, these could be change because of the radiation generated by the applicator. For this reason this difference was considered as a tolerance in these parameters.

The SWR obtained in the theoretical model of a whole hyperthermia system was 1.45 at 250 MHz; however, the SWR values obtained by means of the test of the physical model with the solid muscle phantom and the pig liver tissue were 1.06 and 1.21 respectively at 225 MHz. A displacement in frequency of 25 MHz was observed in the SWR in the physical model. This displacement could be results of materials used in the physical implementation, phantom container, etc; It was possible to observed by the SWR test that everything in the environment could affect the level of adjustment of the system and it could be cause this displacement. On the other hand, we can observe that there are a difference of 0.15 between the SWR with the muscle phantom and the SWR with the pig liver tissue; this difference could be because of the different electrical properties of each type of tissue. These different electrical properties of each tissue also could modify the temperature increases recorded by the temperature sensors.

This study presents the validations of a new waveguide which could be used in hyperthermia therapies. We believe necessary a complete characterization about temperature increases generated by the applicator inside the muscle

phantom; like a characterization with a thermographic camera so as to view temperature distributions and the characterization by the electric field distributions, however, by means of these temperature test it was observed the behavior of the applicator and predict the heating region generated in muscle phantom and liver tissue.

Temperature test carried out in the solid muscle phantom showed that the transmitted power from the applicator to the phantom had been reduced as function of time; this problem could be solved if the temperature of the applicator is controlled. During the time of radiation the body of the applicator suffers a temperature increase; this increment produce a change in the SWR and the level of mismatch of the whole hyperthermia system is increased by causing power losses. If we want to avoid power losses produced by this reason, we need to control by means of fans or another cooling artifact the temperature of the applicator body.

The temperature test carried out in the pig liver tissue showed that the temperature increment was lower than those increments obtained with the solid muscle phantom. These differences could be result of the disparity in the electric tissue properties and because the liver tissue tends to denaturalization and its electrical properties suffer a change that affect the power absorption. If we want to continue working with tissue, it is needed to think about how maintain the electrical properties of tissue during the time of the hyperthermia treatment.

#### V. CONCLUSION

This paper presents an electromagnetic applicator for hyperthermia treatments which uses a new plate antenna. Up to now all the waveguides reported for hyperthermia treatments uses a monopole antenna. The results obtained show that plate antenna represents a better option to use in the design of EM applicators for their use in oncology therapy than a waveguide applicator fed by a conventional monopole antenna. It was because with a monopole antenna the heating area is greater than this one heating with a plate antenna. On the other hand, it is possible to say that the input power could be reduced (< 66 W) in order to reduce the temperature increments and avoid the overheating of healthy tissue. Although there are necessary more test of temperature, electric field distributions, SAR distributions and efficiency test of the whole hyperthermia system, this new design of hyperthermia applicator represents a good option to use in oncology therapy.

#### ACKNOWLEDGMENT

This work was partially supported by the European Project ALFA - Contract N° AML/B7-311/97/0666/II-0343-FA-FCDFI, and the Mexican projects Conacyt 45041and 68799.

Authors thank J. H. Zepeda for his invaluable technical assistance.

## REFERENCES

- [1] A. Y. Cheung and A. Neyzari, "Deep local hyperthermia for cancer therapy: external electromagnetic and ultrasound techniques," *Cancer Res*, vol. 44, pp. 4736s-4744s, Oct 1984.
- [2] H. Kato and T. Ishida, "Present and Future-Status of Noninvasive Selective Deep Heating Using Rf in Hyperthermia," *Medical & Biological Engineering & Computing*, vol. 31, pp. S2-S11, Jul 1993.
- [3] J. Wiersma and J. D. P. Van Dijk, "RF hyperthermia array modelling; validation by means of measured EM-field distributions," *International Journal of Hyperthermia*, vol. 17, pp. 63-81, Jan 2001.
- [4] P. Nilsson, T. Larsson, and B. Persson, "Absorbed power distributions from two tilted waveguide applicators," *Int J Hyperthermia*, vol. 1, pp. 29-43, Jan-Mar 1985.
- [5] M. Y. Park and H. J. Eom, "Analysis of a coaxially fed monopole in a rectangular waveguide," *Ieee Microwave and Wireless Components Letters*, vol. 15, pp. 253-255, Apr 2005.
- [6] R. A. Gardner, H. I. Vargas, J. B. Block, C. L. Vogel, A. J. Fenn, G. V. Kuehl, and M. Doval, "Focused microwave phased array radiotherapy for primary breast cancer," *Ann Surg Oncol*, vol. 9, pp. 326-32, May 2002.
- [7] C. J. Trujillo., L. Leija., and A. Vera., "Design and Preliminary Evaluation of a Superficial Applicator for Hyperthermia with a New Coaxially Fed Antenna: Theoretical Models," in *Pan American Health Care Exchanges (PAHCE)*, Lima, Peru, 2010.
- [8] P. R. Stauffer, F. Rossetto, M. Prakash, D. G. Neuman, and T. Lee, "Phantom and animal tissues for modelling the electrical properties of human liver," *Int J Hyperthermia*, vol. 19, pp. 89-101, Jan-Feb 2003.
- [9] D. Andreuccetti, "An Internet resource for the calculation of the dielectric properties of body tissues in the frequency range 10 Hz - 100 GHz," Italy: Italian national research council, 1997-2007.
- [10] J. C. Kumaradas and M. D. Sherar, "An edge-element based finite element model of microwave heating in hyperthermia: application to a bolus design," *Int J Hyperthermia*, vol. 18, pp. 441-53, Sep-Oct 2002.

# An Agarose Based Phantom Embedded in an *In Vitro* Liver Tissue to Simulate Tumors: First Experience

S.A. Lopez-Haro, C.J. Trujillo, A. Vera, L. Leija

Department of Electrical Engineering, CINVESTAV-IPN, Mexico D. F., Mexico

Phone (52) 55 57473800 Ext 6212

E-mail: [laremus@cinvestav.mx](mailto:laremus@cinvestav.mx)

**Abstract** — The aim of this work is the development of a tumor phantom to be inserted in an *in vitro* tissue. This combination of phantom and fresh tissue can be used to evaluate and verify the effects of hyperthermia equipments during the treatments. The tumor phantom was characterized and modified to achieve the ultrasonic and dielectric properties of a real tumor. The tumor phantom components were agarose, ethanol, tri-distilled water and chloride of sodium. The permittivity and conductivity values were  $73.68 \pm 0.78$  and  $0.31 \pm 0.025$  S/m @ 225 MHz respectively and the speed of sound and attenuation were  $1588.28 \pm 15.72$  m/s and  $1.28 \pm 0.045$  dB/(cm MHz) at 20°C.

**Keywords** — Tumor Phantom, Ultrasound, Electromagnetism

## I. INTRODUCTION

In the recent years, ultrasonic and electromagnetic hyperthermia has emerged as a new technique against cancer with acceptable results; even it has been combined with chemotherapy and radiotherapy to improve their effects [1]. However, it is necessary that all these new equipments have been proved and characterized to assure their behavior before starting with the treatment application in humans. Some of the employed tools are the Finite Element Modeling [2, 3] (FEM) and the phantoms [4-6] (tissues emulators); the latter are intended to emulate the properties of living tissues and thus be able to verify the effects of radiation in conditions close to real. Phantoms must have some important characteristics like speed of sound, attenuation, scattering and absorption in the ultrasonic side and others like conductivity, permittivity and thermal diffusivity in the dielectric side. Polyacrylamide [7, 8], agar [6], agarose [9] and gelatin [10] have been used to provide phantoms with the adequate firmness, these materials are used to elaborate tissue emulators for both ultrasonic and electromagnetic energies; as well as the last components, salts, alcohols and powders are included in the mixture to achieve the desired characteristics of the phantom. Companies like IndexSAR and CIRS produce several kinds of phantoms; the first one has developed phantoms to study the performance of wireless devices and their effects in humans, and the second one presents two kinds of solid phantoms; one group with the anatomical shape and ultrasonic properties of different body parts to train

medicine students and another group to calibrate ultrasound scanners. These phantoms have either the ultrasonic or the dielectric properties but they do not have both kinds of properties at the same time.

The aim of this work is the development of a tumor phantom with the adequate ultrasonic (speed of sound and attenuation) and dielectric (permittivity and conductivity) properties to be used with both kinds of energy at the same time or separately. The tumor phantom was inserted in a fresh pig liver because of the ultrasonic and dielectric properties present no significant changes [9, 11] when it is removed of the pig also because its similarity with the human liver provides to the experiment some characteristics as size, shape, texture and the nerves present in a real tissue.

## II. METHODOLOGY

### *Phantom Preparation.*

An agarose based phantom (Invitrogen: UltraPure™ Agarose), tri-distilled water, ethanol and NaCl [12, 13] was made to simulate both dielectric and ultrasonic properties of a tumor tissue. The employed constituents' proportions to mimic electrical and ultrasonic properties are shown in Table 1. Agarose is a gelling agent that provides the phantom with the necessary firmness; moreover variations in the agarose concentration produce speed-of-sound and attenuation changes. Ethanol and chloride of sodium quantities affects the permittivity and the conductivity respectively. Tri-distilled water, ethanol and NaCl are mixed in a beaker while they are heated and stirred; once the components are combined, they have to be heated until 80°C to achieve the melting temperature; when the phantom mixture is between 55°C and 60°C it is injected in the fresh liver stored at 4°C by using a syringe of 3 mL with a needle of 1.25 mm of diameter (18G).

TABLE I  
COMPONENTS OF THE TUMOR PHANTOM SOLUTION

Component	Quantity
Ethanol	60 mL
Tri-distilled water	100 mL
NaCl	1.0 g
Agarose	1.5 g

A portion of this mixture was poured in a mould; when the liquid phantom solidified, it was stored in water to avoid

its dehydration and this sample was used to measure both dielectric and ultrasonic properties of the tumor phantom.

#### Dielectric Properties Measurement.

Phantom permittivity was measured by using a dielectric probe kit (85070C, Hewlett Packard, USA). Phantom conductivity was obtained by (1).

$$\sigma = \epsilon'' \epsilon_0 \omega \quad (1)$$

where  $\sigma$  is the electrical conductivity,  $\epsilon''$  is the loss factor,  $\epsilon_0$  is the permittivity of free space and  $\omega = 2\pi f$  is the angular frequency. According to [14, 15] the conductivity of tumor cells and colon tumor is between 0.15 S/m and 0.5 S/m in the radio frequency range; and the permittivity constant value is near 70 at 200 MHz [16] for mice brain cancer, breast cancer, colon cancer and gastric carcinoma.

#### Ultrasonic Properties Measurement.

*Speed of Sound.* The following system was used for the propagation speed measurement. First, there is a home-made pulser developed for driving a 3.5 MHz central frequency ultrasonic transducer (Panametrics – NTD, USA) with a high voltage (250 V) short-duration (50 ns) pulse. The transducer, which was fixed in one of the container walls with the tissue placed in front of its face, sends an ultrasonic pulse that interacts with the sample and the reflectors system inserted into it, see Fig. 1. The generated echo signals (due the reflectors system) were received by the same transducer and were amplified by a home-made amplifier. These signals were digitalized by a digital oscilloscope (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) to process them later and calculate the speed of sound [17, 18].

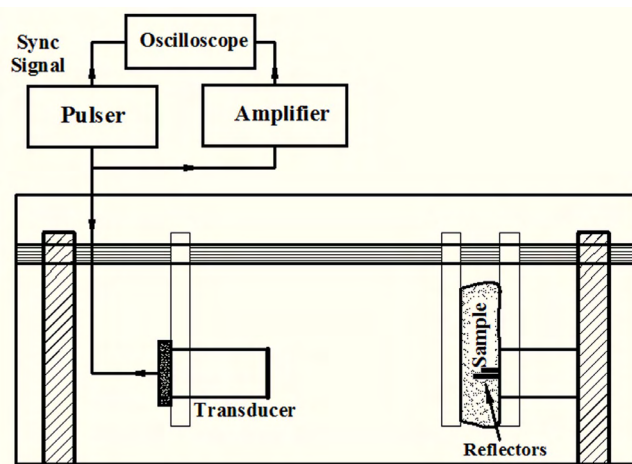


Fig. 1. Speed of sound measurement system designed and characterized by the LAREMUS group.

*Attenuation.* Basically, the same equipment described to obtain the speed of sound was used for the attenuation coefficient measurement. In this case, two transducers were employed to measure the attenuation by using the substitution technique, which is used to obtain the attenuation coefficient as a relative value compared with the water value, see Fig. 2. Firstly, the emitter transducer send a pulse through the water that is received by the second transducer placed in front of it, this echo is stored as a reference to compare with the echo obtained when there is a different material between both transducers. Secondly, the material that is going to be characterized is placed between both transducers and the resultant signal is stored, it is necessary to know the width of the sample to use (2) and obtain the attenuation coefficient of the material [19] at the desired frequency.

$$\alpha(f) = \frac{20}{\Delta x} (\log_{10} V'(f) - \log_{10} V(f)) \quad (2)$$

Where  $\alpha$  is the attenuation coefficient at the desired frequency,  $\Delta x$  is the sample thickness,  $V'$  and  $V$  are the voltage of the water and sample stored signals respectively. Vlad et al. [20] reported speed of sounds values between 1501 m/s and 1543 m/s and an attenuation between 0.34 dB/(MHz cm) and 0.91 dB/(MHz cm) for head-and-neck cancer cells.

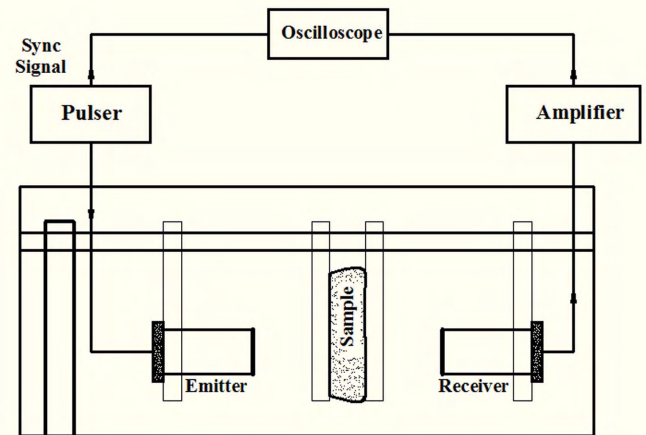


Fig. 2. Diagram of the system used to measure the attenuation coefficient employing the substitution technique.

### III. RESULTS

#### Phantom Preparation

The resultant agarose based phantom presented an adequate hardness after solidification, see Fig. 3. The dielectric and ultrasonic properties were measured at ten different regions of the tumor phantom to verify its uniformity. The phantom was stored in cold water to avoid its dehydration.



Fig. 3. Resultant agarose based phantom.

### Dielectric Properties

Permittivity and conductivity were measured in the radiofrequency range (200 MHz to 300 MHz) at different regions and the values were averaged, in Fig. 4 the results of both properties are shown in the mentioned ranged. In this case the frequency of interest is the electromagnetic applicator frequency (225 MHz) at which the permittivity is  $73.68 \pm 0.78$  and the conductivity is  $0.31 \pm 0.025$  S/m.

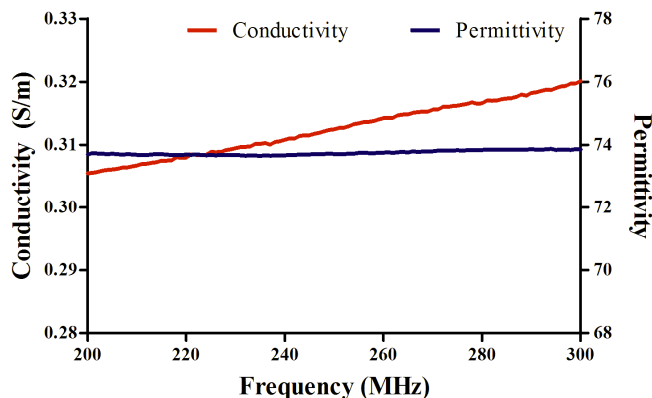


Fig. 4. Phantom permittivity and conductivity in the range from 200 MHz to 300 MHz.

### Ultrasonic Properties

The tumor phantom speed of sound obtained was  $1588.28 \pm 15.72$  m/s at 3.01 MHz and 20°C. This value was measured with the sample in a container with water; to ensure a uniform temperature inside the phantom, it was submerged in bidistilled degasified water at 20°C for twenty minutes before the first measure. In the case of the attenuation the average value was  $1.28 \pm 0.045$  dB / (MHz cm) at the central frequency of the employed transducer. The attenuation behavior at different frequencies can be observed in the Fig. 5.

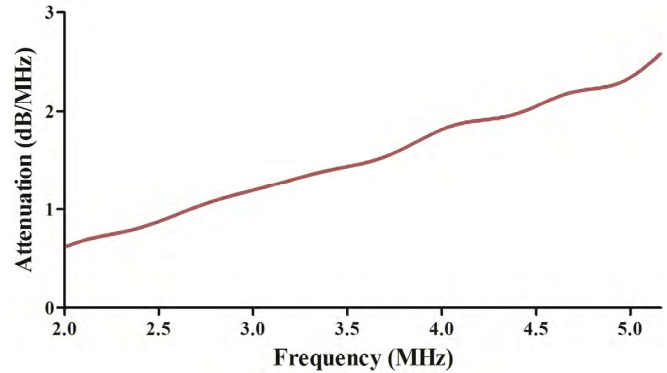


Fig. 5. Phantom attenuation from 2.0 MHz to 5.0 MHz.

### Phantom Injection

The liquid mixture was injected between 55°C and 60°C in the fresh liver which was stored at 4°C. Several regions of the pig tissue were injected with 2.5 mL of the liquid phantom. The agarose phantom deposits solidified inside the fresh tissue and they form solid volumes with the measured characteristics, this was probed cutting the tissue in the regions of insertion, see Fig. 6.

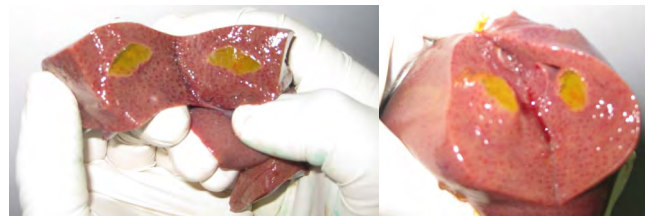


Fig. 6. Injected phantom after solidification inside the fresh pig liver.

## IV. CONCLUSION

The conductivity of this tumor phantom is in the range of values for tumor cells obtained by Liu et al. and Smith et al. [14, 15]; the permittivity is over those presented by Yoo et al. [16] for less than 10%. In the speed of sound case there is a difference less than 3% regarding the values reported by Vlad et al. [20], they found attenuation values between 0.34 dB/(MHz cm) and 0.91 dB/(MHz cm) which represent a maximum difference of 0.94 dB/(MHz cm); this value can be modified adding agarose or graphite in the mixture of the tumor phantom however it can affect the other values. Due to the closeness of both dielectric and ultrasonic properties of the built phantom it will be used for the validation of hyperthermia equipments developed in the LAREMUS group. This technique was used for our group to fix ferromagnetic particles in an *in vitro* fresh tissue and check their behavior during electromagnetic hyperthermia treatment. Development of phantoms with others properties and materials will continue to characterize and prove the hyperthermia equipments of this group.

## ACKNOWLEDGMENT

This work was partially supported by the Mexico – France agreement ECOS-ANUIES P: M10-S02 and the Mexican project ICYTDF-No PICCO10-78.

## REFERENCES

- [1] 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.
- [2] C. J. Trujillo, L. Leija, and A. Vera, "Design and Preliminary Evaluation of a superficial applicator for hyperthermia with a new coaxially fed antenna: Theoretical models," in *Health Care Exchange (PAHCE), 2010 Pan American*, 2010, pp. 62-67.
- [3] W. Ke and S. Chaki, "Finite element simulation of the critically refracted longitudinal wave in a solid medium," in *10ème Congrès Français d'Acoustique* Lyon, 2010.
- [4] M. Lazebnik, "Tissue-mimicking phantom materials for narrowband and ultrawideband microwave applications." vol. 50, 2005, p. 4245.
- [5] A. G. Webb, T. Neuberger, E. J. Park, and N. Smith, "Temperature mapping near the surface of ultrasound transducers using susceptibility-compensated magnetic resonance imaging," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 56, pp. 1145-50, Jun 2009.
- [6] J. Conway, "Electrical impedance tomography for thermal monitoring of hyperthermia treatment: an assessment using in vitro and in vivo measurements," *Clin Phys Physiol Meas*, vol. 8 Suppl A, pp. 141-6, 1987.
- [7] D. Andreuccetti, "An Internet resource for the calculation of the dielectric properties of body tissues in the frequency range 10 Hz - 100 GHz," *Italy: Italian national research council, Institute for Applied Physics*, 1997-2007.
- [8] A. Surowiec, P. N. Shrivastava, M. Astrahan, and Z. Petrovich, "Utilization of a multilayer polyacrylamide phantom for evaluation of hyperthermia applicators," *Int J Hyperthermia*, vol. 8, pp. 795-807, Nov-Dec 1992.
- [9] X. Z. Liu, X. F. Gong, D. Zhang, S. G. Ye, and B. Rui, "Ultrasonic characterization of porcine liver tissue at frequency between 25 to 55 MHz," *World J Gastroenterol*, vol. 12, pp. 2276-9, Apr 14 2006.
- [10] M. G. Bini, A. Ignesti, L. Millanta, R. Olmi, N. Rubino, and R. Vanni, "The polyacrylamide as a phantom material for electromagnetic hyperthermia studies," *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 31, pp. 317-22, Mar 1984.
- [11] D. G. Smith, S. R. Potter, B. R. Lee, H. W. Ko, W. R. Drummond, J. K. Telford, and A. W. Partin, "In vivo measurement of tumor conductiveness with the magnetic bioimpedance method," *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 47, pp. 1403-5, Oct 2000.
- [12] C. J. Trujillo, S. A. Lopez-Haro, L. Leija, and A. Vera, "SWR and Temperature Test of a Novel Superficial Applicator for Hyperthermia with a New Antenna: Measurements in Solid Muscle Phantom and In vitro Liver Tissue," in *International Conference on Applied Bionics and Biomechanics*, Venice, Italy, 2010.
- [13] D.-S. Yoo, "The dielectric properties of cancerous tissues in a nude mouse xenograft model," *Bioelectromagnetics*, vol. 25, pp. 492-497, 2004.
- [14] M. M. Dooley, J. C. Bamber, F. Fuechsel, and N. L. Bush, "A freehand elastographic imaging approach for clinical breast imaging: system development and performance evaluation," *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 27, pp. 1347-1357, 2001.
- [15] S. A. López-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.
- [16] S. A. López-Haro, A. Vera, and L. Leija, "Speed of Sound Measurement of biological tissue by using fixed reflectors. Medición de la velocidad de propagación del ultrasonido en tejido animal empleando reflectores fijos," in *Simposio de Metrología 2010* Queretaro, Mexico: Centro Nacional de Metrología, 2010.
- [17] C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, *Physical principles of medical ultrasonics*, 2nd ed. vol. 1: John Wiley & Sons, Ltd, 2004.
- [18] R. M. Vlad, N. M. Alajez, A. Giles, M. C. Kolios, and G. J. Czarnota, "Quantitative Ultrasound Characterization of Cancer Radiotherapy Effects In Vitro," *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics*, vol. 72, pp. 1236-1243, 2008.
- [19] P. R. Stauffer, F. Rossetto, M. Prakash, D. G. Neuman, and T. Lee, "Phantom and animal tissues for modelling the electrical properties of human liver," *Int J Hyperthermia*, vol. 19, pp. 89-101, Jan-Feb 2003.

# Ultrasonic Characterization of Cell Culture Medium in the Temperature Range from 25°C to 50°C

S.A. Lopez-Haro<sup>1</sup>, J.L. Reyes<sup>2</sup>, A. Vera<sup>1</sup>, L. Leija<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Electrical Engineering, CINVESTAV-IPN, Mexico D. F., Mexico

<sup>2</sup>Department of Physiology, CINVESTAV-IPN, Mexico D. F., Mexico

Phone (52) 55 57473800 Ext 6212

E-mail: [laremus@cinvestav.mx](mailto:laremus@cinvestav.mx); [slopezh84@gmail.com](mailto:slopezh84@gmail.com)

**Abstract** — The aim of this work was the ultrasonic characterization of the cell culture medium used for Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells. To design and build a special container for the speed-of-sound (SOS) temperature dependence measurement of the cell culture media was necessary. Pulse-echo technique and a step reflector were used to obtain the temperature dependence of SOS results. Water and cell culture media SOS are compared; both liquids behavior show an upward tendency in the temperature range studied. Culture media SOS results were fitted by using both a first and a second order curve; second order curve had better correlation coefficient than the other one. Speed-of-sound varies from 1510 m/s at 25°C to 1540 m/s at 50°C.

**Keywords** — Cell culture Media, Speed-of-Sound, Temperature Dependence, Ultrasound

## I. INTRODUCTION

Thermal therapy can be classified according the temperatures used in the treatment, Stauffer [1] proposes a classification of the thermal therapy treatments. In the classification, hyperthermia and thermal ablation are found. The hyperthermia objective is to increase cancer cells temperature above its normal level, normally between 40.5°C and 45°C, and produces radiosensitization, chemosensitization, and drug uptake[1]. Hyperthermia treatments are applied for a period of time depending on the applied energy [2, 3]; these techniques are been used as a treatment against cancer cells [4, 5]. Hyperthermia can be whole body or local. When the achieved temperature is above 47°C, thermal ablation occurs; it is used to kill cancer cells and minimize damage in surrounding tissues [5]. One of the most important techniques to induce thermal ablation is the High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) [6]; it consists in a transducer or transducers arrangement [7] capable to concentrate the ultrasound energy in a focal zone. The focalization of the ultrasonic energy can be obtained by using an especial geometry for the transducer or by using time delay excitation of the transducer arrangement.

In recent years, several tests in biological tissues [8, 9] and cell lines [10, 11] have been developed applying HIFU ablation; nevertheless, many studies are needed to know its effects at cell level. According to [12], the cell cultures are a technological procedure used to maintain and study living cells in an artificial medium. These media must have biological conditions similar to those in which cells normally grow up. Transducer evaluation is normally

carried out in reference materials like distilled water; variations in the ultrasonic properties of the materials like speed-of-sound (SOS), absorption and attenuation may modify the behavior of ultrasound. On the other hand, temperature dependence of the ultrasonic properties has been demonstrated. LAREMUS laboratory, at CINVESTAV, Mexico, has begun tests at cell level; these studies will be focused on both healthy and cancer cells resistance to the HIFU treatment. Proposed procedures consider that the ultrasonic pulse travels through the cell culture media up to the cells; in the HIFU case, speed-of-sound changes in the cell culture media can move the focal zone and provoke temperature increments in undesired areas. The aim of this work is the ultrasonic characterization of culture media in the temperature range from 25°C to 50°C to analyze possible modifications in the ultrasound behavior; due to the cost of the cell culture media preparation, to make the measurement, it was necessary to design a special container, which was heated with the liquid of interest inside. The employed technique to measure the speed-of-sound has been previously described by our group [13]. Basically, it uses the pulse-echo technique that consists in a transducer working as emitter-receiver and a step-reflectors arrangement with a known distance between the reflectors; the interaction ultrasonic pulse - reflectors produces an echo pair that is stored to be analyzed off line. These signals contain useful time-of-flight information for the SOS calculus.

## II. METHODOLOGY

### *Cell Culture Media Preparation*

The cell culture media to be characterized in this work is the Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) from Sigma – Aldrich (Product Number D7777). This one will be used for the Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells growth.

### *Speed-of-Sound Measurement*

The following system was used for the speed-of-sound measurement. First, there is a home-made pulser developed for driving a 5 MHz central frequency ultrasonic transducer (Harisonic® Transducers, 12C-0504-S) with a high voltage (150 V) short-duration (50 ns) pulse. The transducer, which was fixed in one of the container walls, sends an ultrasonic pulse that travels through the liquid sample (DMEM) and

interacts with the reflectors arrangement placed in the opposite container wall, see Fig. 1. The generated echo signals (from the reflectors arrangement) were received by the same transducer and were amplified by a home-made amplifier. These signals were digitalized by an oscilloscope (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) at a sampling frequency of 10 GS/s and stored to process them later. The speed-of-sound calculus was done by using (1).

$$c_s = \frac{2d}{t} \quad (1)$$

Where  $c_s$  is the sample speed-of-sound,  $d$  is the distance between the step reflector tips, and  $t$  is the time of flight between reflectors echoes in the obtained signals, see Fig 2.

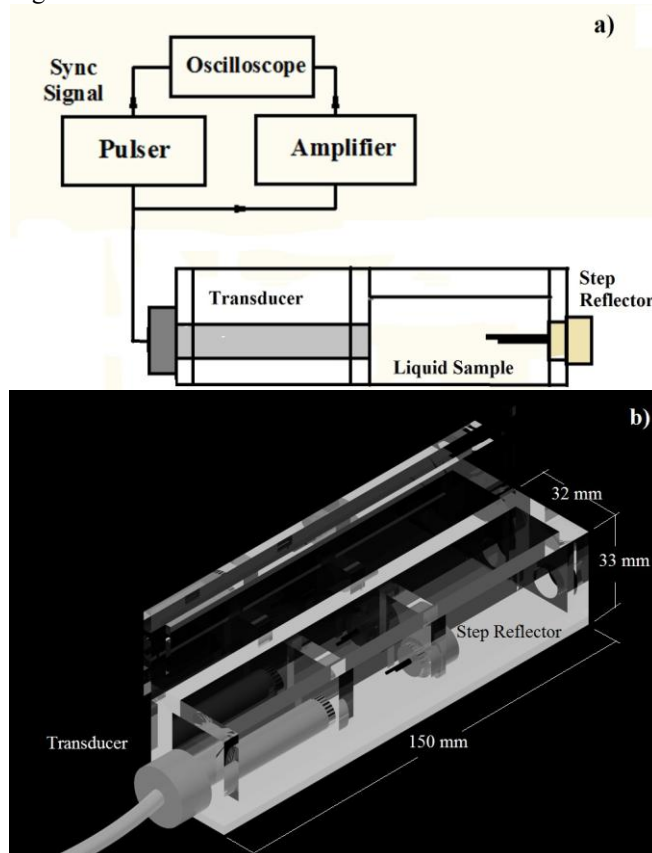


Fig. 1. a) Measurement system diagram. b) Container employed for the speed-of-sound measurement in liquid samples.

As mentioned above, changes in the sample temperature provoke variations in the ultrasonic properties of the materials. Normally, in the SOS case the higher temperature, the faster speed-of-sound. To find the temperature dependence of the culture media speed-of-sound, it was necessary to submerge the container in a thermostatic bath which raise and control the temperature with an accuracy of 0.01°C. Signals at each desired temperature were stored.

Temperature range covered in this work was from 25°C to 50°C in increments of 1 C°. Both water and culture media SOS were measured in the defined range to be compared.

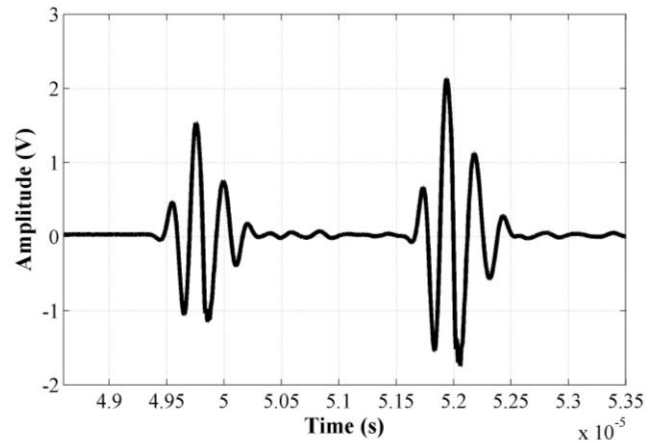


Fig. 2. Example of the obtained signals by using the pulse-echo technique and a step reflector. The time of flight between echoes and the distance between step reflector tips are employed in (1) to measure the speed-of-sound.

### Evaluation of Speed-of-Sound variations

After speed-of-sound measurement was carried out, the ultrasonic field generated by an array of transducers with four concentric rings was obtained by using Finite Element Model (FEM) software and the SOS data at 37°C. The goal of this test was to evaluate possible variations due to the speed-of-sound changes in the focal zone at the tests temperature. Due to the problem geometry, it was possible to solve it with a 2D axial geometry; it includes the propagation media and the 4 radiation elements. An example of the rings distribution and the geometry can be seen in Fig. 3.

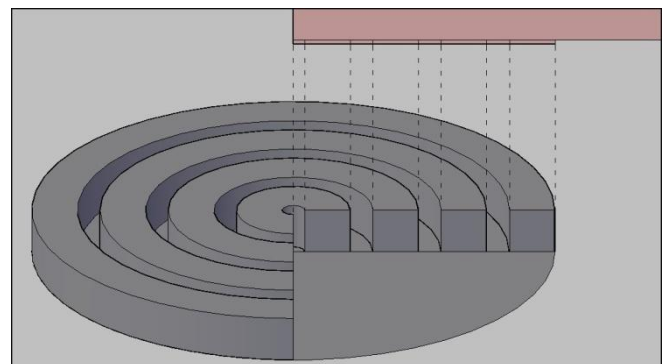


Fig. 3. Transducer geometry. Rings were excited at different times to focalize at 10 mm.

Each ring of the array was excited with a sine signal at 1 MHz. Signals were multiplied by a step function to obtain only six cycles of excitation (2)



$$p(t) = \begin{cases} 100 * \sin(2 * \pi * f * t) & \forall 0 < t < 6 \mu s \\ 0 & \text{Any other case} \end{cases} \quad (2)$$

### III. RESULTS

#### Cell Culture Media Speed-of-Sound

Behavior of temperature dependence of the speed-of-sound in both water and culture media are shown in the Fig. 4. An upward tendency can be seen for both cases water (red) and cell culture media (green). Data obtained from the temperature dependence of the speed-of-sound in water were compared with the values reported by [14, 15] presenting a correlation coefficient of 0.99995.

Obtained values are from 1498.19 m/s at 25°C to 1546.15 m/s at 50°C for water and from 1509.67 m/s at 25°C to 1540.18 m/s at 50°C for cell culture media. Culture media measured data were fitted by using both a first and a second order curve presenting a correlation coefficient of 0.9686 and 0.9917 respectively, see Fig 5.

Resulting polynomials are (3) and (4) for the first and second order curve respectively.

$$SOS_{CM} = 1.3756 * T + 1476.93 \quad (3)$$

$$SOS_{CM} = -0.0451 * T^2 + 4.7546 * T + 1416.11 \quad (4)$$

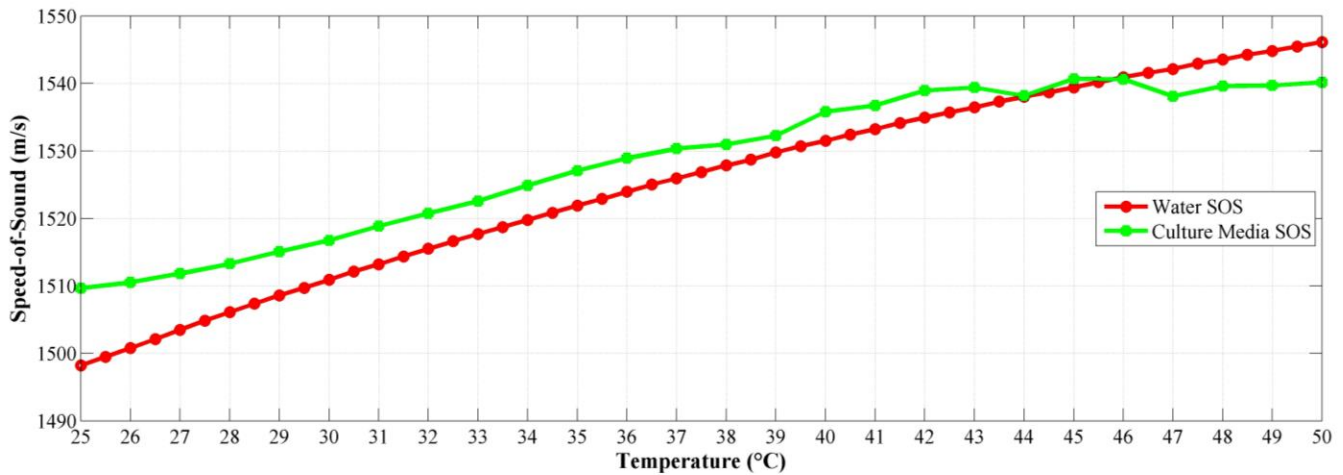


Fig. 4. SOS temperature dependence for water and cell culture media. Values vary from 1498.19 m/s at 25°C to 1546.15 m/s at 50°C for water and from 1509.67 m/s at 25°C to 1540.18 m/s at 50°C for cell culture media.

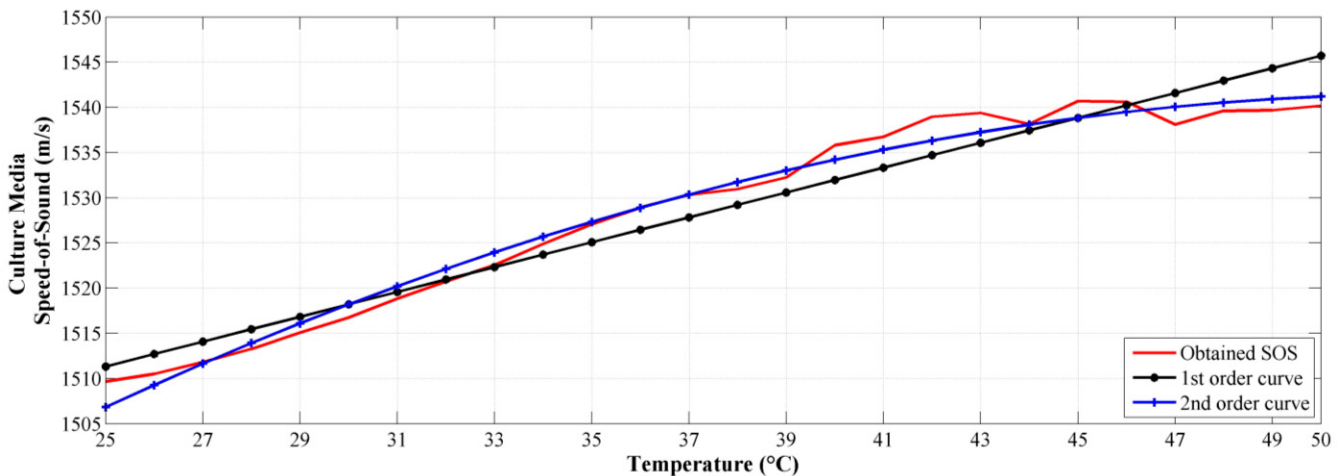


Fig. 5. Temperature dependence of cell culture media speed-of-sound. Cell culture media data were fitted by using both a first and a second order curve presenting a correlation coefficient of 0.9686 and 0.9917 respectively.

### Evaluation of Speed-of-Sound variations

By using the transitory analysis results of the ultrasonic pulse propagation in homogeneous media, acoustic field in water and cell culture media were obtained and compared. No significant variations can be observed in Fig. 6. Focal zone dimensions and localization were not altered. Pressure in the central axis of the transducers array of both simulations is shown in Fig. 7. It can be observed the similarity of the pressure curve shape; in both cases the pressure maximum is reached between 7.5 mm and 10 mm.

#### IV. DISCUSSION

The behavior of the speed-of-sound temperature dependence of both liquids presents similar upward tendency. This could be due to the main component of the culture media is water. At 37°C the SOS of water and culture media is 1525.93 m/s and 1530.32 m/s respectively; due to the proximity of the SOS values (difference of 5 m/s), there will not be variations in the focal zone, and the treatment zone will have the same dimensions and localization.

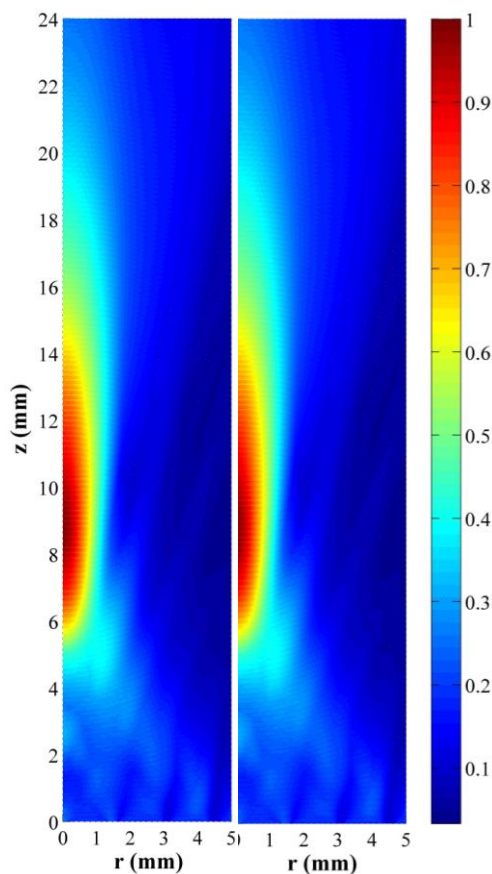


Fig. 6. Obtained acoustic fields in water (left) and cell culture media (right). Focal zone were not affected.

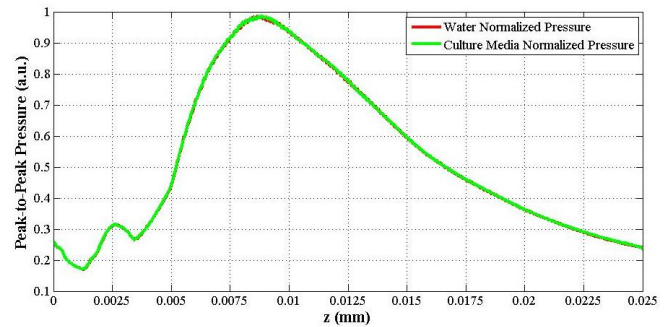


Fig. 7. Peak-to-peak pressure in the central axis of the transducers array obtained with FEM in both media water (red) and cell culture media (green).

#### V. CONCLUSION

The speed-of-sound measurement system developed in LAREMUS group was employed to measure the SOS of cell culture media used in the culture cell process. Obtained results show similar behavior of both liquids (water and cell culture media) speed-of-sound temperature dependence. Equations (3) and (4) can be used in the modeling process to obtain simulated acoustic field and compare it with the measured one. Transducers properties like acoustic field, focal zone localization, and treatment area, normally measured in water, will not be modified when the hyperthermia tests in cell culture media are done.

#### ACKNOWLEDGMENT

This work was partially supported by CONACyT-Mexico.

#### REFERENCES

- [1] P. R. Stauffer, "Evolving technology for thermal therapy of cancer," *Int J Hyperthermia*, vol. 21, pp. 731-44, Dec 2005.
- [2] W. D. O'Brien, Jr., C. X. Deng, G. R. Harris, B. A. Herman, C. R. Merritt, N. Sanghvi, and J. F. Zachary, "The risk of exposure to diagnostic ultrasound in postnatal subjects: thermal effects," *J Ultrasound Med*, vol. 27, pp. 517-35; quiz 537-40, Apr 2008.
- [3] A. Vera, J. E. C. Quero, L. Leija, Y. H. Mier, and C. Marchal, "Hipertermia electromagnética, una alternativa para el tratamiento del cáncer: antecedentes, aspectos físicos y biológicos," *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, vol. XXII, pp. 78-88, 2001.
- [4] E. S. Glazer and S. A. Curley, "The Ongoing History of Thermal Therapy for Cancer," *Surgical Oncology Clinics of North America*, vol. 20, pp. 229-235, 2011.
- [5] R. A. Steeves, "Hyperthermia in cancer therapy: where are we today and where are we going?," *Bull N Y Acad Med*, vol. 68, pp. 341-50, Mar-Apr 1992.
- [6] G. T. Haar and C. Coussios, "High intensity focused ultrasound: physical principles and devices," *Int J Hyperthermia*, vol. 23, pp. 89-104, Mar 2007.



- [7] B. L. Davies, S. Chauhan, and M. J. S. Lowe, "A Robotic Approach to HIFU Based Neurosurgery," in *Proceedings of the First International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*: Springer-Verlag, 1998.
- [8] A. Häcker, M. S. Michel, and K. U. Köhrmann, "High-Intensity Focused Ultrasound for Noninvasive Renal Tumor Thermoablation," in *Endouroonology*, 2005, pp. 85-98.
- [9] R. Illing and A. Chapman, "The clinical applications of high intensity focused ultrasound in the prostate," *Int J Hyperthermia*, vol. 23, pp. 183-91, Mar 2007.
- [10] W. Hundt, S. Steinbach, C. E. Oâ€™Connell-Rodwell, M. D. Bednarski, and S. Guccione, "The effect of high intensity focused ultrasound on luciferase activity on two tumor cell lines in vitro, under the control of a CMV promoter," *Ultrasonics*, vol. 49, pp. 312-318, 2009.
- [11] Y. Liu, T. Kon, C. Li, and P. Zhong, "High intensity focused ultrasound-induced gene activation in sublethally injured tumor cells in vitro," *J Acoust Soc Am*, vol. 118, pp. 3328-36, Nov 2005.
- [12] M. Cofan and J. Fernandez-Sola, "[Cell cultures: usefulness in biomedical research]," *Med Clin (Barc)*, vol. 98, pp. 782-9, May 23 1992.
- [13] 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.
- [14] V. A. Del Grosso and C. W. Mader, "Speed of Sound in Pure Water," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 52, pp. 1442-1446, 1972.
- [15] 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.

## TEMPERATURE DEPENDENT ULTRASONIC PROPERTIES APPLIED TO A FINITE ELEMENT MODEL TO EVALUATE BIOLOGICAL TISSUES TEMPERATURE VARIATIONS

S.A. López-Haro<sup>a</sup>, H. Calás<sup>b</sup>, A. Ramos<sup>c</sup>, A. Vera<sup>a</sup>, L. Leija<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav –IPN)  
Department of Electrical Engineering – Bioelectronics Section, Mexico D. F., Mexico.

<sup>b</sup> Consejo Superior de Investigaciones Científicas, CSIC, Lab. Ultrasonic Signals, Systems and Technologies,  
CAEND, Madrid, Spain

<sup>c</sup> Consejo Superior de Investigaciones Científicas, CSIC, Lab. Ultrasonic Signals, Systems and Technologies,  
Madrid, Spain

slopezh84@gmail.com; arvera@cinvestav.mx; lleija@cinvestav.mx

### Abstract

The effects provoked by non-linear propagation, speed-of-sound (SOS) changes and sample thickness variations have been studied to evaluate changes in the transducer acoustic fields of high intensity focused ultrasound (HIFU) and, as a consequence, in the generated temperature distributions. Tissue thermodependent acoustic properties variations can produce hot-spots in not desired regions. In the SOS case, the transducer focus can suffer shifts forward or backward depending on the tissue composition. Some biological tissue temperature dependence of both the SOS and the attenuation of ultrasound has been measured in the temperature range from 25°C to 50°C; these thermodependent properties of fat, muscle, and liver are included in a finite element model to evaluate their effects in the acoustic field generated by an array of 4 concentric piezoelectric rings in a multilayer region. The radiated region is composed by 4 layers: skin, fat, muscle and liver. Temperature distributions provoked in the multilayer region were obtained after a simulated therapy of 5 s. There are differences of almost 4°C between temperature distributions of models with and without thermodependent properties. Absorption effects are more noticeable in the temperature distributions; SOS effects are minimal in acoustic fields. These effects must be taken into account to plan hyperthermia and ablation treatments in order to avoid hot-spots in not desired regions.

**Keywords:** Acoustic Fields, Attenuation, Finite Element Model, Speed-of-Sound, Temperature Distribution.

**PACS no.** 43.80.Cs; 43.80.Ev; 87.10.Kn;

## 1 Introduction

In recent years, the thermal therapy has emerged as a promising tool against cancer. This therapy can be classified with respect to the treatment temperatures; Stauffer [1] propose this classification from cryotherapy ( $T < -50^{\circ}\text{C}$ ) to thermal ablation ( $T > 50^{\circ}\text{C}$ ). The hyperthermia purpose is the cancer cell temperature elevation between  $4^{\circ}\text{C}$  and  $8^{\circ}\text{C}$  above its normal level to produce sensitization to both chemotherapy and radiotherapy [1]. Hyperthermia effects depend on applied energy, treatment time and biological tissues properties [2-4]. On the other hand, as mentioned above, thermal ablation occurs when the temperature reached is over  $50^{\circ}\text{C}$ ; the objective of this kind of procedures is to generate cancer cell necrosis being minimally invasive [5, 6] without surrounding tissues damage.

Thermal therapy can be applied by external, interstitial and intracavitary means [1]. One way to apply external thermal therapy is by using the High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) [7, 8] which consists of the ultrasound energy focalization in a point by using both a transducer with a special geometry or a transducers arrangement [9]. This latter can be implemented by spatial configurations or by time delays.

Temperature distributions induced by HIFU transducers in biological tissues have been studied by several groups. Hynynen *et al.* studied the effect of the blood perfusion rate in the temperature distribution generated by a HIFU transducer in a dog kidney model proposing a multilayer geometry. Davies *et al.* used analytical models to obtain the acoustic field of a multi-transducer HIFU system. Later, Moros *et al.* compared *in vitro* and simulation results of temperature distributions achieved by a linear array of transducers in a perfused dog kidney. By other hand, numerical simulations have been used recently to evaluate the effects of non-linear propagation [10], refraction [11], sample thickness variations [11] and speed-of-sound (SOS) [11, 12] on the acoustic field of transducers and generated temperature distributions. Hallaj *et al.* use Bamber and Hill [13] results of SOS to study the thermo-acoustic lens effect in a model with a HIFU transducer and two layers of tissue; they found that the size and position of the focus is affected by the SOS variations.

The aim of this work is the evaluation of the effects of both the SOS and the attenuation of biological tissues in acoustic field and temperature distributions when the temperature dependence of the acoustic properties is added into a finite element (FE) model. Attenuation and SOS temperature dependence of *in vitro* pig liver, muscle and fat samples has been measured; obtained results were employed in a multilayered finite element (FE) model. The FE model was used to simulate the temperature elevation in biological tissues when they are heated by an arrangement of concentric piezoelectric rings focused by using time delays; bio-heat equation was employed to find the temperature distribution. Temperature distributions and acoustic fields with and without thermodependent properties are obtained and compared in the results section of this work.

## 2 Model Description

In this section, the conditions to solve the problem by using a FE model are presented; the model consists of an array of concentric piezoelectrics focalized at 10 mm, and 4 tissue layers to be heated: skin, fat, muscle and liver. The model was solved by using a work station Dell Precision T7400 with an Intel® Xeon® processor @ 3.00 GHz and 64.0 GB of RAM memory. The nature of the problem requires the combination and coupling of both the acoustic and the bioheat equations. The geometry

allows simplifying this problem into a 2D axisymmetric case, Figure 1. The processing time is reduced by this consideration and the solution is valid for the 3D case.

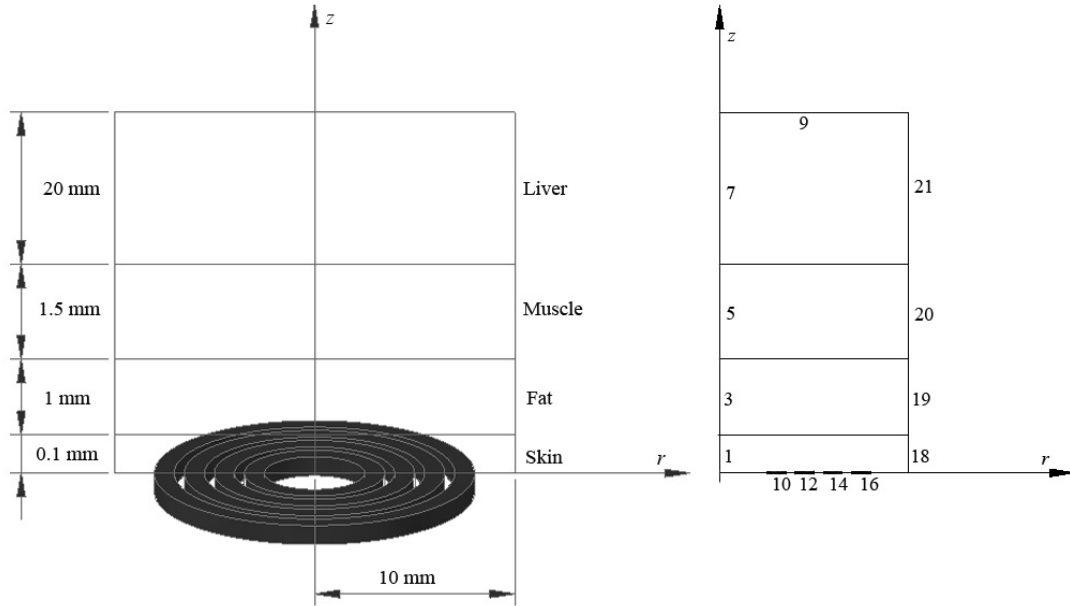


Figure 1 – Problem geometry consists of 4 tissue layers and an arrangement of concentric piezoelectric rings radiating the tissues (left). Simplification of the 3D geometry to a 2D axisymmetric case (right).

## 2.1 The Acoustic Model

The second-order hyperbolic partial differential equation that describes the wave propagation in a medium without losses is

$$\frac{1}{\rho} \nabla^2 p - \frac{1}{\rho c_s(T)^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = q, \quad (1)$$

where  $\rho$  is the medium density,  $c_s$  is the media longitudinal speed-of-sound,  $q$  is an external source and  $p$  is the pressure. The SOS in biological tissues depends on water and fat content[14]; this behavior can accelerate or delay the wave propagation in the media. In a single circular transducer of radius  $r$ , the point where the Fresnel zone ends and Fraunhofer zone starts is determined by

$$z = \frac{r^2}{\lambda} = \frac{fr^2}{c_s(T)}. \quad (2)$$

The effects of the temperature variations in the transducer acoustic field can be observed if the SOS temperature dependence is added into the equations (1) and (2).

Because of the main objective of this work was the analysis of the effects of temperature dependent ultrasonic properties in the acoustic fields and as a consequence in the temperature distributions, the piezoelectric rings were simplified by using sinusoidal signals at 2 MHz in the boundaries 10, 12, 14, and 16. The pressure in the model was the sum of these 4 concentric rings contribution. The transducer excitation was performed so that the arrangement had a focus at 10 mm; focalization was achieved by using time delays in boundaries 12, 14 and 16. The excitation was carried out from the outermost rings to the inner. The acoustic field of the ring arrangement was obtained with and without temperature dependent properties.

## 2.2 The bioheat equation model

The temperature distribution generated in the tissue layers by the concentric ring arrangement were obtained by using the Pennes bioheat transfer equation [15]; this equation describes the behavior of the temperature increase in soft tissues by

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} - k \nabla^2 T = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + Q_{met} + Q_{ext} \quad (3)$$

where  $C$  and  $C_b$  are the heat capacities of tissue and blood, respectively;  $k$  is the thermal conductivity;  $\rho_b$  is the blood density;  $\omega_b$  is the blood perfusion rate;  $T_b$  is the blood temperature;  $Q_{met}$  is the heat due to metabolism and  $Q_{ext}$  is the heat deposition due to an external source, acoustic pressure in this case.

The heat produced by the acoustic pressure depends on the acoustic intensity,  $I$ , and the tissue absorption coefficient,  $\alpha$ ,

$$Q = 2\alpha I, \quad (4)$$

where the acoustic intensity and the pressure are related by

$$I = \frac{p^2}{2\rho c_s}. \quad (5)$$

If the metabolism effects are not considered, the bioheat and the acoustic equations can be coupled in the FE model solution by

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} - k \nabla^2 T = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + \frac{\alpha(T) p^2}{\rho c_s(T)}, \quad (6)$$

where the temperature dependence of both absorption coefficient and SOS can be considered.

The functions that describe the thermodependent behavior of absorption and SOS, as well as the densities and thermal properties [16-18] used in the model are summarized in the Table 1. Notice that in the model all attenuation was considered as a product of the tissue absorption.

Table 1 – Biological tissues thermal and acoustic properties. These properties were assigned to each subdomain in the FE model [16-18].

Tissue	SOS [m s <sup>-1</sup> ]	Absorption at 2 MHz [Np m <sup>-1</sup> ]	Density [kg m <sup>-3</sup> ]	Heat Capacity [J kg <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> ]	Thermal Conductivity [W m <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> ]
Skin	1540	0.4	1100	3598.2	0.209
Fat	-3.428T+1549	10.858-0.428T+0.0045T <sup>2</sup>	918	3221.7	0.402
Muscle	1.558T+1546	3.059-0.099T+0.001T <sup>2</sup>	1049	3807.0	0.618
Liver	0.8599T+1558	20.28-1.165T+0.0214T <sup>2</sup>	1060	3500.0	0.498

\*Temperature (T) is considered in °C.

## 2.3 FE model

Model grid was considered, according to literature [19-21], to have at least 6 elements per wavelength; this results in 8640 rectangular elements. Boundaries 1, 3, 5, and 7 were the axial axis of the problem. Taken into account that the geometry was drawn in cylindrical coordinates ( $r, z$ ), the piezoelectric array was placed at  $z=0$  and the skin, fat, muscle and liver layers were built from here. The peripheral boundaries (9, 18, 19, 20 and 21) had the same acoustic impedance of the corresponding tissue and the whole system was established as thermally isolated.

### 3 Results

Acoustic field of piezoelectric arrangement focused at 10 mm and temperature distributions generated were found in four cases: i) without the temperature dependence of SOS and absorption properties, values at 37°C were used; ii) only with the temperature dependence of SOS; iii) only with the temperature dependence of absorption, and iv) with the temperature dependence of both SOS and absorption.

#### 3.1 Acoustic Field and Temperature Distribution

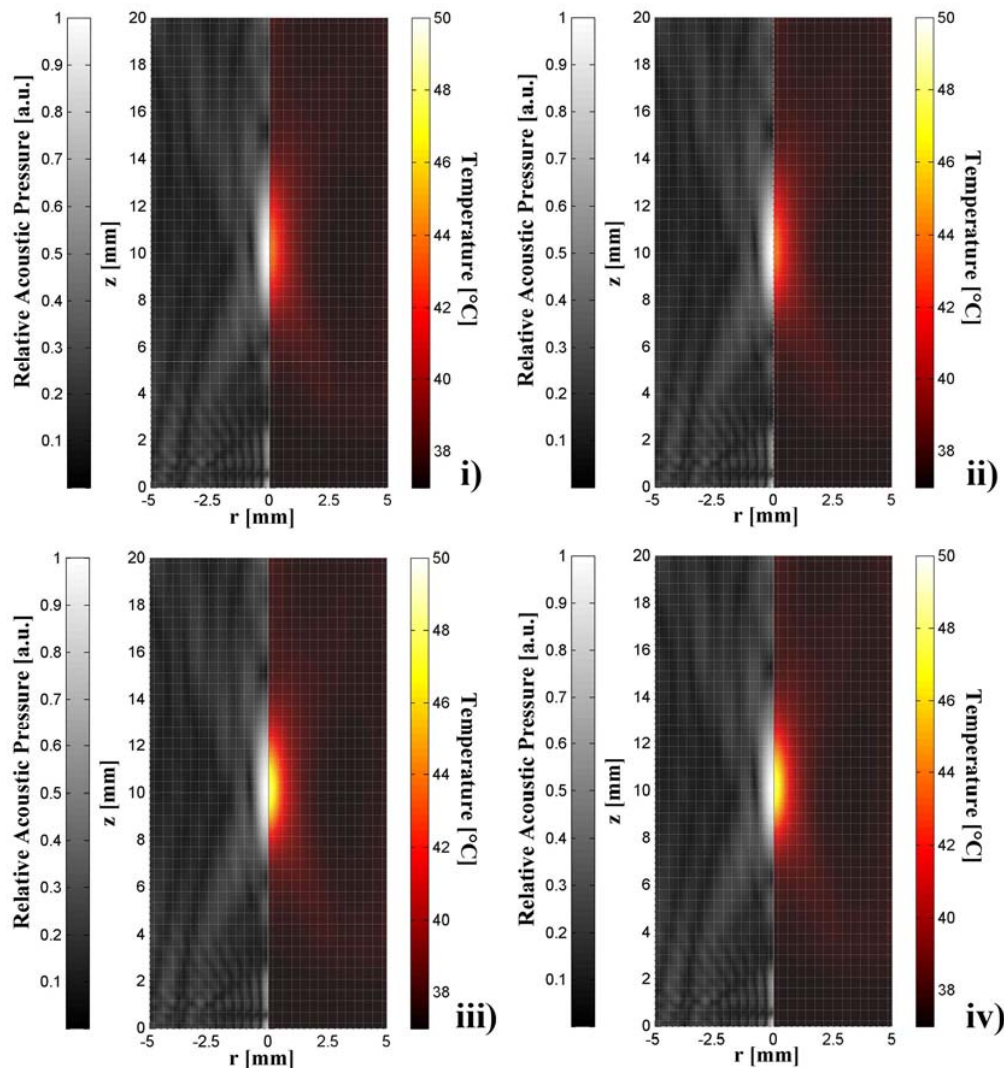


Figure 2 – Acoustic Field (left) and temperature distribution (right) achieved after 5 seconds of simulated therapy. Four cases are presented: i) SOS and absorption of ultrasound values at 37°C; ii) by using the temperature dependence of SOS; iii) by using the temperature dependence of absorption, and iv) by using the temperature dependence of both SOS and absorption.



Acoustic Field (left) and temperature distribution (right) achieved after 5 seconds of simulated therapy for the four cases mentioned above are shown in Figure 2. Acoustic field shows the focalization at 10 mm of the four piezoelectric rings for the four cases; acoustic pressure was normalized to compare qualitatively the focus shape in the central z axis. Temperature distributions were evaluated to obtain the maximum focal temperature achieved in each case, focus length and width, and the area with temperature above 43°C. Table 2 contains the results of the 4 cases analysis. Cases i) and ii) present no considerable differences between them, however, cases iii) and iv) have a difference of almost 4°C regarding the first two cases. Treatment area with temperature above 43°C is approximately 4.2 higher in the cases iii) and iv) than cases i) and ii).

Table 2 – Summary of maximum focal temperature, focus length and width, and the area with temperature above 43°C

	Maximum Focal Temperature [°C]	Length [mm]	Width [mm]	Area with T > 43°C [mm <sup>2</sup> ]
Case i)	43.734	1.88	0.46	0.679
Case ii)	43.683	1.86	0.46	0.672
Case iii)	47.696	3.54	1.03	2.864
Case iv)	47.517	3.54	1.029	2.861

### 3.2 Relative Acoustic Pressure and Temperature in the Transducer Central Axis

Evolution of the simulation is presented in Figure 3. Relative acoustic pressure (top) and temperature (bottom) in the central z axis of the simulation are presented every second from t = 0 s to t = 5 s. According with the relative acoustic pressure figures, focus localization suffers no significant variations at the end of the simulation when the temperature dependence of both SOS and absorption is added into the models. Temperature difference between cases with and without the absorption temperature dependence at t = 0 s is 0.6°C and at t = 5 s is 3.95°C.

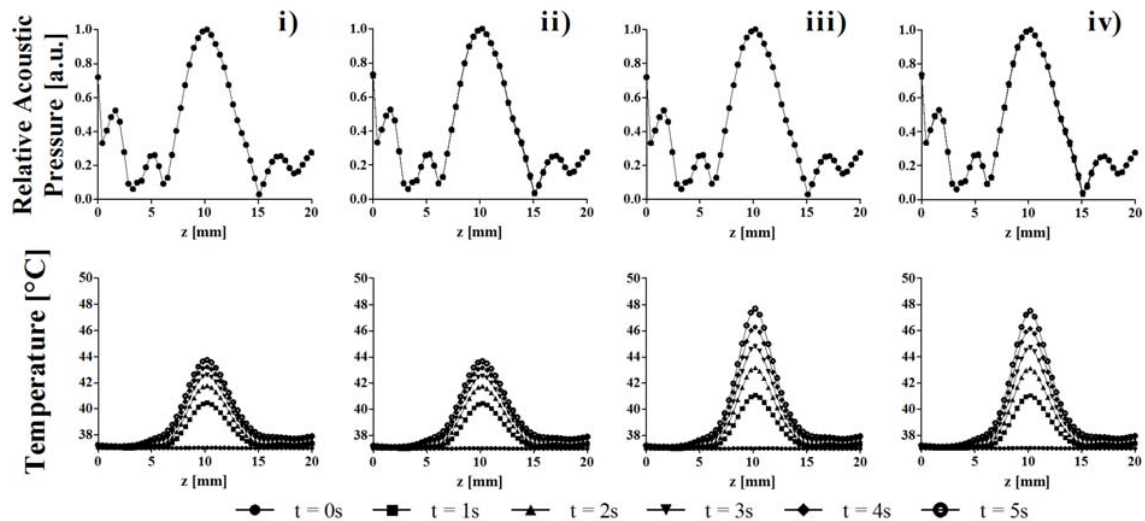


Figure 3 – Relative acoustic pressure (top) and temperature (bottom) evolution along central z axis for the four simulated cases.

## 4 Conclusions

SOS temperature dependence inclusion (cases ii and iv) decreases the final maximum temperature achieved at focus while effects of temperature dependent absorption (cases iii and iv) increase considerably the temperature at the end of the simulation. It is possible that the contribution of the SOS temperature dependence will be more noticeable in longer time simulation and when the achieved temperatures are higher. The employed linear functions to describe SOS variations can be replaced with quadratic functions and this can increase the effects of the SOS temperature dependence in both the acoustic field and the temperature distribution. Biological tissue acoustic characterization must be extended beyond 50°C because the temperature range used in the acoustic characterization limits the simulation process; we cannot assure that these functions are valid beyond 50°C. On the other hand, temperature dependence of thermal properties like heat capacity and thermal conductivity must be added in future models to have simulations closer to the reality. Finally, the effects produced by SOS and attenuation thermodependence must be taken into account to plan hyperthermia and ablation treatments in order to avoid hot-spots in not desired regions.

## Aknowledgement

S.A. López-Haro acknowledges Conacyt Mexico for the fellowship 210059. This work was partially supported by the project M10-S02 of program ECOS-ANUIES-CONACYT and the ICyTDF project PICCO10-78.

## References

- [1] P. R. Stauffer, "Evolving technology for thermal therapy of cancer," *Int J Hyperthermia*, vol. 21, pp. 731-44, Dec 2005.
- [2] W. D. O'Brien, Jr., C. X. Deng, G. R. Harris, B. A. Herman, C. R. Merritt, N. Sanghvi, and J. F. Zachary, "The risk of exposure to diagnostic ultrasound in postnatal subjects: thermal effects," *J Ultrasound Med*, vol. 27, pp. 517-35; quiz 537-40, Apr 2008.
- [3] A. Vera, J. E. C. Quero, L. Leija, Y. H. Mier, and C. Marchal, "Electromagnetic hyperthermia, an alternative to cancer treatment: history, physical and biological aspects. Hipertermia electromagnética, una alternativa para el tratamiento del cáncer: antecedentes, aspectos físicos y biológicos," *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, vol. XXII, pp. 78-88, 2001.
- [4] R. A. Steeves, "Hyperthermia in cancer therapy: where are we today and where are we going?," *Bull N Y Acad Med*, vol. 68, pp. 341-50, Mar-Apr 1992.
- [5] C. J. Diederich, "Thermal ablation and high-temperature thermal therapy: Overview of technology and clinical implementation," vol. 21, pp. 745-753, 2005.
- [6] P. R. Stauffer and S. N. Goldberg, "Introduction: Thermal ablation therapy," *Int J Hyperthermia*, vol. 20, pp. 671-677, 2004.
- [7] G. t. Haar and C. Coussios, "High Intensity Focused Ultrasound: Past, present and future," *International Journal of Hyperthermia*, vol. 23, pp. 85-87, 2007.
- [8] G. T. Haar and C. Coussios, "High intensity focused ultrasound: physical principles and devices," *Int J Hyperthermia*, vol. 23, pp. 89-104, Mar 2007.
- [9] B. L. Davies, S. Chauhan, and M. J. S. Lowe, "A Robotic Approach to HIFU Based Neurosurgery," in *Proceedings of the First International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*: Springer-Verlag, 1998.
- [10] F. P. Curra, P. D. Mourad, V. A. Khokhlova, R. O. Cleveland, and L. A. Crum, "Numerical simulations of heating patterns and tissue temperature response due to high-intensity focused

- ultrasound," *Ieee Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control*, vol. 47, pp. 1077-1089, Jul 2000.
- [11] D. H. Li, G. F. Shen, J. F. Bai, and Y. Z. Chen, "Focus Shift and Phase Correction in Soft Tissues During Focused Ultrasound Surgery," *Ieee Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 58, pp. 1621-1628, Jun 2011.
- [12] I. M. Hallaj, R. O. Cleveland, and K. Hynynen, "Simulations of the thermo-acoustic lens effect during focused ultrasound surgery," *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 109, pp. 2245-2253, May 2001.
- [13] J. C. Bamber and C. R. Hill, "Ultrasonic attenuation and propagation speed in mammalian tissues as a function of temperature," *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 5, pp. 149-157, 1979.
- [14] 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.
- [15] H. H. Pennes, "Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm. 1948," *J Appl Physiol*, vol. 85, pp. 5-34, Jul 1998.
- [16] D. Haemmerich, I. d. Santos, D. J. Schutt, J. G. Webster, and D. M. Mahvi, "In vitro measurements of temperature-dependent specific heat of liver tissue," *Medical Engineering & Physics*, vol. 28, pp. 194-197, 2006.
- [17] K. R. Holmes, "Thermal Properties Appendix," <http://users.ece.utexas.edu/~valvano/research/Thermal.pdf>. Last accessed 11 July 2012.
- [18] A. R. Moritz, "Studies of Thermal Injury: III. The Pathology and Pathogenesis of Cutaneous Burns. An Experimental Study," *Am J Pathol*, vol. 23, pp. 915-41, Nov 1947.
- [19] N. N. Abboud, G. L. Wojcik, D. K. Vaughan, J. Mould, D. J. Powell, and L. Nikodym, "Finite element modeling for ultrasonic transducers," *Proc. SPIE Int. Symp. Medical Imaging*, pp. 19-42, 1998.
- [20] S. Jeyaraman and G. Baskaran, "Ultrasonic beam steering in isotropic media," in *COMSOL Users Conference*, Bangalore, 2006.
- [21] W. Ke and S. Chaki, "Finite element simulation of the critically refracted longitudinal wave in a solid medium," in *10ème Congrès Français d'Acoustique Lyon*, 2010.



## APÉNDICE C

---

### Publicaciones en Congresos Nacionales

---

# 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](mailto:slopezh84@gmail.com), [arvera@cinvestav.mx](mailto:arvera@cinvestav.mx), [lleija@cinvestav.mx](mailto: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.

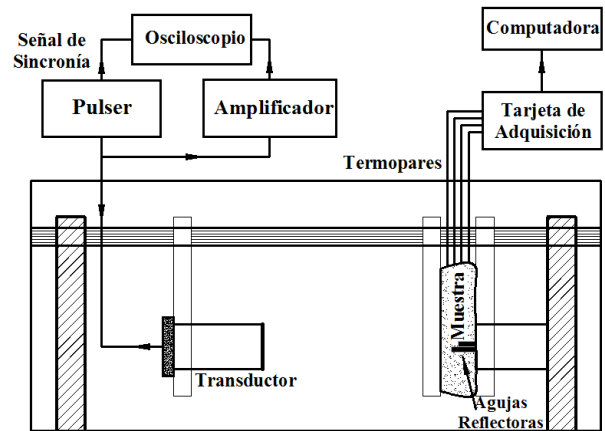


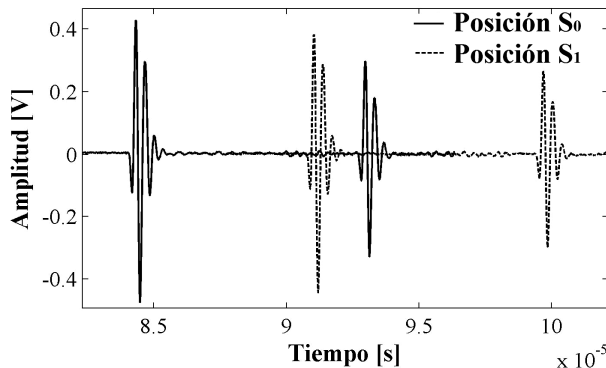
Fig. 1 Sistema para la medición de la velocidad de propagación del ultrasonido.

### 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  $\mu$ 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)

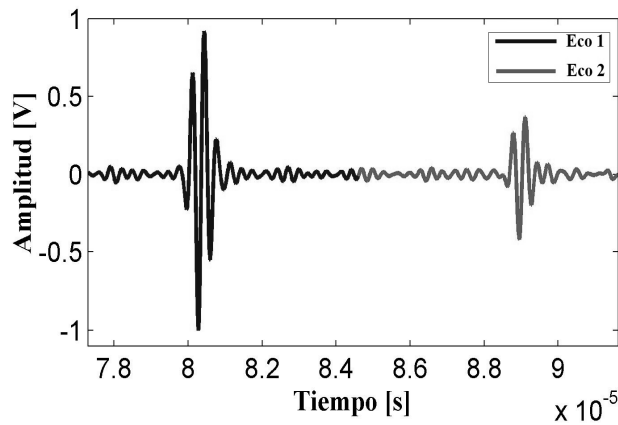
$$c_m = \frac{2d_{R1R2}}{t_{R1R2}}, \tag{3}$$

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).

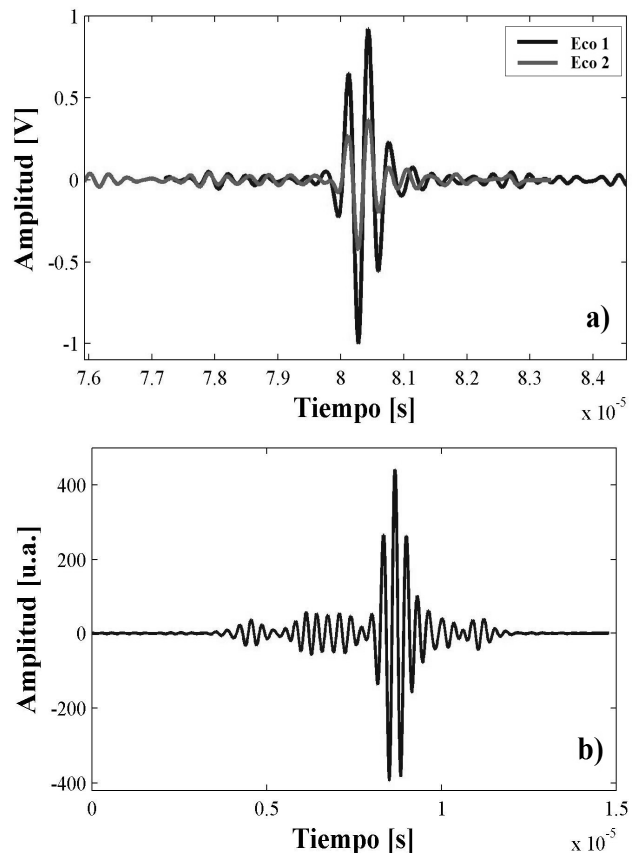
### 2.3 Cálculo del Tiempo de Vuelo entre los Ecos de las Agujas Reflectoras

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

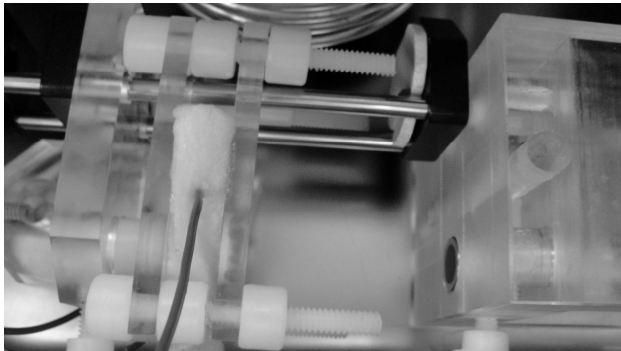
Una vez obtenidos los resultados en el medio patrón, el sistema se empleó para medir la dependencia en temperatura de la velocidad de propagación del ultrasonido en 5 muestras de grasa

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*.

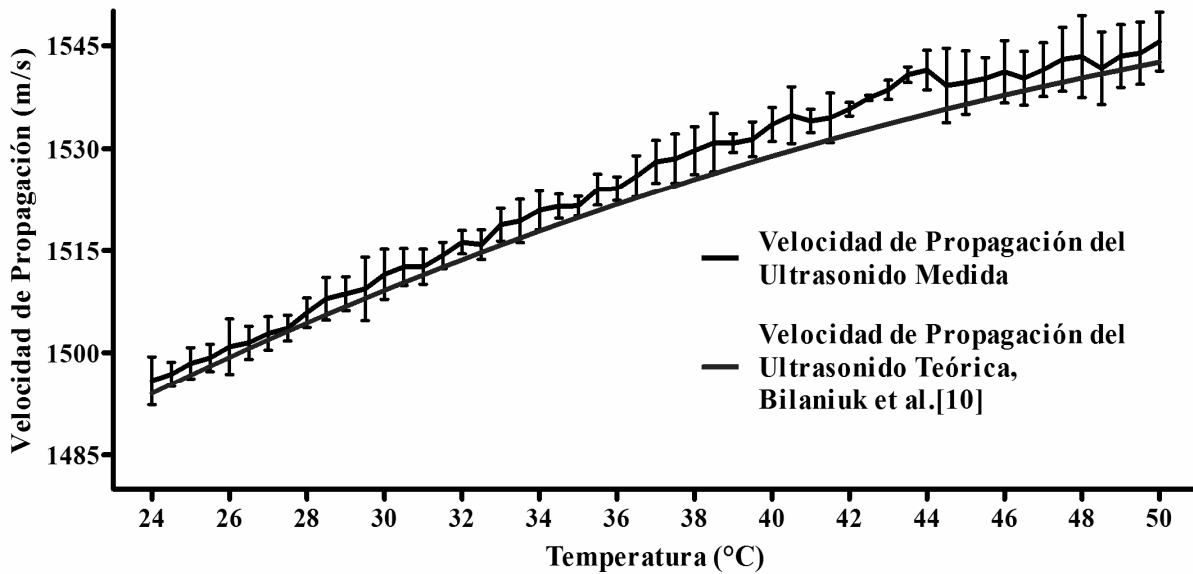


Fig. 8 Comparación entre los valores teóricos reportados por Bilaniuk et al. [10] y los medidos en este trabajo.

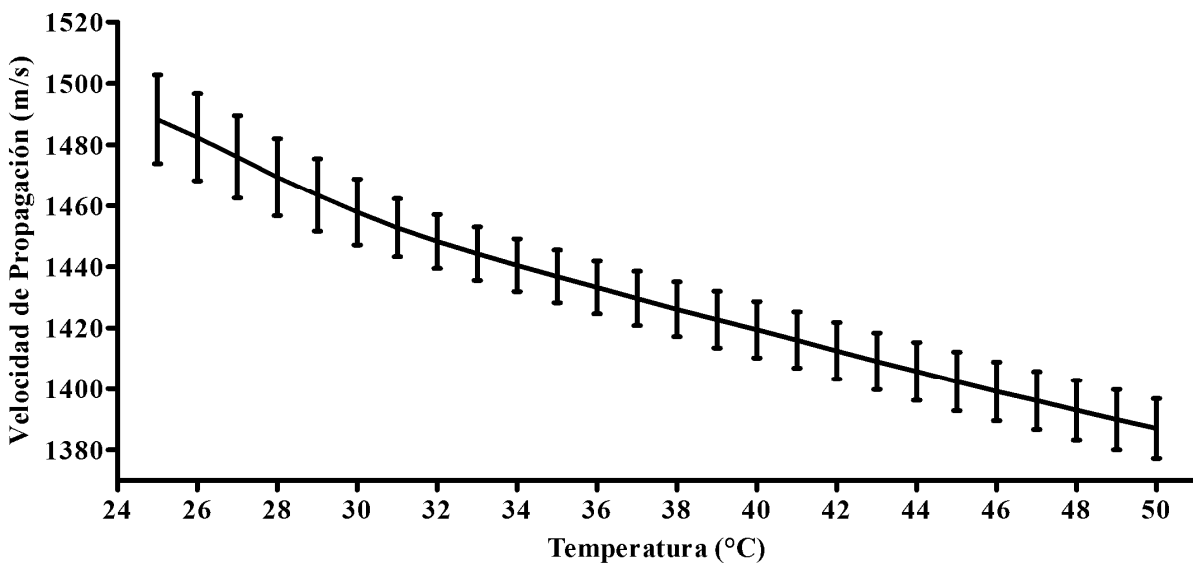


Fig. 9 Promedio de la velocidad de propagación ultrasónica en 5 muestras diferentes de tejido graso de cerdo en el intervalo de temperatura de 25°C a 50°C.

## 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.

# MEDICIÓN DE LA ATENUACIÓN DEL ULTRASONIDO EN TEJIDO ANIMAL EN EL INTERVALO DE TEMPERATURA DE 25 °C A 50 °C

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](mailto:slopezh84@gmail.com), [arvera@cinvestav.mx](mailto:arvera@cinvestav.mx), [lleija@cinvestav.mx](mailto:lleija@cinvestav.mx)

**Resumen:** En este trabajo se presentan los resultados de la medición *in vitro* de la atenuación del ultrasonido en tejidos biológicos semisólidos usando la técnica de inserción. Se realizó una comparación entre la técnica de inserción por transmisión completa, utilizada normalmente, y una variante de la misma que evita las dificultades de medir el espesor de muestras biológicas semisólidas. Las pruebas iniciales se realizaron en *phantom* de grafito a temperatura ambiente (18.4 °C); posteriormente se midió la atenuación del ultrasonido en grasa, músculo e hígado de cerdo en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C. Se presentan las curvas obtenidas de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en los tejidos mencionados.

## 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 de tejidos biológicos [2-4] debido a su naturaleza no destructiva y no ionizante. Las características ultrasónicas más estudiadas en materiales biológicos son atenuación 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 [5-8] y, más recientemente, la estimación no invasiva de la temperatura [9, 10].

La reflexión, refracción, dispersión y absorción contribuyen a la pérdida de energía de la señal ultrasónica; lo que comúnmente llamamos atenuación. De acuerdo con Damianou *et al.*, Techapivo *et al.* y Towa *et al.* [11-13] el coeficiente de atenuación presenta una dependencia en temperatura en el caso de los tejidos biológicos. En sus resultados [11] reportan un comportamiento casi lineal del coeficiente de atenuación a temperaturas menores a los 50 °C y una variación ascendente de 50 °C a 65 °C, de (0.239 - 0.291) Np·m<sup>-1</sup>·MHz<sup>-1</sup>·°C<sup>-1</sup> y para tejidos suaves provenientes de perro; sin embargo, una vez que se dejó de calentar el tejido y éste regresó a la temperatura ambiente, el coeficiente de atenuación permaneció cercano al último valor registrado con lo cual se concluye que se provocó un daño permanente y que el coeficiente de atenuación podría ser utilizado para el monitoreo de lesiones provocadas por ablación.

El coeficiente de atenuación también es dependiente de la frecuencia de trabajo así como de las características de cada tejido. De forma general, la atenuación es expresada como un decaimiento exponencial de la amplitud del ultrasonido conforme avanza en el espacio y puede ser expresada como:

$$A = A_0 e^{-\alpha z}, \quad (1)$$

donde  $A_0$  es la amplitud no atenuada en una posición inicial,  $A$  la amplitud reducida después de recorrer la distancia  $z$  a partir de la posición inicial y  $\alpha$  es el coeficiente de atenuación en la dirección de propagación. Las unidades del coeficiente de atenuación pueden ser dadas en Np·m<sup>-1</sup> o dB·m<sup>-1</sup>. Los valores del coeficiente de atenuación son reportados normalmente a una frecuencia específica o en un intervalo de frecuencias [14, 15]. La atenuación en función de la frecuencia de los tejidos biológicos suaves puede ser expresada como

$$\alpha(\omega) = \alpha_0 \omega^y, \quad (2)$$

donde  $\alpha(\omega)$  es la función de atenuación en la frecuencia,  $\omega$  es la frecuencia angular,  $\alpha_0$  y  $y$  son parámetros de atenuación dependientes de la naturaleza del tejido biológico. La mayoría de los tejidos muestran una función de atenuación aproximadamente lineal; sin embargo, también hay reportes de una dependencia no lineal; el valor de  $y$  para tejidos suaves puede estar en el intervalo  $1 \leq y \leq 2$ .

Una de las principales fuentes de error cuando se realizan mediciones en materiales semisólidos como los tejidos biológicos es la medición del espesor de

la muestra [16]. En este trabajo se utiliza la técnica de inserción por transmisión completa para medir la atenuación de tejidos biológicos. Se comparan los resultados de la atenuación en un *phantom* de grafito cuando se usa la técnica de inserción original y la propuesta en este trabajo. El principal objetivo de este trabajo es la medición del coeficiente de atenuación del ultrasonido en función de la temperatura de muestras *in vitro* de tejidos biológicos suaves de cerdo como grasa, hígado y músculo. El intervalo de temperatura evaluado fue de 25 °C a 50 °C.

**2. METODOLOGÍA**

**2.1 Técnica de Inserción**

La medición de la atenuación del ultrasonido por la técnica de inserción consiste en tomar una señal de referencia cuando en el camino entre emisor y receptor hay solamente agua  $r(t)$  y posteriormente insertar la muestra a medir para tomar una segunda señal  $g(t)$  que contiene la información de la atenuación. Utilizando los espectros de frecuencia de ambas señales y asumiendo que la aportación de la atenuación del ultrasonido en agua es despreciable cuando recorre distancias cortas se tiene que [17]:

$$G(\omega) = R(\omega)T_1T_2e^{-\alpha(\omega)x}, \tag{3}$$

donde  $R(\omega)$  y  $G(\omega)$  son los espectros de potencia de las señales  $r(t)$  y  $g(t)$ , respectivamente;  $T_1$  y  $T_2$  son los coeficientes de transmisión en las interfaces de entrada y salida;  $x$  es el espesor de la muestra y  $\alpha(\omega)$  es la función de atenuación en el dominio de la frecuencia. Aplicando logaritmo a la Ec. (3) se puede obtener:

$$\frac{1}{x}[\ln R(\omega) - \ln G_0(\omega)] = \frac{1}{x} \ln \left( \frac{1}{T_1T_2} \right) + \alpha_0\omega^y. \tag{4}$$

Ajustando la curva resultante del lado izquierdo de la ecuación a la forma:

$$\alpha_a(f) = b_0 + \beta f^y; \tag{5}$$

podemos obtener la función de atenuación del material en el dominio de la frecuencia. El intervalo cubierto dependerá de la frecuencia central y el

ancho de banda de los transductores empleados en la medición.

De acuerdo con J. C. Bamber [18], la técnica de inserción requiere mínimas correcciones por difracción y alineación de los transductores. Tomando en consideración lo anterior, se reporta una exactitud de  $\pm 10\%$  usando esta técnica para medir atenuación. También menciona que los errores de medición con esta técnica pueden reducirse haciendo múltiples mediciones del mismo material pero variando el espesor de la muestra.

**2.1.1 Variación de la Técnica de Inserción**

Como se mencionó anteriormente, la técnica de inserción utiliza dos transductores para la medición de la atenuación. La señal de referencia se obtiene cuando entre el emisor y el receptor sólo hay agua; la segunda señal se obtiene cuando se coloca la muestra entre los transductores; en este caso, el pulso ultrasónico tiene que viajar por una porción de agua antes y después de la interacción con la muestra; es por ello que se tienen que agregar a la fórmula los coeficientes de transmisión  $T_1$  y  $T_2$ .

En este trabajo se propone fijar una distancia entre los transductores y tomar la segunda señal (con la muestra) sin que el pulso viaje por agua, es decir, que el cambio de interface de entrada sea transductor – tejido y el de salida tejido – transductor. Para evitar la medición del espesor de las muestras biológicas, se utilizó una barra de metal con un espesor conocido (12.7 mm) para separar los transductores y posteriormente insertar en ese espacio la muestra biológica, ver Fig. 1.



**Fig. 1.** Fotografía del montaje utilizado en la medición de la atenuación del ultrasonido en tejidos biológicos suaves.

## 2.2 Descripción del Sistema de Medición

El sistema de medición de la atenuación cuenta con un *pulser* [19, 20] que excita al transductor emisor (PANAMETRICS – NDT-V383 No. 531782 @ 3,5 MHz) con un pulso eléctrico de 100 V a 250 V y 50 ns de duración. El pulso ultrasónico que contiene la información de la interacción con la muestra es recibido por el transductor receptor (PANAMETRICS – NDT-V383 No.299209 @ 3.5 MHz); la señal resultante es enviada a un osciloscopio digital (Wave Runner 6000A, LeCroy, USA) donde es almacenada a una frecuencia de muestreo de 5.0 GS·s<sup>-1</sup> para ser procesada posteriormente.

Todas las mediciones se realizaron con la misma configuración de transductores. La variación del rol de los transductores emisor y receptor no tendría consecuencias en las mediciones debido a que se realiza una medición relativa de la atenuación; lo que afecta a la señal de referencia también afecta a la señal cuando se inserta la muestra a evaluar. Los valores de atenuación obtenidos serán producto de la diferencia de amplitudes provocada por las características del material a estudiar. La alineación de los transductores se realizó por medio de un sistema de rieles de acero y soportes de acrílico, ver Fig. 1.

El arreglo de transductores y las muestras se encuentran sumergidos en agua bidestilada desgasificada; la temperatura del agua es controlada mediante un baño termostático (Techne, TU-20D Tempunit®) cuya resolución es de 0.1 °C. La temperatura del agua es monitoreada empleando un termómetro de mercurio con una resolución de 0.1 °C. En el caso de las muestras biológicas, la temperatura interior es registrada por cuatro termopares tipo J, con resolución de 0.01 °C, que son insertados en los bordes de la muestra de forma perpendicular a la dirección de propagación del ultrasonido, ver Fig. 1.

## 2.3 Phantom de Grafito

Para comparar los resultados de las pruebas con los transductores pegados a la muestra y separados de ella, se fabricó un *phantom* a base de agarosa, propanol y grafito [21]; el propanol junto con el agua bidestilada desgasificada afectan la velocidad de propagación del ultrasonido en el *phantom*; el grafito contribuye principalmente en la atenuación mientras que la agarosa sirve para solidificar la mezcla. En la Tabla 1 se muestran las proporciones empleadas en la fabricación del *phantom* de grafito.

Las dimensiones del *phantom* fueron 31.51 mm de ancho por 51.11 mm de largo y 50.15 mm de altura. La densidad fue de 1 057.72 kg·m<sup>-3</sup> y se obtuvo una velocidad de propagación del ultrasonido de 1 591.27 m·s<sup>-1</sup>; en consecuencia, la impedancia acústica fue de 1.68x10<sup>6</sup> N·s·m<sup>-3</sup>.

Tabla 1. Componentes del *phantom* a base de propanol, grafito y agarosa.

Componente	Porcentaje Peso [%]
Agua	88,2
Propanol	6,3
Agarosa	3,5
Grafito	2,0

Se realizó la medición de la atenuación en el *phantom* de grafito cuando tiene paredes planas y cuando las paredes tienen relieves irregulares. Se presentan los resultados obtenidos utilizando la técnica de inserción y la variante propuesta. Las distancias transductor – muestra – transductor para la técnica original fueron de 60 mm en ambos casos.

El espesor de las muestras se midió con un Vernier. Los resultados del espesor de la muestra fueron 31.51 mm con una desviación estándar de 0.01 mm cuando las paredes son planas y 19.49 mm con una desviación estándar de 0.93 mm cuando las paredes son irregulares; la distancia entre los transductores cuando se aprisiona entre ellos la muestra de paredes irregulares fue 19.31 mm con desviación estándar de 0.01 mm.

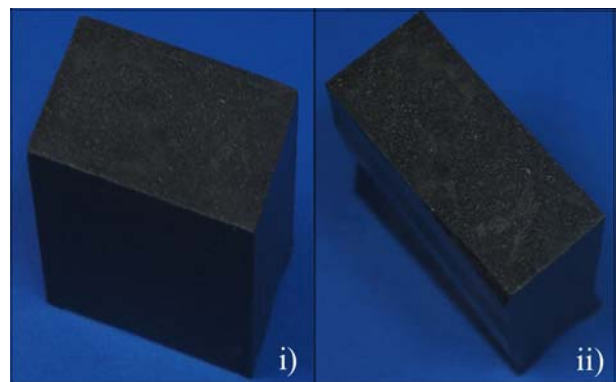


Fig. 2. Phantom a base de etanol, agarosa y grafito. Se midió su atenuación cuando las paredes son i) paralelas y ii) irregulares.

### 2.3 Preparación de los Tejidos Biológicos

Parte importante de las pruebas *in vitro* es la conservación de los tejidos biológicos a estudiar. Las muestras fueron obtenidas directamente del matadero y almacenadas en solución salina con un pH = 7.4 a 4.0 °C hasta que las pruebas iniciaron. En los materiales de tipo biológico, la medición sólo se puede realizar una vez debido a que con el aumento de temperatura y el tiempo fuera del organismo se presenta la desnaturalización de las células y el cambio de las propiedades en general; por este motivo, se decidió realizar y analizar los resultados de una muestra de cada tejido.

Se cortaron rebanadas de 15 mm de espesor de cada una de las muestras biológicas. El tiempo de estabilización de la temperatura entre cada incremento fue de entre 900 s y 1 200 s. Se consideró una temperatura uniforme cuando la diferencia entre los cuatro termopares y la temperatura deseada estaba dentro de  $\pm 0.05$  °C. La temperatura del baño termostático se colocó 1.0 °C por encima de la temperatura deseada.

## 3. RESULTADOS

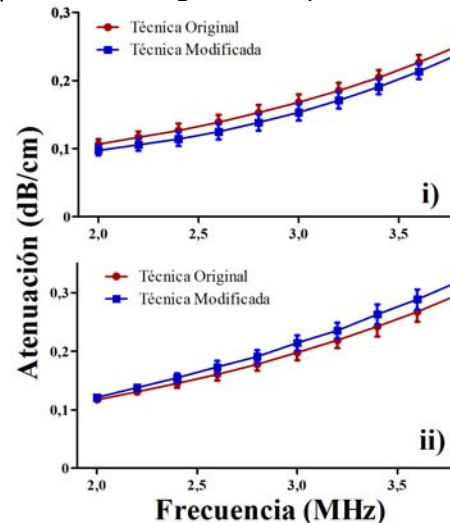
Se presentan los resultados de la atenuación del ultrasonido en *phantom* de grafito con la técnica de inserción y la variante propuesta, así como los resultados obtenidos en tejidos biológicos suaves como grasa, músculo e hígado.

### 3.1 Resultados de Atenuación en *Phantom* de Grafito

En la Fig. 3 se aprecian los resultados de la atenuación en el *phantom* en función de la frecuencia aplicando las técnicas antes mencionadas en referencia a los casos de la Fig. 2. Antes de iniciar las mediciones, se dejó sumergido por una hora el *phantom* en el baño termostático con el agua a temperatura ambiente; la temperatura del agua durante el proceso de medición fue de 18.4 °C.

El coeficiente de atenuación del *phantom* de grafito con caras paralelas en el ancho de banda de los transductores empleados va de  $0.106 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $0.251 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  con la técnica original y de  $0.098 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $0.239 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  con la técnica modificada; en ambos casos la máxima desviación estándar fue de  $0.012 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a 3 MHz. Para el *phantom* con superficies irregulares los valores del coeficiente de atenuación van de  $0.117 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a

$0.296 \text{ dB}/\text{cm}$  para la técnica original y de  $0.121 \text{ dB}/\text{cm}$  a  $0.318 \text{ dB}/\text{cm}$  para la técnica modificada con desviación estándar máxima de  $0.017 \text{ dB}/\text{cm}$ . La mayor diferencia entre las dos formas de medición es de  $0.014 \text{ dB}/\text{cm}$  y  $0.022 \text{ dB}/\text{cm}$  cuando se tienen caras paralelas e irregulares respectivamente.



**Fig. 3.** Resultados de la atenuación del ultrasonido a 18.4 °C en *phantom* de grafito utilizando la técnica original de inserción y la modificación propuesta para los casos de la Fig. 2.

### 3.2 Resultados de la Atenuación en Función de la Temperatura en Tejidos Biológicos Suaves

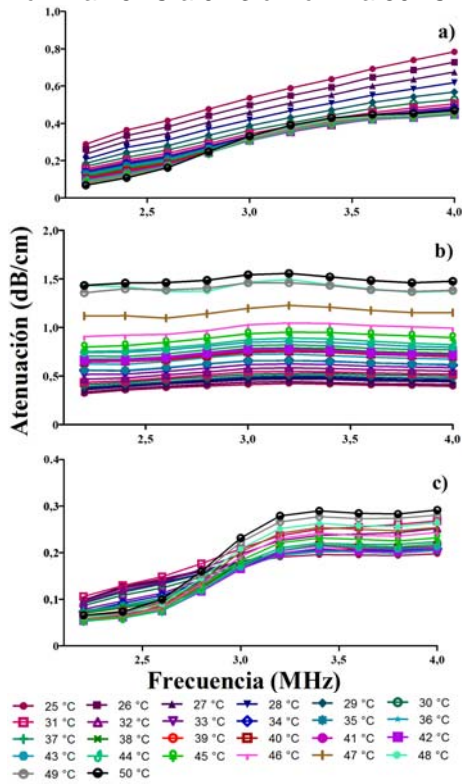
Una vez comprobado el comportamiento de las técnicas en el *phantom* de grafito, se decidió emplear la técnica modificada para obtener el coeficiente de atenuación del ultrasonido en tejidos suaves y evitar los errores debidos a la medición del espesor de las muestras biológicas semisólidas. Se obtuvieron los valores de atenuación en el intervalo de temperatura de 25 °C a 50 °C. En la Fig. 4 se muestran los valores de atenuación obtenidos para a) grasa, b) hígado y c) músculo de cerdo en el intervalo mencionado.

En el caso de la atenuación del ultrasonido en la grasa, ésta presenta un comportamiento ascendente con respecto a la frecuencia de  $0.28 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $0.78 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$ ; el aumento de la temperatura de la grasa de cerdo provoca una disminución en la atenuación hasta presentar un estado estacionario a partir de los 32 °C.

La atenuación con respecto a la frecuencia en el hígado de cerdo no presenta variaciones considerables; sin embargo, cuando se aumenta la temperatura la atenuación se eleva. En la frecuencia



central del transductor la atenuación pasa de  $0.72 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$  a  $1.54 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $50^\circ\text{C}$ . Los valores obtenidos en el músculo presentan un comportamiento ascendente con respecto a la frecuencia que se estabiliza después de la frecuencia central del transductor (3 MHz). La variación de la temperatura de la muestra eleva la atenuación del ultrasonido en ella. Los valores de atenuación a la frecuencia central van de  $0.17 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$  a  $0.23 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $50^\circ\text{C}$ .



**Fig. 4.** Resultados de la dependencia en temperatura de la atenuación del ultrasonido en a) grasa, b) hígado y c) músculo de cerdo.

**4. DISCUSIÓN**

Los resultados de la medición de atenuación en el *phantom* muestran que ambas técnicas entregaron resultados cercanos; las diferencias máximas fueron de  $0.014 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  y  $0.022 \text{ dB}\cdot\text{cm}^{-1}$  cuando se tienen caras paralelas e irregulares respectivamente. La función de atenuación con respecto de la frecuencia muestra la misma tendencia en ambos casos, a partir de esto, se decidió emplear la técnica modificada para evitar la medición del espesor de las muestras de tejidos suaves e introducir nuevos errores. Las diferencias en el coeficiente de atenuación entre ambos casos podría deberse a no uniformidades en la conformación del *phantom*

durante el proceso de solidificación. El grafito puede precipitarse y quedar más concentrado en ciertas regiones.

Una de las desventajas de la técnica modificada es la presión que se ejerce a las muestras biológicas; es necesario evaluar las repercusiones que esto tiene en el valor de atenuación encontrado. A pesar de las diferencias encontradas, los valores obtenidos mediante la técnica modificada muestran la tendencia del comportamiento de la atenuación cuando la temperatura de los tejidos biológicos es elevada en el intervalo de  $25^\circ\text{C}$  a  $50^\circ\text{C}$ .

**5. CONCLUSIONES**

Se compararon los resultados de la atenuación del ultrasonido en un *phantom* a base de agarosa y grafito usando la técnica de inserción y una modificación de la misma.

Se midió la atenuación ultrasónica en muestras de tejido biológico suave y se obtuvo una tendencia de su dependencia en temperatura en el intervalo de  $25^\circ\text{C}$  a  $50^\circ\text{C}$ . Los resultados muestran un comportamiento descendente de la atenuación en grasa mientras que en músculo e hígado el comportamiento es ascendente llegando casi hasta el doble. Esto podría significar variaciones en las temperaturas esperadas durante terapias de hipertermia focalizada con ultrasonido.

Es necesario realizar una caracterización más minuciosa de los tejidos biológicos. Para mejorar los resultados de la medición será necesario monitorear los cambios en la atenuación de los tejidos biológicos debido a la desnaturalización durante el tiempo de experimentación y realizar múltiples mediciones de la misma muestra con diferentes espesores.

**AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al M. C. Rubén Pérez, 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] G. Guglielmi and F. de Terlizzi, "Quantitative Ultrasound in the assessment of Osteoporosis," *European Journal of Radiology*, vol. 71, pp. 425-431, 2009.
- [6] Y. Itoh and K. Akamatsu, "Relationships between echo level and histologic characteristics in small hepatocellular carcinomas," *Journal of Clinical Ultrasound*, vol. 26, pp. 295-301, Jul-Aug 1998.
- [7] R. Kuc, "Clinical Application of an Ultrasound Attenuation Coefficient Estimation Technique for Liver Pathology Characterization," *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, vol. BME-27, pp. 312-319, 1980.
- [8] M. Moris, A. Peretz, R. Tjeka, N. Negaban, M. Wouters, and P. Bergmann, "Quantitative Ultrasound Bone Measurements - Normal Values and Comparison with Bone-Mineral Density by Dual X-Ray Absorptiometry," *Calcified Tissue International*, vol. 57, pp. 6-10, Jul 1995.
- [9] 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.
- [10] N. Parmar and M. C. Kolios, "Attenuation mapping for monitoring thermal therapy using ultrasound transmission imaging," in *Conference Proceedings. 26th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. San Francisco, CA, USA. 15 Sept. 2004.*, 2004.
- [11] C. A. Damianou, N. T. Sanghvi, F. J. Fry, and R. Maass-Moreno, "Dependence of ultrasonic attenuation and absorption in dog soft tissues on temperature and thermal dose," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 102, pp. 628-634, 1997.
- [12] U. Techavipoo, T. Varghese, Q. Chen, T. A. Stiles, J. A. Zagzebski, and G. R. Frank, "Temperature dependence of ultrasonic propagation speed and attenuation in excised canine liver tissue measured using transmitted and reflected pulses," *J Acoust Soc Am*, vol. 115, pp. 2859-65, Jun 2004.
- [13] R. T. Towa, R. J. Miller, L. A. Frizzell, J. F. Zachary, and W. D. O'Brien, Jr., "Attenuation coefficient and propagation speed estimates of rat and pig intercostal tissue as a function of temperature," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 49, pp. 1411-20, Oct 2002.
- [14] S. A. Goss, L. A. Frizzell, and F. Dunn, "Ultrasonic absorption and attenuation in mammalian tissues," *Ultrasound Med Biol*, vol. 5, pp. 181-6, 1979.
- [15] M. A. El-Brawany, D. K. Nassiri, G. Terhaar, A. Shaw, I. Rivens, and K. Lozhken, "Measurement of thermal and ultrasonic properties of some biological tissues," *J Med Eng Technol*, vol. 33, pp. 249-56, 2009.
- [16] C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, *Physical Principles of Medical Ultrasonics*, 2nd ed. vol. 1: John Wiley & Sons, Ltd, 2004.
- [17] P. He, "Simulation of ultrasound pulse propagation in lossy media obeying a frequency power law," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 45, pp. 114-25, 1998.
- [18] J. C. Bamber, "Attenuation and Absorption," in *Physical Principles of Medical Ultrasonics*, 2nd ed, C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, Eds. England: John Wiley & Sons, 2004, pp. 93 - 166.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] E. L. Madsen, G. R. Frank, P. L. Carson, P. D. Edmonds, L. A. Frizzell, B. A. Herman, F. W. Kremkau, W. D. O'Brien, Jr., K. J. Parker, and R. A. Robinson, "Interlaboratory comparison of ultrasonic attenuation and speed measurements," *J Ultrasound Med*, vol. 5, pp. 569-76, Oct 1986.