

Diss. ETH Nr. 9022



Anwendungen der Ultraschall- Mikroskopie auf biologische Objekte

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels
DOKTOR DER TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

THOMAS ANNA
Dipl. Ing. Uni. Hannover
geboren am 12. Oktober 1957
in Stuttgart (D)

angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. M. Anliker, Referent
Prof. Dr. P. Niederer, Korreferent

1989

Gate

Zusammenfassung

Für die Erfassung der mechanischen Feinstruktur biologischer Objekte wurde ein hochauflösendes Ultraschall-Mikroskop entworfen und aufgebaut. Dieses zeichnet sich durch eine hohe Empfindlichkeit für schwache Signale, wie sie von biologischen Objekten erzeugt werden, aus. Durch die hohe Auflösung und die schnelle Bildfolgefrequenz wird die Untersuchung mechanischer Eigenschaften von Objekten aus Biologie und Medizin wesentlich erleichtert bzw. überhaupt erst möglich.

Das vielseitig einsetzbare Instrument arbeitet als abtastendes Reflektions-Mikroskop nach dem Puls-Echo-Verfahren. Die Verwendung von Schallwellen mit einer Frequenz im Bereich von 1 - 4 GHz führt zu Auflösungen von weniger als 0,5 Mikrometer. Trotz der hohen Attenuation des Ultraschalls in diesem Frequenzbereich wird eine gute Signal-Dynamik von etwa 20 dB erzielt.

Die Abtastung des Objekts erfolgt zeilenweise durch vorwärts- und rückwärtslaufende lineare Bewegung des Transducers parallel zur Fokusebene. Zeilenkadenzen von bis zu 250 Hz erlauben eine Erfassung des gesamten Bildes (1024 x 1024 Punkte) in etwa 4 Sekunden. Der Einsatzbereich des Ultraschall-Mikroskops für kurzlebige oder sich schnell verändernde Objekte konnte dadurch erweitert und die Bedienzeiten erheblich verkürzt werden.

Als Transducer wurden sowohl kommerzielle als auch am Institut entwickelte Typen evaluiert. Dabei zeigten Piezoschichten aus Zinkoxid die besten Eigenschaften bezüglich Wirkungsgrad und Breitbandigkeit. Die hohe örtliche Auflösung ergibt sich durch geeignete Fokussierung mit akustischen Linsen.

Ein neuartiger GaAs-FET-Schalter ermöglicht eine gute Trennung von Nutz- und Störschwingungen. Durch die Auslegung des Frequenzbereichs des HF-Teils von 1 - 4 GHz und Verwendung mehrerer wählbarer Demodulatoren können die Aufnahmeparameter an wechselnde Objekte angepasst werden.

Die Echoamplitude wird A/D-gewandelt und in einer aus 4 Addierern und einem Barrel-Shifter bestehenden Schaltung vorverarbeitet, um das Signal-

Rausch-Verhältnis weiter zu erhöhen. Ein Zwischenspeicher in Form eines statischen RAM ermöglicht einen schnellen Pipeline-Transfer zum Steuerrechner.

Die digitale Steuerung des Ultraschall-Mikroskops ermöglicht eine programmierbare Einstellung aller wichtigen Aufnahmeparameter. Die Echtzeit-Anzeige der Echoamplitude und der Bilddaten gibt dem Bediener instantane Informationen über die Feinstruktur des untersuchten Objekts. Durch die Computersteuerung der Transducer-Bewegung in allen 3 Koordinatenachsen werden Fehlmanipulationen vermieden. Bei einem Objektkontakt wird der Transducer automatisch angehoben, damit Objekt oder Transducer nicht beschädigt werden.

Messung und Analyse der Transducerbewegung ermöglicht die Erfassung äquidistanter Bildpunkte selbst bei störenden Einflüssen wie Vibrationen und Erschütterungen. Eine genaue Zuordnung der Echodaten zu den Bildkoordinaten ist dadurch gewährleistet.

Mit einem optischen Mikroskop, welches über einen Schwenkarm an die Stelle des Ultraschall-Mikroskops positioniert wird, kann eine Grobfokussierung und eine Auswahl des Untersuchungsgebietes vorgenommen werden. Auch ein direkter Vergleich von optisch und akustisch erzeugten Bildern wird damit möglich.

Die hohe Attenuation des Koppelmediums bei Raumtemperatur wird durch Erhöhung der Objekttemperatur mittels eines geheizten Objektisches reduziert. Durch eine elektronische Regelung kann die Temperatur dem Objekt angepasst werden.

Die örtliche Auflösung des Mikroskops wurde anhand von Messungen an Phantomen überprüft. Dabei ergeben sich Fokusburchmesser von etwa 0,5 Mikrometer in lateraler Richtung.

Durch detailreiche Aufnahmen von einer Vielzahl lebender und toter Objekte konnte die Leistungsfähigkeit des Gesamtsystems demonstriert werden. Die hohe Auflösung und der grosse Rauschabstand bei schwachen Signalen lassen das Ultraschall-Mikroskop als geeignetes Instrument für biologische Untersuchungen erscheinen, was auch durch Aufnahmen von lebenden Zellen gezeigt werden konnte.

Summary

A high resolution acoustic microscope has been developed and realized for obtaining information about the mechanical structure of biological objects. One of its outstanding features is an extreme sensitivity to weak signals such as those caused by biological objects. The high resolution and the relatively fast generation of images facilitates considerably the investigation of biological and medical objects.

The instrument is a scanning reflection microscope of the pulse echo type. The use of sound waves with a frequency of 1 - 4 GHz leads to a resolution of less than 0.5 μm . Despite of the high attenuation of sound in this frequency range a good signal-to-noise ratio of about 20 dB is achieved.

The object is scanned line by line by the linear movement of the transducer parallel to the focus plane. Cadences of up to 250 lines per second allow a registration of the complete image (1024 x 1024 pixels) within 4 seconds. The application of the acoustic microscope to short living or fast changing objects could be extended and the time needed to acquire the necessary sets of images could be reduced considerably.

Commercial transducers have been used as well as transducers developed in our laboratory. Piezo layers of zinc oxide yielded the best properties concerning efficiency and band width. The high local resolution is achieved by appropriate focussing with an acoustic lens.

A new kind of GaAs-FET switch enabled a good separation of object echos and undesired echos caused by minor foci along the axis of radiation. By extending the frequency range of the high frequency electronics to 1-4 GHz and by using a set of several different demodulators the microscope parameters can readily be adapted to a variety of objects.

The echo amplitude is A/D converted and processed in a pixel averaging circuit consisting of a barrel shifter and 4 adders in order to further increase the signal to noise ratio. A fast static buffer RAM allows for an efficient pipelined information transfer to the host computer.

The digital control of the microscope warrants a programmable setup of the important imaging parameters. A real time display of the echo amplitude and of the

imaging parameters provides the user with essential information on the mechanical structure of the objects investigated. Computer control of the transducer movement in all three coordinates helps to avoid serious collisions between transducer and object. To avoid damaging object and transducer by a dive of the latter into the object, the transducer is automatically lifted as soon as it contacts the object.

Measurement and analysis of the transducer movements warrant a flawless recording of equidistant pixel data in presence of minor vibrations.

The replacement of the acoustic microscope by an optical microscope mounted on a swivel arm permits a fast selection of the object area of interest and a coarse focussing. In addition, this arrangement allows for a direct comparison between optical and acoustical images of optically transparent objects.

The high attenuation of the coupling can be reduced by increasing the medium's temperature by using a heated object stage with an electronic temperature regulation.

The spatial resolution of the acoustic microscope was evaluated with the aid of phantoms. The results revealed focus diameters of approximately $0.5 \mu\text{m}$.

Detailed images of a variety of biological and non-biological objects demonstrate some of the capabilities of the acoustic microscope. Images of living cells indicate that an improved resolution and an increased signal to noise ratio may render the acoustic microscope an appropriate instrument for biological investigations.