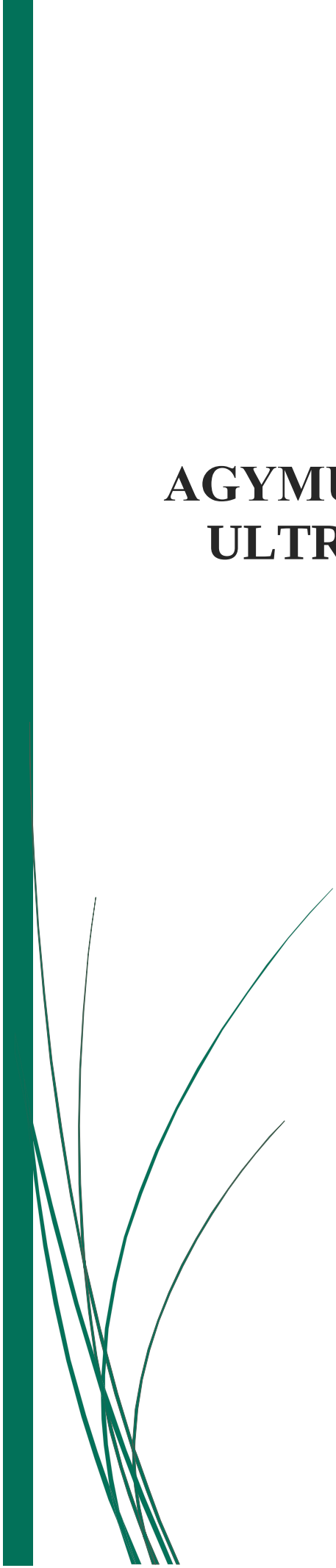




AGYMŰKÖDÉST BEFOLYÁSOLÓ ULTRAHANG FÓKUSZÁLÁSA

Mészáros Aletta
Eötvös József Gimnázium és Kollégium, Tata

TARTALOM

ABSZTRAKT	2
BEVEZETÉS.....	3
CÉLOK, MOTIVÁCIÓ.....	3
ANALITIKUS ÉS NUMERIKUS SZÁMÍTÁSI EREDMÉNYEIM	4
KÍSÉRLETI EREDMÉNYEIM	4
OPTIKAI MÉRÉS	5
ULTRAHANGGAL VÉGZETT MÉRÉS	6
KÖVETKEZTETÉS ÉS KITEKINTÉS	7
MELLÉKLETEK	8
HIVATKOZÁSOK	13

ABSZTRAKT

Ultrahangot már hosszú ideje használnak az orvostudományban különböző képalkotó vizsgálatokra és kezelésekhez, de hatása az idegrendszerre egy új területe az agykutatásnak. Például, nem-invazív ultrahang módszerek segítségével tanulmányozható, illetve módosítható az agyműködés. A központi idegrendszerben alkalmazott transzkraniális fókuszált ultrahang stimuláció közvetlenül serkentheti, vagy gátolhatja az neurális aktivitást, azonban még mindig vita tárgyát képezi, hogyan képes az ultrahang módosítani az idegsejtek működését.

Célunk, hogy kísérletek keretében altatott patkányok elsődleges motoros agykérgét stimuláljuk fókuszált ultrahanggal. Mivel eddigi állatkísérleteinkben nem figyeltünk meg viselkedéses választ, a kutatás itt bemutatott részében az volt a célom, hogy az ultrahang berendezés korábban számításokkal és numerikus szimulációkkal meghatározott fókuszálási tulajdonságait mérésekkel igazoljam.

Eddigi méréseim során egy hőkamerát karakterizáltam a későbbi mérések elvégzése érdekében. Egy optikai kísérlet keretein belül nagy teljesítményű izzó fényét fókuszáltam lencsével egy papírlapra, miközben annak melegedését vettem fel a hőkamerával. Annak megállapításához, hogy az ultrahang hullámok mennyire fókuszáltak pythonban írtam kiértékelő algoritmust a fénnel végzett méréseim alapján. Ezt az algoritmust az ultrahangos méréseknél tudom majd alkalmazni. Az ultrahang fókuszálásához ultrahang jeladót, lencsét és különböző alkatrészeket használtam. Egy elnyelő anyagra fókuszáltam az ultrahangot, amit szintén hőkamerával rögzítettem. A mérés elve, hogy akkor lesz a legnagyobb a felmelegedés, ha az elnyelő anyag az ultrahang sugár fókuszában van. Több kontroll kísérletet is végeztem, hogy meggyőződjek a mérések pontosságáról.

Megírtam egy algoritmust, amely képes megállapítani a mérési adatok alapján a lencse fókusz távolságát. Végeztem kísérleteket ultrahanggal, melyeknél megállapítottam, hogy valóban az ultrahang okozza a melegedést, illetve a lencse tényleg fókuszál.

Az általam kidolgozott mérési eljárás és kiértékelő algoritmus alkalmas a fókuszált ultrahang sugár fókusz helyének meghatározására. Ezzel az eszközzel lehetőség nyílik újabb ultrahang konfigurációk kipróbálására, illetve az ultrahang különféle anyagokon való áthaladásának vizsgálatára.

A módszer jövőbeli sokrétű alkalmazása az agyi működés nem-invazív módon való befolyásolásán alapszik, például a neurológiai (epilepszia, narkolepszia), illetve pszichiátriai betegségek permanens kezelése.

BEVEZETÉS

A fókuszált ultrahang felhasználása nagyon sokrétű. Az orvostudományban különböző nem-invazív (vagyis a testbe való behatolás nélküli) kezeléseknél, illetve diagnosztikai eljárásoknál alkalmazzák. Új területe az agykutatásnak, hogy képes az agyi aktivitást modulálni és hatni az idegrendszerre. Az eddig használt módszerek általában műtéti beavatkozást igényelnek vagy az agy mélyebb területein nem elég pontosak, a fókuszált ultrahang előnye, hogy nem-invazív módon is hatásos és a térben is pontosabb. A fókuszolt mérete alig néhány köbmilliméteres is lehet [1]. Ilyen ultrahang módszereket lehet használni az agyműködés tanulmányozásához és módosításához is.

A központi idegrendszerben alkalmazott transzkraniális (koponyán keresztül) fókuszált ultrahang-stimuláció közvetlenül serkentheti vagy gátolhatja az idegsejtek aktivitását. Jelenleg három módosító mechanizmust feltételeznek: a kavitációt, a sejt mechanikai deformációját és a hőmérséklet-változást, amely a sejtmembrán ioncsatornáinak működését befolyásolja [2]. Azonban még mindig vita tárgyát képezi, hogyan képes az ultrahang módosítani a neurális aktivitást. Az ilyen stimulációkkal nem csak pillanatnyi változást lehet előidézni, hanem állatoknál már figyeltek meg hosszan tartó hatásokat is az agyi aktivitásban [3, 4].

CÉLOK, MOTIVÁCIÓ

A kutatás célja az alváshoz kapcsolódó tanulás megerősítése. Ezt azáltal tervezzük elérni, hogy az alvás alatt kialakuló bizonyos elektrofiziológiai mintázatokat - mint például az alvási orsók - erősítjük meg, például sűrűségük, vagy hosszuk növelése által. Az alvási orsók a memóriák hosszútávú agykérgi tárolását szolgálják és különféle betegségekben (pl.: Alzheimer-kór) vagy az öregedés során a normálistól eltérő jellemzői vannak. Ultrahangos besugárzással ezeket a rossz paramétereket tervezzük a normális értékre visszaállítani, ezáltal a tanulást javítani.

Jelenleg a hosszabb távú célunk egy éber patkány idegéletti állapotának ultrahangos besugárzás általi módosítása. Ez nehezen vizsgálható, így először könnyebben megfigyelhető változást szeretnénk elérni. Egy altatott patkány elsődleges motoros agykérgét szeretnénk stimulálni fókuszált ultrahanggal, ezzel szemmel látható változást előidézve, például a mancsának, bajsának vagy farkának megmozdulását [1]. Eddigi kísérleteink során nem figyeltünk meg ilyen jellegű viselkedéses választ és gyanítjuk, hogy ennek az oka az ultrahang forrásunkból származó síkhullámok nem megfelelő fókuszáltsága, vagy a kisugárzott energia alacsony volta. Ezért elhatároztuk, hogy egy olyan mérőeszközt hozunk létre, melynek segítségével gyorsan és kis költségfordítással tudjuk ellenőrizni az ultrahang berendezés által

generált nyomásteret. Az én munkám a mérőeszköz hardware és software fejlesztése, illetve az ultrahang fókuszálásának vizsgálata volt.

ANALITIKUS ÉS NUMERIKUS SZÁMÍTÁSI EREDMÉNYEIM

Jelenleg az ultrahang fókuszálásán dolgozunk, amit a fényhez hasonlóan lencsével lehet kivitelezni. Először megterveztük a lencsét, amelynek működését számítógépes modellel szimuláltunk.

Lencse ívének kiszámítása [1. ábra]: A cél az, hogy a lencse mögötti ultrahang jeladóból érkező síkhullámokat egy pontba fókuszáljuk. Feltétel, hogy a hullám minden pontja ugyanannyi idő alatt érjen a fókuszpontba, így ugyanabban a fázisban lesznek, és erősítik egymást, nem pedig kioltják. Fontos megemlíteni, hogy a lencse anyagában – ami esetünkben 3D nyomtatható műanyag, pl. PLA – a hang terjedési sebessége nagyobb, mint a közvetítő közegben, ami méréseink során víz lesz, ezért a homorú lencse fog gyűjtőlencseként viselkedni.

Miután megterveztük a lencsét, modelleztük a működését számítógépen. A számítógépes modell a hullámterjedést mutatja meg, különböző anyagokban [2. ábra]. A szimulációkhoz a Matlab szoftver k-Wave [5] nevű toolboxát használtam. Az összeállításban a színek az adott anyagban a hang terjedési sebességét mutatják [2. ábra, A]. A modellben az ultrahang jeladóból kibocsátott hullámok figyelhetőek meg [2. ábra, B]. Láthatjuk, hogy az ultrahang nagy része elnyelődik a koponyacsontban, de egy része bejut az agyba is. A tölcsérben kialakult állóhullámok mutatják, hogy a hullámok egy része visszaverődik a koponya felszínéről.

Végül két féle lencsét nyomtattunk ki PLA (polylactic acid) műanyagból, 3D nyomtatóval. Az egyik lencsénél az F fókusz távolságot 27 mm, a másiknál 17 mm távolságra állítottuk.

KÍSÉRLETI EREDMÉNYEIM

Először arra gondoltunk, hogy az állatkísérletek sikertelensége az ultrahang nem jó fókuszálása miatt van. Ahhoz, hogy megállapíthassuk, hogy a lencse valóban oda fókuszálja az ultrahangot, ahova terveztük méréseket kell végezni. Az a cél, hogy a mért adatokból kinyerhető legyen a lencse fókusz távolsága. Ezt úgy szeretném elérni, hogy az ultrahangot elnyelem egy felületen, amelynek a melegezését vizsgálom, miközben változtatom az ultrahangjeladó és az elnyelő felület távolságát. Ahhoz, hogy ez lehetséges legyen, írtam egy algoritmust, ami melegezés mintázata alapján meg tudja állapítani, hogy melyik távolságban a legnagyobb, vagy a leginkább pontszerű a felmelegezés, és az a távolság lesz a lencse fókusz távolsága.

A program megírásához megbízható adatok, és az ellenőrzéshez pontosan ismert fókusztávolság kell, ezért egy könnyebben elkészíthető, jobban megfigyelhető mérést készítettem. Összeállítottam egy optikai kísérletet, amely hasonló a későbbi ultrahanggal végzett mérésekhez.

OPTIKAI MÉRÉS

A kísérlet keretein belül egy nagy teljesítményű izzó fényét fókuszáltam egy ismert fókusztávú lencsével papírlapra, miközben annak melegedését vettem fel a hőkamerával (Flir c5). A felvételek elkészítéséhez írtam egy Python programot, melynek használatával radiometrikus video fájlokat tudok menteni. Vizsgáltam a hőmérséklet-változást annak függvényében, hogy éppen milyen távolságra van a lencse a papírtól, „mennyire van fókuszbán”. Négy méréssorozatot készítettem, egy méréssorozat öt mérésből áll: egy, amikor fókuszbán van a papírlap, illetve 5, illetve 10 cm-re eltolva a fókusztól mindkét irányban. Egy mérés 10 perces volt: az elején 2 percig nem volt bekapcsolva a lámpa, így később ki tudjuk szűrni az alaphőmérséklet-különbség okozta hibákat, utána 4 percig bekapcsolt lámpánál rögzítettem a melegedést, majd kikapcsoltam a lámpát és a lehűlést vettem fel.

A radiometrikus videofelvétel kiértékeléséhez további Python kódokat hoztam létre. Ezek a programok a hőkamera által rögzített fekete-fehér videókat dolgozzák fel, és a hőmérsékletet a kamerán állítható skálából és a pixelek RGB értékéből számolják ki. A videóból kivágtam egy képkockát a 6. percnél (vagyis közvetlen a lámpa kikapcsolása előtt), és azt elemeztem. Megnéztem melyik a legmelegebb pont, és azon keresztül egy metszetet vettem a kép x tengelyével párhuzamosan. Ezen az egyenesen ábrázoltam a pixelek értékeiből számolt hőmérsékletet a hely függvényében. Ennek vettem a félértékszélességét, ez azt jelenti, hogy a maximum és minimum értékek átlagánál húzok egy vonalat és veszem azoknak az értékeknek a számát, amelyek magasabbak ennél a vonalnál [3. ábra].

Amikor az elnyelő felület fókuszbán van, akkor lesz a legkisebb a félértékszélesség, mivel ilyenkor egy kis területen, nagy intenzitással melegszik a felület, míg amikor el van tolva a fókuszhhoz képest, akkor egy laposabb görbét kapunk. Ezeket az értékeket ábrázoltam egy diagrammon [4. ábra], melynek az x tengelyére a fókusztávolság általam előre ismert eltolását mértem fel. Láthatjuk, hogy valóban akkor a legkisebb a melegedési görbe félértékszélessége, amikor a fókuszált fényt elnyelő papírlap a lencse fókuszában van. A későbbiekben ezt a kiértékelő programot tudjuk alkalmazni az ultrahanggal végzett méréseinknél is, amikor nem tudjuk majd pontosan, hogy mekkora fókusztávú pontosan a 3D nyomtatott lencsénk.

ULTRAHANGGAL VÉGZETT MÉRÉS

A fentiekhez hasonló méréseket tervezek végezni az ultrahanggal is, de előtte még meg kellett győződnöm arról, hogy az ultrahangjeladó által generált hőhatás az általam összeállított berendezéssel mérhető-e. Ennek érdekében összeállítottam egy, az optikaihoz hasonló berendezést [5.ábra].

A mérés lényege az, hogy az ultrahangot egy azt elnyelő anyagra sugároztam, amelynek a hőmérséklet-változását ugyanazzal a hőkamerával rögzítettem, mint amelyet az optikai méréseim során használtam. Azért melegszik az elnyelő felület, mert a hanghullámok energiája elnyelődés közben hővé alakul. A mérés elve, hogy a fókuszban lesz a legnagyobb felmelegedés.

Az ultrahang fókuszálásához ultrahang jeladót (W-10, mediCAD Kft, Miskolc), úgynevezett transzducert, a 3D nyomtatott lencsét és tölcsért használtam. Az ultrahang-jeladó olyan műszer, amely váltakozó feszültségből ultrahangot tud generálni egy piezo kristály segítségével. A kristály egyik oldala síkhullámot bocsát ki, a másik le van árnyékolva, nem jön ki belőle ultrahang. A mi esetünkben az elnyelő felület szilikon lap volt, a közvetítő közeg pedig víz.

Ezzel az összeállítással egy kontroll kísérletet végeztem. A transzducer lencse és tölcsér nélkül volt és így vizsgáltam a melegedést. A kísérlet célja az volt, hogy megbizonyosodhassak arról, hogy a felvételeken látszódó melegebb folt valóban az ultrahang elnyeléséből származó hőmérséklet-változásnak köszönhető és nem a műszer melegedése adódik át a lapnak. Ehhez két mérés szükséges: egy, amikor a jeladó a szilikon felé sugározza az ultrahangot, és egy, amikor megfordítom. Ha a műszer melegedik, akkor annak mindkét esetben melegítenie kell a lapot, de az egyik esetben az ultrahangot is elnyeli [6. ábra]. Azt tapasztaltam, hogy nem melegedik jelentősen a jeladó, nem okoz mérési hibákat a későbbiekben.

Egy másik típusú mérésnél összehasonlítottam a lencse nélkül és lencsével kapott melegedést. A jeladó mindkét esetben ugyanolyan távolságban volt az elnyelő felülettől. A két felvételtől kivágott képen is szemmel látható a különbség [7. ábra]. Ebben az esetben is a folton keresztül, az x tengely mentén készítettem metszetet. Megnéztem, hogy ezen a vonalon mely pixelek értéke magasabb, mint egy általam választott küszöb (magasabb az átlagnál három szórásnyival), és ábrázoltam az idő függvényében [8. ábra]. Az ultrahangjeladót mindkét esetben az ezredik képkockánál (kb. 1 perc után) bekapcsoltam be. Amikor lencse nélkül néztem a melegedést [8. ábra, A], akkor kezdetben is ugyanolyan széles, nagyobb kiterjedésű

volt a folt, mint később. Viszont lencsével [8. ábra, B] a mérés kezdetén egy kisebb területen melegedik csak (ezt mutatják a piros vonalak) és idővel szétterjed a hő az anyagban.

KÖVETKEZTETÉS ÉS KITEKINTÉS

Terveztünk egy lencsét, amellyel tudunk majd ultrahangot fókuszálni. Ezt számítógépen modellezve megtudhattuk, hogy a koponya elnyeli a sugárzás nagy részét.

Végeztem optikai méréseket annak érdekében, hogy írhassek egy algoritmust, mely képes megállapítani a lencsénk fókusz távolságát. A programot optikai kísérletek keretében teszteltem és használni fogjuk az ultrahangos méréseknél is.

Ultrahanggal két féle kísérletet végeztem: a kontroll mérésnek köszönhetően megállapíthattam, hogy az ultrahang melegedését látjuk az elnyelő felületet infravörös kamerával figyelve, és nem a jeladóból sugárzó hő melegíti fel a szilikont.

Továbbá bizonyítottam azt is, hogy az általunk tervezett és nyomtatott lencse tényleg fókuszál, mivel a második kísérletben, ahol a lencse rajta volt a transzduceren, ott kisebb területen melegedik, mint amikor nem volt.

Ezek alapján elmondható, hogy az általam kidolgozott módszerrel nagy biztonsággal megállapítható egy ultrahangot fókuszáló műanyagból nyomtatott lencse fókusz távolsága, ami segít annak meghatározásában, hogy a kísérleti állatok agyába milyen mélységbe fog behatolni az ultrahang.

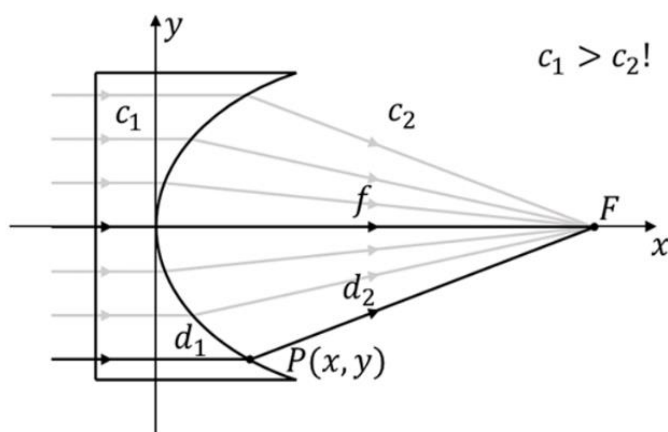
Továbbiakban ezeket az eredményeket szeretnénk összevetni más mérések eredményével is. Illetve, ki szeretnénk próbálni, hogy a fókuszált ultrahang nyaláb milyen torzulást szenved és mennyire nyelődik el, amikor egy koponyacsont darabon halad át. Szeretnénk az ultrahangjeladó sugárzási terét karakterizálni, ami folyamatban van.

Az általam kidolgozott módszertan segítségével az ultrahangot pontosabban fogjuk tudni állatkísérleteinkben a megfelelő helyre irányítani, ezért ezek a kísérletek megbízhatóbb eredményekhez fognak vezetni, ami – többek közt – segít csökkenteni a kísérletekben felhasznált állatok számát is. Az ultrahangos besugárzó módszer jövőbeli sokrétű alkalmazása az agyi működés nem-invazív módon való befolyásolása, és neurológiai (például epilepszia, narkolepszia), illetve pszichiátriai betegségek permanens kezelése [2].

MELLÉKLETEK

1. ábra: A lencse görbületének vázlata és számolása

Ahhoz, hogy egy pontba (F) fókuszáljuk a hullámok össze kell vetni, hogy mennyi időt vesz igénybe a hullám terjedése két nevezetes sugármenet (sötét nyilak) mentén. Az egyik pontból az f távolság megtétele



szükséges, míg a másiktól a $d_1 + d_2$. Mivel ezt ugyanannyi idő alatt teszik meg, felírhatjuk az alábbi egyenletet: $\frac{f}{c_2} = \frac{d_1}{c_1} + \frac{d_2}{c_2}$

Ezt megszorozzuk a c_2 -vel és behelyettesítjük a törésmutatót ($n = \frac{c_2}{c_1}$), akkor kapjuk meg ezt az összefüggést: $f = n \cdot d_1 + d_2$

Felírjuk a d_1 és d_2 távolságot a P pont x és y koordinátaival, d_2 esetében egy Pitagorasz-tétellel: $d_1 = x$ $d_2 = \sqrt{(x - f)^2 + y^2}$

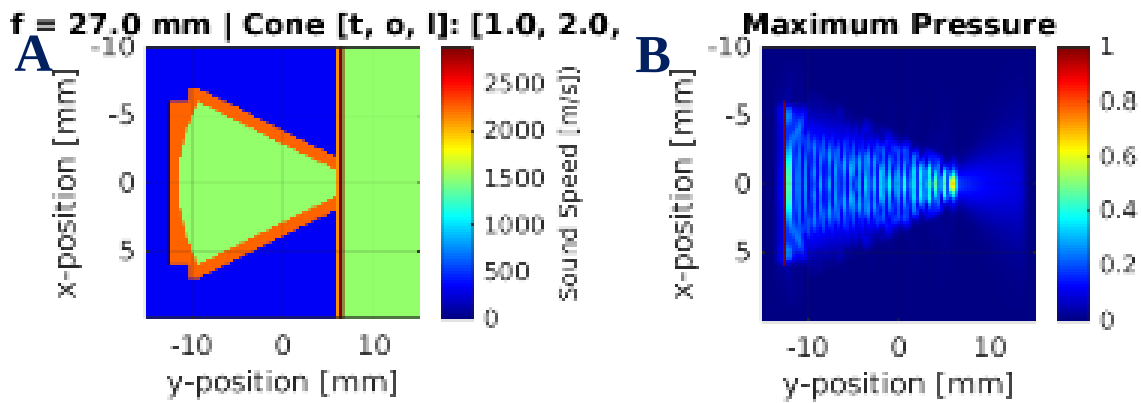
Majd visszahelyettesítjük az eredeti egyenletünkbe: $f = n \cdot x + \sqrt{(x - f)^2 + y^2}$

Ezt átrendezve egy másodfokú egyenletre jutunk, melynek megoldása egy ellipszis kis- és nagytengelye, tehát a lencse íve egy ellipszis, amit a paraméterek ismeretében meg lehet tervezni.

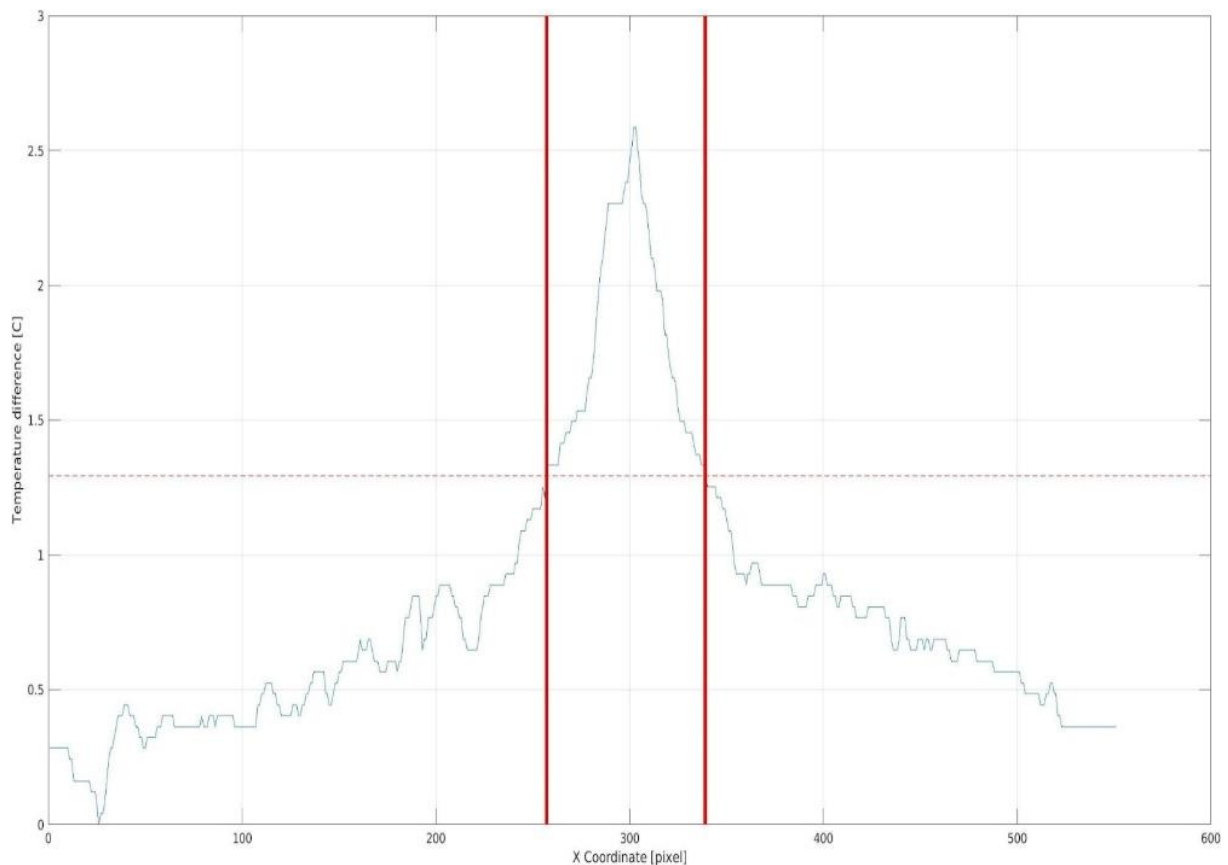
$$x_{1,2} = \frac{f \pm \sqrt{f^2 - y^2 \frac{1+n}{1-n}}}{1+n}$$

$$\text{nagy tengely} = \frac{2f}{1+n}$$

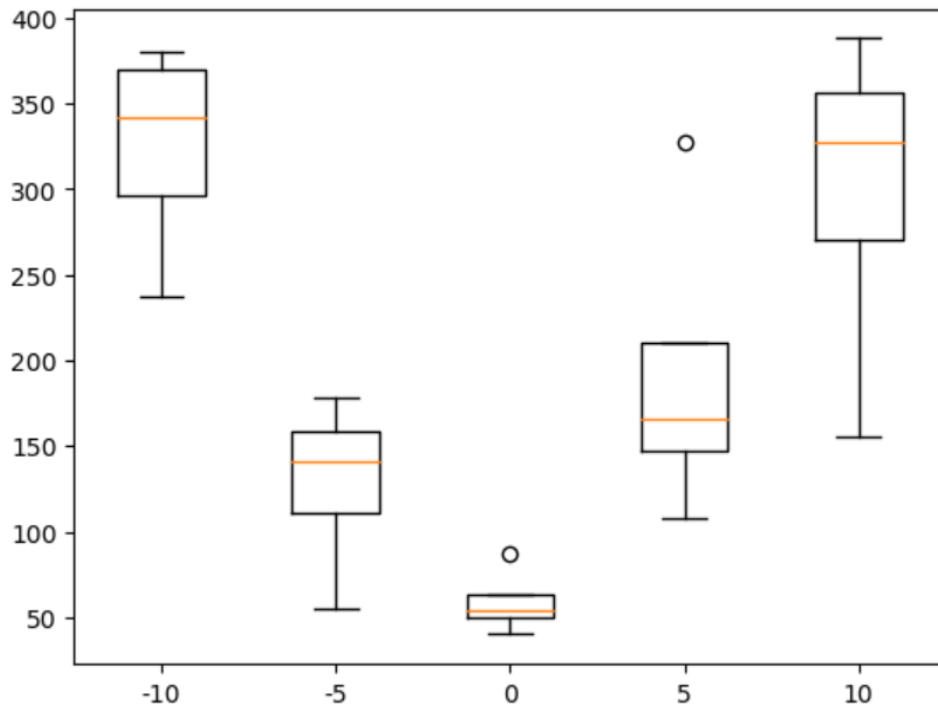
$$\text{kis tengely} = 2f \sqrt{\frac{1-n}{1+n}}$$



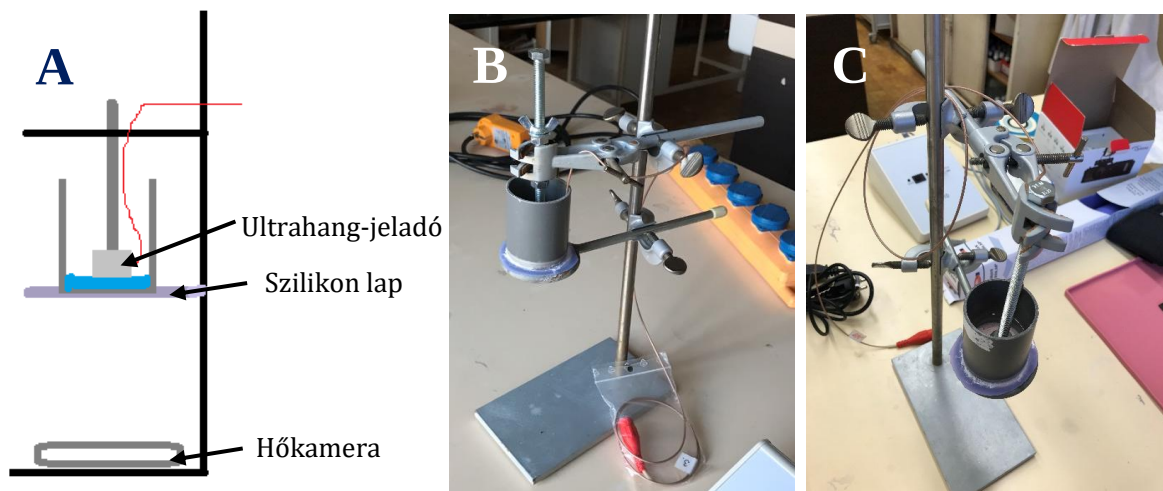
2. ábra: Számítógépes modell a lencse fókuszálásáról. **A:** A narancssárga a lencse és a tölcsér, ami a jeladóból a koponyához juttatja a hullámokat. A zöld az vizet, illetve az állat agyát modellezi, mivel az agynak nagy a víztartalma, így hasonló bennük a terjedési sebesség. A függőleges barna vonal a koponyacsont, a mellette lévő narancssárga pedig egy antireflexiós réteg, ami megakadályozza a hullámok visszaverődését. **B:** Az ultrahang forrás által keltett nyomás teret (minden térbeli pontban a nyomás maximális értékét) mutatja be, a fent említett összeállításnál.



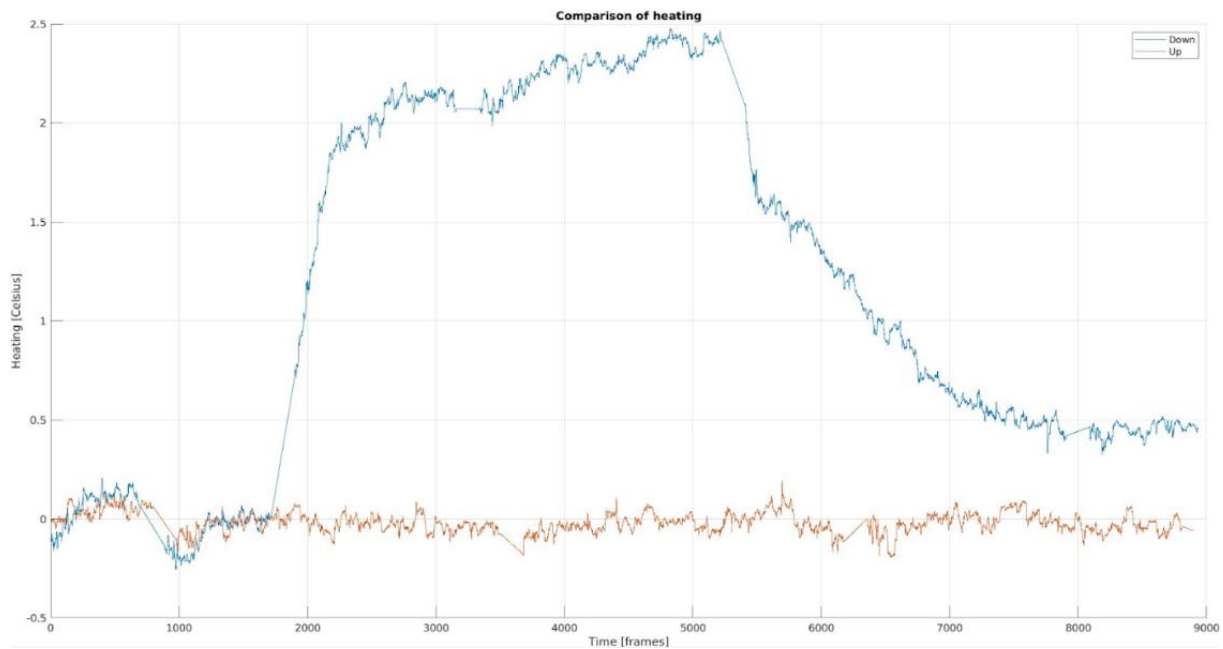
3. ábra: Féltértékszélesség ábrázolása egy mérésen. Az x tengely a pixel helyét mutatja, az y tengely pedig a minimum és maximum közötti hőmérséklet-különbséget, a szaggatott vonal pedig az átlagokat ábrázolja. A két függőleges piros vonal közötti távolság a féltértékszélesség.



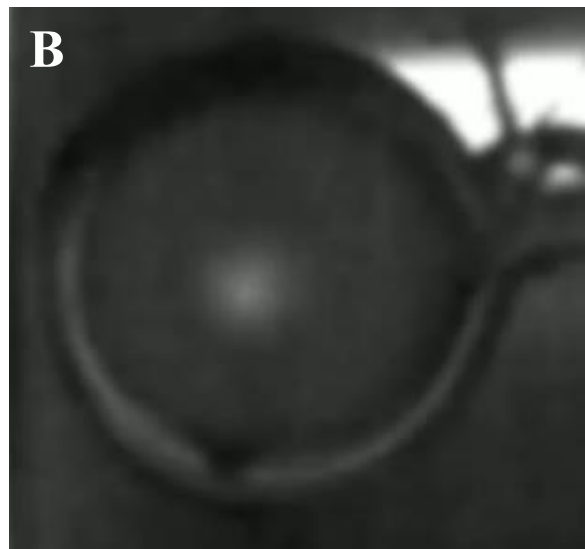
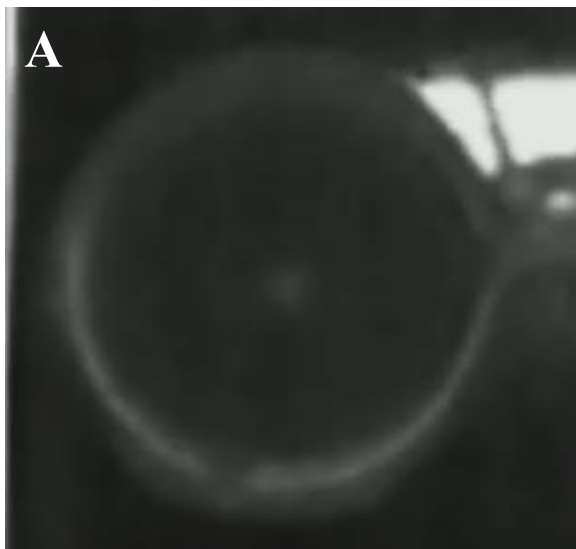
4. ábra: Félerértékszélességek összesítése. Az x tengely a papír fókuszától való, általam előre ismert eltolását mutatja cm-ben, az y tengely pedig a szélességek értékét. A dobozdiagram az adatok alsó kvartiliséstől a felső kvartiliséig terjed, a mediánról a sárga vonal. A talpas vonalak a doboztól a legtávolabbi adatpontig terjednek, amely az interkvartilis tartomány másfélszeresén belül helyezkedik el. A kiugró adatok azok, amelyek kívül esnek ezen a tartományon.



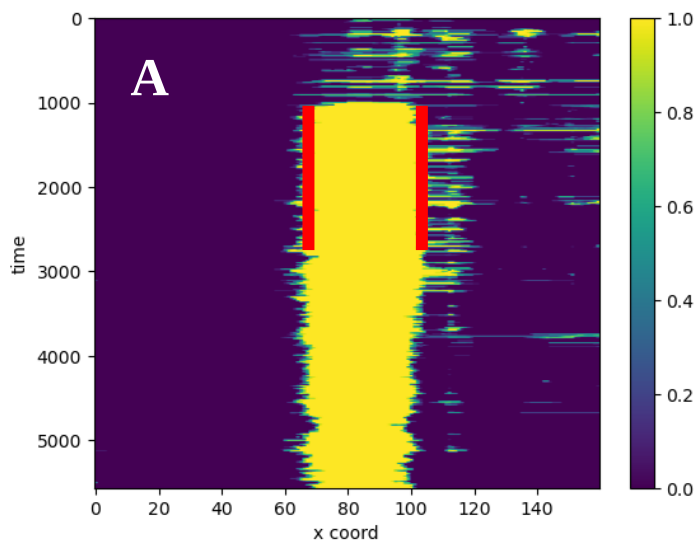
5. ábra: Ultrahanggal végzett mérések összeállítása. **A:** Mérési összeállítás vázlata. **B, C:** Mérési összeállítás megvalósítása.



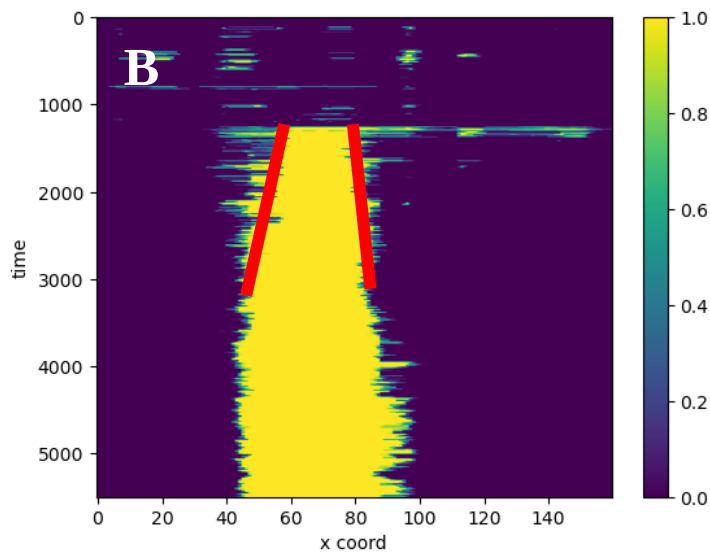
6. ábra: Kontroll kísérlet. Az x tengely a képkockák száma (15/sec), az y tengely az alaphőmérséklettől való eltérést mutatja fokban. A kék görbe mutatja a szilikonlap melegedését, amikor elnyeli az ultrahangot, a barna szintén a lap hőmérsékletét megfordított transzducernél.



7. ábra: Képkockák a hőkamera felvételeiből. **A:** Szilikon lap melegedése lencse nélkül. **B:** Szilikon lap melegedése lencsével.



8. ábra: *A meleg folt kiterjedése térben, időben. Az x tengely a meleg folt szélessége, az y tengely a képkockák száma (15/sec). A sárga szín mutatja a folt kiterjedését. **A:** Lencse nélkül. **B:** Lencsével.*



HIVATKOZÁSOK

- [1] Wonhye Lee, Phillip Croce, Ryan W. Margolin, Amanda Cammalleri, Kyungho Yoon, Seung-Schik Yoo (2018): Transcranial focused ultrasound stimulation of motor cortical areas in freely-moving awake rats, *BMC Neuroscience*, 19, pp. 57
- [2] Ghazaleh Darmani, Til Ole Bergmann, Kim Butts Pauly, Charles F. Caskey, Luis de Lecea, Anton Fomenko, Elsa Fouragnan, Wynn Legon, Keith R. Murphy, Tulika Nandi, Marshal Anthony Phipps, Gianmarco F. Pinton, Hamidreza R. Ramezani, Jerome Sallet, Siti N. Yaakub, Seung-Schik Yoo, Robert E. Chen (2021): Non-invasive transcranial ultrasound stimulation for neuromodulation, *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 135, pp. 51–73
- [3] Lennart Verhagen, Cécile Gallea, Davide Folloni, Charlotte Constans, Daria E. A. Jensen, Harry Ahnine, Léa Roumazeilles, Mathieu Santin, Bashir Ahmed, Stéphane Lehericy, Miriam C. Klein-Flügge, Kristine Krug, Rogier B. Mars, Matthew F. S. Rushworth, Pierre Pouget, Jean-Francois Aubry, Jerome Sallet (2019): Offline impact of transcranial focused ultrasound on cortical activation in primates, *eLife*, 8, pp. e40541
- [4] Davide Folloni, Lennart Verhagen, Rogier B. Mars, Elsa Fouragnan, Charlotte Constans, Jean-Francois Aubry, Matthew F. S. Rushworth, Jerome Sallet (2019): Manipulation of Subcortical and Deep Cortical Activity in the Primate Brain Using Transcranial Focused Ultrasound Stimulation, *Neuron*, 101, pp. 1109-1116.e5
- [5] Bradley E. Treeby and Ben T. Cox (2010): k-Wave: MATLAB toolbox for the simulation and reconstruction of photoacoustic wave-fields. *J. Biomed. Opt.*, 15(2), p. 021314