



CENTER FOR  
MACHINE PERCEPTION



CZECH TECHNICAL  
UNIVERSITY

VÝZKUMNÁ ZPRÁVA

# Výroba kryogelových fantómov pre ultrazvukovú elastografiu

Marian Pauco

paucom1@fel.cvut.cz

Pauco-CAK-2008-29

2. března 2008

Školitel: Dr. Ing. Jan Kybic

Centrum strojového vnímání, Katedra kybernetiky  
Fakulta elektrotechnická ČVUT  
Technická 2, 166 27 Praha 6

fax: (02) 2435 7385, tel: (02) 2435 7637, www: <http://cmp.felk.cvut.cz>

## 1. Abstrakt

Poly Vinyl Alkohol cryogel, PVA-C je predstavený ako materiál, ktorého elastické vlastnosti sú porovnateľné s ľudským tkanivom z pohľadu elastografie. Ukázali sme detailný postup prípravy gryogelu a fantómu. Zlúčeninu 10% PVA-C sme použili na vytvorenie fantómu, ktorý procesom zmrazovania a roztápania získaval vhodne elastické vlastnosti. Počet týchto procesov ovplyvňoval vlastnosti výsledného fantómu. Pri pokusoch sme zvolili aj vhodný materiál nádoby, do ktorého sme fantóm odlievali. Celkove sme urobili 3 fantómy, na ktorých sme sledovali proces zmrazovania a roztápania. Fantómy budú slúžiť pre ultrazvukovú elastografiu a myslíme si, že budú prínosom aj pri ďalších výskumoch v tejto oblasti.

## 2. Úvod

Cieľom tejto práce je naučiť sa správny postup výroby cryogelových fantómov pre ultrasonografickú elastografiu. Elastografia je neinvazívna meracia metóda na zisťovanie elastických vlastností tkanív a ich priestorového rozloženia. Poznanie elastických vlastností môže byť veľmi užitočné pre biomedicínsku sféru napr. v diagnostike a prevencii. Tato metóda sa často používa na detekciu nádorov, ktoré sú tuhšie ako okolité zdravé tkanivo [1,3,4].

Už po storočia lekári používali pohmat ako časť lekárskeho vyšetrenia na zistenie chorôb. Prítomnosť tuhého tkaniva často upozorňovala na vyskytujúci sa nádor, napríklad rakoviny prs a prostaty. Pomocou moderných zobrazovacích prístrojov lekári ľahko detekujú nádory, avšak vyšetrenie je finančne náročné a vyžaduje, aby vyšetrujúcim pacientom bola vpichovaná kontrastná látka, ktorá je často rádioaktívna. Z dôvodu rádioaktivity nie je teda možné poslať

pacientov na preventívne prehliadky. Výskumy v oblasti elastografie by tieto problémy mohli vyriešiť, pretože elastografia má potenciál byť neinvazívna, relatívne lacná. Preventívne vyšetrenie by teda nemal byť problém.

Pre vývoj a testovanie elastografických postupov potrebujeme fantóm, ktorého elastické a akustické vlastnosti budú známe a nemenné. Fantómy nám predstavujú umelo vytvorené biologické tkaniva človeka, ktoré sú používané napr. na tréning postupov biopsie, ale tiež napr. na vyhľadávanie ihliel a elektród pomocou ultrazvuku.

Ultrazvukové vlny, ktoré sa šíria telom človeka počas vyšetrenia, sa odrážajú od jednotlivých orgánov, poprípade od prechodov medzi rôzne tuhými tkanivami. Ultrazvukové vlnenie získame napr. periodickým nabíjaním doštičky vhodného materiálu napr. syntetickej latky. Nastáva jav zvaný piezoelektrický. Vplyvom prúdu sa materiál deformuje. Jedna sa zmršťovanie a rozpínanie a tým vzniká mechanické vlnenie. Odrazene vlny môžeme previesť do formy jasovo modulovaného obrazu. Rýchlosť ultrazvuku sa pohybuje od  $1520\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  –  $1540\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  koeficient útlmu má rozsah 0.075 – 0.28 dB a frekvencia v rozmedzí 2 – 7 MHz [2,3].

Vedci sa dlho pokúšali vytvoriť vhodný materiál, ktorý by presne popisoval mechanické a elastické vlastnosti tkaniva ľudského človeka. Zmienka o materiály, ktorý sme sa rozhodli použiť na výrobu našich fantómov, pochádza z roku 1975 [6]. Zlúčeninu zvanú PVA (Polyvinyl Alcohol) CRYOGEL prestavil grécky chemik N.A.Peppas [6]. Hlavným dôvodom bolo, že sa u cryogelu dajú ľahko meniť mechanické vlastnosti pomocou zmrazovacích cyklov.

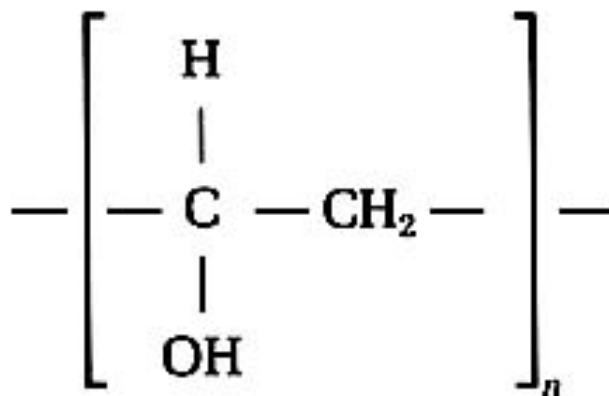
### 3. PVA - C - Popis zlúčeniny po chemickej stránke

PVA-C je v kryštalickej podobe ma čiro bielu farbu, po rozpustení s vodou vo forme gélu je priehľadný. Prášková forma cryogelu nie je nebezpečná. PVA-C nie je toxicky a nemá žiaden špecifický zápach. V gélovej podobe je viskózny. V tuhej podobe je flexibilný a prirodzene pevný ako ľudské tkanivo. Polyvinyl Alcohol (PVA) Cryogel je materiál isotropický a nestlačiteľný.



Obr.1 Kryštalická forma zlúčeniny PVA- cryogel

PVA sa nepripravuje polymerizáciou príslušného monoméru, ale čiastočnou alebo úplnou hydrolýzou [8]. Na Obr.2 môžeme vidieť chemickú štruktúru molekuly PVA. V monoméri vinyl alkoholu sa nachádzajú kovalentné väzby a hydroxylová skupina OH. CH<sub>2</sub> je zvyšok z metylovej skupiny CH<sub>3</sub>. A aby boli väzby stabilné, musia byť všetky väzby využité a práve vodík je ich doplnením.



Obr.2 Chemická štruktúra molekuly PVA

#### 4. Metoda - Návod na prípravu fantómu

##### 4.1 Príprava gélu

Na výrobu fantómu sme použili PVA cryogel ( PVA-C ) od firmy Air Products and Chemicals, Pennsylvania, ktorý sa predáva pod komerčným názvom Airvol Grade 165 PVA. PVA-C bol dodaný v plastových nádobách v práškovej podobe (Obr.1). Distribútorom bol Dr. Kenneth C. Chu Ph.D., P.Eng., ktorý sa v svojej doktorandskej práci zaoberal prípravou PVA-C [6]. Pri voľbe postupu som vychádzal z jeho poznámok.

Pred tým než sme začali so samotnou prípravou pripravili sme si destilovanú vodu, zaváraninový pohár a sterilizátor ( je možné použiť prípadne aj tlakový hrniec ). Príprava preparátu bola v pomere 9:1 to znamená, že sme zmiešali 90 % destilovanej vody a 10 % prášku PVA. Premiešali sme obsah v zaváraninovej fľaške, dobre utesnili viečko a uložili do sterilizátoru. Sterilizátor nám poslúžil na zmiešanie molekúl PVA a vody. Pre dobré premiešanie molekúl

cryogelu a vody sme nechali zahrievať preparát na teplote 90 – 120 °C približne 2-3 hodiny. Zmiešanie preparátu by bolo možné aj pri nižších teplotách, avšak čas by sa úmerne zvyšoval. Uzavretú nádobu sme nechali vychladnúť na 40 - 50°C čo pri bežnej pokojovej teplote 20°C odpovedalo 24 hodinám. Fáza chladenia bola potrebná na vytvorenie homogénneho gélu. Po vychladnutí sme nádobu dôsledne premiešali pretrepaním do všetkých smerov, pravé preto, že na spodku zaváraninovej nádoby bol cryogel ešte stále veľmi tuhy. Najlepšie je použiť magnetický miešač, ktorý sme avšak nemali k dispozícii. Proces zahrievania sme opakovali ešte jeden krát, avšak až nasledujúci deň. Výsledkom bola priehľadná, viskózna gélová hmota (Obr.3). Po otvorení viečka zaváraninovej nádoby bola možná manipulácia s gélom približne 2 týždne. Po tomto čase nastala biologická kontaminácia, preto sme otvárali nádobu len v prípadoch, keď sme s ňou pracovali.



Obr.3 Priehľadná gélová hmota PVA-C

## 4.2 Proces zmrazovania a rozmrazovania

Proces, ktorým sme menili elastické vlastnosti vytváraného fantómu sme nazvali MZaR (Metoda zmrazovania a rozmrazovania). Celý proces funguje striedaním zmrazovacích a rozmrazovacích cyklov [7]. Jednotlivé cykly boli úplné, čo znamená, že fantóm bol najprv kompletne zmrazený a potom kompletne rozmrazený. Počet cyklov zmrazovania a roztápania, ktorý ovplyvňuje modul pružnosti fantómu, je takisto dôležitý ako práve rovnomerná rýchlosť MZaR [6,7]. Rýchlosť zmrazovania by mala pohybovať okolo  $0.5 \text{ }^{\circ}\text{C} / \text{min}$  a rýchlosť roztápania okolo  $0.27 \text{ }^{\circ}\text{C} / \text{min}$  [6,7]. Pri MZaR sa odparuje voda a kvôli tomu bol fantóm tuhší, modul pružnosti sa zväčšoval. Proces MZaR ukončíme podľa toho aké elastické vlastnosti požadujeme.

## 4.3 Vytváranie modelov

Po ukončení procesu zmiešavania kryogelového prášku s vodou, je nutné zvoliť vhodný tvar nádoby podľa potreby, do ktorej si gél nalejeme. Je dôležité, aby čas procesu odlievania fantómu do foriem nepresahoval zhruba hodinu z dôvodu vyparovania vody. Menia sa totiž pri tom fyzikálne vlastnosti pripraveného roztoku. Platí, že čím menší čas manipulácie s PVA-C na vzduchu, tým menej vody sa z fantómu odparí, a tým presnejšie výsledky dostaneme.

Po odliati cryogelu do formy sme nechali preparát po dobu 24 preparát zabalený v nepriepustnom uzatvárateľnom vrecúšku ( obr.4 ), aby neunikala para. Je taktiež možné udržiavať fantóm vo vlhkom prostredí, inak by sa mohlo stať, že na povrchu fantómu by sa začal tvoriť tvrdý vyschnutý obal.



Obr.4 Nepriepustné uzatvárateľné vrecúško

Keďže pri nalievaní cryogelu do nádoby vzniká veľké množstvo malých bubliniek (Obr.5), formu s gélom necháme nehybne stať po dobu 24 hodín. Podľa pozorovania si môžeme byť istí že, bublinky vystúpia na povrch, prasknú a zmiznú.



Obr.5 Bublinky vytvorené nalievaním gélu

Pripravený fantóm bez bubliniek sme vložili do mrazničky o teplote  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Doba, ktorú fantóm bude v mraziacom boxe, závisí na veľkosti fantómu. Vzorku



fantómu o rozmeroch 9 x 5 x 3 cm ( Dĺžka x Šírka x Výška ) sme zmrazovali približne 12 hodín, zmrazenie fantómu 3x väčších rozmeroch môže trvať aj viac ako deň. Po celkovom zmrazení sme vyberali fantóm z mraziaceho boxu a nechali 24 hodín rozmrazovať. Je dôležité poznamenať, že rýchlosť roztápania a zmrazovania ma byť rovnomerná [6,7]. Rozmrazovanie pri izbovej teplote, následne pod lampou alebo po horúcou vodou by zhoršilo reprodukovateľnosť a homogenitu celkového fantómu.

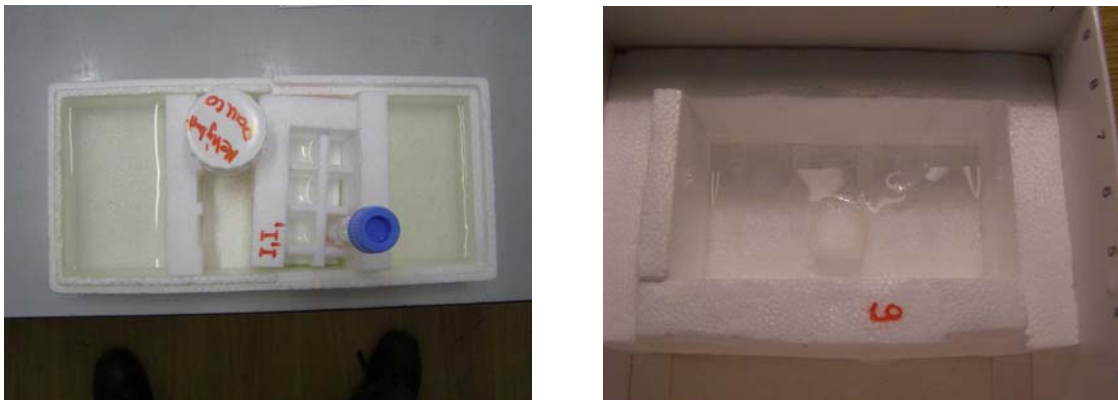
### **4.3 Bezpečnosť práce pri manipulácii s cryogelom**

Čo sa týká bezpečnosti, doporučujeme nosiť ochranné oblečenie, kožené rukavice a ochranné okuliare. Inhalácia kryštalickej formy PVA-C je ako prach, preto sme sa pokúšali sa minimalizovať vdýchnutie do pľúc. Je taktiež veľmi dôležité dávať pozor pri vyberaní fľaše zo sterilizátoru, aby nespadla. Tlak 2 MPA vo vnútri nádoby by totiž pri páde na zem mohol spôsobiť vážne zranenie.

### **4.4 Výber typu materiálu nádoby**

Výber materiálu, z ktorého bude nádoba na fantómy, by mala odolávať rozťahovaniu fantómu v mraziacom boxe. Keďže sa gél skladá z 90 % vody, musíme rátať s tým, že sa bude objem pri záporných teplotách zväčšovať. Zvolili sme teda materiál, cez ktorý voda neprenikne, nevsiakne a nezamrzne. Nastala by potom situácia, že by sa fantóm nedal odlepiť od nádoby, prípadne by zmena skupenstva vody na ľad, mohla spôsobiť prasknutie krabičky. Hoci je fantóm v zmrznutom stave dobre kráateľný skalpelom, bolo by to veľmi nepraktické a zbytočne namáhavé. Takými materiálmi by bola napr. papierová krabička, ktorá by nasiakla vodou. Vhodným nenasiakavým materiálom by mohol byť

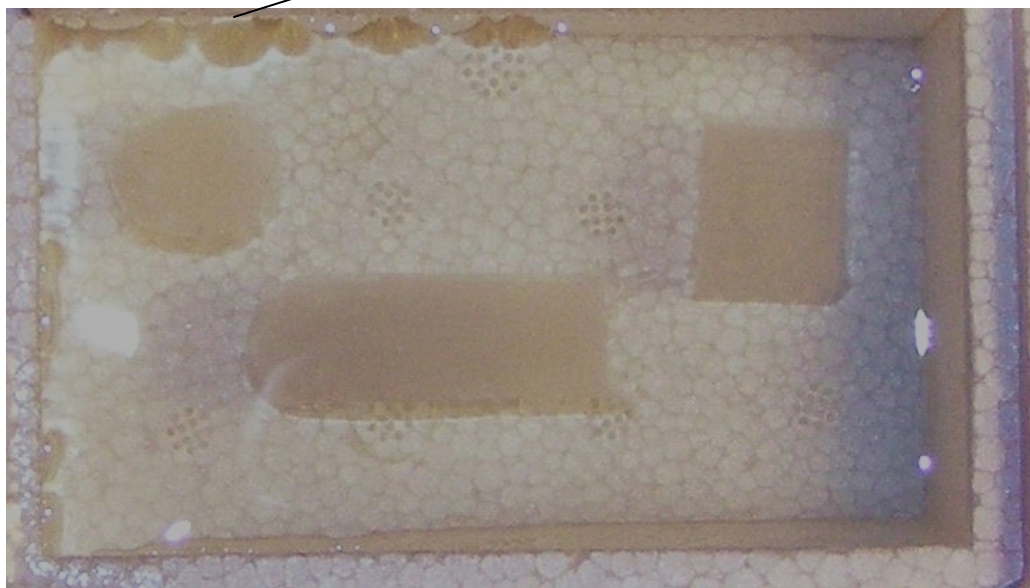
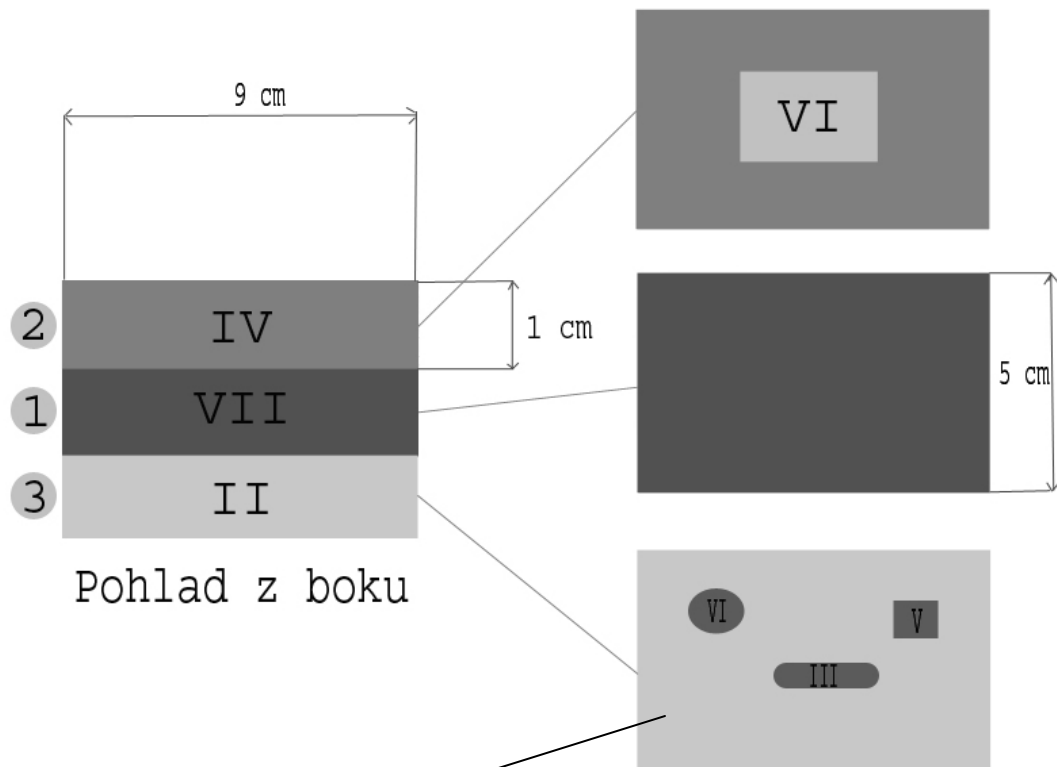
pravé polyetylén, polypropylén alebo polystyrén. Pri našich pokusoch sme použili vlastnoručne upravenú polystyrénovú krabičku. Krabička bola precízne vyrezávaná skalpelom, tak aby vnútorný povrch bol rovnomerný (Obr.6). Na spodnú stenu sme pred nalievaním fantómu dali na mieru vyrezaný plátok tvrdeného vrecúška, aby sa fantóm dobre odlepoval. Steny musia byť takisto dobre upevnene, pretože pri neúplnom zafixovaní sa mrznutím a rozťahovaním fantóm zdeformuje. Na zafixovanie sme použili lekárske ihly.



Obr.6 Vyrezane polystyrénové krabičky

#### 4.5 Výroba viacvrstvových fantómov a vzoriek nádorov

Vrstevné fantómy sme začali vyrábať, pretože sme chceli skúmať mechanicky heterogénne vzorky. Každá vrstva je vysoká 1 cm. Do jednotlivých vrstiev sme umiestnili telieska, ktoré znázorňujú nádory v tkanive človeka. Vyrobene telieska boli rôznej tuhosti ako tkanivo (okolitý gél) do ktorých sme ich vkladali. Tuhšie nádoriky sme dosiahli pravé vyšším počtom cyklov MZaR. Na nasledujúcom obrázku môžeme jasne vidieť podľa očíslovania rímskymi číslicami koľko cyklov MZaR absolvovala každá imitácia nádoriku a vrstiev (Obr. 7).



Obr. 7 Vrstvený fantóm zložený z 3 vrstiev s popisom jednotlivých vrstiev  
Počet cyklov ZaR je označený rímskými číslami.



Obr. 8 Vyrobený nádorik bol vložený do naliateho cryogelu bez bubliniek



Obr. 9 Fantóm s viditeľným tuhším tkanivom v tvare kocky

#### 4.6 Uskladňovanie fantómov

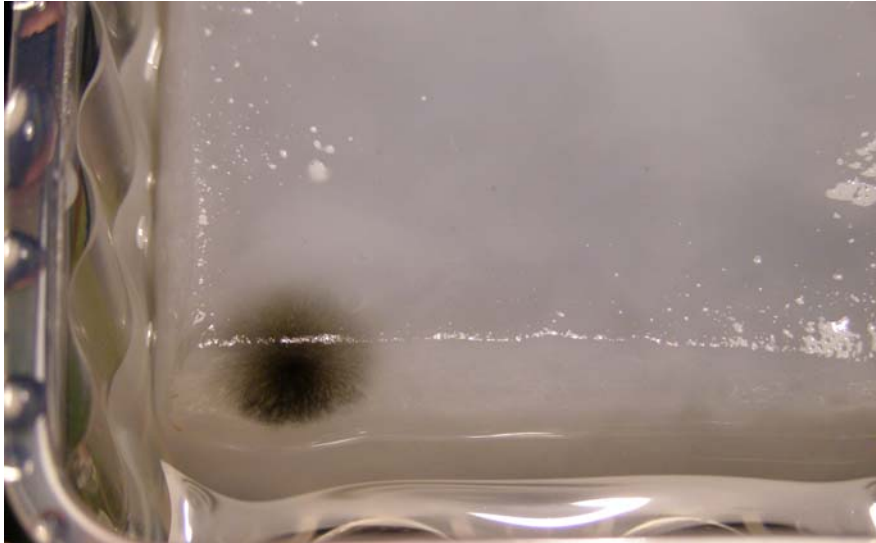
Pre uskladňovanie fantómov sme použili chladničku a fantóm sme udržiavali vo vodnom roztoku pri 4 °C. Pred tým než sme výsledný fantóm uložili do chladničky, vybrali odliatok PVA-C z formy, a ponorili do druhej pripravenej nádoby s destilovanou vodou (Obr.10).



Obr. 10 Nádobka s destilovanou vodou na uloženie do chladničky

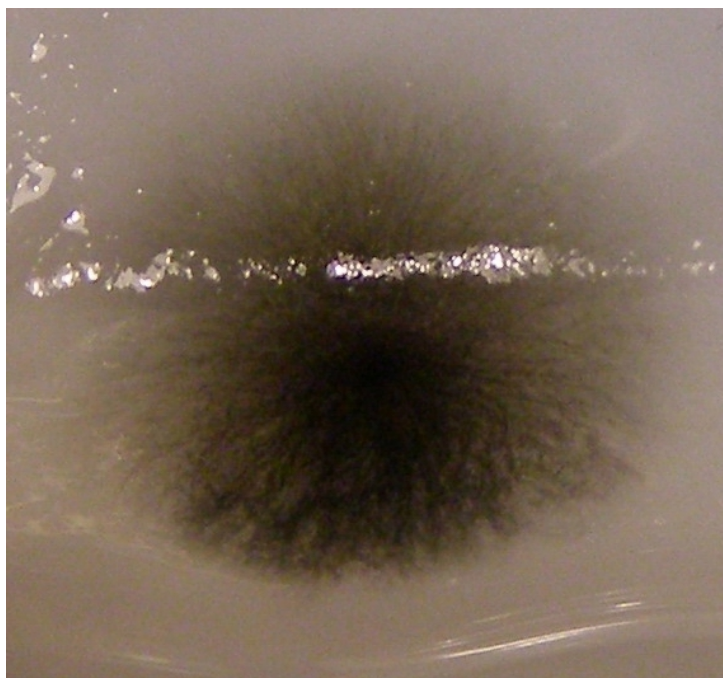
Je veľmi dôležité, aby fantóm nevyschol, pretože potom už nie je možné fantóm znovu roztopiť a prispôbiť. Preto je potrebné priebežne kontrolovať, či sa v chladničke časť vody neodparila. Destilovanú vodu v nádobkách meníme jeden krát za 4 týždne, aby nedochádzalo ku kontaminácii fantómu. Na Obr. 11

môžeme vidieť výskyt pliesen, ktorá bola spôsobená nedodržaním podmienok dolievania vody a jej výmeny.



Obr. 11 Plieseň na neudržovanom fantóme po 4 dňoch

Plieseň nebolo možné umyť vodou, pretože začala prerastať do fantómového tkaniva ( Obr. 12 ). Jedinou možnosťou ako zachrániť fantóm od baktérii bolo odrezanie kontaminovanej časti fantómu ostrým skalpelom, a následné dôkladné sterilizovanie fantómu. Aj keď v pokročilejšom štádiu nepomohla už ani sterilizácia.



Obr. 12 Detailnejší záber pliesne, ktorá prerastá do cryogeloveho fantómu

## 5. Experimenty

V prvom experimente sme overovali vplyv nedostatočného roztápania fantómu. Na Obr. 13 vidíme príklad takého fantómu.





Obr.13 Vyťahovanie bubliniek injekčnou striekačkou z fantómu na ktorom sme overovali vplyv nedostatočného roztápania

Pri pokuse sme pozorovali, že rozmrazovanie objektu začalo najprv v okolí vonkajšej časti a postupne sa rozširovalo do stredu. Pokusný fantóm sme vložili do mraziaceho boxu po 4 hodinách na opätovné zmrazenie. Tento čas nebol postačujúci nato, aby sa fantóm roztopil úplne. Stred bol úplne zmrznutý v čase vloženia fantómu do mrazničky, avšak okraj bol roztopený (Obr. 14).



Obr. 14 Zobrazenie časti fantómu



Tento čiastočné nedokončený cyklus MZaR bol opakovaný 5 krát s rovnakou dobou rozmrazovania a s úplnou dobou zmrazovania (Obr. 15). Jednoduchou palpáciou, bez merania modulu pružnosti sme zistili, že vnútorná časť fantómu je znateľne mäkšia ako vonkajšia časť. Týmto pokusom sme si teda overili, že proces zmrazovania a roztápania mení naozaj elastické vlastnosti fantómu.



Obr. 15 Fantóm z vplyvom nedostatočného roztápania

Taktiež na zmrznutom fantóme umiestnenom proti svetlu, je dobre vidieť, že vnútorná časť ma rozdielne vlastnosti ako vonkajšia časť fantómu. Je to spôsobené pravé neúplným rozmrazením fantómu, pri ktorom bola vonkajšia časť vystavená viacerým cyklom MZaR než vnútorná ( Obr. 16).



Obr. 16 Viditeľné rozdiely v tuhosti fantómu proti svetlu

## 6. Záver

Vyrobené poly vinyl alkoholové ( PVA-C ) fantómy budú používané pre ultrazvukovú elastografiu. Fantómy boli dôsledne pripravené pod neustálym dozorom a kontrolou. Proces zmrazovania a roztápania je dobrým spôsobom ako udržiavať kontrolu nad vlastnosťami požadovaného fantómu.

Tento výskum nás posunul dopredu vo vytváraní kvalitnejších fantómov pre elastografiu a zároveň sme si zistili, že modelovanie fantómov je časovo náročné.

V ďalšom výskume by sme radi vylepšili formu do ktorej sa fantóm bude vylievať. Forma by mala byť priehľadná z polycarbonatu, aby bolo dobre vidieť či bublinky už vystúpili na povrch. Zabezpečíme tým vhodnejšie prostredie pre ultrazvukový signál vo fantóme. Krabička by sa mala otvárať z dvoch strán, aby sa fantóm lepšie vyberal.

Proces roztápania fantómu by sme radi vyskúšali aj vo vodnou kúpeli. Bude možné lepšie kontrolovať rýchlosť rozmrazovania a tým aj presnejšie konečné výsledky výroby.

Je dôležité, aby sa vo vnútri fantómu nachádzali odrazové častice, s pomocou ktorých budeme môcť zaznamenávať viditeľné zmeny pri stláčaní fantómu ultrazvukovou sondou. Preto bude nutné pridať pri výrobe vhodnú odrazovú zložku na odrazy od celého objemu tkaniva. Vhodnou zložkou by mohol byť uhlík, ktorý bude primiešaný do tekutého, studeného cryogelu pred tým ako bude vyliaty do nádoby.

Pokúsime sa overiť, že fantóm ma naozaj mechanické a akustické vlastnosti ako ľudská bihmota a či bude vhodným simulačným materiálom v ultrazvukovej sonografii.

**Bibliografia:**

- [1] J. Ophir, F.Kallel, "Elastography", C. R. Acad. Sci Paris t 2, Seri IV, p. 1193 – 1212, New York, 2001.
- [2] M.Surry, B.Austin, M.Fenster, "Institute of physics publishing: PVA cryogel Phantoms for use in ultrasound and MR imaging", phys. Med. Biol. 49, p. 5529 - 5546, Canada, 2004.
- [3] T.Hall, M.Bilgen, "Phantom Materials for elastography", IEEE Transactions on ultrasonic, ferroelectrics and frequency control, Vol.44, p.1355 – 1365, New Jersey, 1997.
- [4] J. Kybic, D. Smutek, "Estimating Elastic Properties of Tissue from Standard 2D Ultrasound Images", Czech Republic
- [5] E. Brusseau, J. Fromageau, "Local Estimation of RF Ultrasound signal Compression for Axial Strain Imaging: Theoretical Development and Experimental Results.", France 2002
- [6] K.C. Chu, B.K.Rutt, "An ideal fantom Material for MR studies of arterial Flow Elasticity", Vol. 37, pp 314-319, London 1997
- [7] <http://home.att.net/~kchu/>
- [8] [http://en.wikipedia.org/wiki/Polyvinyl\\_alcohol](http://en.wikipedia.org/wiki/Polyvinyl_alcohol)

**Príloha:**

### Zoznam použitých fantómov

Číslo fantómu	Počet ZaR*	Tvar fantómu	Veľkosť (cm)	Popis fantómu	Umiestnenie
Fantóm 1	7	Kváder	9 x 5 x 1	Fantóm spojený s Fantómom 2 a 3	Obrázok 7
Fantóm 2	4	Kváder	9 x 5 x 1	Fantóm spojený s Fantómom 1	Obrázok 7
Fantóm 3	2	Kváder	9 x 5 x 1	Fantóm spojený s Fantómom 2	Obrázok 7
Fantóm 4	6	Kocka	a = 1.5	Fantóm vložený do Fantómu 2	Obrázok 7
Fantóm 5	6	Kocka	a = 1.5	Fantóm vložený do Fantómu 3	Obrázok 7
Fantóm 6	5	Válec	v = 0.5; d = 2.5	Fantóm vložený do Fantómu 3	Obrázok 7
Fantóm 7	3	Válec	v = 4.5; d = 0.5	Fantóm vložený do Fantómu 3	Obrázok 7
Fantóm 8	5	Kváder	9 x 5 x 1	Samostatný fantóm	Obrázok 15
Fantóm 9	4	Kváder	9 x 5 x 1	Fantóm spojený s Fantómom 10	Obrázok 9
Fantóm 10	7	Kváder	9 x 5 x 1	Fantóm spojený s Fantómom 9	Obrázok 9
Fantóm 11	5	Kocka	a = 1.5	Fantóm vložený do Fantómu 10	Obrázok 9

\*ZaR – Zmrazovanie a Rozmrazovanie