Acústica 2020
XI Congreso Ibérico de Acústica
51º Congreso Español de Acústica
TECNIACÚSTICA 2020

SISTEMA DE MICROSCOPÍA FOTOACÚSTICA EMPLEANDO CONFORMACIÓN DE HAZ PARA ESCANEO DE GRANDES SUPERFICIES

María Consuelo Barrantes-Masot[1], Alejandro Cebrecos[1,*], Juan José García-Garrigos[1], Andreu Descals[1], Noé Jiménez[1], José María Benlloch[1], Francisco Camarena[1]
[1]Instituto de Instrumentación para Imagen Molecular, Universitat Politècnica de València – CSIC, València, Spain
[*] Email: alcebrui@upv.es

Resumen
Exploramos el uso de un método de conformado con la finalidad de obtener imágenes de superficies grandes en microscopía fotoacústica de resolución óptica. Se ha evaluado en una configuración experimental compuesta por un diodo láser de bajo coste y un *phase array* con una sonda lineal de 128 elementos. Se exponen tres estrategias de conformado: sin conformado, con conformado estático y con conformado dinámico. El método se ha probado en fantomas de gelatina y órganos *ex vivo*. Los resultados muestran que, en comparación con los otros dos métodos, el conformado dinámico aumenta hasta 15dB y homogeneiza la relación señal/ruido (S/R) en imágenes de aproximadamente 1 cm^2. El método y el sistema que aquí se presenta puede ser la base para sistemas más avanzados basados en *phase arrays* que aprovechen diodos láser de bajo coste para aplicaciones clínicas.

Palabras clave: imagen fotoacústica, OR-PAM, microscopía de áreas grandes, conformado ultrasónico, diodo láser pulsado.

Abstract
We explore the use of a beamforming method intended for large-area scanning in optical-resolution photoacoustic microscopy. It has been evaluated in an experimental setup that comprises a low-cost laser diode and a phase array with a 128-elements linear probe. Three different beamforming strategies are discussed: no-beamforming, static beamforming and dynamic beamforming. The method has been tested in gelatine-based phantoms as well as ex vivo organs. Results show that, compared with the other two, dynamic beamforming increases up to 15dB and homogenizes signal-to-noise ratio (SNR) along images of roughly 1 cm^2. The method and system presented here could be the baseline for more advanced array-based systems that leverage the low-cost laser sources for clinical applications.

Keywords: photoacoustic imaging, OR-PAM, large area scan, array-based beamforming, pulsed laser diode.

PACS nº. 43.35.Sx

1 Introducción

La microscopía fotoacústica (*photoacoustic microscopy,* PAM) es una técnica híbrida (óptico-acústica) que ha demostrado su utilidad a la hora de generar imágenes de los vasos sanguíneos de tejidos superficiales, obtenidas normalmente mediante un escaneo sin algoritmos de reconstrucción [1]. La microscopía fotoacústica se suele clasificar en dos modalidades principales dependiendo de la profundidad de penetración del láser, que a su vez define diferentes estrategias de focalización: de resolución óptica (*optical-resolution,* OR-PAM) y de resolución acústica (*acoustical-resolution,* AR-PAM). En AR-PAM la resolución viene determinada por la propagación y detección ultrasónica, mientras que en OR-PAM es el tamaño del foco óptico utilizado para generar las ondas fotoacústicas lo que determina la resolución lateral, de ahí la importancia de focalizar bien el láser. Típicamente, los montajes experimentales de OR-PAM usan láseres de estado sólido como Nd:YAG o Ti:Sapphire [2] . Como fuente alternativa, los diodos láser pulsados (PLD) así como los LED constituyen una tendencia al alza en los últimos quince años [3], [4], en tanto que son más ligeros y baratos. Sin embargo, la señal resultante suele requerir múltiples promedios debido a la baja energía suministrada, comparativamente. Por lo que respecta a los detectores de ultrasonidos, los más utilizados son los piezoeléctricos, sean planos o focalizados. Se han explorado alternativas enteramente ópticas basadas en fibra óptica que muestran un buen compromiso entre sensibilidad y un mejorado campo de visión (FOV) y ángulo de aceptación [5]. Las sondas consistentes en un *array* de piezoeléctricos se usan ocasionalmente en PAM para diferentes propósitos, tales como imagen volumétrica [6] o imagen en tiempo real [7]. Por ejemplo, Hajireza et al. [8] publicaron un sistema experimental de microendoscopía que combina un *array* lineal y una algoritmo de retardo y suma para aumentar la relación señal/ruido (S/R). En este estudio, cuantificamos la mejora de la S/R en sistemas OR-PAM cuando se utiliza un algoritmo de retardo y suma para conformar la imagen. Esto permite sincronizar los focos óptico y acústico y con ello generar imágenes más nítidas a lo largo de un área mayor, sin necesidad de mover el transductor y, por tanto, sin usar agua como método de acoplamiento. Especialmente cuando se combina con dispositivos de escaneo más rápidos como escáneres MEMS o espejos galvanométricos.

2 Materiales y métodos

El montaje experimental, tal y como se representa en el esquema de la Fig. 1, está compuesto por un PLD de alta potencia (905D5S2L3J08X, Laser Components, Alemania) de 650 W y 905 ± 10 nm de longitud de onda central y una sonda lineal de 128 elementos (L11-5v, Verasonics, EE.UU.). La sonda está en contacto con el fantoma en la cara opuesta a donde incide el láser y recoge las ondas fotoacústicas provocadas por éste. Se utiliza un conjunto de lentes para concentrar y focalizar la fuente de luz divergente del diodo láser en un foco submilimétrico. El láser opera con un PRF de 2 kHz y un ancho de pulso de 100 ns. La energía por pulso se determina entre 3,2 y 10,7 µJ en el punto focal para una fluencia de entre 134 y 450 mJ/cm^2. El sistema de adquisición (Vantage 256™, Verasonics USA) obtiene las señales correspondientes a cada canal de la sonda y sincroniza la excitación del láser con el movimiento de unos ejes 3D, que mueven solidariamente la muestra y la sonda.

Los fantomas están hechos de gelatina (6% m/V) que se vierte en recipientes de resina hechos a medida, con tubos de polietileno (0,42 mm de diámetro) llenos de tinta china negra insertos cerca de la superficie. Cabe señalar que la sonda de ultrasonidos está en contacto con la gelatina usando únicamente gel de acople para la adaptación de la impedancia acústica. Por lo tanto, la sonda no se mueve con respecto al fantoma y no hay necesidad de agua como medio de acoplamiento, a diferencia de otras implementaciones de OR-PAM [9].

Las señales resultantes se post-procesan en MATLAB (Mathworks, EE.UU.) para generar imágenes de la proyección de máxima intensidad (MIP) según tres estrategias diferentes: (1) sin conformado, (2) con

conformado estático y (3) con conformado dinámico. En el método sin conformado, para cada punto del escaneo, se suman 128 señales (una por cada canal de la sonda de ultrasonidos) tal como son recibidas, es decir, sin tener en cuenta los retardos temporales. En el conformado estático, estas mismas señales se retrasan para reflejar el resultado que se obtendría con un transductor focalizado monoelemento. Por último, el conformado dinámico aplica un algoritmo de retardo y suma (*delay-and-sum*, DAS) a las señales registradas para cada punto del escaneo. Dicho algoritmo se basa en aplicar un retardo temporal derivado de la distancia entre la fuente y cada uno de los 128 canales de la sonda [10].

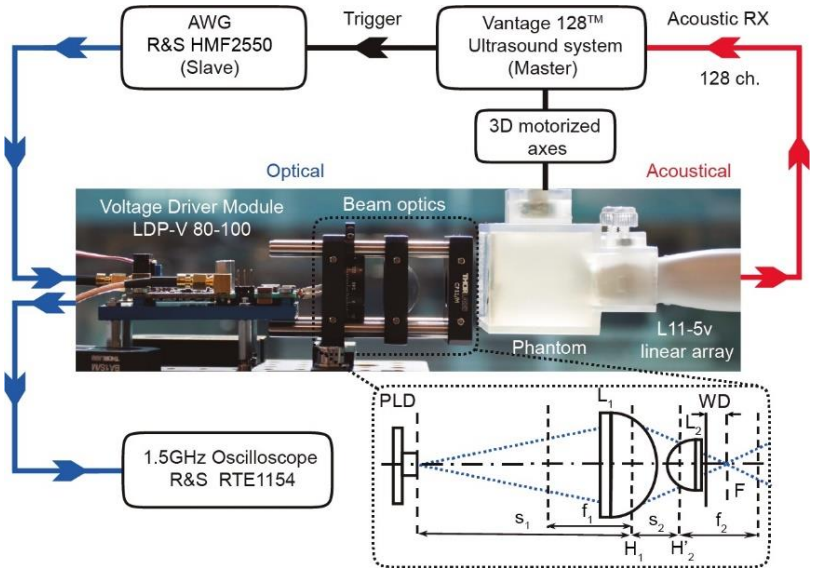


Figura 1. Principales componentes del sistema de microscopía. La parte óptica (azul) empieza con el generador de onda arbitraria (que recibe el *trigger* del sistema de adquisición) y continua con el driver, el diodo láser y las lentes asociadas (línea de puntos) y osciloscopio para monitorizar la señal. La parte acústica (rojo) se compone de la sonda de ultrasonidos y el sistema Vantage de adquisición, que a su vez se encarga del movimiento de los ejes motorizados.

3 Resultados

Con la finalidad de medir la resolución lateral del sistema, se ha incrustado en el fantoma una cinta de vinilo de alta absorción de 180 µm de ancho, aproximadamente 1mm por debajo de la superficie. Se ha escaneado el borde de la tira horizontal y verticalmente con un paso de 10 µm. Al promediar (256 veces) varias mediciones y combinarlas se obtiene la ESF (*edge spread function*) resultante. De ahí se calcula la resolución lateral como el *full width at half maximum* (FWHM) de la derivada espacial del ESF (o la *line spread function*, LSF), dando como resultado 200 µm a lo largo del eje horizontal y 119 µm a lo largo del eje vertical, valores que coinciden con los obtenidos por medios ópticos.

En la Figura 2 (a-c) se muestra el resultado de escanear en 2D fantomas de gelatina con tubos de polietileno llenos de tinta negra. El área escaneada es de 1,2 x 0,8 cm. Las señales adquiridas se han post-procesado siguiendo las tres estrategias descritas para obtener la representación de la MIP. Como puede verse, el método de conformado dinámico logra claramente mejor S/R y contraste, mientras que los otros dos (sin conformado y con conformado estático) no consigue un contraste uniforme en el área escaneada.

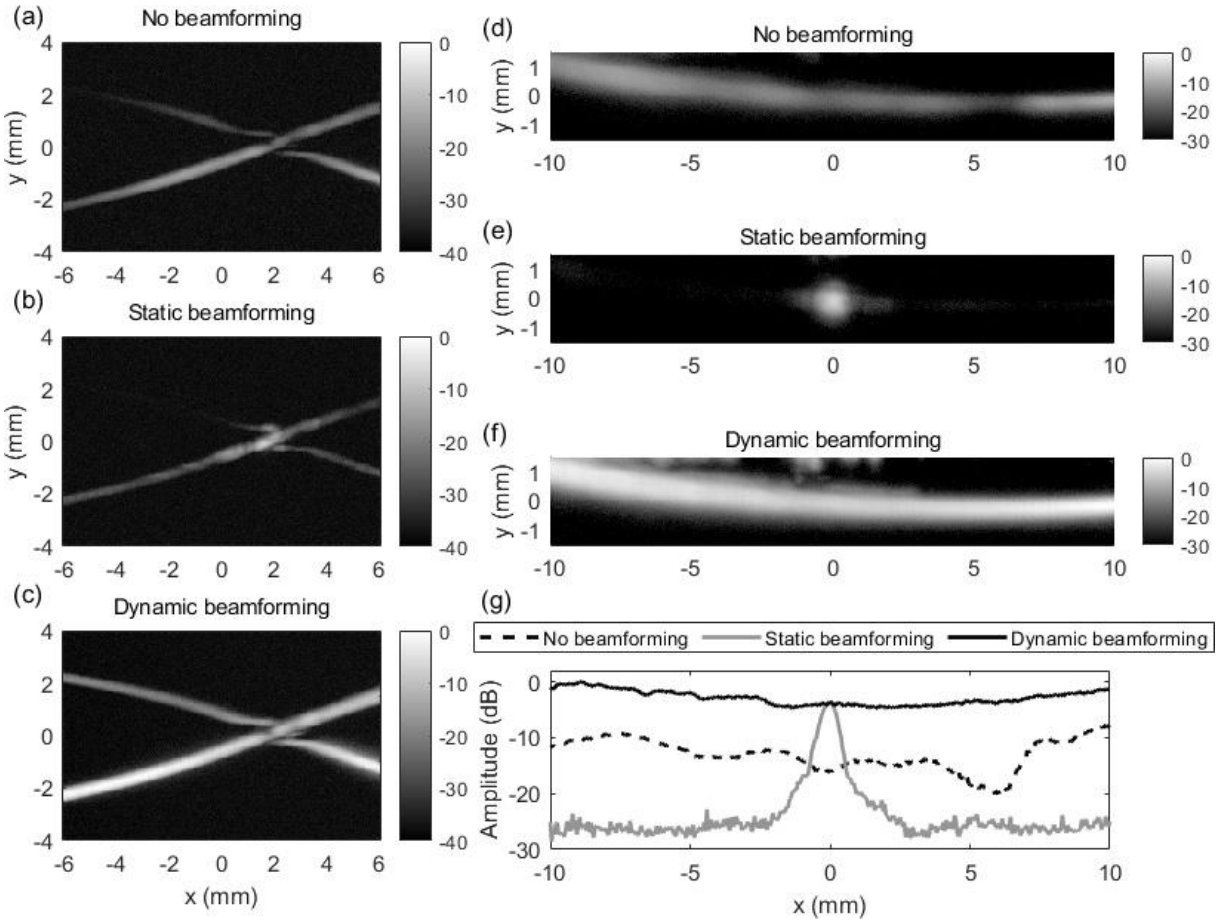


Figura 2. Imágenes 2D a partir de resultados experimentales. A la izquierda: imágenes de tubos entrecruzados en un fantoma de gelatina, procesadas de acuerdo a las tres estrategias de conformado descritas. A la derecha, imágenes de un tubo horizontal para determinar la S/R a lo largo del eje horizontal de la sonda (d-f). La comparativa de amplitud obtenida cada técnica de post-procesado se representa en (g).

Además, se escaneó un único tubo de polietileno para evaluar la variación de la S/R a lo largo del eje longitudinal de la sonda. Los resultados, en la Figura 2 (d-f), muestran cómo la estrategia de conformado de haz dinámico ofrece un mejor contraste con menos variación (alrededor de 3dB) a lo largo del eje longitudinal de la sonda. Cuando se compara con la estrategia sin conformado, ésta última muestra una reducción de 10 a 20 dB. Mientras que el conformado estático presenta la misma S/R en el foco, lo cual es de esperar, ésta disminuye rápidamente con la distancia. Obsérvese que algunas de las divergencias en la S/R pueden explicarse por una pequeña variación en la posición del tubo con respecto al eje Z (eje de propagación).

Se han obtenido también imágenes de los vasos sanguíneos de la oreja de un conejo *ex vivo* para evaluar el sistema en un escenario más realista. La Figura 3 muestra los resultados sin conformado y con conformado dinámico en un área escaneada de 1,2 x 0,6 cm, con un tamaño de paso de 50 µm. Una vez más, el post-procesamiento de conformado con focalización dinámica muestra una S/R notablemente mejor y una imagen más nítida en la que se pueden distinguir vasos de distintos tamaños, mientras que en la imagen sin conformar son apenas visibles.

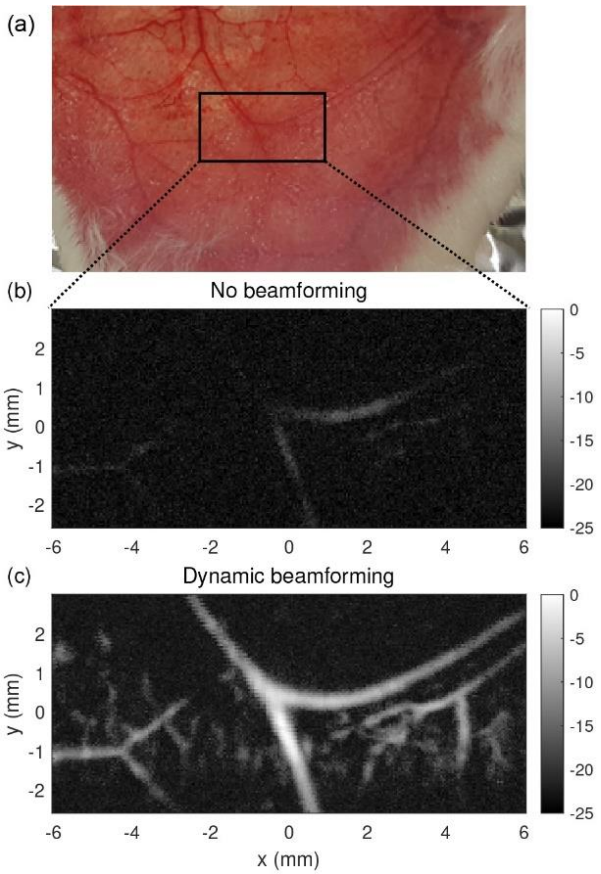


Figura 3. Imágenes 2D de los vasos sanguíneos de una oreja de conejo *ex vivo*. (a) Fotografía, donde el rectángulo indica el área escaneada. Imágenes de los resultados experimentales sin conformado (b) y con conformado dinámico (c).

4 Conclusiones

Se han utilizado métodos de conformado en un sistema OR-PAM basado en un *phase array* para evaluar su aplicabilidad para el escaneo de grandes áreas. Como fuente óptica se ha utilizado un PLD controlado por un módulo de voltaje combinado con un esquema óptico de dos lentes plano-convexas. La resolución lateral del sistema es 200x119 µm. Se adquirieron imágenes de tubos de polietileno rellenos de tinta china con fantomas que reproducen características de los tejidos reales. Se han comparado tres estrategias de conformado, llegando a la conclusión que la llamada focalización dinámica consigue mejor contraste y S/R por medio de ajustar las señales siguiendo un algoritmo de retardo y suma. Se han obtenido imágenes de los vasos sanguíneos de la oreja de un conejo para probar su aplicabilidad en órganos *ex vivo*. Aunque una limitación del sistema es el tiempo de escaneo, éste puede mejorarse radicalmente aumentando el PRF del sistema mediante técnicas de escaneo más rápidas, tales como las basadas en sistemas microelectromecánicos (SMEM) o espejos galvanométricos.

Agradecimientos

Esta investigación ha contado con el apoyo del Ministerio Español de Ciencia, Innovación y Universidades a través de la beca "Juan de la Cierva - Incorporación" (IJC2018-037897-I) y el programa "Proyectos I+D+i 2019" (PID2019-111436RB-C22). Acción cofinanciada por la Unión Europea a través del Programa Operativo del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) de la Comunitat

Valenciana 2014-2020 (IDIFEDER/2018/022). A.C. recibió el apoyo financiero de la Generalitat Valenciana y la Universidad Politécnica de Valencia a través de las becas APOSTD/2018/229 y programa PAID-10-19, respectivamente.

Referencias

[1] P. Beard, "Biomedical photoacoustic imaging," *Interface Focus*, vol. 1, no. 4, pp. 602–631, 2011.

[2] L. V Wang and J. Yao, "A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences," *Nat. Methods*, vol. 13, no. 8, p. 627, 2016.

[3] T. J. Allen, B. T. Cox, and P. C. Beard, "Generating photoacoustic signals using high-peak power pulsed laser diodes," in *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2005: The Sixth Conference on Biomedical Thermoacoustics, Optoacoustics, and Acousto-optics*, 2005, vol. 5697, pp. 233–242.

[4] M. Erfanzadeh and Q. Zhu, "Photoacoustic imaging with low-cost sources; A review," *Photoacoustics*, vol. 14, pp. 1–11, 2019.

[5] T. J. Allen, O. Ogunlade, E. Zhang, and P. C. Beard, "Large area laser scanning optical resolution photoacoustic microscopy using a fibre optic sensor," *Biomed. Opt. Express*, vol. 9, no. 2, pp. 650–660, 2018.

[6] R. Bitton, R. Zemp, J. Yen, L. V Wang, and K. K. Shung, "A 3-D high-frequency array based 16 channel photoacoustic microscopy system for in vivo micro-vascular imaging," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 28, no. 8, pp. 1190–1197, 2009.

[7] L. Song, K. I. Maslov, K. K. Shung, and L. V Wang, "Ultrasound-array-based real-time photoacoustic microscopy of human pulsatile dynamics in vivo," *J. Biomed. Opt.*, vol. 15, no. 2, p. 21303, 2010.

[8] P. Hajireza, W. Shi, P. Shao, S. Kerr, and R. J. Zemp, "Optical-resolution photoacoustic micro-endoscopy using image-guide fibers and fiber laser technology," in *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2011*, 2011, vol. 7899, p. 78990P.

[9] A. Hariri *et al.*, "Development of low-cost photoacoustic imaging systems using very low-energy pulsed laser diodes," *J. Biomed. Opt.*, vol. 22, no. 7, p. 75001, 2017.

[10] B. Yin, D. Xing, Y. Wang, Y. Zeng, Y. Tan, and Q. Chen, "Fast photoacoustic imaging system based on 320-element linear transducer array," *Phys. Med. Biol.*, vol. 49, no. 7, p. 1339, 2004.