

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200610041834.2

[51] Int. Cl.

G01N 15/00 (2006.01)

G01N 29/00 (2006.01)

A61B 8/00 (2006.01)

G06F 19/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 10 月 18 日

[11] 公开号 CN 1847824A

[22] 申请日 2006.2.27

[21] 申请号 200610041834.2

[71] 申请人 西安交通大学

地址 710049 陕西省西安市咸宁路 28 号

[72] 发明人 万明习 陈 红 李晓静 崔崤峣

[74] 专利代理机构 西安通大专利代理有限责任公司

代理人 李郑建

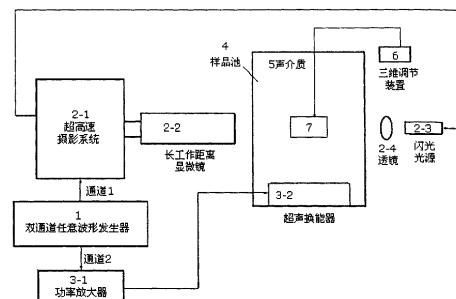
权利要求书 4 页 说明书 13 页 附图 7 页

[54] 发明名称

基于超高速摄影技术的超声场中微泡行为分析系统和方法

[57] 摘要

本发明公开了一种基于超高速摄影技术的生物医学超声场(包括医学诊断、控制药物释放、声化学反应、加热治疗、超声碎石以及高强度聚焦超声场)中微泡(空化微泡和造影微泡)行为分析的系统和方法。具体包括：提出了用于观察超声场中微泡群的超高速摄影系统以及用于观察单个微泡的显微超高速摄影系统；给出了分析微泡在自由场、组织附近、微管内行为的方法；并在对微泡群分析的基础上提出了控制微泡群产生和破裂的方法，在获得的单个微泡高速摄影图像的基础上提出了微泡应变估计的方法。



1. 一种基于超高速摄影技术的超声场中微泡群行为分析系统，其特征在于，该系统由声学子系统和光学子系统构成；

所述的声学子系统包括双通道任意波形发生器、功率放大器、超声换能器和三维调节装置；

双通道任意波形发生器的一个通道与功率放大器相连接，用于给置于玻璃水槽中的超声换能器提供激励信号，双通道任意波形发生器的另一个通道和光学子系统中的超高速摄影机相连，作为光学子系统中的高速摄影机的触发信号；通过调整这两个通道信号的延时，能够控制声场发射与拍摄的相对时间间隔，进而实现对整个系统的时序控制；

三维调节装置，用于控制放入声场内的组织夹持装置/流动控制装置观察目标的位置；

光学子系统由超高速摄影机、光源控制器、闪光光源组成；超高速摄影机通过光源控制器与闪光光源连接，闪光光源置于玻璃水槽的上方，将超声场观察区域置于超高速摄影机视野内；其中：

超高速摄影机，其镜头为普通照相机镜头，用于提供超声场中微泡的图像，该超高速摄影机能够提供 7 幅分帧图像和 1 幅条纹图像，条纹成像通道能够提供随时间/空间变化的图像序列；图像采集最大帧频为 $10^8 f/s$ ，且图像之间的时间间隔在允许范围内任意可调；

超高速摄影机和 PC 机相连，PC 机内有支持超高速摄影机的控制软件，用于完成图像采集与控制、图像处理和分析。

2. 一种基于超高速摄影技术的超声场中单个微泡行为分析系统，其特征在于，在权利要求 1 所述的系统上，采用以下措施即可构成观察单个微泡在超声场中行为的显微超高速摄影系统：

(1) 用长工作距离显微镜头代替普通照相机镜头，将观察的视野缩小为 2mm 左右，空间分辨率提高至 $1\mu m$ ；

(2) 在闪光光源前面放置凸透镜，且闪光光源的光纤位于凸透镜的焦点处，由此得到平行光；

(3) 调节长工作距离显微镜和光纤的高度和位置，使它们位于同一光轴上；

(4) 调解超声换能器的位置使观察区域位于长工作距离显微镜的视野内。

3. 一种观察并记录在超声作用下自由场中微泡行为的方法，其特征在于，采用权

利要求 1 或 2 所述的系统，分析微泡群或单个微泡的行为，其操作步骤如下：

- (1) 将水注入水槽中，当观察空化微泡时水槽中不放任何样本；观察包膜微泡时要将包膜微泡通过注射器注入水槽中，并静置一段时间待其分布均匀；
- (2) 改变水的除气程度以及包膜微泡的浓度，观察不同含气量下超声场中微泡的行为；
- (3) 改变双通道任意波形发生器的两个通道发射信号之间的时间间隔，拍摄不同时刻微泡的瞬态行为；
- (4) 改变功率放大器输出功率，获得不同功率下的自由场中微泡的行为记录；
- (5) 改变高速摄影机的曝光时间、帧间间隔，获得不同时间分辨率的超高速图像序列。

4. 一种观察并记录在超声作用下组织界面附近微泡行为的方法，采用权利要求 1 或 2 所述的系统，分析微泡群或单个微泡的行为，其操作步骤如下：

- (1) 将水注入水槽中，观察空化微泡时水槽中不放任何样本；观察包膜微泡时需要将包膜微泡通过注射器注入水槽中，并静置一段时间待其分布均匀；
- (2) 将生物组织固定在生物组织夹持装置中，并将此夹持装置固定于三维调节装置上，调节三维调节装置，精确控制组织样本在超声场中的相对位置；
- (3) 改变水的除气程度以及包膜微泡的浓度、改变组织在声场中的位置、双通道任意波形发生器两个通道发出信号的时间间隔、功率放大器发射功率、高速摄影机的曝光时间和帧间间隔，拍摄不同条件下组织界面处微泡的行为。

5. 一种观察并记录在超声作用下微管内微泡行为的方法，采用权利要求 1 或 2 所述的系统，分析微泡群或单个微泡的行为，所述的微管为透光透声的纤维管，用于模拟血管的作用，其操作步骤如下：

- (1) 将流动控制装置固定于三维调节装置上，调节三维调节装置，精确控制纤维管在超声场中的相对位置；
- (2) 将均匀的含有包膜微泡的溶液通过流动控制装置注入纤维管中，流动控制装置由注射器—外延管—纤维管—外延管连接构成，外延管选择内径与纤维管外径良好吻合的塑料软管，待溶液填充满纤维管，停止注入，静置直到液体静止；
- (3) 改变注射泵的流动速度、微泡的稀释比例、纤维管与高强度聚焦超声换能器的相对位置、双通道任意波形发生器两个通道发出信号的起始时刻的时间间隔、功率放大器发射功率、超高速摄影机的曝光时间和帧间间隔、以及纤维管位于声场中的位置，

拍摄不同条件下微管中微泡行为的高速摄影图像序列。

6. 一种将调频信号和调幅信号相结合来控制微泡群产生和破裂的方法，其特征在于，采用权利要求1所述的系统，在观察高强度聚焦超声自由场中微泡群的实验中，观察到高功率超声作用后，微泡群首先出现在焦域，并且在一段时间内稳定的分布于焦域，因此通过控制超声作用时间，使用高幅度的超声信号在超声焦域首先产生稳定的微泡群，在微泡群产生后，使用低幅的调频信号来破坏微泡群，进而实现控制微泡群、利用微泡破裂过程中产生的空化效应；其操作步骤如下：

(1) 采用自由场中观察微泡群的方法确定在高强度聚焦超声场中产生稳定微泡群时超声换能器输入功率的大小，以及稳定微泡群存在的时间，进而确定在高强度聚焦超声场焦域产生稳定微泡群对应的超声信号的幅度和作用时间；

(2) 按照(1)中确定的超声信号的幅度和持续时间产生微泡群，然后采用低幅度调频信号使之破裂。用超高速摄影系统记录微泡群破裂所需要的时间，进而得到低幅度调频信号使微泡群破裂对应的超声信号的幅度和持续时间；

(3) 结合上述步骤(1)和步骤(2)确定调幅和调频信号的参数，对微泡群的产生和破裂进行控制。

7. 一种微泡应变估计的方法，其特征在于，该方法首先对微泡显微超高速图像序列进行预处理，包括直方图均衡、微泡边缘提取、质心计算。其中，质心计算是由于微泡在超声场中的运动不仅包括形变，还分别有向x和y方向的平移运动，按照圆周拟合和椭圆拟合两种情况计算微泡半径与质心坐标；

进行以上预处理以后，采用基于遗传算法的相关反馈方法，对处理后的图像序列进行运动估计，其步骤如下：

首先采用基于遗传算法的非刚性体光流运动估计算法进行初始光流场迭代与运动参数的全局优化估计，得到初始光流场；具体实现方法是：

令 $P(x_p, y_p)$ 为非刚性体上一点， \vec{u}_p 是其速度矢量， $\vec{x}(x, y)$ 是点 P 邻域内任意一点，速度为 $u(u, v)$ ，根据非刚性体的亥姆霍兹理论和Horn与Schunck的光流约束方程：

$$\nabla f \cdot \vec{u}_p + \nabla f \cdot M(\vec{x} - \vec{x}_p) = -f_t \quad (1)$$

式中， ∇ 表示两维的空间梯度， f_t 是图像亮度的时间梯度，式(1)可看作是输入为 $\vec{u}_p(u_{px}, v_{py})$ 和 M ，输出为 $-f_t$ 的线性系统，如果已知非刚性体上运动微元内的亮度分布，即可计算每一点的时空亮度梯度，进而估计该过约束系统中的未知输入变量，获

得微元运动参数；

将非刚性体运动等效为若干共同运动的有限微元的总和，假设图像中大小为 $N \times N$ 的微元内运动是一致的，对于图像上一点 P ，其 $N \times N$ 邻域内每一点均符合式 (1)，构成包含六个未知变量、 $N \times N$ 个等式的线性系统，根据最小二乘法，希望下式最小：

$$\varepsilon^2 = \sum_{i=1}^{N \times N} [\nabla f' \cdot \vec{u}_P + \nabla f' \cdot M(\vec{x}' - \vec{x}_P) + f'_i]^2 \rightarrow \min \quad (2)$$

其中，上标 i 表示点 P 的 $N \times N$ 邻域内第 i 点，利用遗传算法解此优化问题，即可获得对 $\vec{u}_P(u_{px}, v_{py})$ 和 M 的估计；

基于遗传算法的相关反馈方法的第二步，是采用经典的相关反馈算法进行相关反馈迭代，计算包膜微泡运动位移矢量场，即可得到微泡形变运动矢量光流图，以及根据光流图得到的应变估计图。

基于超高速摄影技术的超声场中微泡行为分析系统和方法

技术领域

本发明涉及一种分析超声场中微泡行为的系统和方法,更具体的是一种利用超高速摄影技术分析在生物医学超声场中微泡群和单个微泡行为的系统和方法。

背景技术

超声场按照生物医学应用的不同包括医学诊断、控制药物释放、声化学反应、加热治疗、超声碎石以及高强度聚焦超声场等。空化微泡和包膜微泡在超声场中的动态特性是生物医学超声领域普遍关心的一个问题。

空化微泡是由于声空化产生的。声空化可以定义为充有气体或水蒸气的空腔在超声场作用下发生振荡的任何现象,其在超声的应用中发挥着重要作用。空化可以由于温度的升高和施加机械力来影响生物系统,还可以通过产生自由基引起化学变化。猛烈的声空化会引起高热和更大的机械力,可能给组织造成严重的损伤和破坏。即使是在诊断超声的低剂量水平,也不能排除空化微泡的生物效应。在超声碎石过程中,空化微泡是破碎结石的主要作用力。高强度聚焦超声的出现使对空化的研究更加成为热点。因此对于超声空化微泡行为的分析不仅有助于揭示其作用的机理,更重要的是这方面的研究将可能使控制空化,进而利用空化成为可能。

包膜微泡是一种直径小于 10 微米,由油、脂质体、聚合物、蛋白质等包膜包裹高分子惰性气体形成的气泡。它是生物医学超声研究领域内的另一个热点,尤其是诊断超声、控制药物释放和高强度聚焦超声研究领域的前沿课题。这种微泡能够增强超声检测图像的分辨率,因此已经被广泛应用于临床超声诊断。而包膜中携带药物后,包膜微泡就具有造影和药物包裹双重功能,被用于超声包膜微泡介导的靶向药物释放,参见中国发明专利《超声微泡包膜微泡定位控释方法》CN200410021905.3 (公开日 2005 年 1 月 5 日,公开号 CN1559615)。已有研究提示使用高强度聚焦超声联用超声包膜微泡的方法不仅能够监控超声的治疗效果,而且能协同增加能量积聚,增加靶区温度升高速度和幅度,缩短治疗时间。对于包膜微泡行为的分析将为开发包膜微泡的应用提供依据,为新的治疗方案的提出提供参考。

空化微泡和包膜微泡在一般情况下直径都是微米级,因此可以统称为微泡。两者从物理特性上讲具有共同点,即都是气泡。区别在于空化微泡是自由气泡,而包膜微泡是

有一层膜包裹的气泡。空化微泡的行为与包膜微泡的行为非常类似，都具有很强的散射特性，非线性特性，而且在超声作用下都会展现出复杂而又有趣的动态现象。在光学上可以使用相同的方法对它们的行为进行分析。

超高速摄影技术已经被应用于诊断超声场中包膜微泡、超声碎石场中空化微泡、声化学反应器中空化微泡群以及高强度聚焦超声场中空化微泡群的研究中。美国 Ferrara 小组和荷兰的 Nico de Jong 小组通过将高速摄影机与倒置显微镜相结合来研究包膜微泡在诊断超声场作用下的运动特征；美国 L. A. Crum 小组用高速摄影机拍摄了空化碎石过程中空化微泡群的行为；德国 W. Lauterborn 小组将高速摄影机与长工作距离显微镜结合研究生化学反应器中空化微泡群的结构特征；日本 Matsumoto 小组使用显微超高速摄影系统观察了高强度聚焦超声场中高频和低频超声相结合控制石头附近空化微泡群破裂的过程。但是还有很多领域有待于进一步的研究，比如：组织界面附近包膜微泡的行为、超声控制药物释放过程中微泡的动态变化过程、高强度聚焦超声场中血管内微泡的行为等等。据申请人的调研，目前国内还没有关于用超高速摄影系统分析生物医学超声场中微泡行为的相关文章和专利。

发明内容

本发明的目的在于，提出一种基于超高速摄影技术的生物医学超声场中微泡（空化微泡和造影微泡）行为分析的系统和方法。该系统采用超高速摄影技术观察微泡群的在超声场中的行为，采用显微超高速摄影技术观察单个微泡在超声场中行为；并提供了分析微泡群和单个微泡在自由场、组织附近、微管内行为的方法；在分析的基础上提出了控制微泡群产生和破裂的方法以及微泡应变估计的方法。

为了实现上述任务，本发明采取如下的技术解决方案：

一种基于超高速摄影技术的超声场中微泡行为分析系统，其特征在于，该系统由声学子系统和光学子系统构成；

所述的声学子系统包括双通道任意波形发生器、功率放大器、超声换能器和三维调节装置；

双通道任意波形发生器的一个通道与功率放大器相连接，用于给置于玻璃水槽中的超声换能器提供激励信号，双通道任意波形发生器的另一个通道和光学子系统中的超高速摄影机相连，作为光学子系统中的高速摄影机的触发信号；通过调整这两个通道信号的延时，能够控制声场发射与拍摄的相对时间间隔，进而实现对整个系统的时序控制；

三维调节装置，用于控制放入声场内的组织夹持装置/流动控制装置观察目标的位

置；

光学子系统由超高速摄影机、光源控制器、闪光光源组成；超高速摄影机通过光源控制器与闪光光源连接，闪光光源置于玻璃水槽的上方，将超声换能器的位置置于超高速摄影机工作距离显微镜视野内；其中：

超高速摄影机，其镜头为普通照相机镜头，用于提供超声场中微泡群的图像，该超高速摄影机能够提供 7 幅分帧图像和 1 幅条纹图像，条纹成像通道能够提供随时间/空间变化的图像序列；图像采集最大帧频为 $10^8 f/s$ ，且图像之间的时间间隔在允许范围内任意可调；

超高速摄影机和 PC 机相连，PC 机内有支持超高速摄影机的控制软件，用于完成图像采集与控制、图像处理和分析。

在上述系统上，采用以下措施即可构成观察单个微泡在超声场中行为的显微超高速摄影系统：

- (1) 用长工作距离显微镜头代替普通照相机镜头，将观察的视野缩小为 2mm 左右，空间分辨率提高至 $1\mu\text{m}$ ；
- (2) 在闪光光源前面放置凸透镜，且闪光光源的光纤位于凸透镜的焦点处，由此得到平行光；
- (3) 调节长工作距离显微镜和光纤的高度和位置，使它们位于同一光轴上；
- (4) 调解超声换能器的位置使观察区域位于长工作距离显微镜的视野内。

一种观察并记录在超声作用下自由场中微泡行为的方法，其特征在于，采用上述系统，分析微泡群或单个微泡的行为，其操作步骤如下：

- (1) 将水注入水槽中，当观察空化微泡时水槽中不放任何样本；观察包膜微泡时要将包膜微泡通过注射器注入水槽中，并静置一段时间待其分布均匀；
- (2) 改变水的除气程度以及包膜微泡的浓度，观察不同含气量下超声场中微泡的行为；
- (3) 改变双通道任意波形发生器的两个通道发射信号之间的时间间隔，拍摄不同时刻微泡的瞬态行为；
- (4) 改变功率放大器输出功率，获得不同功率下的自由场中微泡的行为记录；
- (5) 改变高速摄影机的曝光时间、帧间间隔，获得不同时间分辨率的超高速图像序列。

一种观察并记录在超声作用下组织界面附近微泡行为的方法，采用上述系统，分析

微泡群或单个微泡的行为，其操作步骤如下：

- (1) 将水注入水槽中，观察空化微泡时水槽中不放任何样本；观察包膜微泡时需要将包膜微泡通过注射器注入水槽中，并静置一段时间待其分布均匀；
- (2) 将生物组织固定在生物组织夹持装置中，并将此夹持装置固定于三维调节装置上，调节三维调节装置，精确控制组织样本在声场中的相对位置；
- (3) 改变水的除气程度以及包膜微泡的浓度、改变组织在声场中的位置、双通道任意波形发生器两个通道发出信号的时间间隔、功率放大器发射功率、高速摄影机的曝光时间和帧间间隔，拍摄不同条件下组织界面处微泡的行为。

一种观察并记录在超声作用下微管内微泡行为的方法，上述系统，分析微泡群或单个微泡的行为，所述的微管为透光透声的纤维管，用于模拟血管的作用，其操作步骤如下：

- (1) 将流动控制装置固定于三维调节装置上，调节三维调节装置，精确控制纤维管在超声场中的相对位置；
- (2) 将均匀的含有包膜微泡的溶液通过流动控制装置注入纤维管中，流动控制装置由注射器—外延管—纤维管—外延管连接构成，外延管选择内径与纤维管外径良好吻合的塑料软管，待溶液填充满纤维管，停止注入，静置直到液体静止；
- (3) 改变注射泵的流动速度、微泡的稀释比例、纤维管与高强度聚焦超声换能器的相对位置、双通道任意波形发生器两个通道发出信号的起始时刻的时间间隔、功率放大器发射功率、超高速摄影机的曝光时间和帧间间隔、以及纤维管位于声场中的位置，拍摄不同条件下微管中微泡行为的高速摄影图像序列。

一种将调频信号和调幅信号相结合来控制微泡群产生和破裂的方法，其特征在于，采用上述系统，在观察高强度聚焦超声自由场中微泡群的实验中，观察到高功率超声作用后，微泡群首先出现在焦域，并且在一段时间内稳定的分布于焦域，通过控制超声作用时间，使用高幅度的超声信号在超声焦域首先产生稳定的微泡群，在微泡群产生后，使用低幅的调频信号来破坏微泡群，控制微泡群、利用微泡破裂过程中产生的空化效应；其操作步骤如下：

- (1) 采用自由场中确定在高强度聚焦超声场中产生稳定微泡群时超声换能器输入功率的大小，以及稳定微泡群存在的时间，进而确定在高强度聚焦超声场焦域产生稳定微泡群对应的超声信号的幅度和作用时间；
- (2) 按照(1)中确定的超声信号的幅度和持续时间产生微泡群，然后采用低幅度

调频信号使之破裂。用超高速摄影系统记录微泡群破裂所需要的时间，进而得到低幅度调频信号使微泡群破裂对应的超声信号的幅度和持续时间；

(3) 结合上述步骤(1)和步骤(2)确定调幅和调频信号的参数，对微泡群的产生和破裂进行控制。

一种微泡应变估计的方法，其特征在于，该方法首先对微泡显微超高速图像序列进行预处理，包括直方图均衡、微泡边缘提取、质心计算。其中，质心计算是由于微泡在超声场中的运动不仅包括形变，还分别有向 x 和 y 方向的平移运动，按照圆周拟合和椭圆拟合两种情况计算微泡半径与质心坐标；

进行以上预处理以后，采用基于遗传算法的相关反馈方法，对处理后的图像序列进行运动估计，其步骤如下：

首先采用基于遗传算法的非刚性体光流运动估计算法进行初始光流场迭代与运动参数的全局优化估计，得到初始光流场；具体实现方法是：

令 $P(x_p, y_p)$ 为非刚性体上一点， \vec{u}_p 是其速度矢量， $\vec{x}(x, y)$ 是点 P 邻域内任意一点，速度为 $u(u, v)$ ，根据非刚性体的亥姆霍兹理论和 Horn 与 Schunck 的光流约束方程：

$$\nabla f \cdot \vec{u}_p + \nabla f \cdot M(\vec{x} - \vec{x}_p) = -f_t \quad (1)$$

式中， ∇ 表示二维的空间梯度， f_t 是图像亮度的时间梯度，式(1)可看作是输入为 $\vec{u}_p(u_{px}, v_{py})$ 和 M ，输出为 $-f_t$ 的线性系统，如果已知非刚性体上运动微元内的亮度分布，即可计算每一点的时空亮度梯度，进而估计该过约束系统中的未知输入变量，获得微元运动参数；

将非刚性体运动等效为若干共同运动的有限微元的总和，假设图像中大小为 $N \times N$ 的微元内运动是一致的，对于图像上一点 P ，其 $N \times N$ 邻域内每一点均符合式(1)，构成包含六个未知变量、 $N \times N$ 个等式的线性系统，根据最小二乘法，希望下式最小：

$$\varepsilon^2 = \sum_{i=1}^{N \times N} [\nabla f^i \cdot \vec{u}_p + \nabla f^i \cdot M(\vec{x}^i - \vec{x}_p) + f_t^i]^2 \rightarrow \min \quad (2)$$

其中，上标 i 表示点 P 的 $N \times N$ 邻域内第 i 点，利用遗传算法解此优化问题，即可获得对 $\vec{u}_p(u_{px}, v_{py})$ 和 M 的估计；

基于遗传算法的相关反馈方法的第二步，是采用经典的相关反馈算法进行相关反馈迭代，计算包膜微泡运动位移矢量场，即可得到微泡形变运动矢量光流图，以及根据光

流图得到的应变估计图。

本发明与现有技术相比，具有下列优点：

1) 与传统微泡检测的声学方法相比较，本发明提出的用超高速摄影技术观察超声场中微泡群和单个微泡的方法更加直观、准确性更高。获得的结果可以与声学检测的结果相结合，使对微泡行为的分析更加全面，同时为探索超声治疗过程中微泡的生物效应提供依据。

2) 本发明采用的超高速摄影系统，帧频最高可达到 10^8 f/s。用于记录高频超声作用下微泡的非线性瞬态特性，具有高时间分辨率、灵敏性强的特点。可以记录几十纳秒时间段内微泡的行为。这样的时间分辨率是目前国内相同领域内其它系统所达不到的。

3) 本发明采用双通道任意波形发生器来控制声学与光学的同步，实现对整个系统的时序控制。与一般使用的延时发生器相比简单易行，准确度高。

4) 本发明提出了的分析自由场中微泡行为的方法对于认识微泡在超声场中的作用机理提供了手段，为理论仿真提供了重要依据，并且为新的超声治疗方案的提出提供了参考。

5) 本发明提出的用分析组织界面处微泡的方法，除了具有 4) 中叙述的优点之外，还为研究微泡与组织的作用机理提供了手段。

6) 本发明提出的分析微管内微泡的方法，提供了研究血管内微泡行为的一种仿体实验方法，除了 4) 中叙述的相同优点之外，还为研究血管内微泡的生物效应提供一种手段。

7) 本发明提出的将调频信号和调幅信号相结合的方法，为控制微泡群的产生和破裂，进而利用微泡的空化效应提供了一种方案。

8) 本发明提出的利用基于遗传算法的相关反馈 (GACF) 方法计算微泡的位移分布矢量，进而得到其应变分布图像的方法，考虑到微泡在声压作用下的位移，对于微小位移运动估计具有良好的精确性，应用范围广泛。同时，为更进一步计算微泡的弹性特性提供了方法。

附图说明

图 1 是本发明提出的用于分析超声场中微泡群行为的超高速摄影系统结构示意图。

图 2 是本发明第二方面提出的用于分析超声场中单个微泡行为的显微超高速摄影系统结构示意图。

图 3 是本发明第四方面提出的分析超声场中组织界面附近微泡行为的方法中使用

的生物组织夹持装置的主视图和俯视图。

图 4 是本发明第五方面提出的分析超声场中微管内微泡行为的方法中使用的流动控制装置结构示意图。

图 5 是超高速摄影系统拍摄的整个声场中空化微泡群的随时间变化的图像序列。

图 6 是超高速摄影系统拍摄的组织界面附近空化微泡群的图像序列。

图 7 是调频与调幅相结合的用于微泡群控制的信号序列示意图。

图 8 是显微超高速摄影系统拍摄的图像序列中的两帧原始图像。

图 9 是经过直方图均衡和边缘提取之后的显微高速摄影图像。

图 10 (a) 是提供参考的经过预处理的图像 (b) 是根据图 8 中的两帧图像得到的光流图 (c) 是相应的应变估计灰度图。

为了更清楚的理解本发明, 以下结合附图和发明人给出的实施方式作进一步的详细说明。

具体实施方式

依照本发明的技术方案, 一种利用超高速摄影技术分析超声场中微泡行为的系统, 该系统由声学子系统和光学子系统构成。

声学子系统包括双通道任意波形发生器, 功率放大器, 超声换能器与三维调节装置。双通道任意波形发生器的一个通道与功率放大器相连接, 提供超声换能器的激励信号, 另一个通道和超高速摄影机相连, 作为高速摄影机的触发信号。通过调整这两个信号的延时可以控制声场发射与拍摄的相对时间间隔, 进而实现对整个系统的时序控制。超声换能器置于玻璃水槽中。三维调节装置用于精确控制放入声场内的观察目标的位置。

光学子系统包括一台超高速摄影机及其控制系统、闪光光源、普通照相机镜头。该高速摄影机能提供 7 幅分帧 (framing) 图像和 1 幅条纹 (streak) 图像, 图像采集最大帧频为 $10^8 f/s$, 且以上每幅图像之间的时间间隔在允许范围内任意可调。条纹成像通道可以提供随时间/空间变化的图像序列。对超高速摄影机的控制通过一套控制软件实现, 可以完成图像采集与控制、图像处理和分析。该光学子系统还配有高强度的闪光光源。

在上述系统的基础上, 采用以下措施即可构成观察单个微泡在超声场中行为的显微超高速摄影系统:

(1) 用长工作距离显微镜头代替普通照相机镜头, 将观察的视野缩小为 2mm 左右, 空间分辨率提高到 $1\mu\text{m}$ 左右。

(2) 在光纤前面放置凸面镜, 且光纤的出光口位于该透镜的焦点处得到平行光。

(3) 调节长工作距离显微镜和光纤的高度和位置，使它们位于同一光轴上。

(4) 调解超声换能器的位置使观察区域位于长工作距离显微镜的视野内。

以上整套系统全部放置在蜂窝式气垫隔振平台上。这样可以避免在实施过程中已经对准焦点的光学和声学系统以及微泡本身受到外界振动的干扰，影响结果的精确度。

在上述提出的系统的基础上，本发明给出一种观察并记录在超声作用下自由场中微泡（微泡群和单个微泡）行为的方法。该方法具体操作步骤如下：

(1) 将水注入水槽中。观察空化微泡时水槽中不放任何样本；观察包膜微泡时要将包膜微泡通过注射器注入水槽中，并静置一段时间待其分布均匀。

(2) 利用第一方面提出的超高速摄影系统分析微泡群的行为，用第二方面提出的显微超高速摄影系统分析单个微泡的行为。

(3) 改变水的除气程度以及包膜微泡的浓度，观察不同含气量下超声场中微泡的行为。

(4) 改变双通道任意波形发生器的两个通道发射信号之间的时间间隔，拍摄不同时刻微泡的瞬态行为。

(5) 改变功率放大器输出功率，获得不同功率下的自由场中微泡的行为记录。

(6) 改变高速摄影机的曝光时间、帧间间隔，获得不同时间分辨率的超高速图像序列。

在上述提出的系统的基础上，本发明给出一种观察并记录在超声作用下组织界面附近微泡（微泡群和单个微泡）行为的方法。具体操作步骤如下：

(1) 将水注入水槽中。观察空化微泡时水槽中不放任何样本；观察包膜微泡时需要将包膜微泡通过注射器注入水槽中，并静置一段时间待其分布均匀。

(2) 将生物组织固定在生物组织夹持装置中，并将此夹持装置固定于三维调节装置上。调节三维调节装置，精确控制组织样本在超声场中的相对位置。

(3) 利用上述超高速摄影系统和显微超高速摄影系统分析微泡群和单个微泡的行为。

(4) 改变水的除气程度以及包膜微泡的浓度、改变组织在声场中的位置、双通道任意波形发生器两个通道发出信号的时间间隔、功率放大器发射功率、高速摄影机的曝光时间和帧间间隔，拍摄不同条件下组织界面处微泡的行为。

在上述提出的系统的基础上，本发明还给出一种观察并记录在超声作用下微管内微泡（微泡群和单个微泡）行为的方法。这里的微管起到模拟血管的作用，使用的是透光

透声的纤维管。其操作步骤如下：

(1) 将流动控制装置固定于三维调节装置上。调节三维调节装置，精确控制纤维管在超声场中的相对位置。

(2) 将均匀的含有包膜微泡的溶液通过流动控制装置注入纤维管中，流动控制装置由注射器—外延管—纤维管—外延管连接构成，外延管选择内径与纤维管外径可以良好吻合的塑料软管，作用是避免注射器针头在推注微泡过程中损伤半径较小的纤维管管壁，同时也具有良好的灵活性，方便与水槽外部注射器的连通。待溶液填充满纤维管，停止注入，静置直到液体静止。

(3) 利用上述超高速摄影系统和显微超高速摄影系统分析微泡群和单个微泡的行为。

(4) 改变注射泵的流动速度、微泡的稀释比例、纤维管与高强度聚焦超声换能器的相对位置、双通道任意波形发生器两个通道发出信号的起始时刻的时间间隔、功率放大器发射功率、超高速摄影机的曝光时间和帧间间隔、以及纤维管位于声场中的位置，拍摄不同条件下微管中微泡行为的高速摄影图像序列。

根据对自由场中微泡群的分析结果，提出一种将调频信号和调幅信号相结合来控制微泡群产生和破裂的方法。

在观察高强度聚焦超声自由场中微泡群的实验中，观察到高功率超声作用后，微泡群首先出现在焦域，并且在一段时间内稳定的分布于焦域。因此可以通过控制超声作用时间，使用高幅度的超声信号在超声焦域首先产生稳定的微泡群。在微泡群产生后，使用低幅的调频信号来破坏微泡群，这样就可以控制微泡群、利用微泡破裂过程中产生的空化效应。

本方法操作步骤如下：

(1) 采用本发明提出的自由场中微泡群行为分析的方法，确定在高强度聚焦超声场中产生稳定微泡群时超声换能器输入功率的大小，以及稳定微泡群存在的时间，进而确定在高强度聚焦超声场焦域产生稳定微泡群对应的超声信号的幅度和作用时间。

(2) 按照(1)中确定的超声信号的幅度和持续时间产生微泡群，然后采用低幅度调频信号使之破裂。用超高速摄影系统记录微泡群破裂所需要的时间，进而得到低幅度调频信号使微泡群破裂对应的超声信号的幅度和持续时间。

(3) 结合(1)和(2)就可以确定调幅和调频信号的参数。利用这种方法可以实现对微泡群的产生和破裂的控制。

一种对获得的显微高速摄影图像序列进行图像处理，从而得到微泡应变估计的方法，该方法对在获得的单个微泡高速摄影图片的基础上首先对微泡显微超高速图像序列进行预处理，包括直方图均衡、微泡边缘提取、质心计算。其中，质心计算是由于微泡在超声场中的运动不仅包括形变，还分别有向 x 和 y 方向的平移运动。本方法中主要按照圆周拟合和椭圆拟合两种情况计算微泡半径与质心坐标。

进行以上预处理以后，采用基于遗传算法的相关反馈方法(Genetic Algorithm Based Correlation Feedback Technique, GACF)，对处理后的图像序列进行运动估计：

基于遗传算法的相关反馈方法 (GACF)，首先采用基于遗传算法的非刚性体光流运动估计(Genetic Algorithm Based Optical Flow Estimation, GAOF)算法进行初始光流场迭代与运动参数的全局优化估计 (进化 5~10 次)，得到初始光流场。具体实现方法：令 $P(x_p, y_p)$ 为非刚性体上一点， \vec{u}_p 是其速度矢量， $\vec{x}(x, y)$ 是点 P 邻域内任意一点，速度为 $u(u, v)$ 。根据非刚性体的亥姆霍兹理论(Helmholtz Theorem)和 Horn 与 Schunck 的光流约束方程：，

$$\nabla f \cdot \vec{u}_p + \nabla f \cdot M(\vec{x} - \vec{x}_p) = -f_t \quad (1)$$

式中， ∇ 表示二维的空间梯度， f_t 是图像亮度的时间梯度。式(1)可看作是输入为 $\vec{u}_p(u_{px}, v_{py})$ 和 M ，输出为 $-f_t$ 的线性系统，如果已知非刚性体上运动微元内的亮度分布，即可计算每一点的时空亮度梯度，进而估计该过约束系统(Overconstrained System)中的未知输入变量，获得微元运动参数。

微泡的运动一般认为是非刚性的，我们将非刚性体运动等效为若干共同运动的有限微元的总和。假设图像中大小为 $N \times N$ 的微元内运动是一致的，对于图像上一点 P ，其 $N \times N$ 邻域内每一点均符合式(1)，构成包含六个未知变量、 $N \times N$ 个等式的线性系统。根据最小二乘法，希望下式最小：

$$\varepsilon^2 = \sum_{i=1}^{N \times N} [\nabla f^i \cdot \vec{u}_p + \nabla f^i \cdot M(\vec{x}^i - \vec{x}_p) + f_t^i]^2 \rightarrow \min \quad (2)$$

其中，上标 i 表示点 P 的 $N \times N$ 邻域内第 i 点。利用遗传算法解此优化问题，可获得对 $\vec{u}_p(u_{px}, v_{py})$ 和 M 的估计。

基于遗传算法的相关反馈方法的第二步，是采用经典的相关反馈算法进行相关反馈迭代，计算包膜微泡运动位移矢量场。可以得到微泡形变运动矢量光流图，以及根据光

流图得到的应变估计图。

参见附图, 图 1 是用于分析超声场中微泡群行为的超高速摄影系统结构示意图, 由超高速摄影系统、光源控制器、闪光光源、双通道任意波形发生器, 功率放大器, 超声换能器, 样品池, 三维调节装置组成。在分析组织界面处以及微管中空化微泡群的行为时, 需要将组织夹持装置和流动控制装置固定于三维调节装置上, 并放置于样品池中虚线框所示的位置。

由图 2 可见, 用于分析单个微泡的实验系统由双通道任意波形发生器 1, 光学成像系统 2, 声学发生系统 3, 样品池 4, 声介质 5, 三维调节装置 6 组成。图中的标号 7 表示放置组织夹持装置和流动控制装置的位置。其中, 光学成像系统包括: 超高速摄影系统 2-1, 长工作距离显微镜 2-2, 闪光光源 2-3, 透镜 2-4; 声学发生系统由功率放大器 3-1, 超声换能器 3-2 构成。整个系统置于蜂窝式气垫隔振平台上。

由于这两套系统只有在光学系统上有一些差别, 因此对于它们的实施方式在这里一起介绍。双通道任意波形发生器选用 Tektronix 公司的 AWG420。光学成像系统中, 超高速摄影系统选用英国 DRS Hadland 公司的 Imacon 468, 它是一套基于多倍增强 CCD 模块的高时间和空间分辨率数字成像系统, 能提供统一光轴的 7 幅分帧(framing)图像和 1 幅条纹(streak)图像, 其最显著的指标是图像采集最小帧频为 10^8 f/s , 且以上 7 个通道之间的时间间隔在允许范围内任意可调。Streak 通道可以提供一个时间/空间的记录, 它能给出被观察事件的一个总体图像, 将 framing 方式各帧之间没有记录的情况记录下来。Streak 通道的采集时间范围从 $100\text{ns} \sim 100\mu\text{s}$, 其移动速率是 $7.82\text{ns/mm} \sim 7.8\mu\text{sec/mm}$, 采集速率为 $0.173\text{nsecs/pixel} \sim 173\text{nsecs/pixel}$ 。图像采集与控制功能由带有两个 17" 纯平显示器的 PC 计算机和相应软件包完成。电缆包括有长度为 10m 长的光纤, 光纤成像板和插入装置, 操作手柄和传输器。另外配有高 1.8m 的支架, 500J/ 1.5ms 的氙灯闪光光源及其功率控制与调节装置和闪光光源光纤适配器。闪光光源入射光路上加一透镜, 用于将光源发射的发散光转化为平行光。长工作距离显微镜选用美国 QUESTAR 公司的 QM100, 焦距在 15cm 到 35.5cm 范围内可调。普通照相机镜头采用 Nikon 公司的 Nikkor 50mmf/1.4D。声学发生系统中, 功率放大器选用美国 T&G Power Conversion 公司的 AG1016; 高强度聚焦超声(超声)换能器采用法国 Besancon 公司制造的 Imasonic 单阵元高强度聚焦超声换能器, 该换能器中心频率为 1.2 MHz、孔径 140 m、几何焦距 120 mm, 焦域大小经测量为 9.0 mm (纵向) \times 1.5 mm (横向)。在 1.2 MHz 的频率下, 超声换能器的电声转换效率是 75%。样品池为 25 cm (长) \times 25 cm (宽) \times 35 cm (高)

的玻璃水槽。声介质在不同的方法中采用不同的液体，本发明中主要用非除气水。三维调节装置是由日本 Suruga Seiki Co.LTD 公司生产的。蜂窝式气垫隔振平台也是由日本 Suruga Seiki Co.LTD 公司生产，隔振精度为垂直方向 1.1Hz，水平方向 0.8Hz。

图 3 为生物组织夹持装置的主视图 8 和俯视图 9，前后面板的中部分别是 20mm×20mm 的矩形透声窗，避免对声场产生影响。

图 4 可见流动控制装置的结构示意图，由注射器 10，外延管 11，纤维管 12 和支架 13 构成。其中纤维管为 400-008 (Spectrum Labs, US)，其内径为 200um、壁厚为 8um。外延管选用 900-0300(ID: 0.38 mm, OD: 1.09mm)，套在 400-008 两端，露出中间约 10cm 长度，并且两端连接部分固定。套好的微管装在一个特制的 U 形或丫形支架上。支架后部的杆与三维调节装置相连接。

以下是发明人给出的实施例，但并不局限于这些实施例。

实施例 1：用超高速摄影系统观察超声场中微泡群的行为

- 1) 参考图 1，调整水槽的位置，使感兴趣区域位于高速摄影机的视野内。
- 2) 采用非除气水作为声介质，观察包膜微泡时需要在水中注入包膜微泡（例如声诺维）。对超声场中组织附近微泡群行为分析还需要将生物组织固定在夹持装置中（参考图 3），并将此夹持装置固定于三维调节装置上，调节其在声场中的位置。对超声场中微管内微泡群行为分，则需要将均匀的含有包膜微泡的溶液通过流动控制装置注入纤维管中。
- 3) 超高速摄影系统的参数设置为：曝光时间 10μs，帧间时间 200μs，拍摄的 7 幅分帧图像覆盖的时间段长度为 1.2ms。调节功率放大器使得输出给高强度聚焦超声换能器的功率为 100W。
- 4) 双通道任意波形发生器的通道 1 产生脉冲信号，用于触发超高速摄影系统，通道 2 产生频率为 1.2 MHz 的正弦信号，输出给功率放大器。初始时刻两信号同步发射，通道 1 延迟为 0μs。可以采集到高强度聚焦超声场中超声开始作用 0~1.2ms 内微泡行为的显微高速图像序列。
- 5) 将任意波形发生器通道 1 的信号延迟 1.2ms，再次触发，可以获得超声作用 1.2ms 到 2.4ms 内微泡行为的显微超高速图像序列。再增加延迟时间，可以获得下一个 1.2ms 内的结果，如此循环，可以获得需要时间长度内的所有的图像序列。图 5 就是用这种方法拍摄的整个声场中的空化微泡群的分布随时间变化的序列。图 6 是拍摄的组织界面处空化微泡群分布的图像序列。

6) 在具体实施中,可以根据实际需要改变曝光时间,帧间时间等参数。例如,要分析一个周期内微泡群的空间时间特性,那么参数的选择可以为:曝光时间 10ns,帧间时间 90ns,等效帧频 10MHz。

7) 研究不同条件对微泡群特性的影响:改变功率放大器的输出功率、水的除气程度、包膜微泡的浓度等,结合(3)、(4)、(5)三步,采集不同条件下微泡行为的高速摄影图像序列。

观察单个微泡的行为时,只需要将实验系统换为显微高速摄影系统,然后按照步骤(2)~步骤(7)进行操作。

实施例 2: 调频调幅相结合控制微泡群的产生和破裂

超声换能器使用高强度聚焦超声换能器。改变图 1 中双通道任意波形发生器通道 2 的输出信号,由单频的正弦信号变为调频调幅相结合的正弦信号,如图 7 所示。在图中的信号序列中,首先用高幅单频正弦信号在目标介质中产生仅位于高强度聚焦超声场焦域内的空化微泡群,接着用低幅的调频正弦信号使空化微泡破裂,从而达到控制空化的目的。具体步骤如下:

1) 采用实施例 1 中的方法,确定在焦域产生稳定微泡群时超声信号的功率和稳定微泡群存在的时间长度。

2) 按照(1)中确定的超声信号的幅度和时间先产生空化微泡,再采用低幅度调频信号(调频范围 840KHz~1.56MHz)使之破裂,记录使产生的空化微泡破裂所需要的时间,进而得到使空化微泡破裂所需的低幅度调频信号的幅度和作用时间。

3) 结合(1)和(2)确定调幅和调频信号的参数,得到图 7 所示的调频与调幅相结合的正弦波用于控制微泡群的产生和破裂。

实施例 3: 基于显微高速摄影图像序列的单个微泡应变估计

采用实施例 1 介绍的方法,获得显微高速摄影图像序列,取出其中的两帧(参考图 8)对其进行预处理,包括直方图均衡、边缘提取,可以得到图 9 所示的结果。对图 9 中的结果进行椭圆拟和得到相应的质心位置,并使用基于遗传算法的相关反馈算法处理,可以得到微泡的质心位移,以及相应的微泡运动光流图(图 10(b))以及应变估计灰度图(图 10(c))。

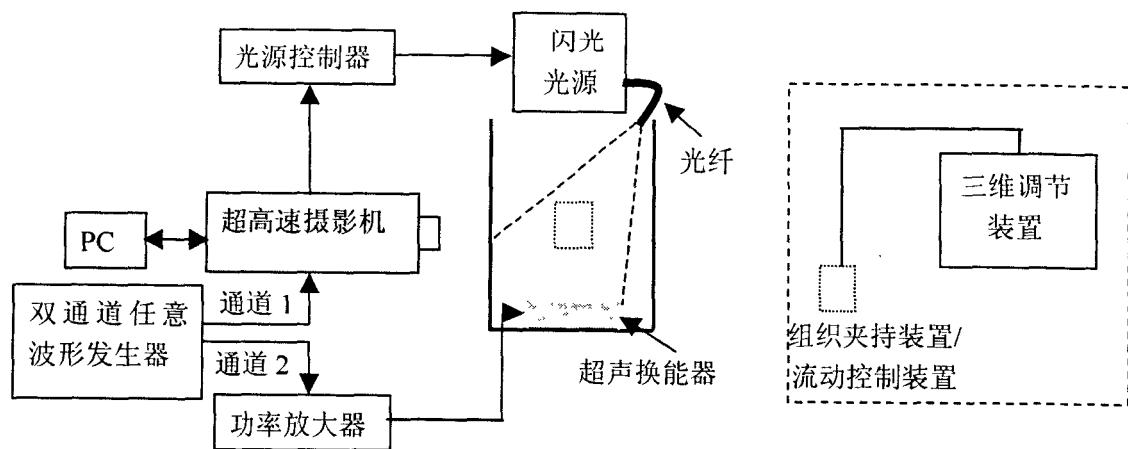


图 1

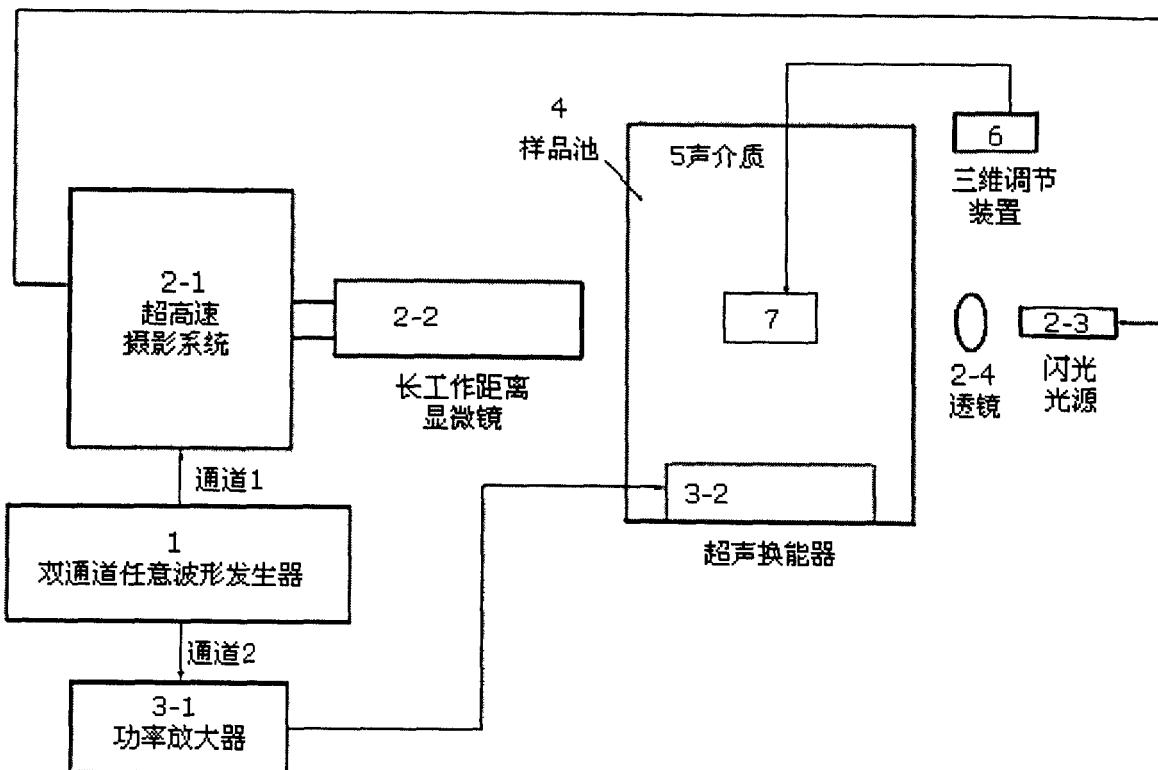


图 2

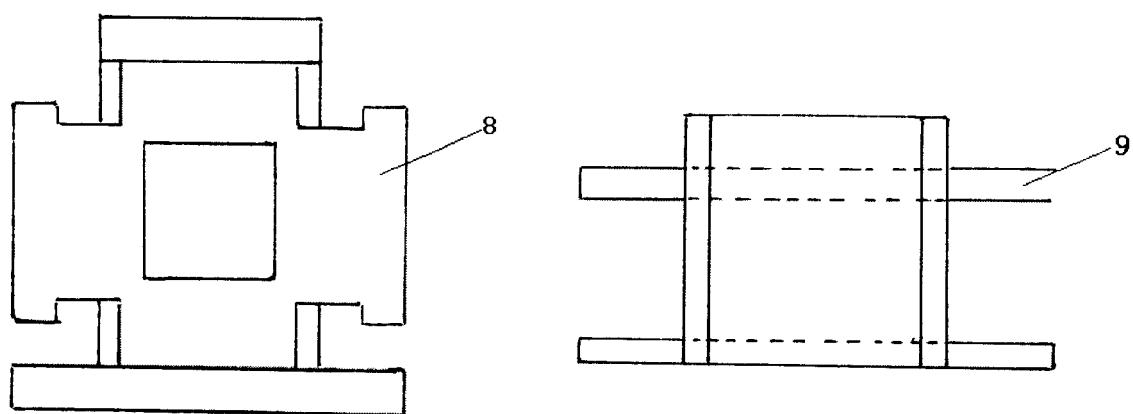


图 3

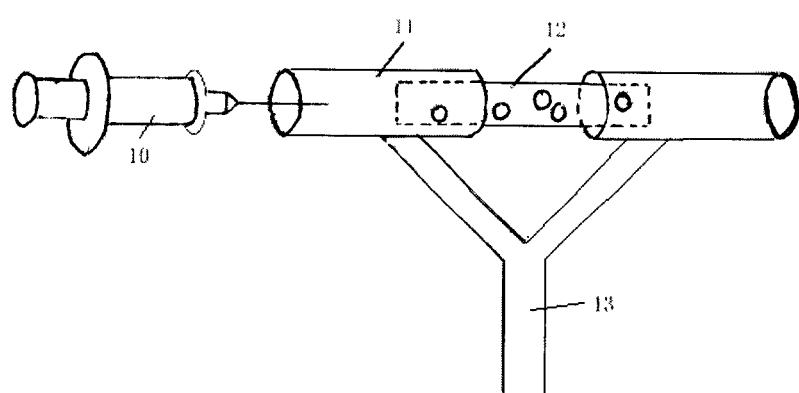


图 4

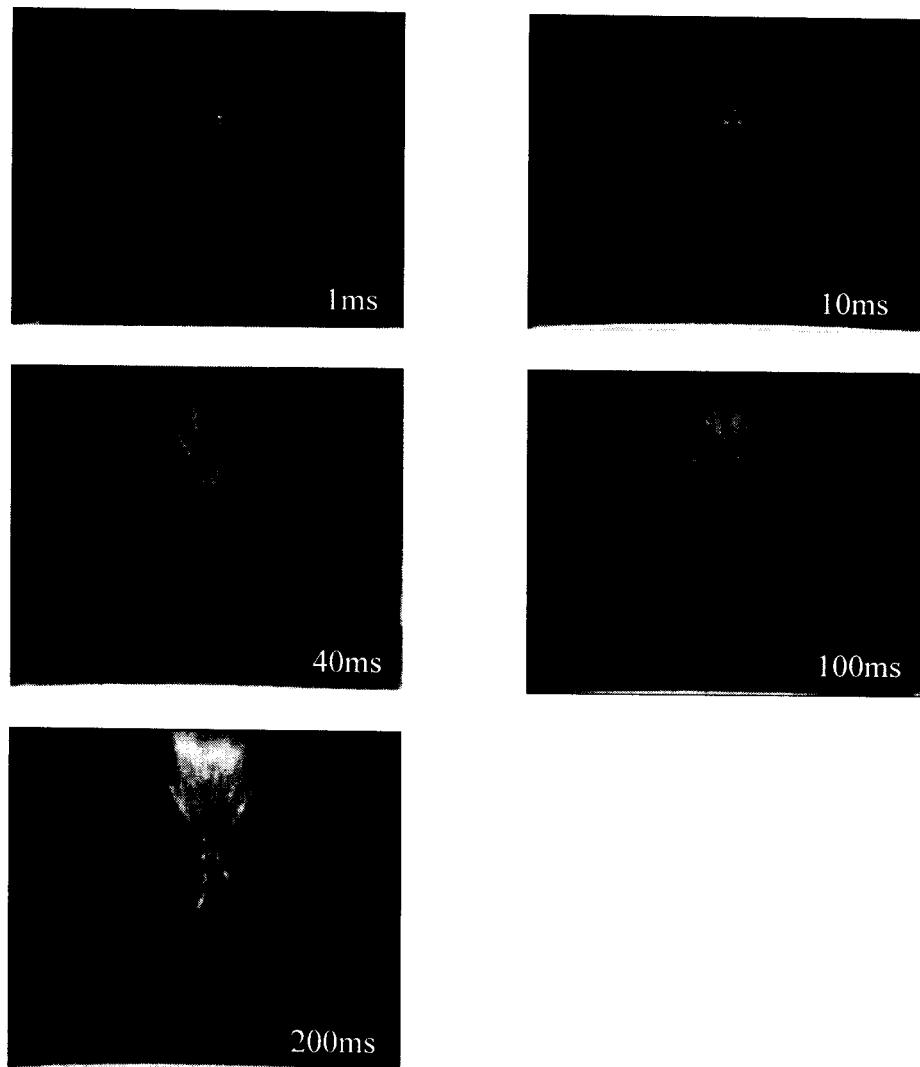


图 5

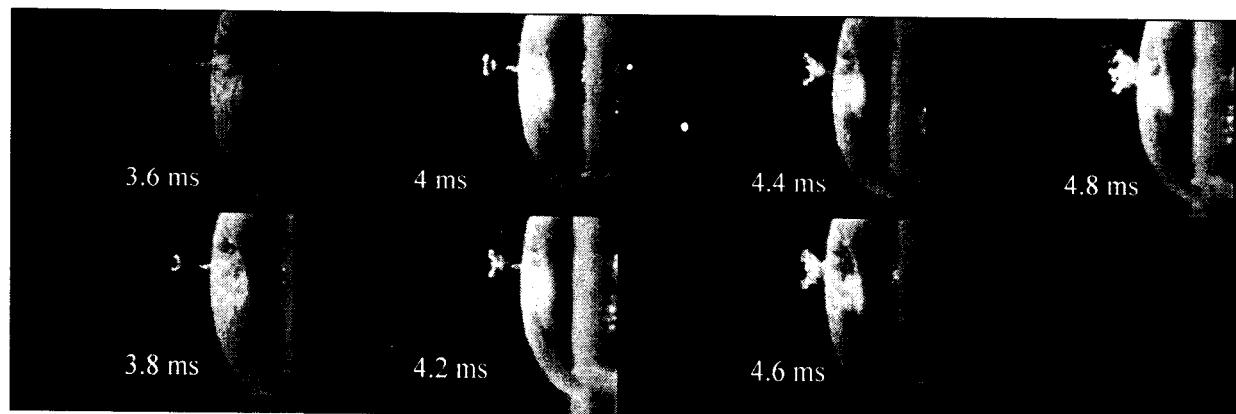


图 6

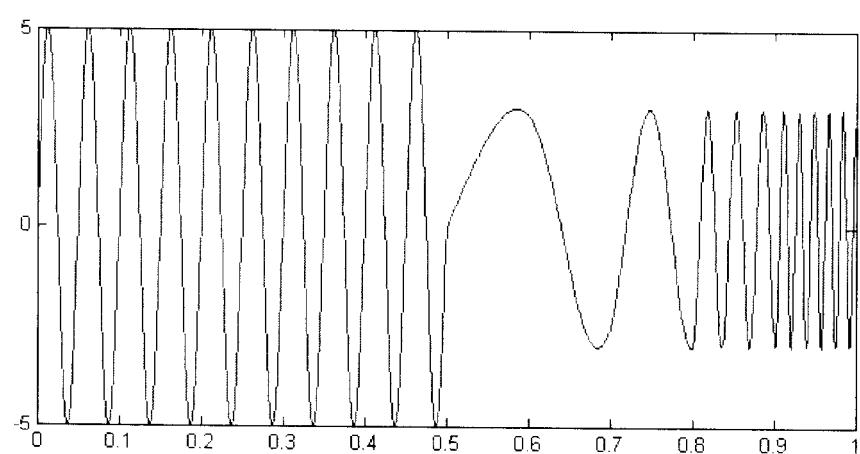


图 7

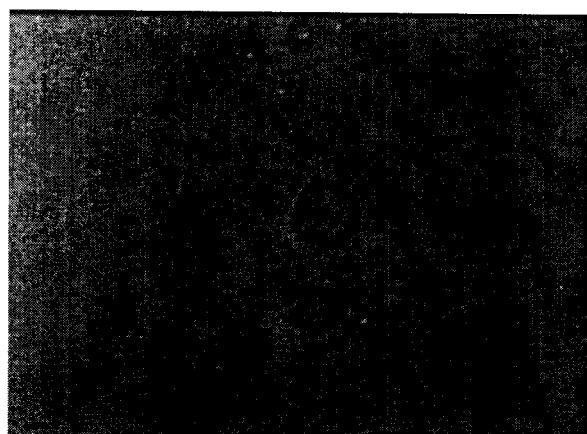
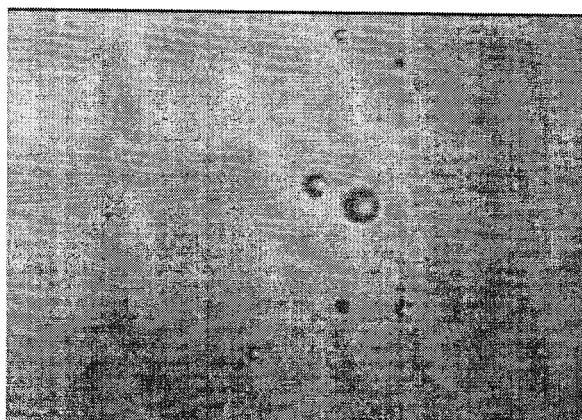


图 8

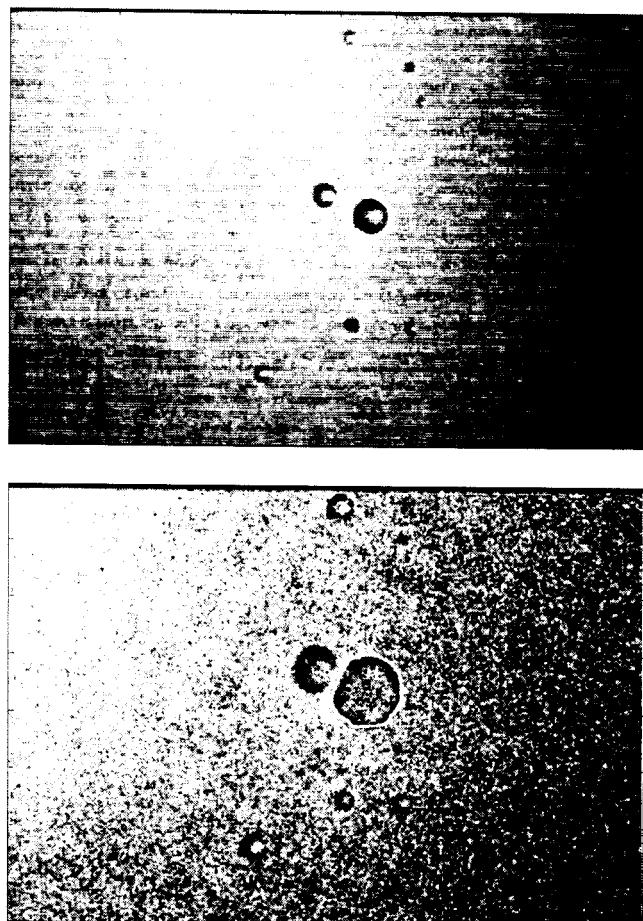


图 9

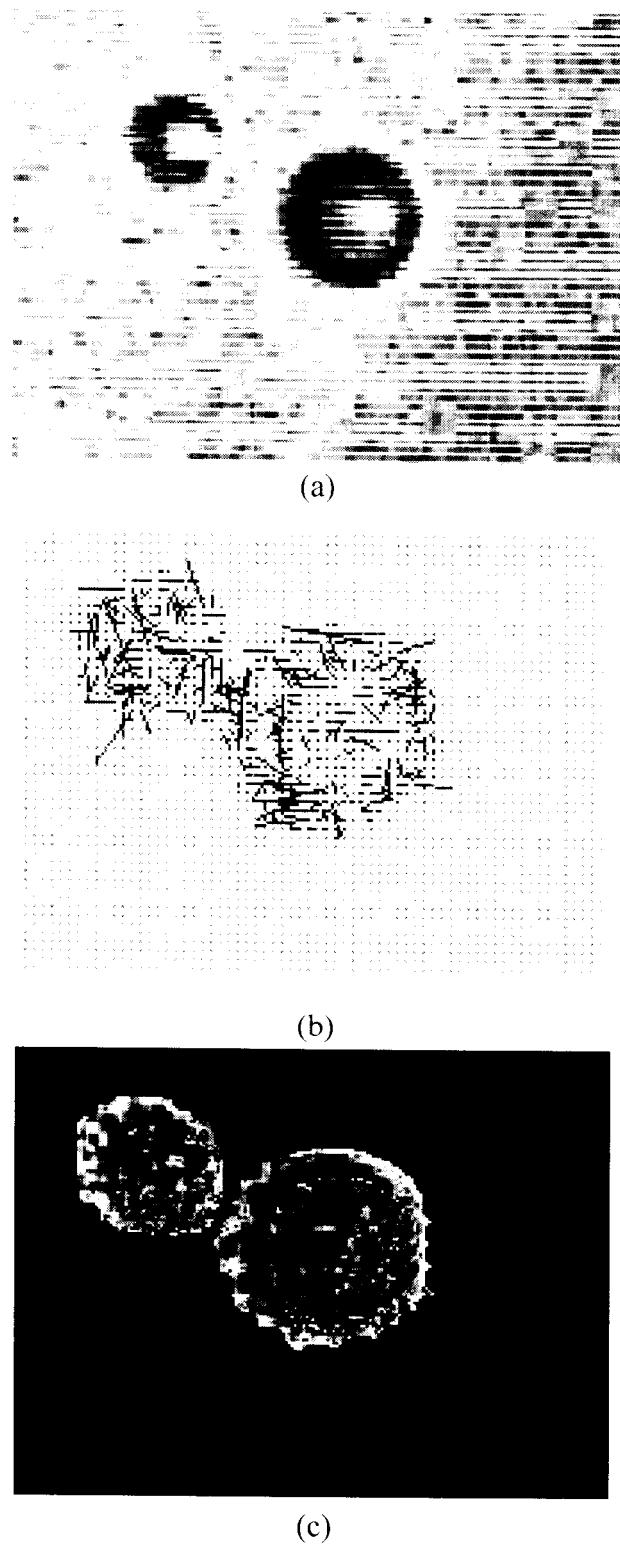


图 10

专利名称(译)	基于超高速摄影技术的超声场中微泡行为分析系统和方法		
公开(公告)号	CN1847824A	公开(公告)日	2006-10-18
申请号	CN200610041834.2	申请日	2006-02-27
[标]申请(专利权)人(译)	西安交通大学		
申请(专利权)人(译)	西安交通大学		
当前申请(专利权)人(译)	西安交通大学		
[标]发明人	万明习 陈红 李晓静 崔崤峣		
发明人	万明习 陈红 李晓静 崔崤峣		
IPC分类号	G01N15/00 A61B8/00 G01N29/00 G06F19/00		
其他公开文献	CN1847824B		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明公开了一种基于超高速摄影技术的生物医学超声场(包括医学诊断、控制药物释放、声化学反应、加热治疗、超声碎石以及高强度聚焦超声场)中微泡(空化微泡和造影微泡)行为分析的系统和方法。具体包括：提出了用于观察超声场中微泡群的超高速摄影系统以及用于观察单个微泡的显微超高速摄影系统；给出了分析微泡在自由场、组织附近、微管内行的方法；并在对微泡群分析的基础上提出了控制微泡群产生和破裂的方法，在获得的单个微泡高速摄影图像的基础上提出了微泡应变估计的方法。

