

Zdravotní rizika spojená s využitím ultrazvuku ve zdravotnictví

Bakalářská práce

Studijní program: Studijní obor: B3944 – Biomedicínská technika B3944 – Biomedicínský technik

Autor práce: Vedoucí práce: **Simona Knoppová** Ing. lveta Danilová





The Health Risks Associated with Use of **Ultrasound in Medicine**

Bachelor thesis

Study programme: B3944 – BT Study branch:

B3944 – BT

Author: Supervisor: Simona Knoppová Ing. Iveta Danilová



Technická univerzita v Liberci Fakulta zdravotnických studií Akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	Simona Knoppová
Osobní číslo:	D14000126
Studijní program:	B3944 Biomedicínská technika
Studijní obor:	Biomedicínská technika
Název tématu:	Zdravotní rizika spojená s využitím ultrazvuku ve zdravotnictví

Zadávající katedra: Fakulta zdravotnických studií

Zásady pro vypracování:

Cíle práce:

Cílem práce je se podrobně seznámit s typy běžně používaných ultrazvuků ve zdravotnictví i v průmyslu, s principem zobrazení a mechanismem účinku na lidskou tkáň. Pomocí dostupných metod budou zkoumány vlastnosti ozářené tkáně a pozorovány vedlejší účinky ultrazvuku (např. zahřívání a kavitace tkáně). Práce se bude také věnovat obsluze, potřebné dokumentaci a všemu, co souvisí s prací biomedicínského technika obsluhujícího ultrazvukové přístroje.

Teoretická východiska:

Ultrazvuk se velmi často využívá v medicíně k zobrazení a diagnostice měkkých tkání a plodu. Obecně je považován za zdravotnický prostředek bez vedlejších účinků na pacienta a zdravotnickou obsluhu. Z dostupné literatury ovšem vyplývá, že možné vedlejší účinky může mít. Proto je velmi užitečné se této problematice blíže věnovat a pomocí dostupných metod prozkoumat vliv ultrazvuku na pacienta a obsluhu ultrazvuku využívaného v průmyslu.

Výzkumné předpoklady: Proměřit pomocí dostupné techniky zahřívání tkáně, na kterou působí ultrazvuk a proměřit hloubku průchodu ultrazvuku za různých podmínek. Z dosažených výsledků a literatury diskutovat míru vedlejších účinků ultrazvuku.

Metoda:

Experimentální

Technika práce, vyhodnocení dat:

Osvojit si obsluhu několika druhů ultrazvuků a pomocí dostupných metod proměřit účinky ultrazvuku na vytvořeném modelu.

Místo a čas realizace výzkumu:

Laboratoře FZS a IKEM, 9/2016 - 4/2017.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

50 - 70

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

1. PALMER, Philip E. S. (ed.). Manuál ultrazvukové diagnostiky. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-7169-689-7

2. ČECH, Evžen. Ultrazvuk v lékařské diagnostice a terapii. Praha: Avicenum, 1982. ISBN 08-085-82

3. SMITH, N. C. a A. Pat M. SMITH. Ultrazvuk v porodnictví: praktická příručka. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1107-9

4. KNEPPO, Petr a kol. Praktika z biomedicínské a klinické techniky. ČVUT v Praze, FBMI, 2007.

5. ŠIMALJÁK, J., Ž. KRIŽAN a J. BURJAN. Ultrazvuk v medicíně. Bratislava: Slovenská akadémia vied, 1955

6. Piezoelektřina a její technické použití. Praha: ČSAV, 1960

7. TARABA, Oldřich. Co dovede ultrazvuk. Praha: Práce, 1958

8. ALOKA Zařízení pro ultrazvukovou diagnostiku ProSound SSD-4000: Bezpečnostní instrukce. Praha: Hospimed spol. s.r.o.

9. Convex Scanner HS-4000: Operační manuál. Praha: Honda Electronics co., LTD

10. HRAZDIRA, Ivo a Vojtěch MORNSTEIN. Lékařská biofyzika a přístrojová technika. Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902896-1-4

11.HOFER, Matthias. Kurz sonografie: překlad 4., rozšířeného

a přepracovaného vydání. Praha: Grada, 2005. ISBN 80-247-0956-2

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Iveta Danilová Ústav zdravotnických studií

Datum zadání bakalářské práce: Termín odevzdání bakalářské práce:

1. srpna 2016 30. dubna 2017



✓ Mgr. Marie Froňková pověřena vedením fakulty

Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména §60– školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 3.5. 2017

Podpis: Knappora

Abstrakt

Autor: Simona Knoppová

Instituce: FZS - Biomedicínská technika

Název práce: Zdravotní rizika spojená s využitím ultrazvuku ve zdravotnictví

Vedoucí práce: Ing. Iveta Danilová

Počet stran: 63

Rok obhajoby: 2017

Anotace: Bakalářská práce je zaměřena na princip zobrazení tkání pomocí diagnostického ultrazvuku a možná rizika, která mohou ohrozit pacienta při vyšetření pomocí tohoto přístroje. Práce shrnuje dosavadní poznatky o vlivu ultrazvukového vůnění na lidský organismus a následně se zabývá laboratorním ověřením možného zahřívání tkáně, změny pH a vodivosti tělních tekutin a vlivu ultrazvuku na červené krvinky.

Klíčová slova: diagnostický ultrazvuk, biologické účinky ultrazvuku, erytrocyty, tělní tekutiny, termokamera

Abstract

Author: Simona Knoppová

Institution: FZS - Biomedical technology

Title: The Health Risks Associated with Use of Ultrasound in Medicine

Supervisor: Ing. Iveta Danilová

Pages: 63

Year: 2017

Annotation: This bachelor thesis is focused on the principles of displaying tissue using diagnostic ultrasound and its potential threats to the patients, related to using this machine for medical purposes. It also summarizes the existing knowledge about the impacts of ultrasound waves on the human organism and describes laboratory verifications of PH changes, potential tissue warming, body fluids conductivity and the impact of ultrasound on red blood cells.

Keywords: diagnostic ultrasound, biological effects of ultrasound, erytrocyty, body fluids, thermocamera

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat Ing. Ivetě Danilové za odborné vedení mé bakalářské práce, za cenné rady a vštřícnou spolupráci. Dále bych chtěla poděkovat doc. Mgr. Ireně Lovětinská-Šlamborová, Ph.D za její ochotu při měření erytrocytů a také Ing. Viktorovi Šikulovi za poskytnutí cenných rad a možnosti využití diagnostického ultrazvuku v IKEMU.

Obsah

	Sezn	nam zkratek	14
1	Úvo	od	15
2	Ult	razvuk	16
	2.1	Šíření ultrazvuku prostorem	16
	2.2	Absorpce ultrazvukového vlnění	18
	2.3	Odraz a lom ultrazvukového vlnění	18
	2.4	Části diagnostického ultrazvuku	19
		2.4.1 Ultrazvukové měniče	19
		2.4.2 Piezoelektrický měnič	19
		2.4.3 Druhy sond	20
		2.4.4 Zobrazovací módy	20
3	Bio	logické účinky ultrazvuku	22
	3.1	Tepelné účinky	22
		3.1.1 Tepelný index	23
	3.2	Mechanické účinky	23
		3.2.1 Mechanický index	23
	3.3	Biochemické účinky	24
		3.3.1 Účinky na vodu a roztoky a elektrolytů	24
		3.3.2 Účinky na buňky	24
		3.3.3 Účinky na krev	24
4	Prii	ncipy měření	27
	4.1	Infračervený měřící systém	27
	4.2	Detektory infračerveného záření	28
		4.2.1 Tepelné detektory	28
		4.2.2 Fotonové detektory	28
	4.3	pH - metrie	28
	4.4	Konduktometrie	29
5	Ana	alýza dat a diskuze	30
	5.1	Měření teploty	30
		5.1.1 Výsledky měření teploty	31
	5.2	Měření pH a vodivosti	35
		5.2.1 Příprava tělních tekutin	35

7	Příl	ohy															60
6	Závě	ěr															59
		5.3.2	Výsledky	měření	erytr	rocytů			•		•		•	 •	•	•	 53
		5.3.1	Postup m	ěření					•						•		 53
	5.3	Měření	působení	ultrazv	uku r	na ery	trocy	ty .									 53
		5.2.4	Výsledky	měření	рН а	vodiv	vosti	potu	l.								 45
		5.2.3	Výsledky	měření	рН а	vodiv	vosti	plaz	my								 40
		5.2.2	Výsledky	měření	рН а	vodiv	vosti	tlust	ého	o st	řev	/a					 36

7 Přílohy

Seznam obrázků

2.1	Popis ultrazvukové vlny [8]	17
2.2	Druhy sond [9]	20
4.1	Infračervený měřící systém [1]	27
5.1	Změny teploty v závislosti na frekvenci (Sonda 1)	32
5.2	Závislost změny teploty na frekvenci (Sonda 2)	33
5.3	Závislost změny teploty na frekvenci (Sonda 1, 2) $\ldots \ldots \ldots$	34
5.4	Změna pH simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na teplotě	9.0
	ozvucovane sondou 1 o frekvenci 5MHz	30
5.5	Zmena vodivosti simulovane tekutiny tlusteho streva v zavislosti na	07
FC	teplote ozvucovane sondou 1 o frekvenci 5MHz	37
0.6	Zmena pH simulovane tekutiny tiusteno streva v zavisiosti na tepiote	20
5 7	Ozvučovane sondou 2 o frekvenci 10MHz	38
0.7	Zmena vodrvosti simulovane tekutiny tiustelio streva v zavisiosti na toplotě ozuvěované sondou 2 o frokuonci 10MHz	20
58	Změna pH simulované tokutiny tlustého střova v závislosti na toplotě	00
0.0	ozyučované sondou 1 o frekvenci 3 5MHz	30
59	Změna vodivosti simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na	00
0.0	teplotě ozvučované soudou 1 o frekvenci 3 5MHz	40
5.10	Změna pH simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě	10
0.10	ozvučované sondou 1 o frekvenci 5MHz	41
5.11	Změna vodivosti simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na	
	teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 5MHz	41
5.12	Změna pH simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě	
	ozvučované sondou 2 o frekvenci 10MHz	42
5.13	Změna vodivosti simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na	
	teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci 10MHz	43
5.14	Změna pH simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě	
	ozvučované sondou 1 o frekvenci 3,5MHz	44
5.15	Změna vodivosti simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na	
	teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 3,5MHz	44
5.16	Změna pH simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě ozvučo-	
	vané sondou 1 o frekvenci 5MHz	45
5.17	Změna vodivosti simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě	
	ozvučované sondou 1 o frekvenci 5MHz	46

5.18	Změna pH simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě ozvučo-	
	vané sondou 2 o frekvenci 5MHz	47
5.19	Změna vodivosti simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě	
	ozvučované sondou 2 o frekvenci 5MHz	47
5.20	Změna pH simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě ozvučo-	
	vané sondou 1 o frekvenci 3,5MHz	48
5.21	Změna vodivosti simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě	
	ozvučované sondou 1 o frekvenci 3,5MHz	49
5.22	Změna pH simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě ozvučo-	
	vané sondou 2 o frekvenci 10MHz	50
5.23	Změna vodivosti simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě	
	ozvučované sondou 2 o frekvenci 10MHz	50
5.24	Změna pH simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě ozvučo-	
	vané sondou 2 o frekvenci 10MHz	51
5.25	Změna vodivosti simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě	
	ozvučované sondou 2 o frekvenci 10MHz	52
5.26	Standard - membrána erytrocytů barvena pomocí histochemické re-	
	akce (zvětšení 10x40)	54
5.27	Standard – nátěr krve barven metodou Giemsa-Romanowski(zvětšení	
	10x100)	55
5.28	Diagnostický ultrazvuk 3,5MHz, 5min.(zvětšení 10x100)	55
5.29	Diagnostický ultrazvuk 3,5MHz, 15min.(zvětšení 10x100)	56
5.30	Diagnostický ultrazvuk 10MHz, 15min.(zvětšení 10x100)	56
5.31	Terapeutický ultrazvuk 3MHz, 3min, 2,5W (zvětšení 10x40)	57
5.32	Terapeutický ultrazvuk 3MHz, 5min, 3W (zvětšení 10x100)	57
71	Měžení tenletu o zemu temo slove eneu	60
1.1	merem teploty agaru termokamerou	00

Seznam tabulek

2.1	Rychlost šíření ultrazvukového vlnění prostorem [25]	16
5.1	Změny teploty v závislosti na frekvenci (Sonda 1)	32
5.2	Změny teploty v závislosti na frekvenci (Sonda 2)	33
5.3	Hodnoty pH a vodivosti tlustého střeva $(f = 5MHz, Sonda 1) \dots$	36
5.4	Hodnoty pH a vodivosti tlustého střeva (f = 10MHz, Sonda 2)	37
5.5	Hodnoty pH a vodivosti tlustého střeva (f = $3,5$ MHz, Sonda 1)	39
5.6	Hodnoty pH a vodivosti krevní plazmy (f = 5MHz, Sonda 1) \ldots	40
5.7	Hodnoty pH a vodivosti krevní plazmy (f = 10 MHz, Sonda 2)	42
5.8	Hodnoty pH a vodivosti krevní plazmy (f = $3,5$ MHz, Sonda 1)	43
5.9	Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 5MHz, Sonda 1) \ldots	45
5.10	Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 5MHz, Sonda 2) \ldots	46
5.11	Hodnoty pH a vodivosti potu (f = $3,5$ MHz, Sonda 1)	48
5.12	Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 10 MHz, Sonda 2)	49
5.13	Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 10 MHz, Sonda 2)	51

Seznam zkratek

Ι f

Ι	intenzita
f	frekvence
\mathbf{Z}	akustická impedance
Р	tlak
ω	úhlová frekvence
с	fázová rychlost
λ	vlnová délka
\mathbf{T}	perioda
\mathbf{R}	koeficient odrazu
G	vodivost
k	měrná elektrická vodivost
\mathbf{U}	napětí
\mathbf{IR}	infračervené záření
\mathbf{TI}	tepelný index
\mathbf{MI}	mechanický index
I_{SPTA}	Spatial Peak Temporal Average
BSA	Bovine Serum Albumine

1 Úvod

Ultrazvuk je jedním z nejpoužívanějších diagnostických a terapeutických přístrojů v lékařství. Diagnostický ultrazvuk se používá při zobrazování měkkých tkání, například při vyšetření kardiovaskulárního systému, břišních orgánů, v gynekologii a porodnictví. Terapeutický ultrazvuk nachází uplatnění ve fyzikální terapii, hypertermii, nebo stomatologii. Výhodou ultrazvukového vyšetření je použití signálu bez ionizujícího, nebo vysokoenergetického záření.

Obecně je považován za zdravotnický prostředek bez vedlejších účinků na pacienta a zdravotnickou obsluhu. Nicméně z dostupné literatury vyplývá, že možné vedlejší účinky se mohou za určitých podmínek objevovat. Nejčastěji uváděnými vedlejšími účinky jsou lokální zahřívání, kavitace a poškození buněk při vyšších intenzitách záření. Protože je téma zdravotní nezávadnosti ultrazvuku při vyšetření stále více diskutovaným tématem, rozhodla jsem se pomocí dostupných metod prozkoumat vliv ultrazvuku na pacienta. Na rozdíl od jiným studiím nebyl ovšem využíván k testování generátor ultrazvukového záření, ale skutečný diagnostický, popř. terapeutický ultrazvuk využívaný v lékařství.

V teoretické části této práce je popsán princip zobrazení tkání pomocí diagnostického ultrazvuku a jednotlivé části tohoto přístroje. Další část se zabývá možnými biologickými účinky ultrazvukového vlnění na lidský organismus a způsoby, jak je možné účinky testovat.

Cílem této bakalářské práce je laboratorní ověření tepelných účinků, destruktivních účinků na červené krvinky, možné změny pH a vodivosti na simulovaných tělních tekutinách při používání diagnostického ultrazvuku v závislosti na frekvenci a době ozařování. Změny teploty jsou měřeny termokamerou na modelu tkáně, která má podobné akustické vlastnosti jako měkká tkán. Změny pH simulovaného potu, plazmy a tekutiny tlustého střeva byly měřeny pomocí pH metru, změna vodivosti těchto tekutin byla měřena pomocí konduktometru. Účinky ultrazvukového vlnění na červené krvinky jsou ověřovány pomocí krevních nátěrů, které jsou sledovány pod mikroskopem.

2 Ultrazvuk

Ultrazvuk je přístroj založený na principu generování a detekce ultrazvukového vlnění. Ultrazvukové vlnění má frekvenci 20kHz a vyšší. Vzniká při mechanickém kmitu částic v v pružném prostředí, kde každé prostředí má jiné charakteristické parametry. Závisí především na rychlosti šíření, akustické impedanci a útlumu [12] [20].

Diagnostický ultrazvukový přístroj se skládá z vyšetřovacích sond, elektronických obvodů, zobrazovacích jednotek a záznamových jednotek. Vyšetřovací sondy jsou tvořeny piezoelektrickým měničem, který ultrazvukové vlny generuje. Vlny se na rozhraní dvou prostředí o různé akustické impedanci odrazí a část prochází dál. Odražený signál je detekován stejným měničem, jehož mechanický signál převádí na elektrický, který je zobrazen na zobrazovací jednotce, tedy monitoru. Záznamové jednotky slouží k uložení obrazu a následného zpracování. K Buzení piezoelektrických měničů a zpracování obrazu je zapotřebí elektronických obvodů [6][13].

2.1 Šíření ultrazvuku prostorem

Mechanické vlnění vzniká vychýlením jedné částice vnější silou, která přenese energii na sousední částici a postupně na další. Podle směru vlnění se dělí na podélné a příčné vlnění. U podélného vlnění částice kmitají ve směru šíření vlnění a vyskytují se ve všech skupenství. Částice příčného vlnění kmitají kolmo na směr šíření a šíří se pouze v takovém prostředí, kde vlivem vnějších sil nedochází k trvalé deformaci, tedy pouze v pevných látkách. Rychlost šíření v kapalinách a plynech závisí na tlaku a hustotě prostředí. Nejrychlejší je šíření v pevných látkách, poté v kapalných a nejhůře se šíří v plynném prostředí. Rychlost šíření ultrazvuku ve vybraném prostředí je uvedena v tabulce 2.1 [20][28].

Prostředí	Rychlost šíření [m/s]
Vzduch	340
Voda	1500
Játra	1560
Svaly	1568
Krev	1580
Kosti	3800

Tabulka 2.1: Rychlost šíření ultrazvukového vlnění prostorem [25]

Vlnoplocha vzniká při kmitání jejich bodů se stejnou fází. Vlnovou délkou se určuje vzdálenost dvou nejbližších částic se stejnou fází. Za dobu jedné periody T postoupí vlna ve směru šíření o vlnovou délku λ .



Obrázek 2.1: Popis ultrazvukové vlny [8]

Fázovou rychlost c udává rychlost pohybující se fáze vlnění a je dána vztahem

$$c = \frac{\lambda}{T} \tag{2.1}$$

kde c určuje rychlost šíření ultrazvuku prostorem. V plynném či kapalném prostředí počítána ze vzorce

$$c = \sqrt{\frac{K}{\rho}} \tag{2.2}$$

K označuje modul objemové pružnosti a ρ hustotu prostředí.

Frekvencí f je zjišťován počet kmitů za jednotku času. Jednotkou frekvence je hertz. Frekvence je využívána například při výpočtu úhlové frekvence neboli kmitočtu. Úhlová frekvence je použita při popisu periodických harmonických dějů. Jednotkou je radián za sekundu.

$$\omega = 2\pi f \tag{2.3}$$

Doba za kterou se částice vrátí do původní pohybového stavu udává perioda T. Jednotkou jsou sekundy.

$$f = \frac{1}{T} \tag{2.4}$$

Při šíření ultrazvukové vlny kapalinou dochází ke střídavému zahuštění a zředění prostředí. Projevuje se změnami tlaku. N/m^2

$$P = U\omega\rho c \tag{2.5}$$

U označuje amplitudu výchylky kmitající částice.

Jednotkou akustická impedance prostředí je $N \cdot s \cdot m^3$ a je dána vztahem

$$Z = \rho c \tag{2.6}$$

Intenzita ultrazvukové vlnění I definuje energii akustického vlnění. Energie je potřebná k rozpohybování částic v daných materiálech. Jednotkou intenzity vlnění je W/m^2 a je dána vztahem

$$I = \frac{1}{2}\rho c\omega^2 U^2 \tag{2.7}$$

[28]

2.2 Absorpce ultrazvukového vlnění

Ultrazvukové vlně klesá intenzita při průchodu prostředím se vzdáleností ve směru šíření. Při průchodu vlny, dochází k elementárním deformacím. Část pohybové energie se mění v teplo. Intenzitu I_x v místě x, která je určena z intenzity I_0 v místě x = 0.

$$I_x = I_0 e^{-2\alpha x} \tag{2.8}$$

Kde α je koeficient absorpce vlnění. Absorpce je vyjadřována v dB/m. Absorpce v kapalinách je ovlivněna viskozitou, vedením tepla a fyzikálními procesy. V pevných látkách jde o vnitřní tření a vedení tepla. Dalším faktorem ovlivňující útlum je frekvence. Čím větší frekvence, tím větší útlum. Proto se u hloubkových vyšetření používá nižší frekvence kolem 3,5 MHz, ale za cenu nižšího rozlišení [28][32].

2.3 Odraz a lom ultrazvukového vlnění

Ultrazvukové vlnění se šíří v homogenním prostředí přímočaře. Pokud však dopadne na dvě různá akustická prostředí o odlišných akustických vlastnostech, část se odrazí a část projde do druhého prostředí. Nedopadá-li paprsek kolmo na rozhraní a je-li plocha rozhraní rozdílná o vlnové délce, tak nastává odraz, lom vlnění a pokud jedno z prostředí přenáší příčné vlnění, nastává transformace z podélného vlnění na příčné. Odraz a lom vzniká, pokud jsou rozměry rozhraní větší, něž je vlnová délka vlnění.

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{c_1}{c_2} = n_{1,2} \tag{2.9}$$

kde α znázorňuje úhel dopadu a β úhel lomu, c_1 a I_2 označuje rychlost ultrazvukové vlny v prostředí 1 a 2. Index lomu označuje n_{12} . Úhel lomu může nabírat hodnot od 0 do hodnoty označované mezním úhlem β_m . Mezní úhel udává maximální úhel, pod kterým se vlnění může nejvíce lámat, aby se energie zcela neodrazila zpět.

$$\sin \beta_m = \frac{1}{12} n_{1,2} \tag{2.10}$$

18

Koeficient odrazu R je poměr intenzity odraženého ultrazvukového vlnění k intenzitě dopadajícího ultrazvukového vlnění a platí při vlnění dopadajícím kolmo na rozhraní dvou prostředí.

$$R = \left(\frac{z_2 - z_1}{z_2 + z_1}\right)^2 \tag{2.11}$$

[28] [32]

2.4 Části diagnostického ultrazvuku

Jak už bylo zmíněno, diagnostický ultrazvukový přístroj se skládá z vyšetřovacích sond, elektronických obvodů, zobrazovacích jednotek a záznamových jednotek. V této kapitole bude podrobně rozepsána ultrazvuková sonda. Z čeho se skládá a na jakém principu funguje.

2.4.1 Ultrazvukové měniče

Měniče ultrazvukové vlnění vysílají ultrazvukový signál a také jej přijímají. Převádějí tedy mechanickou energii na elektrickou a naopak. Měniče se rozdělují na mechanické a elektromechanické [16].

Mechanické měniče se moc nepoužívají, i přestože jejich konstrukce není složitá, mají však omezený rozsah frekvence, výkonu i účinnosti. Patří sem píšťaly a sirény. Mezi elektromechanické měniče řadíme piezoelektrické, elektrodynamické a magnetostrikční. Nejrozšířenějším měničem jsou piezoelektrické, které se vyskytují ve všech diagnostických ultrazvucích. Elektrodynamické fungují při vzájemném působením dvou magnetických polí, kde jedno pole je tvořeno permanentním magnetem a druhé vytváří vodič. Magnetostrikční využívají frekvence do 150kHz, tudíž se v medicíně nepoužívají. Jsou na principu deformováním určitých feromagnetický látek v magnetickém poli [19].

2.4.2 Piezoelektrický měnič

Ultrazvukové vlnění je produkováno piezoelektrickým měničem, který přetváří elektrickou energii na mechanické vlnění a naopak. Tento jev pozorovali poprvé bratři Pierre a Jacques Curie-ovi na trumalínu. Piezoelektrické látky jsou látky, které nemají strukturu se středem souměrnosti. Bez středu symetrie se mohou ionty mechanickým namáháním pohybovat a vytváří tak elektrický dipól. Přímý piezoelektrický jev nastává při mechanickém namáhání krystalu a na jeho plochách vznikají elektrické náboje. Využívá se k detekci ultrazvukových vln. Naopak nepřímý jev nastává při vzniku deformace piezoelektrické látky elektrickým polem a využívá se ke generaci ultrazvukových vln. Při frekvenci 20kHz až 20 MHz se obvykle používají piezokeramické měniče, při vyšších frekvencí výbrusy z křemenných krystalů [14].

Měnič může vysílat pouze jedním směrem, proto je druhá strana mechanicky i elektricky zatlumena. U impulsní odrazové metody používané v medicíně, se vlny

o frekvenci 1-20 MHz opakovaně vysílají do vyšetřovaného místa, kde se odráží od rozhraní dvou prostředí. Zachycuje je zpět stejná ultrazvuková sonda, která má funkci vysílače i přijímače. Odražený signál je měničem přeměněn na elektrický signál a poté zobrazen na obrazovce [11]. Tělo měniče se obvykle skládá ze safírové tyčinky. Její konce jsou vodivě pokoveny a na ně je nanesena tenká vrstva piezoektrického krystalu. Množství naneseného piezoelektrického krystalu bývá v rozmezí $\lambda/4$ až $\lambda/2$, který je opět pokoven. Tato hodnota pokovení je nižší a dosahuje kolem desetin používané vlnové délky [20][33][34].

2.4.3 Druhy sond

Ultrazvukové sondy se dělí podle konstrukce na lineární, konvexní a sektorové (na obrázku 2.2). Lineární sondy obsahují větší počet měničů uspořádané v řadě přímky. Šířka obrazu odpovídá šířce sondy a obraz je pravoúhlý. Při vyšetřování se používá 32 sousedních měničů, které umožňují fokusaci do libovolné hloubky. Lineární sondy se používají k povrchovému vyšetření. Používaná frekvence je 5 – 10 MHz

Konvexní sondy mají měniče do vyklenuté řady, tím se zorné pole se vzrůstající hloubkou zvětšuje. Konvexní sonda je jinak principiálně stejná jako lineární. Využívá se při vyšetřování vnitřních orgánů, kde frekvence je 2,5-5 MHz.

Sektorová sondy jsou uspořádány lineárně do krátké řady. Konstrukce je podobná jako u lineární sondy, ale má méně měničů, obvykle 64. Při vytváření obrazu u sektorové sondy, se využívají všechny měniče najednou. Při generaci vlny je paprsek postupně vychylován do různých směrů vyšetřované oblasti. Využívaná frekvence je 2-3 MHz [12][27].



Obrázek 2.2: Druhy sond [9]

2.4.4 Zobrazovací módy

Při zobrazování se používá A, B a M mód. Nejjednodušším a zároveň nejstarším typem zobrazení je jednorozměrný obraz A. Při vyšetření se sonda nepohybuje, rozhraní prostředí se zobrazí jako posloupnost vertikálních výchylek. Vzdálenost výchylek odpovídá skutečné vzdálenosti jednotlivých tkáňových rozhraní. Velikost amplitudy výchylek je dána množstvím odražené akustické energie. Využívá se v oftalmologii. Obraz B má snímky dvourozměrné a modulaci jasovou, nikoli amplitudovou. B zobrazení nám dává obraz v podobě pixelů, kde jas každého bodu udává intenzitu odrazu ultrazvukové vlny. Jas se kóduje v 256 odstínech šedé. Zobrazení

M je dynamické jednorozměrné zobrazení v čase. Jde tedy o A mód zobrazený v čase. Nejčastější použití je v echokardiografii [12] [13].

3 Biologické účinky ultrazvuku

Fyzikální vlastnosti ultrazvuku jsou dobře známy, avšak z důvodu složitosti živého systému se značně komplikují. Hlavními faktory určující míru biologických účinků je frekvence, intenzita ultrazvukového vlnění a doba působení. Interakci můžeme dělit na aktivní a pasivní. Hranici mezi pasivními a aktivními interakcemi tvoří biologicky účinná intenzita ultrazvukového vlnění. Hodnota interakce je složitě určována, z důvodu závislosti interakce na vlastnostech ultrazvukového pole, ale i na vlastnostech biologického systému. Primární veličinami stanovující míru biologických účinků se vyznačují frekvence, intenzita ultrazvukového vlnění a doba ozařování. Intenzita ultrazvukového vlnění se z biofyzikálního hlediska dělí podle účinků na velmi nízkou intenzitu do $1kW/m^2$, nízkou intenzitu do $10kW/m^2$, střední intenzitu do $30kW/m^2$, vysokou intenzitu do $100kW/m^2$ a velmi vysokou intenzitu nad $100 kW/m^2$. Aktivní interakce nastává při pohlcení ultrazvukové energie organismem a můžeme ji ještě rozdělit na primární, což je způsobené mechanickými složkami ultrazvukového pole a sekundární interakci, kde se mechanická energie přeměnila na jiný druh energie (chemická, tepelná aj.). Pasivní interakce nastává při změně charakteru ultrazvukového pole živým organismem. Jedná se především o změně amplitudy a fáze procházející ultrazvukové vlny [32] [26].

Pro zhodnocení biologické účinnosti má největší význam maximální prostorová intenzita a průměrná intenzita v čase – I_{SPTA} (Spatial Peak Temporal Average). Za těchto předpokladů bylo provedeno velké množství experimentů a teoretických výzkumů byl stanoven práh biologické účinné intenzity na $0, 1kW/m^2$. Biologické účinky můžeme také rozdělit na tepelné, mechanické a biochemické [29].

3.1 Tepelné účinky

Tepelné účinky vznikají důsledkem absorpce ultrazvukového vlnění. Považují se za jeden z nejvýznamnějších faktorů působení ultrazvuku. V absorpčním prostředí vzniká teplo vnitřním třením či relaxačními procesy. Důsledkem nehomogenní struktury v živém organismu se teplo liší, z důvodu rozdílných strukturních složek o jiné akustické impedanci. Tudíž největší ohřev nastává například na rozhraní kosti a měkké tkáně. Důležitou otázkou je rozložení teplot. Okamžitá hodnota teploty se mění v čase i prostoru z důvodu termoregulace. Termoregulace vyrovnává teplotní rozdíly, ačkoli prokrvení tkání je variabilní. Vnitřní orgány jako například ledviny a játra jsou neustále velice prokrvované. Kosti, okostice, šlachy, tuková tkáň mají naopak nízké prokrvení. Prokrvení svalů a kůže je v závislosti na aktivitě organismu. Rohovka, sklivec a oční čočka jsou bez přímého zásobení krví, kde navíc čočka obsahuje velké množství kolagenu, takže absorpce je vysoká a termoregulace minimální. Dále mohou mít tepelné účinky ultrazvuku vliv na plod během těhotenství. Důležité je stáří plodu. Během prvních týdnů nedochází k velkému ohřevu, protože v embrionílním vývoji jsou pouze kosti primární. Avšak nervová soustava plodu je přesto velmi citlivá na ohřev. V pozdním stádiu těhotenství je riziko poškození plodu menší z důvodu velikosti plodu vůči ozvučované oblasti.

Z důvodu bezpečnosti použití ultrazvukového přístroje, rozlišujeme dvě kritické teplotní hladiny. První se týká emebrionálních tkání, kde teplota ozvučované tkáně nesmí přesáhnout 39,5 °C. Teplota mezi 37 °C a 39,5 °C je označována jako zcela bezpečná. Druhá teplotní hladina je bezpečná hladina pro dospělého jedince, která nesmí překročit teplotu 41 °C[13].

3.1.1 Tepelný index

Je definován jako poměr celkového nastaveného akustického výkonu přístroje k výkonu vyvolávajícímu zvýšení teploty o 1°C za nejméně vhodných podmínek odvodu tepla. Z důvodu rozdílnosti tkání v těle byly zavedeny tři tepelné indexy. Tepelný index měkkých tkání (Soft Tissue Thermal Index – TIS), lebečních kostí (Cranial Bone Thermal Index – TIC) a kostní tepelný index (Bone Thermal Index)[13].

3.2 Mechanické účinky

Průchodem ultrazvukové vlny prostředím nastávají lokální tlakové změny, které mohou dosahovat řádově až MPa/mm. Následkem těchto změn může docházet ke vzniku dutinek v proudící kapalině. Tento jen se nazývá kavitace a rozlišujeme ji podle způsobu vzniku a účinnosti na kolapsovou a rezonanční.

Při nelinearitě průchodu ultrazvukové vlny o tlaku vyšším než tlaku atmosferickým nastává kavitace kolapsová. Kavitační bublina se vytváří v podtlakové fázi, její průměr se zvětšuje a na počátku přetlakové fáze ultrazvukové vlny prudce kolabuje.

"Rezonanční kavitace nastává při nižších intenzitách. Jejím základem je sférická bublina, která se dostává do rázových pulsací účinkem tlakových oscilací ultrazvukové vlny, Kmitající bubliny snižují energii ultrazvukové vlny její ireverzibilní přeměnou v teplo a rozptylem." [32, s.113]

Kavitace je jev prahový a může nastat až při určité hladině. Prahová hladina vzniku kavitace je dána frekvencí a dynamické viskozity prostředí. Ukazatelem možného vzniku kolapsové kavitace je mechanický index [32].

3.2.1 Mechanický index

Mechanický index (MI) představuje možné riziko vzniku kolapsové kavitace a je definován jako poměr negativní amplitudy akustického tlaku (MPa) a druhé odmocniny

použitého ultrazvukového kmitočtu (MHz). Rizikové vyšetření nastává při MI >1,9. Pro oko 0,2[13].

3.3 Biochemické účinky

3.3.1 Účinky na vodu a roztoky a elektrolytů

Voda tvoří až 90 % hmotnosti organismu a je základním materiálem pro intracelulární a extracelulární prostředí. Podporuje vstřebávání živin, podílí se na transportu látek, reguluje tělesnou teplotu a další. Dvě důležité vlastnosti vody při působení ultrazvukové vlny jsou závislost rychlosti šíření ultrazvuku na teplotě a závislost absorpčního koeficientu vody na frekvenci. U většiny látek rychlost šíření ultrazvuku se vzrůstající teplotou klesá, u vody až do teploty 347 K stoupá, a až po dosažení této teploty a vyšší, rychlost šíření klesá. Obsah iontům ve vodě má za následek větší rychlost šíření ultrazvuku i absorpci. Zvyšováním intenzity ultrazvukového vlnění se vzájemné působení mění a začínají převažovat interakce aktivní, kde vlivem přenosu energie dochází ke zvýšení teploty a vzrůstající síla vyvolává akustické mikroproudění vody. Při dosažení hodnoty $1W/m^2$ dochází ke kavitaci a chemickým změnám, jejichž výchozí reakcí je vznik volných radikálů [32].

3.3.2 Účinky na buňky

Buňka je základní stavební a funkční jednotka těl organismů. Biologická účinnost ultrazvuku je dána funkcí intenzity a doby působení. Působením ultrazvukového pole dochází k inhibičním účinkům. Má za následek zasažení jádra i cytoplazmy buněk. U membránových struktur dochází k lézím a ke změně jejich prostorového rozmístění [32].

3.3.3 Účinky na krev

Krev je nenahraditelná tekutá tkáň, která má spoustu funkcí, jako například tansportní, imunitní, udržování stálé tělesné teploty. Z tohoto důvodu, byla tato bakalářská práce zaměřena i na krev.

Složení krve

Krev je složena z krevní plazmy, erytrocytů (červené krvinky), leukocytů (bílé krvinky) a trombocytů (krevní destičky)

Celková tělesná voda (CTV) je tvořena 60% hmotnosti. Je rozdělena na intracelulární tekutinu (ICT), která je obsažena v buňkách (40% hmotnosti) a na extracelulární tekutinu (ECT) mimo buňky (20% hmotnosti), která je dále rozdělena na tkáňový mok (15% hmotnosti) a na krevní plazmu. Krevní plazma je nažloutlá tekutina obsahující 91% vody, organické látky 8% a anorganické látky 1%. Objem plazmy představuje kolem 5% celkové hmotnosti člověka. Hodnota pH

7,4 je udržována anorganickými látkami [24].

Erytrocyty jsou bezjaderné buňky měřící kolem 7,5 um a slouží k přenosu O_2 a CO_2 . Funkční složkou je hemoglobin na který je vázán na kyslík. Červené krvinky vedou okysličenou krev do celého těla a následně vedou oxid uhličitý do plic, který je vydechován z těla. Svou pružnou membránou, bikonkávním tvarem a absencí jádra dokáží snadno procházet kapiláry. Erytrocyty jsou tvořeny v červené kostní dřeni a poté jsou vyplavovány do krve. Zánik erytrocytů je nazýván hemolýzou a nastává například při snížení osmotického tlaku, chemickými látkami, velkými změnami teplot. Erytrocyty se dožívají kolem 120 dní [24].

Leukocyty jsou bezbarvé buňky obsahující jádro. Mají schopnost přemisťování z kapilár do mezibuněčných prostor a cestovat tkáněmi a pohlcují choroboplodné zárodky. Počet leukocytů je kolem 5000 – 8000 v mm^3 , tvořeny jsou v kostní dřeni a délka života se pohybuje od několika hodin do 100 dní. Leukocyty jsou rozdělovány na granulocyty, agranulocyty a lymfocyty. Granulocyty tvoří přibližně 70 % všech leukocytů. Podle barvitelnosti granulí obsažených v jejich cytoplazmě jej dělíme na neutrofilní, eozionofilní a bazofilní granulocyty. Neutrofilní granulocyty se dožívají pár dní a jejich úkolem je pohlcování bakterií. Eozinofolní granulocyty fagocytují převážně imunokoplexy. Bazofilní granulocyty je zahájena alergická reakce. Monocyty tvoří kolem 5 %. Jsou to nezralé krevní buňky, které se mění na fagocytující makrofágy při vstupu do krevního objemu. Monocyty informovávají ostatní lymfocyty při výskytu cizorodého materiálu. Lymfocytů je kolem 30 %. Nemají schopnost fagocytózy, ale účastní se imunitních reakcí. Lymfocyty se dále dělí na T-lymofyty a B-lymofycty. T-lymofycyty dozrávají v brzlíku a regulují imunitní systém, aby nedošlo k přehnané reakci organismu. B-lymocyty vytváří protilátky proti konkrétním choroboplodým zárodkům [24].

Trombocyty (krevní destičky) jsou nejmenší krevní tělíska bez buněčného jádra. Jsou to úlomky kostní dřeně z odštěpené cytoplazmy. V 1 mm^3 je 200 000 - 300 000 trombocytů a dožívají se pouze pár dnů. Trombocyty se uplatňují při hemostáze [24] [5].

Působení ultrazvuku na červené krvinky

Působením ultrazvuku na červené krvinky dochází k hemolytickým a subhemolityckým účinkům. Hemolytické účinky záleží obzvláště na koncentraci erytrocytů. Zředěnější suspenzi červených krvinek stačí nižší intenzita a doba ozvučení. Při suspenzi o koncentraci nižší než 2 % se projevují mechanické faktory a to především kavitační, ale to až při intenzitě $1W/mm^2$. Při suspenzi o koncentraci vyšší než 2 % dochází k účinku třecích síl a tlakového spádu. Subhemolytické účinky se projevují morfologickými a funkčními změnami. Vyznačují se především vyšším počtem ostnitých tvarů (echinocytóza), sfécytózou, zanikáním typickým projasněním střední části krvinek a izolovanou polohou červených krvinek [32].

Působení ultrazvuku na bílé krvinky

U bílých krvinek při intenzitě $10kW/m^2$ dochází k pyknóze jádra, což je ztráta tekutého obsahu jádra, zvětšení objemu buňky, protržení buněčné membrány a ke vzniku vakuol v jádru i v cytoplazmě. Všechny tyto změny jsou kvantitativní s časem. Nejčastěji tyto změny bývají u granulocytů [32].

Působení ultrazvuku na plazmu

Intenzita ultrazvukového vlnění nezpůsobuje kavitaci, ani jiné závažné změny z důvodu obsahu koloidních makromolekul, které snižují mechanickou účinnost [32].

4 Principy měření

Měření teploty bylo prováděno bezkontaktně, které je založeno na principu snímání infračerveného záření z povrchu těles. Důvodem je vnitřní mechanický pohyb molekul. Následkem pohybu molekul se náboj přemisťuje a vzniká elektromagnetické záření, které pyrometr zachycuje o určité vlnové délce. Každé těleso vyzařuje IR, pokud má teplotu větší, než absolutní nulu. Lidské tělo vyzařuje IR díky metabolickým dějům.

Infračervené záření má vlnovou délku mezi 760 nm až 1 mm. Má tedy větší vlnovou délku než světlo viditelné, ale menší než mikrovlnné záření. Infračervené záření se dále dělí na jednotlivá pásma, která nejsou jednotná. Dělí se například na blízké $(0,7 - 5 \ \mu\text{m})$, střední $(5 - 30 \ \mu\text{m})$ a dlouhé $(30 - 1000 \ \mu\text{m})$. Výhody této metody jsou: Rychlé použití, snadné měření pohybujících objektů, možnost měření na těžko dostupných místech, měření vysokých teplot.

4.1 Infračervený měřící systém

U měření IR platí stejné zákony optiky, odlišný je pouze materiál čočky, na kterou je nanesena antireflexní vrstva, díky které zamezuje odrazu IR na povrchu čočky. Slouží také jako filtr. Na povrch čočky dopadá elektromagnetické záření všech vlnových délek, avšak optika propouští pouze vyžadované vlnové délky, dále dopadá na detektor, kde dochází ke změření intenzity. Tato data jsou následně zpracována a převedena na výsledný snímek, který je označován jako termogram [10].



Obrázek 4.1: Infračervený měřící systém [1]

4.2 Detektory infračerveného záření

Infračervené záření převádí na elektrický signál detektor. Z funkčního hlediska rozlišujeme dva základní druhy detektorů a to na tepelné a fotonové.

4.2.1 Tepelné detektory

Tepelné detektory pracují na principu změn elektrických vlastností v závislosti na intenzitě dopadajícího IR. Absorpcí fotonů se ohřívají citlivé části senzoru, kde pohlcená energie se zhodnotí nepřímo přes dotykové detektory teploty. Teplo je přenášeno formou infračerveného záření, které je zachycováno na světlocitlivé ploše, která se zahřívá. Nejznámějším a nejpoužívanějším detektorem vůbec je mikrobolometr. Mikrobolemetr se skládá z maticového pole miniaturních bolometrických detektorů, u kterých se mění elektrický odpor v závislosti na teplotě, která závisí na množství pohlceného dopadajícího IR. Hodnota dopadajícího IR se určuje změnou odporu bolometru. Obvykle se vyrábí z oxidů vanadu[4] [17].

4.2.2 Fotonové detektory

Při dopadu IR, fotonový detektor uvolňuje elektrický náboj. Uvolnění náboje se měří jako změna odporu, nebo jako napěťový výstup. Dá se tedy říci, že funguje na principu počítání fotonů. Výhodou tohoto detektoru je větší citlivost a rychlost zpracování. Na druhou stranu fotonové detektory jsou výrazně dražší, musí se chladit a měří na kratším spektru vlnových délek [4][17].

4.3 pH - metrie

Hodnota pH je vyjadřována jako záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoiových kationtů viz vzorec 4.1 [18]. Hodnota údává, zda roztok reaguje kysele nebo zásaditě. Zobrazuje jí logaritmická stupnice od 0 do 14. Hodnoty roztoků nižší než 7 se stanovují jako kyselé, 7 neutrální (destilovaná voda) a hodnoty vyšší jsou zásadité. K zjištění pH se využívá nejpoužívanější typ potenciometru a to pH – metr. U potenciometrické metody se využívá dvou elektrod. Měrné elektrody, která udává potenciál měřené látky a referenční elektrody, jejíž hodnota je konstantní při daných podmínkách. Hodnota pH je tedy vypočtena z rozdílu dvou potenciálů na dvou elektrodách viz vzorec 4.2 [30].

$$pH = -log(a(H_3O^+)) \tag{4.1}$$

$$\Delta E = E_{mer} - E_{ref} \tag{4.2}$$

4.4 Konduktometrie

Konduktometr slouží ke zjištění vodivosti měřeného vzorku. Vodivost je fyzikální veličinou která udává, jak dobře je vzorek schopen vést elektrický proud. Vodivost je větší, čím víc nabitých částic vzorek má. Je definován jako převrácená hodnota elektrického odporu. Označuje se G a jeho jednotkou je Siemens [S]

$$G = \frac{1}{R} \tag{4.3}$$

měření je prováděno dvěma kovovými deskami, které se vloží do měřeného roztoku, kam je přivedeno napětí (U) a proud (I).

$$G = \frac{I}{U} \tag{4.4}$$

Měrná vodivost k označuje elektrickou vodivost konkrétního materiálu. Je závislá na vzdálenosti a ploše desek. Jednotkou je $\rm [S/m]$

$$k = G * \frac{l}{S} \tag{4.5}$$

[3][21]

5 Analýza dat a diskuze

Z důvodu velkého množství naměřených dat a použitých grafů, byla spojena analýza dat a diskuze do jedné kapitoly pro lepší přehlednost.

Praktická část se zabývá možnými riziky ultrazvukového vlnění na lidský organismus. Především na zvýšení teploty organismu, změny pH a vodivosti simulovaného potu o různých pH, tekutiny tlustého střeva a plazmy. Dále byla zkoumána reakce ultrazvuku s krví. Výstupem praktické části je grafické znázornění naměřených hodnot. Srovnání teploty, pH a vodivosti před ozářením a po ozařování a změny krve vyhodnoceny z fotografií při použití mikroskopu. Z důvodu rozsáhlosti měření na diagnostickém ultrazvuku, již nebyly prováděny další měření na průmyslovém ultrazvuku.

5.1 Měření teploty

V první části měření byla zjišťována změna teploty při průchodu ultrazvukového vlnění, která byla měřena na simulované tkáni z agaru. Výsledné teploty byly vyhodnocovány v závislosti na frekvenci a typu sondy, které byly měřeny termokamerou.

Model tkáně představoval 5% agar, z důvodu podobných fyzikálních vlastností jako má měkká tkáň. Agar této konzistence má rychlost šíření ultrazvukové vlny 1525 m/s a akustickou impedanci $1,52 \times 10^6$ kg/m². Směs se připravovala ve vodní lázni a představovala 10 g agaru a 190 ml destilované vody. Zahřívání probíhalo za vysoké teploty, z důvodu vypaření vzduchových bublin. Směs se vařila kolem jedné hodiny a následně se nechala vytemperovat na 25°C. Po prvním zkušebním měřením jsme vložili model do balonku, z důvodů rychlého odpařování vody v agaru při laboratorní teplotě, které vedlo k ochlazování modelu. Pro ozařování modelu tkáně byl použit ultrazvuk HONDA ELECTRONICS HS-4000 s použitím kovexní sondy(1) s označením HCS - 436M a lineární sondy (2) HLS - 475M v B modu. U konvexní sondy můžeme nastavit frekvenci na 2,8 MHz, 3,5 MHz a 5 MHz. Pro lineární sondu jsou možnosti frekvence 5MHz, 7,5 MHz a 10 MHz. Ozařovaný model byl snímán termovizní kamerou Ti 32 značky Fluke od společnosti Blue Panther. Termokamera využívá infračervené záření o vlnové délce 7,5 um – 14 um ke zjišťování teploty. Je přizpůsobena na teploty od -20° C do 600° C s přesností na $\pm 2^{\circ}$ C, rozlišení displeje 0,1°C. Detektor je nechlazený mikrobolometr. Způsob měření spočívá v tom, že zaměříme měřený objekt, doostříme a snímáme. Minimální vzdálenost pro zaostření je 46 cm. Teplotní pole se zobrazí na displeji přístroje prostřednictvím barevné škály a zároveň ukazuje naměřenou teplotu. Objekt se vyfotí, uloží a následně se zpracovává v počítači [2].

Model tkáně byl ozařován konvexní a lineární sondou o všech zmíněných frekvencích s fokusací 3,5 cm pod povrchem. Sonda byla přiložena na horní část podstavy s vodivým gelem, aby nedošlo k odrazu vlny. Měřena byla přední plocha 2 cm pod povrchem. Výstupní výkon sond byl nastaven na 100 % a v provozu 5 minut před použitím pro maximální ohřev. Sondy byly střídány po každém měření, z důvodu možného poškození krystalů při dlouhodobém používání. Termokamera byla od modelu vzdálena 60 cm, pro maximální zaostření. Teplota byla zaznamenávaná po dobu patnácti minut v intervalu jedné minuty. Měření bylo prováděno třikrát ke kontrole přesnosti měření a vypočtena průměrná teplota.

Pro zhodnocení biologické účinnosti má největší význam maximální prostorová intenzita a průměrná intenzita v čase. Tyto hodnoty se označují jako I_{SPTA} (Spatiel Peak Temporal Average). Za těchto předpokladů bylo celosvětově provedeno velké množství experimentů a teoretických zkoumání, přičemž byl stanoven práh biologicky účinné expozice intenzity ultrazvuku na 720 mW/cm2. Konvexní sonda (1) s hodnotou intenzity I_{SPTA} 21, $4mW/cm^2$ a lineární sonda (2) s hodnotou intenzity I_{SPTA} 14,2 mW/cm2 jsou v porovnání s limitními bezpečnostními indexy ($I_{SPTA}720mW/cm^2$) velmi nízké. Lze tedy očekávat, že s vyšší intenzitou ultrazvukového vlnění se riziko poškození tkáně bude navyšovat. V tabulce 5.1 je znázorněna změna teploty při použití konvexní sondy o frekvencích 2,8 MHz, 3,5 MHz a 5 MHz. Změna teploty v závisloti na frekvenci a při použitá lineární sondy o frekvenci 5 MHz, 7,5 MHZ a 10MHz je zobrazena v tabulce 5.2 [29].

5.1.1 Výsledky měření teploty

Změna teploty při průchodu ultrazvukového vlnění je značena grafy v závislosti na frekvenci a době ozvučení. Z grafu 5.1 je vidět změna teploty v závislosti na době ozvučování s použitím konvexní sondy o frekvencích 2,8 MHz, 3,5 MHz a 5 MHz. Graf 5.2 znázorňuje změnu teploty v závislosti na době ozvučování při použití lineární sondy s frekvencemi 5 MHz, 7,5 MHz a 10 MHz. Na grafu 5.3 v závislosti na době měření je znázorněna konvexní i lineární sonda o stejné frekvenci 5 MHz.

1.sonda								
t[m]	[2,8MHz]	[3,5MHz]	[5MHz]					
0	24,93	24,90	24,80					
1	24,83	24,90	24,77					
2	24,90	24,90	24,73					
3	24,87	25,03	24,70					
4	24,93	24,93	24,80					
5	24,97	24,87	24,60					
6	24,77	24,87	24,77					
7	24,83	24,90	24,77					
8	24,90	24,87	24,83					
9	24,83	$25,\!00$	24,73					
10	24,83	24,90	24,83					
11	24,77	24,83	24,83					
12	24,80	24,83	24,77					
13	24,87	24,87	24,83					
14	24,83	24,93	24,87					
15	24,87	24,90	24,97					

Tabulka 5.1: Změny teploty v závislosti na frekvenci (Sonda 1)



Obrázek 5.1: Změny teploty v závislosti na frekvenci (Sonda 1)

Sonda 2								
t[m]	[5MHz]	[7,5MHz]	[10MHz]					
0	24,67	24,87	24,83					
1	24,77	24,87	24,83					
2	24,77	24,83	24,87					
3	24,67	24,87	24,80					
4	24,57	24,83	24,93					
5	24,67	24,93	24,80					
6	24,70	24,87	24,90					
7	24,77	24,87	24,93					
8	24,70	24,83	24,90					
9	24,67	24,83	24,87					
10	24,73	24,97	24,90					
11	24,63	24,87	24,80					
12	24,60	24,93	24,80					
13	24,67	24,87	24,90					
14	24,60	24,90	24,87					
15	24,77	24,93	24,87					

Tabulka 5.2: Změny teploty v závislosti na frekvenci (Sonda 2)



Obrázek 5.2: Závislost změny teploty na frekvenci (Sonda 2)



Obrázek 5.3: Závislost změny teploty na frekvenci (Sonda 1, 2)

Termovizní kamera Ti 32, byla nejdostupnější metodou pro celkovou kontrolu plošného zahřívání modelu při ohřevu. Avšak termokamra má toleranci \pm 2°C a tak k velkému ohřevu nedošlo, aby byly výsledky zcela objektivní. Nicméně když nebudeme k toleranci přihlížet, tak výsledky měření můžeme shrnout takto:

Z grafu 5.1 je vidět změna teploty v závislosti na době ozvučování s použitím konvexní sondy o frekvencích 2,8 MHz, 3,5 MHz a 5 MHz. K zahřívání došlo pouze u konvexní sondy s frekvenci 5 MHz a to jen o (0.17 ± 0.08) °C.

Graf 5.2 znázorňuje změnu teploty v závislosti na době ozvučování při použití lineární sondy s frekvencemi 5 MHz, 7,5 MHz a 10 MHz. K mírnému zahřívání došlo při frekvencích 5 MHz o $(0,1 \pm 0,06)$ °C, 7 MHz o $(0,06 \pm 0,04)$ °C. U frekvence 10 MHz se teplota v porovnání s tolerancí nezměnila.

Na grafu 5.3 v závislosti na době měření je znázorněna konvexní i lineární sonda o stejné frekvenci 5 MHz. Tato frekvence dosáhla největšího ohřevu u obou typu sond.

Největší ohřev nastal tedy u konvexní sondy o frekvenci 5 MHz a to pouze o $(0,17 \pm 0,08)$ °C. Lze předpokládat, že při vyšší intenzitě ultrazvukového vlnění by mělo dojít k výraznějšímu ohřevu. Avšak při měření byla sonda na jednom místě a doba ozvučení byla 15 minut za stálého provozu. Během běžného používání diagnostického ultrazvuku se sondou pohybuje kolem vyšetřované oblasti a neozvučuje se nepřetržitě.

Tato část bakalářské práce byla velmi podobná bakalářské práci na téma ověřování tepelných účinků ultrazvukového diagnostického přístroje prostřednictvím modelu tkáně Jaromíra Vachutky. Práce se zabývá tepelnými účinky diagnostického ultrazvuku s konvexní sondou v závislosti na frekvenci, době ozvučování, ale také na hloubce pod povrchem [29]. U této práce je jasně viditělné zvýšení teploty při použití vyšší hodnoty intenzity (I_{SPTA} 50,56 mW/cm^2) než bylo u mé bakalářské práce. Z obou prací je zřejmé, že velikost frekvence neměla na ohřev zásadní vliv. V práci Jaromíra Vachutky se uvádí, že frekvence měla vliv pouze při měření méně než 1 cm pod povrchem. Z výsledků je rovněž patrné, že teplota v závislosti na hloubce pod povrchem došla k nejvýraznějšímu ohřevu v místě kontaktu sondy a modelu. S rostoucí hloubkou teplota klesala. Z tohoto důvodu by bylo vhodné i mé měření doplnit závislotí na hloubce pod povrchem.

5.2 Měření pH a vodivosti

V druhé části měření byla měřena změna pH a vodivosti při průchodu ultrazvukového vlnění, která byla měřena na simulovaných tělních tekutinách, konkrétně krevní plazmě, tlustého střeva a potu o různých pH. Z dostupné literatury [32] vyplývá, že účinkem ultrazvukových vln ve vodě, vzniká peroxid vodíku, kyselina dusitá a kyselina dusičná, přičemž dochází ke změně fyzikálně-chemických vlastností, tedy i k poklesu pH a vzrůstu vodivosti. Simulovaná tekutina byla ozvučována v kádince (400 ml) s plochým dnem. Objem ozvučované tekutiny byl 280 ml. Z jednoho litru tekutiny byly provedeny tři měření. Před začátkem byla každá tekutina vytemperována na 25°C a změřena aktuální vodivost a pH. Na každou tekutinu byla použita konvexní sonda (10 MHz) a lineární sonda (3,5 MHz a 5 MHz). Měření bylo prováděno každé dvě minuty po dobu 12 minut v intervalech 20 - 20 (20 sekund působení ultrazvuku, 20 sekund pozastavení). Po uplynutí 2 minut, byla ozařovaná tekutina měřena pH metrem Toledo a konduktometrem Multi 340i. Zařízení pH metr Toledo má rozsah 0 – 14 pH, jeho přesnost je ± 0,01 pH. Rozsah potenciálu je 2000 mV s přesností na 1 mV. Teplotní rozsah je 0°C – 100°C s tolerancí 0,5°C [7].

5.2.1 Příprava tělních tekutin

Pro přípravu jednoho litru simulované tekutiny tlustého střeva (pH7) bylo potřeba 0,2 g chloridu draselného, 8 g chloridu sodného, 0,24 g draselného dihydrogenu fosforečného a 1,44 g dvojsytného fosforečnanu sodného.

Simulovaná tekutina plazmy (pH 7,25) jednoho litru byla připravena z 8,035 g chloridu sodného, 0,355 g hydrogenuhličitanu sodného, 0,225 g chloridu draselného, 0,231 g dvojsytného fosforečnanu draselného trihydrátu, 0,311 g hexahydrátu chloridu hořečnatého, 39 ml 1 M kyseliny chlorovodíkové. 0,292 g chloridu vápenatého, 0,072 g síranu sodného a 6,118 g tris (hydroxymethyl) aminomethanu.

Jeden litr simulovaného potu (pH 5,4) byl zhotoven z 5,92 g chloridu sodného, 0,166 g chloridu vápenatého, 0,12 g síranu hořečnatého a 1,02 fosforečnanu draselného. Druhý pot (pH 4,5) byl připraven z 5,49 g chloridu sodného, 6,64 g chloridu vápenatého, 0,24 g síranu hořečnatého a 1,36 g fosforečnanu draselného [22].

5.2.2 Výsledky měření pH a vodivosti tlustého střeva

Změny pH a vodivosti simulovaných tekutin jsou znázorněny v závislosi na době ozvučení. Z tabulek 5.3, 5.4 a 5.5 je znázorněna změna pH a vodivosti tlustého střeva, která je zobrazena na obrázcích 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8 a 5.9. Rozdíl pH a vodivosti plazmy je uvedena v tabulkách 5.6, 5.7, 5.5. Graficky je vyjádřena na obrázcích 5.10, 5.11, 5.12, 5.13, 5.14 a 5.15. Hodnoty pH a vodivosti potu jsou uvedeny v tabulkách 5.9, 5.10, 5.11, 5.12 a 5.13. Grafické znázornění je na obrázcích 5.16, 5.17, 5.18, 5.19, 5.20, 5.21, 5.22, 5.23, 5.24 a 5.25.

	1			(
	[mS/cm]	t [°C]	pН	t [°C]
0	$16,\!67$	25,2	7,77	25,2
1	$16,\!65$	25,1	7,77	25,1
2	16,65	25	7,76	25
3	16,5	24,8	7,75	24,9
4	16,64	24,7	7,75	24,8
5	16,63	24,6	7,75	24,7
6	16,62	24,6	7,75	24,6

Tabulka 5.3: Hodnoty pH a vodivosti tlustého střeva (f = 5MHz, Sonda 1)



Obrázek 5.4: Změna pH simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 5MHz



Obrázek 5.5: Změna vodivosti simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 5MHz

	[mS/cm]	t [$^{\circ}$ C]	pН	t [°C]
0	16,68	25,3	7,77	$25,\!3$
1	16,69	25,2	7,75	25,2
2	16,69	25,1	7,75	25,1
3	16,69	25	7,75	25,1
4	16,68	24,9	7,55	25
5	16,68	24,9	7,74	25
6	16,68	24,8	7,74	24,9

Tabulka 5.4: Hodnoty pH a vodivosti tlustého střeva (f = 10MHz, Sonda 2)



Obrázek 5.6: Změna pH simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci $10\mathrm{MHz}$



Obrázek 5.7: Změna vodivosti simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci $10\rm MHz$

	[mS/cm]	t [$^{\circ}C$]	рН	t [°C]
0	16,68	25,2	7,75	25,2
1	16,68	25,1	7,75	25,1
2	$16,\!68$	25	7,75	25,1
3	16,68	25	7,74	25,1
4	16,68	24,9	7,74	25
5	16,68	24,8	7,74	24,9
6	$16,\!67$	24,7	7,74	24,8

Tabulka 5.5: Hodnoty pH a vodivosti tlustého střeva (f = 3,5MHz, Sonda 1)



Obrázek 5.8: Změna pH simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci $3,5{\rm MHz}$



Obrázek 5.9: Změna vodivosti simulované tekutiny tlustého střeva v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci $3,5\rm MHz$

5.2.3 Výsledky měření pH a vodivosti plazmy

1000	priaroan	0001 1110	proc	
	[mS/cm]	t [°C]	рН	t [$^{\circ}C$]
0	$17,\!97$	24,7	7,79	24,7
1	18,11	24,6	7,7	24,6
2	18,13	24,5	7,68	24,6
3	18,13	24,4	7,68	24,5
4	18,13	24,3	7,67	24,4
5	18,14	24,3	7,67	24,3
6	18,14	24,2	7,66	24,3

Tabulka 5.6: Hodnoty pH a vodivosti krevní plazmy (f = 5MHz, Sonda 1)



Obrázek 5.10: Změna pH simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 5MHz



Obrázek 5.11: Změna vodivosti simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 5MHz

•	1		-	
	[mS/cm]	t [°C]	рН	t [°C]
0	18,06	24,9	7,62	24,9
1	18,06	24,8	7,65	24,8
2	18,07	24,6	7,63	24,7
3	18,07	24,5	7,61	24,6
4	18,07	24,4	7,6	24,5
5	18,07	24,3	7,59	24,4
6	18,07	24,3	7,59	24,3

Tabulka 5.7: Hodnoty pH a vodivosti krevní plazmy (f = 10MHz, Sonda 2)



Obrázek 5.12: Změna pH simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci $10\rm MHz$



Obrázek 5.13: Změna vodivosti simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci $10\rm MHz$

	[mS/cm]	t [$^{\circ}$ C]	pН	t [$^{\circ}C$]
0	18,07	24,9	7,59	24,9
1	18,07	24,8	7,56	24,8
2	18,08	24,6	7,56	24,7
3	18,08	24,5	7,56	24,5
4	18,08	24,5	7,55	24,5
5	18,08	24,4	7,55	24,5
6	18,08	24,4	7,56	24,5

Tabulka 5.8: Hodnoty pH a vodivosti krevní plazmy (f = 3,5MHz, Sonda 1)



Obrázek 5.14: Změna pH simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci $3,5{\rm MHz}$



Obrázek 5.15: Změna vodivosti simulované tekutiny krevní plazmy v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci $3,5{\rm MHz}$

5.2.4 Výsledky měření pH a vodivosti potu

P P P (P P				(1 0101
	[mS/cm]	t [°C]	рН	t [°C]
0	6,33	25,2	5,02	25,2
1	6,39	24,9	4,72	25
2	6,38	24,8	4,61	24,9
3	6,36	24,7	4,62	24,8
4	6,38	24,7	4,6	24,7
5	6,39	24,5	4,56	24,6
6	6,39	24,4	4,61	24,5

Tabulka 5.9: Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 5MHz, Sonda 1)



Obrázek 5.16: Změna pH simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 5
MHz



Obrázek 5.17: Změna vodivosti simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci
 $\rm 5MHz$

	[mS/cm]	t [$^{\circ}$ C]	pН	t [$^{\circ}C$]
0	20,1	24,6	4,23	24,8
1	20,1	24,6	4,25	24,8
2	20,1	24,5	4,25	24,7
3	20,1	24,4	4,3	24,6
4	20,1	24,4	4,29	24,5
5	20,1	24,4	4,4	24,5
6	20,1	24,4	4,39	24,5

Tabulka 5.10: Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 5MHz, Sonda 2)



Obrázek 5.18: Změna pH simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci 5
MHz



Obrázek 5.19: Změna vodivosti simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci 5
MHz

	[mS/cm]	t [$^{\circ}$ C]	pН	t [°C]
0	20,3	25,1	4,42	25
1	20,3	25	4,42	25
2	20,3	25	4,42	25
3	20,3	24,9	4,43	24,9
4	20,3	24,8	4,42	24,8
5	20,3	24,8	4,43	24,8
6	20,3	24,7	4,44	24,8

Tabulka 5.11: Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 3,5MHz, Sonda 1)



Obrázek 5.20: Změna pH simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci 3,5MHz



Obrázek 5.21: Změna vodivosti simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 1 o frekvenci
 $3,5{\rm MHz}$

	[mS/cm]	t [°C]	pН	t [$^{\circ}C$]
0	20,3	24,8	4,4	24,8
1	20,3	24,7	4,42	24,8
2	20,3	24,7	4,41	24,7
3	20,3	24,6	4,42	24,7
4	20,3	24,6	4,43	24,7
5	20,3	24,6	4,42	24,6
6	20,3	24,5	4,42	24,6

Tabulka 5.12: Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 10MHz, Sonda 2)



Obrázek 5.22: Změna pH simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci 10
MHz



Obrázek 5.23: Změna vodivosti simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci 10
MHz

	[mS/cm]	t [°C]	pН	t [°C]
0	6,27	25,5	4,58	$25,\!5$
1	6,31	25,3	4,54	25,3
2	6,31	25,2	4,55	25,3
3	6,33	25,1	4,56	25,2
4	6,34	25	4,56	25,1
5	6,34	24,9	4,55	25
6	6,34	24,8	4,55	24,9
	$ \begin{array}{c} 0 \\ 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \\ 5 \\ 6 \end{array} $	[mS/cm] 0 6,27 1 6,31 2 6,31 3 6,33 4 6,34 5 6,34 6 6,34	[mS/cm] t [°C] 0 6,27 25,5 1 6,31 25,3 2 6,31 25,2 3 6,33 25,1 4 6,34 25 5 6,34 24,9 6 6,34 24,8	[mS/cm] t [°C] pH 0 6,27 25,5 4,58 1 6,31 25,3 4,54 2 6,31 25,2 4,55 3 6,33 25,1 4,56 4 6,34 25 4,56 5 6,34 24,9 4,55 6 6,34 24,8 4,55

Tabulka 5.13: Hodnoty pH a vodivosti potu (f = 10MHz, Sonda 2)



Obrázek 5.24: Změna pH simulované tekutiny pot
u v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci 10
MHz



Obrázek 5.25: Změna vodivosti simulované tekutiny potu v závislosti na teplotě ozvučované sondou 2 o frekvenci 10MHz

Z grafů simulovaných tekutin je vidět, že po ozvučování se hodnoty pH a vodivosti měnily spíše nepatrně, maximálně o desetinu měřené hodnoty, což je zanedbatelné vzhledem k odychlce přesnosti přístrojů. Změny pH a vodivosti byly očekávány v závislosti na době ozvučení v domnění, že v tekutině při působení ultrazvukové vlny bude vznikat peroxid vodíku, kyselina dusitá a kyselina dusičná, kde pH by mělo klesat a vodivost vzrůstat. Avšak doba ozvučení, či intenzita ultrazvukového vlnění nebyla tak vysoká, že změny pH a vodivosti byly minimální. Napříkald v bakalářské práci od Hedviky Goliášové [15], která řešila vliv ultrazvuku na změny povrchového napětí roztoků biomakromolekul, kde bylo ozvučováno terapeutickým generátorem o konstantní intenzitě 2 W/cm2 roztok BSA připravený z lyofilizovaného albuminu z hovězího séra, bylo měření prováděno v závislosti na době ozvučování v čase 1, 2, 5, 10 a 25 minutách, ale také po ozvučení a to po 15, 30, 60 a 120 minutách, kde k poklesu pH taktéž nedocházelo.

Toto měření bylo opět co nejvíce přiblíženo skutečnému vyšetření, neboť ozařované roztoky simulovaly tělní tekutiny člověka a byl použit diagnostický ultrazvuk. Nicméně by bylo dobré naměřit závislost intenzity diagnostického ultrazvuku po ozvučení a zaznamenat hodnoty s vyšší intenzitou například terapeutického ultrazvuku.

5.3 Měření působení ultrazvuku na erytrocyty

V poslední části měření jsme zkoumali vliv diagnostického, ale i terapeutického ultrazvuku na červené krvinky. Měření bylo prováděno na principu Pappenheimově panoptické barvící technice, kde krevní nátěry jsou fixovány roztokem May-Grünwald a barveny Giemsa-Romanowski. Podstatou tohoto barvení je kationtové (zásadité barvivo) azur B a aniontové (kyselé) barvivo eozin Y. Kationtové vážou aniontové molekuly, které barví modrošedě nukleonové kyseliny, nukleoproteiny, granule bazofilů a sekundární granula neutrofilů. Aniontové naopak vážou kationtové části molekul proteinů a barví oranžovo-červeně hemoglobin a eozinofilní granula. May-Grünwaldovo barvivo obsahuje 1g Eosin-methylenové modř, 100ml methanolu a 50 ml glycerolu. Giemsy-Romanowskeho barvivo se skládá z 3g azureosinu, 0,8g Azuru, 250ml glycerolu a 250ml methanolu. Před nanášením krve na podložní sklíčko, musí být důkladně odmaštěno a namočeno ve 96% ethanolu následně nechat volně okapáno [23].

5.3.1 Postup měření

Prsteníček pravé ruky byl vydezinfikován a následně udělán vpich sterilní jehlou. Kapka krve byla nanesena na jeden konec podložního sklíčka a roztěrovým sklem pod úhlem 30°-40° byl proveden rovnoměrný roztěr. Roztěrů bylo připraveno šest. Dva standarty, dva pro měření diagnostickým a dva pro terapeutický ultrazvuk. Diagnostickým ultrazvukem s frekvencí 3,5 MHz po dobu 15 minut, dále s frekvencí 10MHz po dobu 5 minut. Pro porovnání výsledků bylo měření prováděno i terapeutickým ultrazvukem s frekvencí 3MHz s intenzitou 2,5 W/cm2 po dobu 3 minut a frekvencí 3MHz a intenzitou 3 W/cm2 po dobu 5 minut. Po ozáření byly podložní sklíčka fixovány do barvící kyvety s roztokem May-Grünwalda 10 minut. Následně byly vloženy do druhé kyvety s barvícím roztokem Giemsa-Romanowski a 9 dílů fosfátového pufru pH po dobu 10 minut a poté opět opláchnuty fosfátovým pufrem. Na závěr byly nátěry opláchnuty pod tekoucí vodou a usušeny [23].

5.3.2 Výsledky měření erytrocytů

Na obrázcích 5.26 a 5.27 jsou znázorněny erytrocyty před ozvučením. Na snímcích 5.28 a 5.29 je použit diagnostický ultrazvuk o frekvenci 3,5 MHz v čase 5 a 15 minut. U obrázku 5.30 jsou erytrocyty ozvučeny diagnostickým ultrazvukem při frekvenci 10 MHz po dobu 15 minut. Na posledních dvou snímcích 5.31 a 5.32 byl použit terapeutický ultrazvuk s frekvencí 3 MHz.



Obrázek 5.26: Standard - membrána erytrocytů barvena pomocí histochemické reakce (zvětšení $10\mathrm{x}40)$



Obrázek 5.27: Standard – nátěr krve barven metodou Giemsa-Romanowski
(zvětšení $10\mathrm{x}100)$



Obrázek 5.28: Diagnostický ultrazvuk 3,5MHz, 5min.(zvětšení 10x100)



Obrázek 5.29: Diagnostický ultrazvuk 3,5MHz, 15min. (zvětšení 10x100)



Obrázek 5.30: Diagnostický ultrazvuk 10MHz, 15min.(zvětšení 10x100)



Obrázek 5.31: Terapeutický ultrazvuk 3
MHz, 3min, 2,5W (zvětšení 10x40)



Obrázek 5.32: Terapeutický ultrazvuk 3
MHz, 5min, 3W (zvětšení 10x100)

Vzorky krve byly ozvučovány diagnostickým i terapeutickým ultrazvukem z důvodu rozdílné intenzity. Konvexní sonda diagnostického ultrazvuku má hodnotu intenzity 21,4mW/cm2, lineární sonda 14,2mW/cm2 a terapeutický ultrazvuk s hodnotou intenzity 0,3W/cm2. Ozvučování krevních nátěrů probíhalo bez použití ultrazvukového gelu, z důvodu poškození vzorku.

Na obrázku 5.26 je zobrazen standart pomocí histologické metody zvanou histochemické reakce. Na snímku je jasně viditelná a ohraničená membrána erytrocytů, které mají kulový tvar a každý erytrocyt je izolován od druhého.

U obrázku 5.27 je znázorněn standart, který je bareven metodou Giemsa-Romanovski. Zde je taktéž vidět typický kulový tvar a izolovanost erytrocytů.

Obrázek 5.28 je po použití diagnostického ultrazvuku o frekvenci 3,5MHz po dobu 5 minut. Dochází zde k viditelnému shlukování červených krvinek a k menší deformaci tvaru.

Na obrázku 5.29 byla pužita stejná sonda o stejné frekvenci 3,5MHz, avšak doba ozvučování byla 15 minut. Po této době už jsou erytrocyty navzájem pospojované a pravděpodbně došlo i ke změně tvaru, jelikož projasněný střed krvinek už není viditelný.

Při použití diagnostického ultrazvuku o frekvenci 10MHz po dobu 15 minut (Obrázek 5.30), již nedochází ke zhlukování krvinek, ale k výskytu velkému množství výběžků (echinocytů). Je to projev subhemolytický při působení ultrazvuku. Projasněný střed a izolece erytrocytů však zůstává.

U obrázků 5.31 a 5.32 byl použit diagnostický ultrazvuk s výkonem 3W/cm2, frekvencí 3MHz a doba ozařování 3 a 5 minut. Již po tak krátkém čase dochází opět k velkému výskytu echinocytů a popraskání membrán. Takto rozsáhlé poškození po krátké době je následkem mnohonásobné intenzity oproti diagnostickému ultrazvuku.

Tato práce byla měřena na lidské krvi o reálné koncentraci červených krvinek, například oproti bakalářské práci Beaty Viškové na téma kvantifikace tvarových změn erytrocytů vyvolaných ultrazvukem, kde byla použita koňská krev, která byla ředěna s roztokem citrátu, aby nedošlo ke sražení [31].

Účinky ultrazvuku na červené krvinky byly subhemolytické, bylo by dobré naměřit, při jaké době ozvučování a hodnotě intenzity se z zhlukování vytváří echinocyty a jsou opět izolované, popřípadně jak se deformují krvinky při vyšší intenzitě. Dále by chtělo naměřit působení diagnostického ultrazvuku ve standardní době ozvučování pacientů, aby měření bylo vypovídající pro použití ve zdravotnictví. K takto rozsáhlé deformaci krvinek nejspíše přispělo i nepoužití ultrazvukového gelu, jelikož nedocházelo k dobrému akustickému kontaktu mezi krví a sondou.

6 Závěr

V této bakalářské práci byl objasněn princip zobrazení tkání pomocí diagnostického ultrazvuku a jeho částí. Dále byly sepsány možné biologické účinky způsobené ultrazvukovým vlněním.

Cílem této bakalářské práce bylo laboratorní ověření tepelných účinků, destruktivních účinků na červené krvinky, možné změny pH a vodivosti na simulovaných tělních tekutinách při použití diagnostického ultrazvuku v závislosti na frekvenci a době ozařování, kde z výsledků naměřených hodnot vyplývá, že použitý diagnostický ultrazvuk měl moc malou intenzitu na to, aby došlo k poškození způsobené zahříváním, změně pH či vodivosti. Ze snímků termokamery je patrné, že k zahřívání modelu nedocházelo ani moc absorpcí ultrazvukového vlnění, ale vedením tepla v místě dotyku, z důvodu vlastního ohřívání sondy. Erytrocyty však výrazně poškozeny byly i při relativně nízké intenzitě a krátké doby ozvučování. Nicméně při běžném použití diagnostických i terapeutických ultrazvuků nedochází k přímému kontaktu s krví.

Laboratorní výsledky této práce byly objektivní z důvodu použití diagnostického ultrazvuku, běžně využívaném v nemocnicích a jeho obvyklé hodnotě intenzity. Avšak pro porovnání by bylo v budoucnu vhodné porovnat průmyslový ultrazvuk s diagnostickým, který využívá vyšší intenzity a různou škálu frekvencí.

7 Přílohy



Obrázek 7.1: Měření teploty agaru termokamerou

Literatura

- Blokové schéma měřicího řetězce bezkontaktních (bezdotykových) snímačů teploty.
 URL <http://automatizace.hw.cz/files/styles/clanek-600/public/ story_automat/10548/infra_princip.gif>
- [2] FLUKE FLUKE TI32/9HZ. URL <http://www.tme.eu/cz/details/flk-ti32_9hz/ termovizni-kamery-fluke/fluke/fluke-ti329hz/>
- [3] Konduktometrie. URL <https://core.ac.uk/download/pdf/30279835.pdf>
- [4] Konstrukce termokamery: str. 1. URL <http: //www.termokamera.cz/princip-a-funkce/konstrukce-termokamery/>
- [5] Oběhová soustava.
 URL <http://skolajecna.cz/biologie/Sources/Textbook_Textbook.
 php?intSectionId=30500>
- [6] Operační manuál. Praha: Honda Electronics co., LTD.
- [7] PH metr stolní FiveEasyTMF20 sada, Mettler Toledo: str. 1. URL <http://www.verkon.cz/ ph-metr-stolni-fiveeasyuf20-akcni-sada-mettler-toledo>
- [8] Popis kmitavého pohybu.
 URL <http://www.vedanasbavi.cz/upload/images/orisky/E39_1.jpg>
- [9] Porovnání vyzařovacích úhlů všech tří typů sond.
 URL <http://popular.fbmi.cvut.cz/biomedicina/PublishingImages/
 UZV/porovnani-vyzarovacich-uhlu.jpg>
- [10] Termokamery a pyrometry: s. 1-3. URL <http://www.allforpower.cz/UserFiles/file/termokamery_1.pdf>
- [11] Piezoelektřina a její technické použití. Praha: ČSAV, 1960.

- [12] Manuál ultrazvukové diagnostiky. Praha: Grada, prvn vyd n, 2000, ISBN 80-7169-689-7.
- [13] Úvod do ultrasonografie. Principy ultrazvukových diagnostických metod a způsoby jejich využití, 2008: s. 1-36. URL <http: //www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/uvod do ultrasonografie1.pdf>
- [14] Beneš, J.; Jirák, D.; Vítek, F.: Základy lékařské fyziky. V Praze: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, tvrt vyd n, 2015, ISBN 978-80-246-2645-1.
- [15] Goliášová, H.: Vliv ultrazvuku na změnu povrchového napětí roztoků biomakromolekul. 2007.
- [16] Hrazdira, I.; Mornstein, V.: Lékařská biofyzika a přístrojová technika. Brno: Neptun, prvn vyd n, 2001, ISBN 80-902-8961-4.
- [17] Hušek, M.: Princip bezdotykového měření teploty. URL <http://www.qtest.cz/bezdotykove-teplomery/ bezdotykove-mereni-teploty.htm>
- [18] Jelínek, J.: Měření el. vodivosti roztoků a pH, 2016.
- [19] Kintr, J.: NEDESTRUKTIVNÍ METODY DETEKCE BIOLOGICK É AKTIVITY DŘEVOŠKŮDCŮ. 2017. URL <https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne. php?file_id=86213>
- [20] Lepil, O.: Fyzika pro gymnázia. Praha: Prometheus, t et vyd n, ISBN 978-80-7196-216-8.
- [21] Maceška, R.: MĚŘENÍ VODIVOSTI KAPALIN. 2009.
- [22] Marques, M. R. C.; Loebenberg, R.; Almukainzi, M.: Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing: str. 14. URL <http://www.dissolutiontech.com/DTresour/201108Articles/ DT201108_A02.pdf>
- [23] Mikulenková, D.; Matýšková, M.; Bourková, L.: PŘÍPRAVA A BARVENÍ NÁTĚR U PERIFERNÍ KRVE A ASPIRÁTU KOSTNÍ DŘENĚ. 2013: s. 1–5. URL <https://www.sekk.cz/infoservis/CHS_doporuceni-barveni.pdf>
- [24] Mourek, J.: Fyziologie. Praha: Grada, druh vyd n , 2012, ISBN 80-247-3918-6.
- [25] Navrátil, L.; Rosina, J.: Biofyzika v medicíně. Praha: Manus, prvn vyd n, 2003, ISBN 80-865-7103-3.
- [26] Rozman, J.: Elektronické přístroje v lékařství. Praha: Academia, vyd. 1. vyd n, 2006, ISBN 80-200-1308-3.

- [27] Smith, N. C.; Smith, A. P. M.: Ultrazvuk v porodnictví. Praha: Grada, prvn vyd n, 2006, ISBN 80-247-1107-9.
- [28] Tabara, O.: Co dovede ultrazvuk. Praha: Práce, prvn vyd n, 1958.
- [29] Vachutka, J.: Ověření tepelných účinků ultrazvukového diagnostického přístroje prostřednictvím modelu tkáně. 2007.
- [30] Vinšová, H.; Zachař, P.; Záruba, K.: POTENCIOMETRICKÉ MĚŘENÍ pH. URL <https: //uanlch.vscht.cz/files/uzel/0012437/3_Pot-pH.pdf?redirected>
- [31] Víšková, B.: Kvantifikace tvarových změn erytrocytů vyvolaných ultrazvukem. 2007. URL
 https://is.muni.cz/th/151031/prif b/bakalarka pro tisk .pdf>
- [32] Čech, E.: Ultrazvuk v lékařské diagnostice a terapii. Praha: Avicenum, prvn vyd n, 1982, ISBN 08-085-82.
- [33] Šimonová Čeřovská, J.: Ultrazvuk a jeho užití v praxi. Praha: Knihtiskárna Typus, prvn vyd n, 1941.
- [34] Šimalják, J.; Křižan, .; Burjan, J.: Ultrazvuk v medicíně. Bratislava: Slovenská akadémia vied, 1955.