



Doctoral Thesis

## Ultraschallmikroskopie von schwach reflektierenden biologischen Strukturen

**Author(s):**

Kanngiesser, Hartmut

**Publication Date:**

1990

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000592697> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 9277

# **Ultraschallmikroskopie von schwach reflektierenden biologischen Strukturen**

ABHANDLUNG  
zur Erlangung des Titels  
DOKTOR DER TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von

**HARTMUT KANNGIESSER**  
Dipl. Ing. TH Darmstadt  
geboren am 2. Oktober 1960  
in Mannheim (BRD)

angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. M. Anliker, Referent  
Prof. Dr. W. Bächtold, Korreferent

1990

# Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit umfasst zwei Teilbereiche.

Im ersten Teil wurde ein Gerät entwickelt und gebaut, das neben zwei Lichtmikroskopen ein Ultraschallmikroskop enthält.

Das Ultraschallmikroskop hat von oben Zugriff auf das Objekt und arbeitet nach dem Reflexionsprinzip, das heisst, der vom Objekt reflektierte Schall wird detektiert und zur Bildgebung verwendet. Das Ultraschallmikroskop verfügt nur über eine Sinneszelle, den Transducer, der im Puls- Echo- Betrieb sowohl als Sender als auch als Empfänger arbeitet. Um eine zweidimensionale Bildwiedergabe zu ermöglichen, wird ein Scanningverfahren eingesetzt, bei dem der Transducer gegenüber dem Objekt bewegt wird. Das Ultraschallmikroskop wurde speziell ausgelegt auf schnellen Bildaufbau bei hochauflösender Bildwiedergabe, gesteigertes axiales Auflösungsvermögen sowie hohen Signal- zu Rauschabstand.

Mit dem Ultraschallmikroskop sind exakte quantitative Messungen der mechanischen Eigenschaften eines Objektes möglich.

Die verwendeten Ultraschallfrequenzen liegen im Bereich von 1 bis 2 GHz. Bei 1.5 GHz wird eine laterale Auflösung  $< 0.6 \mu\text{m}$  erreicht. Eine axiale Auflösung von  $< 1.3 \mu\text{m}$  wird durch den Einsatz extrem kurzer Wellenpakete (Dauer  $< 1.5 \text{ ns}$ ) ermöglicht, zu deren Erzeugung und Verarbeitung eigens dafür entwickelte Schalter in GaAs- Technologie Verwendung finden. Die gute axiale Auflösung gestattet es, Schichtaufnahmen der Objekte anzufertigen, die sich für eine dreidimensionale Darstellung eignen.

Um auch die Reflexionen von sehr schwach reflektierenden biologischen Objekten erfassen zu können, ist das Gerät in der Lage, Pegelunterschiede zwischen Sendee- und Empfangsbetrieb von mehr als 110 dB zu verarbeiten. Der konsequente Einsatz von verlustarmen passiven und rauscharmen aktiven Elementen im Signalverarbeitungspfad ermöglicht ein Eingangsruschen, das nur um 2.5 dB über dem thermischen Rauschen liegt. Parasitäre Echos, die im Innern der akustischen Linse entstehen, lassen sich durch eine speziell dafür entwickelte Kompensationsschaltung unterdrücken.

Mit den zwei Lichtmikroskopen hat man sowohl von oben als auch von unten Zugriff auf denselben Ausschnitt des Objektes und kann es sowohl im Durchlicht- als auch im Auflichtverfahren, mit Phasenkontrast oder im Hellfeld abbilden.

Das ganze System ist in ein Gehäuse integriert, dessen Innenraum, ähnlich wie der eines Inkubators, eine Atmosphäre mit Lebensbedingungen für empfindliche biologische Objekte bereitstellt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die Eignung des Systems durch umfangreiche Studien an biologischen Objekten nachgewiesen die, soweit möglich, von lichtmikroskopischen Vergleichsuntersuchungen am selben Objekt begleitet wurden. Zur Untersuchung dünner Proben wurden spezielle Polymer- Beschichtungen für die Objektträger entwickelt, um deren Störeinflüsse auf das Ultraschallbild zu vermindern.

Untersucht wurden Zellkulturen, Gewebeschnitte und Knochenproben.

Quantitative Messungen des Absorptionskoeffizienten und des Reflexionsfaktors selbst sehr schwach reflektierender Objekte mit oben erwähnter Auflösung wurden vorgenommen.

An Antikörper gekoppeltes kolloidales Gold wurde erfolgreich als Immunmarkierung für die Ultraschallmikroskopie eingesetzt.

Durch die Möglichkeit, frische Gewebedickschnitte zu untersuchen, ist man in der Lage, Gewebe lebensnah zu charakterisieren.

Bei Knochenproben kann ohne Färbeverfahren neben Strukturanalysen eine quantitative Bestimmung des Mineralisationsgrades durchgeführt werden.

Dreidimensionale Untersuchungen ermöglichen räumlich differenzierte Strukturanalysen.

## Summary

### Ultrasound Microscopy of Biological Structures with Weak Reflecting Properties

This thesis covers two different aspects.

The first deals with the design of an ultrasound microscope, which includes also two light microscopes.

The ultrasound microscope has access to the object of investigation from above and operates according to the reflection principle. This means, that the sound reflected by the object is detected and used to synthesize an image. The transducer of the ultrasound microscope is utilized in the pulse echo mode i.e. as the emitter as well as the receiver. To enable two-dimensional imaging a scanning procedure is carried out, in which the transducer is moved forward and backward in relation to the object. The ultrasound microscope has been particularly designed to allow for fast imaging, high lateral and improved axial resolution with optimal signal-to-noise ratio.

As such it enables exact measurements of the local mechanical properties of the object in terms of the mechanical impedance and the attenuation coefficient.

The ultrasound frequencies used are in the range of 1 to 2 GHz. At 1.5 GHz a lateral resolution of  $< 0.6 \mu\text{m}$  is achieved. An axial resolution of  $< 1.3 \mu\text{m}$  was obtained by using extremely short windows for pulse emission and receiving (duration  $< 1.5 \text{ ns}$ ). For the generation and processing of these pulses GaAs switching circuits has been used, which were especially developed for that purpose. The excellent axial resolution allows for the generation of thin layer images, suitable to establish three-dimensional visualization of the object.

With respect to detecting and recording echoes from very weakly reflecting biological objects the system was designed to handle a ratio between emitted and received signals of more than 110 dB. The consequent application of low-loss passive and low-noise active elements in the entire signal processing path resulted in an input noise as low as 2.5 dB above the thermal noise. Parasitic echoes generated internally in the acoustic lense can be suppressed by a suitable compensation circuitry.

The two light microscopes provide access to the same section of the object from above and from underneath respectively. Imaging can be done by utilizing trans- or epi-illumination, with phase contrast or without contrast enhancement.

The whole system is integrated in a housing with an atmosphere suitable for sensitive biological objects, similar to an incubator.

The second aspect pertains to studies performed to document the capabilities of the ultrasound microscope and compare them to those of the light microscopes.

For the investigation of thin samples a special method has been developed to coat the specimen carrier with a polymer layer aiming for diminishing the distortion of the ultrasound image caused by the carrier echoes.

The applications of the system covered cell cultures, tissue and bone samples. Quantitative measurements of the attenuation coefficient and the mechanical impedance have been performed even on very weakly reflecting objects. In addition, it was shown, that gold labelled antibodies can be utilized to identify specific objects. Besides this, the possibility of investigating thick sections of fresh tissue was documented. Moreover uncolored bone samples were successfully imaged and their degree of mineralization determined. Finally it was shown, that three-dimensional imaging allows for spatial analysis of the structural properties of the object of interest.