



**HAL**  
open science

## Slingerende belletjes, gerichte medicijnbezorging en microïnjectienaalden

Michiel Postema, Annemieke van Wamel, Georg Schmitz, Nico de Jong

► **To cite this version:**

Michiel Postema, Annemieke van Wamel, Georg Schmitz, Nico de Jong. Slingerende belletjes, gerichte medicijnbezorging en microïnjectienaalden. *Klinische Fysica*, 2004, 2004 (3-4), pp.6-9. hal-03189226

**HAL Id: hal-03189226**

**<https://hal.science/hal-03189226v1>**

Submitted on 6 Apr 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Slingerende belletjes, gerichte medicijnbezorging en microïnjectienaalden

Michiel Postema<sup>¶</sup>, Annemieke van Wamel<sup>\*†</sup>, Georg Schmitz<sup>¶</sup>, Nico de Jong<sup>\*†‡</sup>

<sup>¶</sup> Lehrstuhl für Medizintechnik, Ruhr-Universität Bochum, Bochum, Duitsland;

<sup>\*</sup> Afdeling Experimentele Echocardiografie, Thoraxcentrum, Erasmus MC, Rotterdam;

<sup>†</sup> Interuniversitair Cardiologisch Instituut Nederland, Utrecht;

<sup>‡</sup> Vakgroep Vloeistoffysica, Faculteit Technische Natuurwetenschappen, Universiteit Twente, Enschede.

Correspondentie:

Dr. Michiel Postema, Lehrstuhl für Medizintechnik, Ruhr-Universität Bochum, Gebäude IC, 6/146, Universitätsstraße 150, D-44801 Bochum, Duitsland.

Tel: +49.234.3227740, Fax: +49.234.3214872,

E-mail: michiel.postema@rub.de

Running title: Medicijnbezorging en microïnjectienaalden

## Summary

Ultrasound contrast agents consist of microscopically small encapsulated bubbles that oscillate upon insonification. To enhance diagnostic ultrasound imaging techniques and to explore therapeutic applications, these medical bubbles have been studied with the aid of high-speed photography. We filmed medical bubbles at higher frame rates than the ultrasonic frequency transmitted. Microbubbles have — among others — been observed to fragment and jet during one single ultrasonic cycle. Gas was released from encapsulated microbubbles. It is concluded that bubbles might act as a vehicle to carry a drug in gas phase to a region of interest, where it has to be released by ultrasound whose amplitudes are still in the diagnostic range.

## Ultrageluid en slingerende bellen

Tomografie aan de hand van reflecterend geluid wordt toegepast in vakgebieden uiteenlopend van seismologie (aardbevingkunde) tot medische echografie. Hoe lager de gebruikte frequentie is, des te hoger is de penetratiediepte van het geluid. Daarom wordt in de seismologie met zeer laag hoorbaar geluid en met infrageluid gewerkt. Het gunstige effect van de penetratiediepte gaat echter ten koste van het oplossend vermogen. In de medische echografie is een resolutie van millimeter-orde wenselijk, terwijl een penetratiediepte van centimeters voldoende is. Aangezien de resolutie evenredig is met de akoestische golflengte, wordt in de medische echografie met ultrageluid gewerkt. De grens tussen hoorbaar geluid en ultrageluid ligt bij een frequentie van 20 kHz. Voor niet-invasieve afbeeldingen in de echocardiografie wordt ultrageluid met relatief hoge frequenties gebruikt, te weten tussen 500 kHz en 5 MHz.

Een beeldlijn van een echocardiogram geeft de akoestische amplitude als functie van de (loop)tijd weer. Hiertoewordt een geluidspuls uitgezonden met een transducer. Het geluid verstrooit op weefselovergangen en wordt door de transducer opgevangen. Vanwege de hoge golfsnelheid door weefsel, zo'n 1520 m/s, duurt het slechts een fractie van een milliseconde tussen uitzending en ontvangst van een enkele puls.

Een probleem bij conventionele echografie is dat bloed geluid slecht verstrooit. De perfusie van een orgaan kan daardoor niet bepaald worden. Als oplossing kan bloed voorzien worden van een akoestisch actieve marker. Vanwege het grote verschil in akoestische impedantie tussen gas en vloeistof, is een gasbel een ideale marker. De resonantiefrequentie  $f_r$  van een vrije gasbel in water is omgekeerd evenredig aan de straal  $R$  ervan [14, 28]:

$$f_r = \frac{3,3 \text{ m/s}}{R} \quad (1)$$

Dus voor hartafbeeldingen met ultrageluid in het MHz-bereik zijn gasbelletjes van enkele micrometers het meest geschikt. Een oplossing met dergelijke belletjes (microbellen) wordt aangeduid met *ultrageluidcontrastmiddel*. Vrije microbellen met een diameter tot 10  $\mu\text{m}$  lossen snel op, te weten binnen enkele tot enkele tientallen milliseconden. Daarom zijn de microbellen in contrastmiddelen voorzien van een nanoschil. Een overzicht van beschikbare contrastmiddelen is gegeven in referentie [10].

De aanwezigheid van een nanoschil compliceert het slingergedrag van een microbel aanzienlijk. Een benadering van de oscillatie (slingering) van een enkele microbel met een nanoschil wordt gegeven door de volgende differentiaalvergelijking [7]:

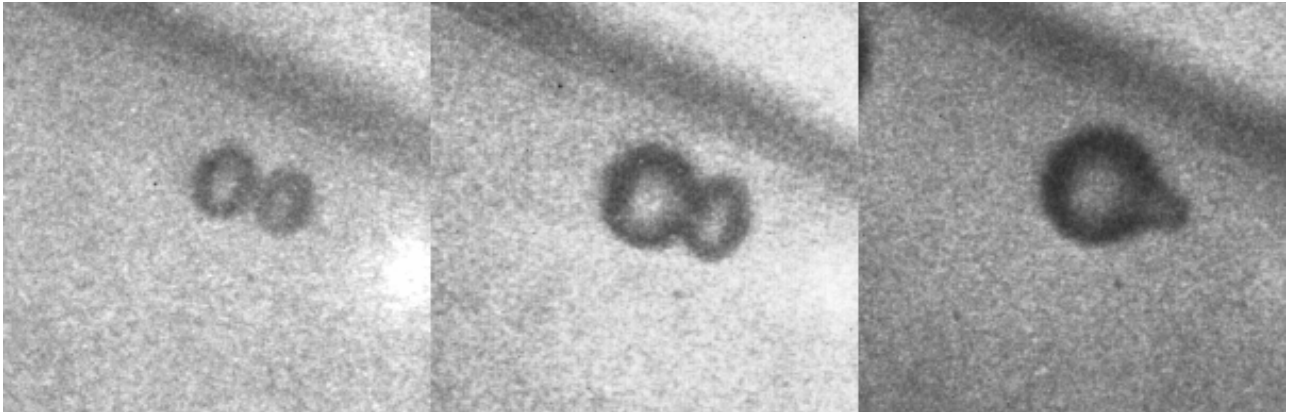
$$\begin{array}{c}
\text{dichtheid van de vloeistof} \\
\text{straal} \\
\text{tweede afgeleide naar de tijd van de straal} \\
\text{eerste afgeleide naar de tijd van de straal} \\
\text{gasdruk} \\
\text{polytropische exponent} \\
\text{dampdruk} \\
\text{omgevingsdruk} \\
\text{oppervlaktespanning} \\
\text{schil-elasticiteitsparameter} \\
\text{akoestische druk} \\
\text{totale dempingscoëfficiënt} \\
\text{evenwichtsstraal} \\
\text{hoekfrequentie}
\end{array}
\left( \rho R \ddot{R} + \frac{2}{3} \rho \dot{R}^2 = p_{g0} \left( \frac{R}{R_0} \right)^{3\Gamma} + p_v - p_0 - \frac{2\sigma}{R} - 2S_p \left( \frac{1}{R_0} - \frac{1}{R} \right) - \delta_t \omega \rho R \dot{R} - p_{ac}(t) \right). \quad (2)$$

Deze zogeheten aangepaste RPNNP-vergelijking — genoemd naar de ontwikkelaars ervan Rayleigh, Plesset, Noltingk, Neppiras en Poritsky — kan niet analytisch opgelost worden. Bovendien beschrijft de vergelijking slechts het symmetrisch slingergedrag van een enkele microbel. Voor de ontwikkeling van meer geavanceerde detectietechnieken en voor het onderzoek naar therapeutische toepassingen van microbellen is het van belang dat het asymmetrische gedrag van individuele en interagerende microbellen vastgelegd en voorspeld kan worden. Omdat een enkele injectie met contrastmiddel bestaat uit miljarden microbellen, kan met ultrageluidstechnieken alleen het groepsgedrag van microbellen gemeten worden. Daarom worden optische technieken zoals hogesnelheidsfotografie gebruikt.

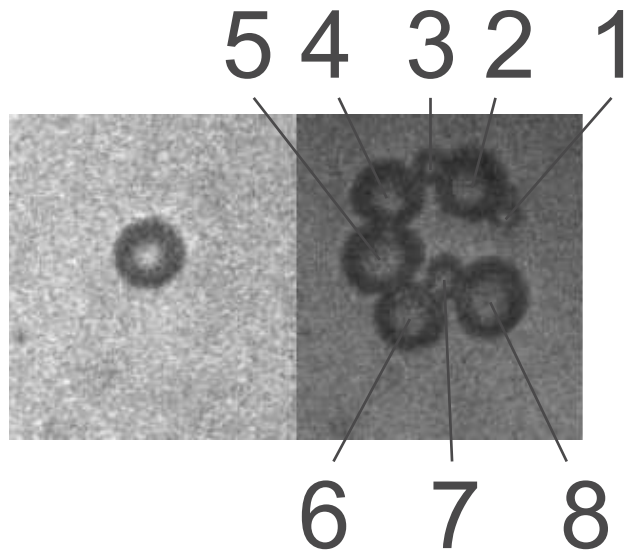
Om een serie foto's te nemen tijdens een ultrageluidcyclus, dient de camera met een nog hogere beeldfrequentie te opereren dan het ultrageluid. Bovendien moet de belichtingstijd kort genoeg zijn om bewegingsonscherpte van de microbellen te voorkomen. Hoewel dergelijke camerasystemen bestaan en worden gebruikt voor microbel-onderzoek, is het aantal frames beperkt tot acht per serie bij een maximale snelheid van 100 megaframes per seconde (Mfps) [19, 25]. In samenwerking met de vakgroep Vloeistoffysica van Universiteit Twente is bij de afdeling Experimentele Echocardiografie van Erasmus MC een hogesnelheidscamera gebouwd die 128 frames schiet bij een maximale snelheid van 25 Mfps [2]. Een uitgebreide beschrijving van onze experimentele opstellingen voor contrastmiddelfotografie wordt gegeven in referentie [24].

## Therapeutische toepassingen

Onze opnames bij lage akoestische amplitude geven een duidelijk beeld van het slingergedrag van microbellen. De opnames bij relatief hoge, maar wel diagnostisch toegestane, akoestische amplitude laten asymmetrisch microbelgedrag zien en een keur van spectaculaire effecten, zoals belsamensmelting (zie figuur 1), -fragmentatie, sonisch kraken en microjets. De aanwezigheid van een nanoschil blijkt minder van belang te zijn in dit regime: De fysische mechanismen van microbelsamensmelting, -fragmentatie, -translatie en -jetten zijn vergelijkbaar met de mechanismen voor vrije gasbellen (zonder nanoschil) die duizend keer zo groot zijn [25].



Figuur 1: Samensmelting van twee microbellen tijdens een ultrageluidcyclus. Ieder frame komt overeen met  $30 \times 30 \mu\text{m}^2$ . De mechanismen van microbelsamensmelting zijn uitgewerkt in referentie [22].



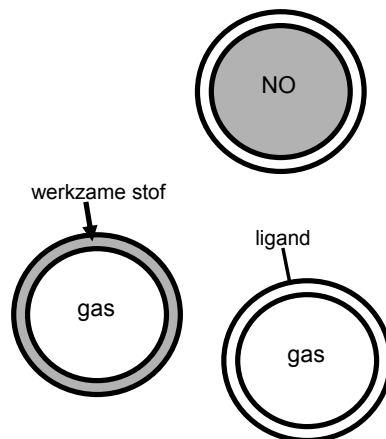
Figuur 2: Hogesnelheidsfoto's van een fragmenterende microbel. Ieder frame komt overeen met  $23 \times 23 \mu\text{m}^2$ . Het linker frame toont een bel vlak voor de aankomst van ultrageluid. Het rechter frame is geschoten tijdens de expansiefase van een cyclus.

Een voorbeeld van microbelfragmentatie wordt getoond in figuur 2. Het aantal fragmenten waarin een microbel opbreekt is afhankelijk van de dominante sferisch harmonische slingermodus [25].

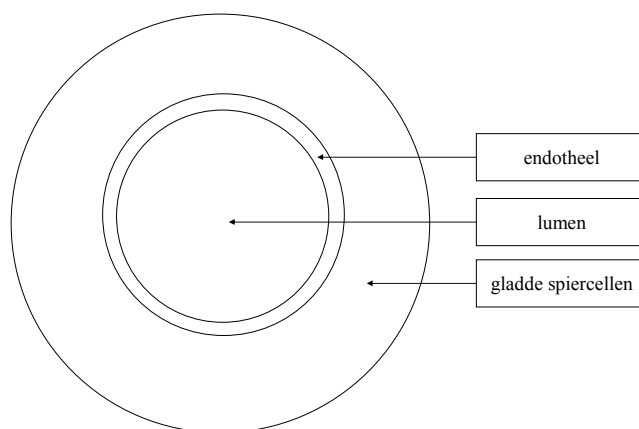
Door de hoge snelheid van de camera's zijn wij de eersten die zich herhalende microbelfusie en -fragmentatie hebben waargenomen. Onregelmatige vormen van bellen in een geluidsveld werden voorheen geïnterpreteerd en gepubliceerd als modes van vorminstabiliteit van een enkele bel [3, 4, 12, 11]. Deze vormen kunnen echter toegeschreven worden aan de fusie van bellen of belfragmenten [22].

Vanwege het hoge voorkomen ervan [18], is microbelfragmentatie interessant voor gerichte medicijnbezorging: door een (theoretisch) werkzame stof in of aan de nanoschil te koppelen (zie figuur 3), is de stof onschadelijk tijdens het transport door de bloedbaan [8, 5, 26, 29]. Op de (zieke) plaats van bestemming wordt de bel gefragmenteerd met ultrageluid dat van buiten het lichaam af wordt gericht.

Op grond van akoestische metingen werd er voorheen aangenomen dat gas uit contrastbellen kan ontsnappen [1]. Wij hebben aangetoond dat we onder invloed van ultrageluid gas kunnen laten ontsnappen uit contrastbellen met een rigide nanoschil. Na dit zogeheten *sonisch kraken* lost het vrije gas op in de vloeistof [21]. Het laten ontsnappen van gas uit microbellen met nanoschillen kan een toepassing vinden in lokale bezorging van medicijn in de gasfase, zoals stikstofdioxide (NO). In het vaatstelsel wordt NO geproduceerd door het endotheel (zie figuur 4), waarna het diffundeert naar de lumenale en abluminaal gebieden. NO dat terecht komt in de gladde spiercellen veroorzaakt een aaneenschakeling van reacties die leiden tot vasodilatatie [30]. In de klinische cardiologie wordt NO toegediend bij de behandeling na een myocard-infarct. Het gericht bezorgen van NO in gebieden van beginnende atherosclerose kan nuttig blijken bij het voorkomen van de formatie van vulnerabele plaques [13]. Gezien de hoge diffusiviteit van NO (zie figuur 5), moet het medicament echter in grote hoeveelheden worden toegediend zodat er voldoende NO op de plek van bestemming aankomt



Figuur 3: Schematische weergaven van mogelijke koppelingen van medicijn aan of in microbellen [23].

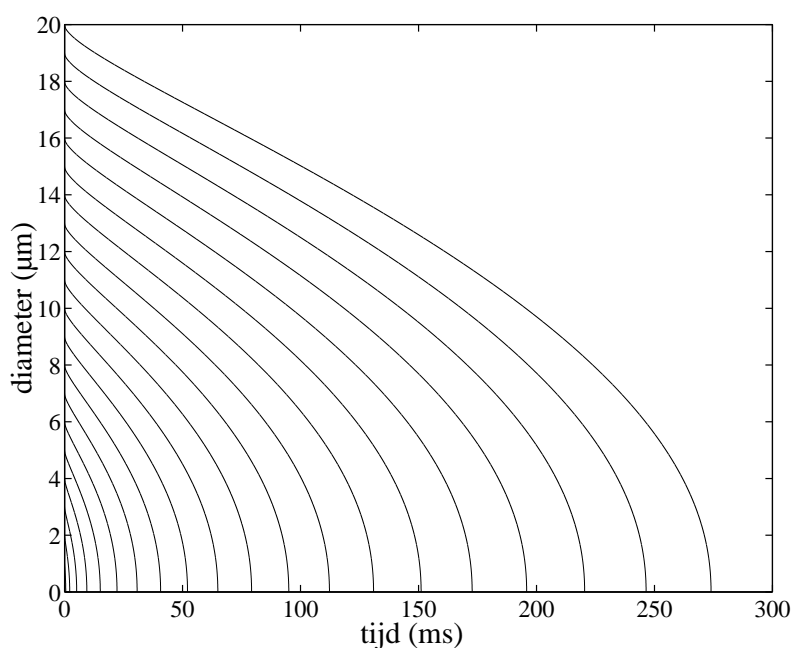


Figuur 4: Schematische doorsnede van een bloedvat.

om lokaal het gewenste effect te hebben. Hier kan lokale medicijnbezorging met microbellen van groot nut zijn. Naar verwachting hoeven dan kleinere, met nanoschillen ingekapselde, hoeveelheden stikstofoxide toegediend te worden, die worden vrijgegeven door sonisch kraken of fragmentatie.

Een andere, diagnostische, toepassing van sonisch kraken is het bepalen van lokale bloeddruk. Dit is in principe *in vivo* mogelijk aan de hand van het verval van de grondtoon van een oplossende vrije gasbel. Drukverschillen van 50 millimeter kwikdruk kunnen worden onderscheiden [1]. In de medische diagnostiek is een kleinere resolutie wenselijk. Om de gevoeligheid van bovengenoemde meetmethode te verbeteren, zouden andere gassen dan lucht kunnen worden gebruikt. Aangezien ondertonen gevoeliger zijn voor een verandering in de belgrootte dan grondtonen, kan bovendien gebruik gemaakt worden van ondertonen om de halve resonantiegrootte van een bel te markeren [20].

Wanneer een bel snel contraheert nabij een wandje, treedt er een lichte asymmetrie op, waardoor de snelheid van de verre zijde van de bel groter wordt dan de snelheid van de zijde nabij het wandje. Op grond van de wet van impulsbehoud wordt deze snelheid steeds groter naarmate de bel contraheert en doordoor minder vervangende massa krijgt, wat ertoe leidt dat de verre zijde van de bel als een trechter door de nabije zijde schiet [17]. Dit opmerkelijke verschijnsel wordt *jetting* genoemd. Een voorbeeld van jetting door een microbel wordt getoond in figuur 6. Door toepassing van empirische verhoudingen tussen belgrootte en jetgedrag [6, 9, 15, 16] op onze waarnemingen, berekenden we dat de druk op het puntje van de jet voldoende is om iedere menselijke cel te penetreren [24]. Derhalve kunnen jets zich gedragen als microïnjectienaalden. Jetting wordt dan ook geassocieerd met de verhoogde opname door cellen wanneer werkzame stof vermengd met bellen wordt toegediend en wordt aangestraald door ultrageluid [27, 31].



Figuur 5: Dissolutiekrommen van stikstofoxide-belletjes bij 1 atm. Zelfs bellen met een diameter van  $20 \mu\text{m}$  lossen binnen 300 ms op.

Internationale symposia over ultrageluidscontrastmiddelen verschuiven hun aandacht van diagnostische afbeelding naar gericht microbeltransport en lokale medicijnbezorging. Naarmate de toepassingen van medische bellen diverser worden, groeit de vraag naar medische bellen met exotische eigenschappen. In de nabije toekomst zullen medische bellen, naast ultrasone afbeelding, een belangrijke rol spelen in therapie.

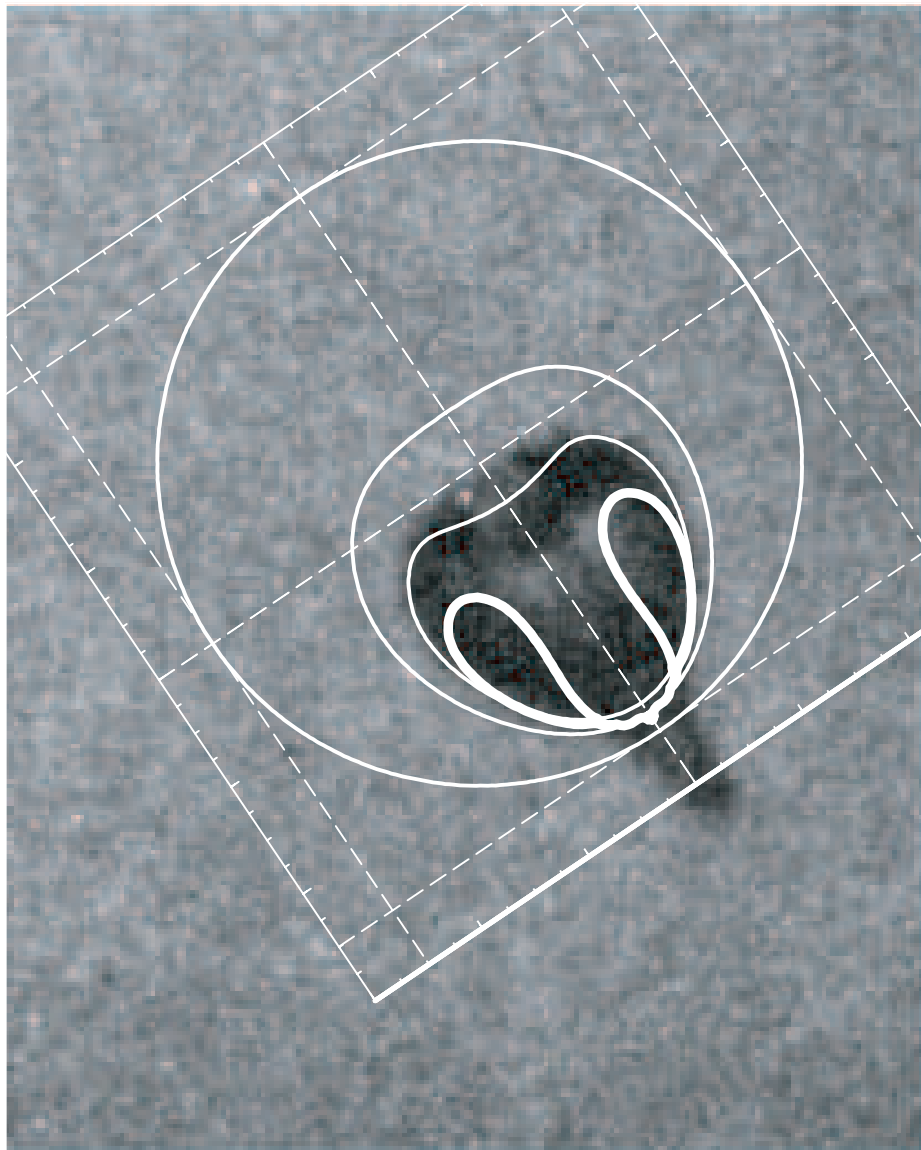
## Dankwoord

De auteurs zijn dank verschuldigd aan Bracco Research SA, Genève, voor het beschikbaar stellen van contrastmiddel voor de experimenten. Dit project is ondersteund door de stichting STW (RKG.5104).

## Referenties

- [1] Bouakaz A, Frinking PJA, de Jong N, Bom N. Noninvasive measurement of the hydrostatic pressure in a fluid-filled cavity based on the disappearance time of micrometer-sized free gas bubbles. *Ultrasound Med Biol* **1999** 25(9):1407–1415.
- [2] Chin CT, Lancée C, Borsboom J, Mastik F, Frijlink M, de Jong N, Versluis M, Lohse D. Brandaris 128: a 25 million frames per second digital camera with 128 highly sensitive frames. *Rev Sci Instrum* **2003** 74(12):5026–5034.
- [3] Chomas J, Dayton P, Allen J, Morgan K, Ferrara K. High speed optical experimental analysis of microbubble destruction, supported by theoretical development. *Abstr 4th Eur Symp Ultrasound Contrast Imaging* **1999** 52–55.
- [4] Chomas J, Dayton P, Morgan K, Allen J, Ferrara K. Optimization of microbubble destruction. *Proc IEEE Ultrason Symp* **1999** 1689–1692.
- [5] Frinking PJA, Bouakaz A, de Jong N, Ten Cate FJ, Keating S. Effect of ultrasound on the release of micro-encapsulated drugs. *Ultrasonics* **1998** 36:709–712.
- [6] de Haller P. Untersuchungen über die durch Kavitation hergerufenen Korrosionen. *Schweiz Bauzeit* **1933** 101(21):243–246.
- [7] de Jong N. *Acoustic properties of ultrasound contrast agents*. Rotterdam: N de Jong. Woerden: Zuidam & Zonen bv. ISBN 90-9006071-5 **1993**.
- [8] Klibanov AL. Targeted delivery of gas-filled microspheres, contrast agents for ultrasound imaging. *Adv Drug Delivery Rev* **1999** 37:139–157.
- [9] Kodama T, Takayama K. Dynamic behavior of bubbles during extracorporeal shock-wave lithotripsy. *Ultrasound Med Biol* **1998** 24(5):723–738.
- [10] Lindner JR. Microbubbles in medical imaging: current applications and future directions. *Nature* **2004** 3:527–532.
- [11] May D, Allen J, Ferrara K. Dynamics and fragmentation of thick-shelled microbubbles. *IEEE Trans Ultrason, Ferroelect, Freq Contr* **2002** 49(10):1400–1410.
- [12] May D, Allen J, Gut J, Ferrara K. Acoustic fragmentation of therapeutic contrast agents designed for localized drug delivery. *Proc IEEE Ultrason Symp* **2001** 1385–1388.
- [13] Megson IL. Nitric oxide donor drugs. *Drugs Fut* **2000** 25(7):701–715.
- [14] Minnaert M. On musical air bubbles and the sound of running water. *Philos Mag* **1933** (S. 16):235–248.
- [15] Ohl CD, Ikink R. Shock-wave-induced jetting of micron-size bubbles. *Phys Rev Lett* **2003** 90:214502.
- [16] Ohl CD, Ory E. Aspherical bubble collapse — comparison with simulations. In Lauterborn W, Kurz T, eds., *Nonlinear Acoustics at the Turn of the Millennium: ISNA 15*. New York: American Institute of Physics **2000** 393–396.
- [17] Philipp A, Lauterborn W. Cavitation erosion by single laser-produced bubbles. *J Fluid Mech* **1998** 361:75–116.
- [18] Postema M, Bouakaz A, Chin CT, de Jong N. Optical observations of ultrasound contrast agent destruction. *Acta Acust united Acust* **2003** 89:728.
- [19] Postema M, Bouakaz A, Chin CT, de Jong N. Simulations and measurements of optical images of insonified ultrasound contrast microbubbles. *IEEE Trans Ultrason, Ferroelect, Freq Contr* **2003** 50(5):523–536.
- [20] Postema M, Bouakaz A, de Jong N. Noninvasive microbubble-based pressure measurements: a simulation study. *Ultrasonics* **2004** 42(1–9):759–762.
- [21] Postema M, Bouakaz A, Versluis M, de Jong N. Ultrasound-induced gas release from contrast agent microbubbles. *IEEE Trans Ultrason Ferroelect Freq Contr* **2005** in press.
- [22] Postema M, Marmottant P, Lancée CT, Hilgenfeldt S, de Jong N. Ultrasound-induced microbubble coalescence. *Ultrasound Med Biol* **2004** 30(10):1337–1344.
- [23] Postema M, Schmitz G. Eigenschaften von Ultraschallkontrastmitteln. *Presented at VDI Auftaktveranstaltung NanoforLife, Düsseldorf* **2005**.
- [24] Postema M, van Wamel A, Lancée CT, de Jong N. Ultrasound-induced encapsulated microbubble phenomena. *Ultrasound Med Biol* **2004** 30(6):827–840.

- [25] Postema MAB. *Medical Bubbles*. Bergschenhoek: Michiel Postema. Veenendaal: Universal Press. ISBN 90-365-2037-1 **2004**.
- [26] Shohet RV, Chen S, Zhou YT, Wang Z, Meidell RS, Unger RH, Grayburn PA. Echocardiographic destruction of albumin microbubbles directs gene delivery to the myocardium. *Circulation* **2000** 101:2554–2556.
- [27] Tachibana K, Tachibana S. Gene transfection with sonoporation. *Abstr 6th Eur Symp Ultrasound Contrast Imaging* **2001** 88–90.
- [28] Tickner EG. Precision microbubbles for right side intracardiac pressure and flow measurements. In Meltzer R, Roelandt J, eds., *Contrast echocardiography*. Den Haag: Martinus Nijhoff Publishers **1982** 313–324.
- [29] Unger EC, Matsunaga TO, McCreery T, Schumann P, Sweitzer R, Quigley R. Therapeutic applications of microbubbles. *Eur J Radiol* **2002** 42:160–168.
- [30] Vaughn MW, Kuo L, Liao JC. Estimation of nitric oxide production and reaction rates in tissue by use of a mathematical model. *Am J Physiol* **1998** 274:H2163–H2176.
- [31] van Wamel A, Bouakaz A, ten Cate F, de Jong N. Effects of diagnostic ultrasound parameters on molecular uptake and cell viability. *Proc IEEE Ultrason Symp* **2002** 1387–1390.



Figuur 6: Hogesnelheidsfoto van jetting: een microbel gedraagt zich als een microïnjectienaald. Vanwege de snelle contractie van een bel nabij een (cellulose) wandje treedt er een asymmetrie op. Door impulsbehoud mondt deze asymmetrie uit in een trechtervormige, protruderende vloeistofkolom (*jet*) van 60 femtoliter. Het beeld komt overeen met  $38 \times 30 \mu\text{m}^2$ . De theoretische jet-ontwikkeling is berekend door Emmanuel Ory, Sovelletun Termodynamiikan laboratorio, Teknillinen Korkeakoulu, Espoo, Finland.

## De auteurs

Michiel Postema studeerde af in de geofysica (seismologie) aan de Universiteit Utrecht. Hij promoveerde op “Medical Bubbles” aan de Universiteit Twente. Dr. Postema werkt bij de Ruhr-Universität Bochum aan optische en akoestische afbeelding van microbellen.

Annemieke van Wamel studeerde af in de biologie aan de Katholieke Universiteit Nijmegen. Zij promoveerde op “Autocrine and paracrine effects of cell stretch on early gene expression in cardiovascular cells” aan de Universiteit Leiden. Dr. van Wamel werkt bij Erasmus MC en het Interuniversitair Cardiologisch Instituut Nederland aan therapeutische toepassingen van contrastbellen.

Georg Schmitz studeerde af in de electrotechniek aan de Ruhr-Universität Bochum. Hij promoveerde op “Ein Verfahren zur Ultraschall-Gewebecharakterisierung der Prostata” aan dezelfde universiteit. Na onderzoeksplaatsen bij Philips en de RheinAhrCampus te Remagen is Prof. Schmitz nu als hoogleraar Medizintechnik verbonden aan de Ruhr-Universität Bochum, met als belangrijkste aandachtsgebied medisch ultrageluid.

Nico de Jong studeerde af in de natuurkunde aan de Technische Hogeschool Delft. Hij promoveerde op “Acoustic properties of ultrasound contrast agents” aan de Erasmus Universiteit Rotterdam. Prof. de Jong is bijzonder hoogleraar diagnostiek en therapie met ultrageluid aan de Universiteit Twente.