



Titre: Localisation spatiotemporelle appliquée à la microscopie de
Title: localisation ultrasonore

Auteur: Alexis Leconte
Author:

Date: 2023

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Leconte, A. (2023). Localisation spatiotemporelle appliquée à la microscopie de
Citation: localisation ultrasonore [Mémoire de maîtrise, Polytechnique Montréal].
PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/55119/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/55119/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Jean Provost
Advisors:

Programme: Génie biomédical
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Localisation spatiotemporelle appliquée à la Microscopie de Localisation
Ultrasonore**

ALEXIS LECONTE

Institut de génie biomédical

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*
Génie biomédical

Août 2023

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

**Localisation spatiotemporelle appliquée à la Microscopie de Localisation
Ultrasonore**

présenté par **Alexis LECONTE**

en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

François YU, président

Jean PROVOST, membre et directeur de recherche

Lucien WEISS, membre

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de recherche, Jean Provost, qui m'a fait confiance tout au long de ce projet, m'a prodigué de très bons conseils et qui me permet de continuer cette aventure en thèse qui se finira en trois lignes de codes.

J'aimerais également remercier l'ensemble de mes collègues du laboratoire devenus avec le temps mes amis. Pour l'ambiance générale, l'entraide, les goûter et le tarot.

Jonathan qui du haut de son âge avancé et de son amour pour les ultrasons et le picon m'a prodigué de nombreux conseils et aides durant mon projet.

Alice, une personne qui impressionne au premier abord, mais qui se calme très rapidement en présence de nourriture et qui est toujours là pour aider ou donner des conseils. La plus grande personne que je connaisse, qui a une résistance aux houblons négative, qui souhaite que les gens ne travaillent pas trop mais qui travaille plus qu'eux.

Michael, mon voisin de bureau sur qui on peut toujours compter, qui m'a fait entrevoir ce qu'était le stress, et m'a fait découvrir la fontaine du Siboire (PS : le taboulet c'est avec de la semoule).

Samuel, qui m'a trouvé mes deux appartements, qui m'a accompagné durant cette fin de maîtrise pour l'écriture du mémoire et de l'article, et dont sa faculté pour s'inscrire pour des activités n'a d'égale que sa capacité en s'en retirer.

Brice qui m'a bien accompagné dans le développement de mon travail, qui m'a bien aidé lors du cours d'IA et qui m'a fait comprendre bien vite que je ne pouvais pas me considérer comme sportif et que la course pouvait être une drogue.

Chloé qui m'a beaucoup aidé au début de ma maîtrise en me donnant ses codes et données par le biais de sa collection de disques externes. (Ps : Calcul Canada et GitHub existe Chloé). Elle m'a aussi donné beaucoup de conseils dans la vulgarisation scientifique et beaucoup de place pour mettre des affaires sur son bureau.

Olivier, qui m'a permis de me remettre au foot, m'a appris nombre d'expressions québécoises qui me permettent d'évoluer au Québec. Grâce à lui, je peux également placer Gatineau sur une carte.

Nin, qui est également toujours là pour aider et participer. Qui revient souvent avec des tentatives de coupes de cheveux, qui dort sous son bureau et qui avec Jonathan forme un duo qu'on aime et déteste simultanément. L'achat d'un casque est primordial.

Paul, l'homme sans anniversaire, qui est un passionné de physique, un addict à la lecture et qui connaît tous les papiers du monde. Tu m'as souvent sauvé à retrouver un papier.

Stephen, qui est toujours là pour aider et dont le français ne cesse de s'améliorer comme mon anglais depuis qu'il est arrivé, mais qui ne comprend pas que Montréal ne veut pas de lui.

Gerardo, qui possède le meilleur déhanché de Montréal, mexique oblige. Qui fournit le travail de plusieurs personnes dans les souterrains de McGill. Merci pour toutes les données !

Merci aussi à Emma que j'encadre en ce moment même en stage et qui travaille sur l'extension de la méthode en 3D et qui a fourni certains résultats de ce mémoire.

Merci également à ma famille pour le soutien durant ces deux années à distance.

RÉSUMÉ

L'âge est le facteur de risque principal des maladies cardiovasculaires. En effet, avec l'âge, les vaisseaux sanguins perdent de leur élasticité, ce qui entraîne une pulsatilité élevée en aval des artérioles et mène selon des études à la génération de microlésions dans les capillaires. Cependant, actuellement, aucune technique d'imagerie clinique n'est capable d'imager la microcirculation dans tout le cerveau.

La microscopie de localisation ultrasonore (ULM) pourrait relever ce défi. En effet, cette technique repose classiquement sur la localisation puis le suivi de centaines de milliers de microbulles injectées dans le système vasculaire, grâce à des acquisitions ultrasonores de plusieurs minutes. L'intérêt de cette technique est qu'elle offre la possibilité de dépasser la limite de résolution spatiale due à la diffraction, en localisant des microbulles parcimonieuses. Cette technique permet ainsi d'imager les capillaires en profondeur.

Notre équipe a introduit l'ULM Dynamique, se révélant être capable de mesurer la vitesse du sang au cours du rythme cardiaque et par conséquent la pulsatilité.

Cependant, pour pouvoir être utilisé en clinique, les temps d'acquisitions doivent être réduits. L'augmentation de la concentration des microbulles est donc un levier identifié pour réduire ce temps. Toutefois, les algorithmes classiques peinent lorsqu'on augmente la concentration, ce qui introduit des erreurs dans les estimations de vitesses dérivées du suivi des microbulles.

Ce mémoire introduit une nouvelle méthode qui renverse l'ordre des étapes conventionnelles en effectuant d'abord le suivi des microbulles puis dans un second temps la localisation. Ce renversement est motivé par l'hypothèse que considérer l'acquisition dans son entièreté apporte plus d'informations que la considérer image après image. Nous avons démontré que la méthode proposée fournissait de meilleurs résultats pour la reconstruction de l'anatomie vasculaire ou l'estimation des vitesses, que ce soit en simulation ou in vivo.

La méthode que nous proposons ouvre la voie à de nouvelles techniques de localisation et de suivi des microbulles. Dans le but d'atteindre une meilleure compréhension des dérèglements des flux à l'intérieur des capillaires, qui touchent les personnes atteintes par des maladies cardiovasculaires, liées au vieillissement notamment.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases present a significant health concern, with age being the primary risk factor. When people get older, their blood vessels gradually lose elasticity, resulting in increased pulsatility downstream in the microvascular system. This phenomenon, as evidenced by research, leads to the formation of microlesions in the capillaries. Unfortunately, there is no current clinical imaging technique that can image the hemodynamic in the brain.

The Ultrasound Localization Microscopy (ULM) presents the potential to address this challenge. Indeed, ULM bypasses the limit of spatial resolution caused by diffraction via the localization and the tracking of sparse microbubbles populations across ultrasound images.

Our research team has introduced Dynamic ULM, a novel approach capable of measuring the pulsatility. Nevertheless, to apply this technique in clinical, it is essential to reduce acquisition times. An identified strategy to achieve this is by increasing microbubble concentration. However, conventional algorithms break down with higher concentrations, leading to errors in the vascular maps and in the velocity estimations derived from microbubble tracking.

To address this limitation, we propose a new paradigm that reverses the conventional steps, by doing tracking in the first place and then the localization. This method is based on the hypothesis that considering the acquisition as a whole yields richer information compared to frame-by-frame analysis. Our findings demonstrate that the proposed method obtains better results in reconstructing vascular anatomy and estimating velocities, both in simulation and in vivo. This advancement paves the way for improved microcirculation imaging and better understanding of hemodynamic in aging-related cardiovascular diseases.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ	v
ABSTRACT	vi
TABLE DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX	x
LISTE DES FIGURES	xi
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xv
LISTE DES ANNEXES	xvi
CHAPITRE 1 INTRODUCTION	1
1.1 L’arbre vasculaire	1
1.2 Irrigation et pulsatilité	1
1.3 Maladies cérébrales imputées au dérèglement du flux sanguins	2
1.4 Caractéristiques de la technique d’imagerie nécessaire	2
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	3
2.1 De l’imagerie ultrasonore conventionnelle à la microscopie de localisation ultrasonore	3
2.1.1 L’imagerie ultrasonore	3
2.1.2 Acquisition de données grâce aux sondes ultrasonores	4
2.1.3 Mise en forme du faisceau : Beamforming	5
2.1.4 L’imagerie ultrasonore focalisée	5
2.1.5 L’imagerie ultrasonore ultrarapide	7
2.1.6 Limite en résolution spatiale	8
2.1.7 Prémices de la super-résolution ultrasonore	8
2.1.8 La microscopie de localisation optique	9
2.2 La Microscopie de Localisation Ultrasonore (Ultrasound Localization Microscopy : ULM)	10
2.2.1 Les microbulles comme objets diffractants	10

2.2.2	Principe	10
2.2.3	Filtrage des tissus : SVD	12
2.2.4	Détection et Localisation	12
2.2.5	Suivi des microbulles dans le temps : Tracking	15
2.2.6	Filtrage des trajectoires	17
2.2.7	Interpolation	18
2.2.8	Formation de cartes de densité et de cartes de vitesses	18
2.3	Microscopie de localisation ultrasonore dynamique : DULM	20
2.4	La concentration comme levier pour diminuer le temps d'acquisition	20
2.5	Conclusion de la revue de littérature	23
CHAPITRE 3 PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS		24
3.1	Problématique	24
3.2	Objectifs	24
CHAPITRE 4 MÉTHODOLOGIES		26
4.1	Mettre en évidence les microbulles dans l'espace-temps	26
4.1.1	Filtrer des structures tubulaires dans un volume	26
4.1.2	Principes mathématiques du filtre	26
4.1.3	Sélectivité du filtre sur les trajectoires de microbulles : le paramètre τ	30
4.1.4	Modification de la matrice Hessien : le paramètre ϵ	30
4.2	Segmentation des trajectoires	31
4.2.1	L'algorithme d'amincissement	32
4.2.2	Filtrer les trajectoires	32
4.3	Pourrait-on passer outre une étape de super-résolution?	32
4.3.1	Application d'un algorithme de super-résolution	33
4.4	Ajuster et interpoler la trajectoire	33
4.4.1	Sens physique de p	34
4.4.2	Interpolation	35
4.5	Preuve de concept sur des simulations simples	35
4.6	Robustesse de la méthode	36
CHAPITRE 5 ARTICLE 1 : A TRACKING PRIOR TO LOCALIZATION WORK- FLOW FOR ULTRASOUND LOCALIZATION MICROSCOPY		38
5.1	Introduction	39
5.2	Methods	40
5.2.1	Spatiotemporal Tracking of MB Trajectories	41

5.2.2	Standard LAT ULM and DULM	42
5.2.3	In silico localization metrics	43
5.2.4	In silico tracking metrics	43
5.2.5	In vivo metrics	44
5.2.6	In silico validation dataset	44
5.2.7	In vivo validation dataset	45
5.2.8	In vivo Dynamic ULM rat and mouse datasets	45
5.3	Results	46
5.3.1	In Silico localization performance of TAL	46
5.3.2	In Silico tracking performance of TAL	49
5.3.3	In vivo performance of TAL for ULM	50
5.3.4	In vivo performance of TAL for DULM	51
5.4	Discussion	53
5.5	Conclusion	56
5.6	References	56
CHAPITRE 6	DISCUSSION GÉNÉRALE	62
6.1	Retour sur les objectifs	62
6.2	Limites de la méthode proposée	62
6.3	Remarques Générales	63
6.4	Perspectives de généralisation à l'ULM 3D	64
6.4.1	Généralisation de la fonction de Jerman à la 4D	64
6.4.2	Résultats préliminaires	64
6.4.3	Futurs développements	65
CHAPITRE 7	CONCLUSION	67
RÉFÉRENCES		68
ANNEXES		74

LISTE DES TABLEAUX

Table 5.1	TAL and LAT parameters for the different datasets	46
Table 5.2	In vivo resolution performance (FRC) of ULM angiogram reconstruction at different concentrations for LAT and TAL workflows	51

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1	Géométrie d'une sonde linéaire.	4
Figure 2.2	Différents types d'ondes peuvent être produits en appliquant différents délais entre les éléments.	5
Figure 2.3	Réceptions des signaux produits par un réflecteur singulier. .	6
Figure 2.4	Formation d'image par sommation des données RF.	7
Figure 2.5	Image B-mode d'un cerveau de rat avec injection de microbulles.	8
Figure 2.6	Localisation (point rouge) du centre de la tâche de diffraction (PSF) d'un fluorophore	10
Figure 2.7	Un exemple de cartes ULM réalisées durant le projet. Cette carte est actuellement présentée dans le cadre d'un concours : la preuve par l'image	11
Figure 2.8	Mauvais appariement de l'algorithme hongrois. Les deux flèches dans l'image de droite représentent les trajectoires de deux bulles simulées. Les pointillées de couleur (bleu, rouge et jaune) représentent les trajectoires trouvées par l'algorithme hongrois	17
Figure 2.9	Illustration d'une carte de densité et d'une carte de vitesse. L'image de gauche représente une carte de densité d'un plan 2D d'un cerveau de rat et l'image de droite la carte de vitesse associée.	19
Figure 2.10	Schéma du pipeline usuel et du pipeline associé à la méthode proposée.	19
Figure 4.1	Volume formé par l'ensemble des images B-mode d'une acquisition ULM d'un cerveau de rat	27
Figure 4.2	Les différentes configurations géométriques possibles en fonction des amplitudes des valeurs propres	28
Figure 4.3	Application de la fonction de Jerman sur le volume formé des données beamformer. Les données initiales proviennent d'une acquisition d'un cerveau de rat.	29
Figure 4.4	Moyenne selon la dimension temporelle du volume formé après application de la fonction de Jerman pour différentes valeurs de τ	30

Figure 4.5	Moyenne selon la dimension temporelle du volume formé après application de la fonction de Jerman pour différentes valeurs de ϵ. Les flèches montrent les zones dans lesquelles les variations de ϵ se font le plus ressentir	31
Figure 4.6	Carte de densité signée, d'un cerveau de rat, obtenue avec la méthode proposée en filtrant les trajectoires avec un filtre passe-bas. Les vaisseaux en bleu sont associés à du sang se dirigeant vers le haut et le rouge à du sang se dirigeant vers le bas.	33
Figure 4.7	Histogramme illustrant l'artefact de grille présent lorsque aucune localisation n'est effectuée. Nous avons les lignes de crête de 4 histogrammes de vitesses pour 4 buffers aléatoires	34
Figure 4.8	Résultats d'appariement de la méthode de référence et de la méthode proposée. À gauche, les trajectoires simulées. Au milieu les trajectoires trouvées par l'algorithme Hongrois (référence) et à gauche celles trouvées par la méthode proposée. Les différentes couleurs illustrent les différentes trajectoires trouvées par les différents algorithmes	36
Figure 4.9	Cartes de densité et cartes de densité signées de cerveaux de souris obtenues lors d'acquisitions transcrâniennes	37
Figure 5.1	Localization and Tracking workflow (TAL). TAL takes a spatio-temporal (space $\times$ time) input of beamformed data, where the Jerman function is calculated (J) to extract the spatiotemporal MB PSF trajectories, before applying a thinning algorithm supported by localization algorithm to segment and super-resolve the trajectories of the moving MB	43
Figure 5.2	In silico localization and detection performances at different concentrations. (a) Ground truth density map resulting of the accumulation of positions in 20,000 frames divided into 20 buffers. (b) Zoomed-in renderings for both algorithms at different MB concentrations at a constant Signal-to-Noise Ratio (SNR) of 20 dB. (c) Performance metrics : localization error and statistical measurements, including the detection rate (Jaccard index), precision, and sensitivity, for both LAT and TAL pipelines, at a fixed Signal-to-Noise Ratio (SNR) of 20dB. The statistical measurements were computed for each buffer and shown as mean values with their respective standard deviations.	48

Figure 5.3	Noise localization and detection robustness. The four different metrics are presented for the standard concentration ($C=1$ a.u.). The statistical measures are computed across different numbers of buffers and shown as mean values with their respective standard deviations.	49
Figure 5.4	In Silico performances of the velocity estimator at different concentrations. (a) Ground truth velocity map resulting of the accumulation of the velocity at the positions of the MBs in 20,000 frames divided into 20 buffers initially. (b) Correlation coefficient between the ground truth velocity map and the velocity maps obtained from each approach. (c) Velocity profiles along two different lines for LAT and TAL workflow, each line taken orthogonal to the vessels to visualize the Poiseuille velocity profiles modeled in this simulation. (d) Superposed velocity profiles of the ground truth and both methods for different concentrations.	50
Figure 5.5	Impact of concentration on the vessel rendering in vivo. (a) First row presents the different density maps obtained with the standard approach (LAT pipeline), while the second presents the density maps obtained with the proposed method (TAL). Each density map is compressed with a cubic rate and saturated with a factor 0.5 relative to the maximum intensity. (b) Zoom-in of ULM angiograms on the cortex region (white square in Fig. 5a) at different concentrations for both approaches in the first two rows. The third row shows the normalized intensity profiles along a given horizontal lines overlaid by the white dotted line with corresponding vessel diameters estimated as the FWHM in wavelength	52
Figure 5.6	Velocity estimator comparison for DULM application in vivo at different concentrations in a rat brain. (a) Signed ULM maps in a rat brain for two different concentrations of microbubble ($C=12.5\mu\text{L}$ and $C=50\mu\text{L}$) obtained with the TAL pipeline. (b) Velocity profiles for different vessels overlaid by different colored arrows (blue, red, and green) from the lowest concentration to the highest one (left to right) ($12.5\mu\text{L}$ - $25\mu\text{L}$ - $50\mu\text{L}$) obtained with the LAT & TAL methods.	53

Figure 5.7	Hemodynamics coherence between left and right hemisphere in a mouse brain . (a) Signed Ultrasound Localization Microscopy map of a mouse brain obtained with the TAL pipeline. (b) Comparison between left and right hemisphere (solid lines : left hemisphere, dotted lines : right hemisphere) of velocity profiles for different sizes of vessels obtained with the LAT TAL methods.	54
Figure 6.1	Carté de densité et cartes de densité signée de cerveaux de souris obtenues lors d’acquisitions transcrâniennes	65
Figure 6.2	Carté de densité et cartes de densité signée de cerveaux de souris obtenues lors d’acquisitions transcrâniennes	66

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ULM	Microscopie de Localisation Ultrasonore
DULM	Microscopie de Localisation Ultrasonore Dynamique
RF	Données radiofréquences
DAS	Somme des Délais
IQ	In-phase and Quadrature-phase : données beamformées
SNR	Signal to Noise Ratio
SVD	Singular Value Decomposition
PSF	Réponse impulsionnelle
FRC	Fourier Ring Correlation
GPU	Graphic Processing Unit

LISTE DES ANNEXES

Annexe A	Extension de la fonction de Jerman à des matrices 4D	74
----------	--	----

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 L'arbre vasculaire

Le corps humain est composé d'organes qui nécessitent d'être approvisionnés, en nutriments ou en dioxygène, notamment, pour remplir leurs différentes fonctions. Cet approvisionnement se fait via la circulation du sang qui transporte directement ces différents éléments aux organes. À l'origine du mouvement du sang dans l'organisme se trouve le cœur.

Le cœur à chaque battement cardiaque permet de faire circuler le sang dans un réseau appelé l'arbre vasculaire. À l'intérieur de cet arbre, on différencie les artères des veines. Les artères transportent le sang depuis le cœur alors que les veines réacheminent le sang vers le cœur.

Le cœur envoie le sang à partir de deux artères principales : l'aorte et l'artère pulmonaire d'un diamètre d'environ de 2 cm. Ces artères vont se diviser en des artères de diamètres inférieures puis en artérioles et enfin en capillaires (5 à 30 μm de diamètre). De la même manière, les veines se divisent en veines de diamètre inférieures puis en veinules [1].

Le cerveau ne déroge pas à cette architecture. Des artères viennent acheminer le sang jusqu'au cerveau et ces dernières vont se ramifier en artérioles et capillaires pour approvisionner les cellules cérébrales.

1.2 Irrigation et pulsatilité

L'architecture de ce réseau permet de remplir un rôle important. En effet, à la sortie du cœur, le sang est envoyé, de façon périodique, avec une vitesse et une pression importante afin d'apporter le sang à tous les organes du corps. Cette variation de pression et de vitesse va se propager le long de l'arbre vasculaire. Ces deux grandeurs couplées vont être à l'origine de la naissance d'une onde de pression et d'une onde vitesse. L'onde de pression est communément appelée : onde de pouls. L'onde de vitesse est quant à elle appelée : pulsatilité. Cependant, ces fluctuations de pression et de vitesse doivent être atténuées avant d'arriver aux organes. En effet, se propageant dans un milieu visqueux dont le diamètre se réduit progressivement, l'amplitude de ces ondes va progressivement décroître pour devenir relativement constante dans les capillaires [2].

1.3 Maladies cérébrales imputées au dérèglement du flux sanguins

L'âge est le facteur de risque principal des maladies cardiovasculaires [3]. En effet, avec l'âge, les vaisseaux sanguins perdent de leur élasticité, ce qui entraîne une pulsatilité élevée en aval des artérioles et mène selon des études à la génération de microlésions dans les capillaires. Ces microlésions seraient à l'origine du déclin cognitif chez certains patients [4]. En effet, des études sur patients ont statistiquement montré qu'une augmentation de la rigidité des artères favorisée l'apparition de maladies telles que le déclin cognitif ou la démence [5].

Cependant, ce sont seulement des études indirectes. En effet, il n'existe pas à ce jour de preuve directe qu'une rigidification artérielle induit une augmentation de la pulsatilité qui se propage jusqu'à la microcirculation cérébrale, induisant des dommages qui favoriseraient l'apparition d'un déclin cognitif chez les personnes âgées.

Dans notre laboratoire, C. Bourquin, et al. ont introduit la Microscopie de Localisation Ultrasonore Dynamique (DULM) chez le petit animal, que nous détaillerons dans la section 2.3 pour répondre à ce problème [6].

1.4 Caractéristiques de la technique d'imagerie nécessaire

Afin d'explorer cette zone inconnue, il faut utiliser une technique d'imagerie capable d'imager l'ensemble des vaisseaux sanguins du cerveau et capables d'imager le flux à l'intérieur de ces vaisseaux à une résolution temporelle suffisante pour mesurer des changements de flux sanguins sur au moins un cycle cardiaque.

Les capillaires ont une taille minimale de l'ordre de $5\mu m$ [1]. Ainsi, il est nécessaire d'avoir une technique d'imagerie possédant une résolution spatiale de l'ordre du micromètre pour visualiser l'ensemble des vaisseaux sanguins. De plus, pour imager l'ensemble du cerveau, il faut une technique d'imagerie ayant un champ de vue d'au moins 15 cm chez l'humain et de l'ordre du cm chez le petit animal (souris, rat).

La résolution temporelle quant à elle doit permettre de mesurer les variations de vitesses à chaque battement cardiaque. Il est donc nécessaire d'avoir une fréquence d'échantillonnage au moins supérieur à deux fois la fréquence cardiaque pour respecter le critère d'échantillonnage de Nyquist. Chez l'humain, la fréquence cardiaque est de l'ordre du Hertz et pour les souris ou rat de l'ordre de la centaine de Hertz. La résolution temporelle nécessaire pour mesurer la pulsatilité chez l'humain est de 60 ms alors qu'elle sera plutôt de 10 ms chez une souris.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Cette revue de littérature se décompose en quatre sections. La première section introduit brièvement le chemin qui a mené au développement de la Microscopie de Localisation Ultrasonore (ULM), une méthode présentant avec un grand potentiel pour imager l'ensemble des flux sanguins cérébraux. La seconde introduit le concept et les différentes étapes de traitements des données pour produire des images d'ULM. Une troisième partie introduit l'ULM dynamique (DULM), une méthode capable d'imager les flux sanguins au cours du temps dans tout le cerveau, ainsi que les limites de cette méthode. Enfin, une dernière partie dresse un résumé des points abordés dans les parties précédentes et permet d'introduire le problème autour duquel s'est construit cette étude.

2.1 De l'imagerie ultrasonore conventionnelle à la microscopie de localisation ultrasonore

2.1.1 L'imagerie ultrasonore

L'imagerie ultrasonore est l'une des modalités d'imagerie médicale la plus utilisée en clinique de nos jours, et ce, depuis les années 1970 où elle a commencé à fortement se développer. En effet, elle présente les avantages d'être non invasive, non ionisante, portable, peu coûteuse et de posséder un affichage quasiment en temps réel. Aujourd'hui, l'imagerie ultrasonore sert à établir des diagnostics : on pense naturellement à l'échographie du fœtus, l'échographie mammaire, ou encore à l'échographie abdominale pour détecter certains cancers. Elle peut aussi servir comme outil thérapeutique : en hyperthermie pour soigner des rhumatismes et des inflammations, en vibro thérapie pour casser des calculs rénaux, par exemple, ou encore en cavitation pour l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique.

L'imagerie ultrasonore possède néanmoins quelques limites qu'il est bon de rappeler ici. Les fréquences utilisées limitent la profondeur d'imagerie à quelques centimètres. Les ultrasons sont fortement réfléchis par les os, ce qui ajoute des difficultés pour imager à travers le crâne ou les côtes. Les fréquences utilisées (majoritairement de 2 à 15 MHz) limitent la résolution spatiale à la centaine de micromètres en clinique à cause du phénomène de diffraction. L'imagerie ultrasonore focalisée dite conventionnelle souffre également d'un nombre d'images par seconde de l'ordre de 50 Hz, trop faible par rapport aux phénomènes que l'on souhaite mesurer.

2.1.2 Acquisition de données grâce aux sondes ultrasonores

Les sondes ultrasonores sont composées d'une rangée d'éléments piézoélectriques pour les sondes 2D et d'une matrice d'éléments pour les sondes 3D. Nous présenterons ici le principe de fonctionnement d'une sonde 2D pour faciliter la présentation. Nous considérerons les sondes dites linéaires, c'est-à-dire où chaque élément est disposé le long d'une ligne. Typiquement, les sondes linéaires sont composées de 128 ou 256 éléments (voir Fig 2.1).

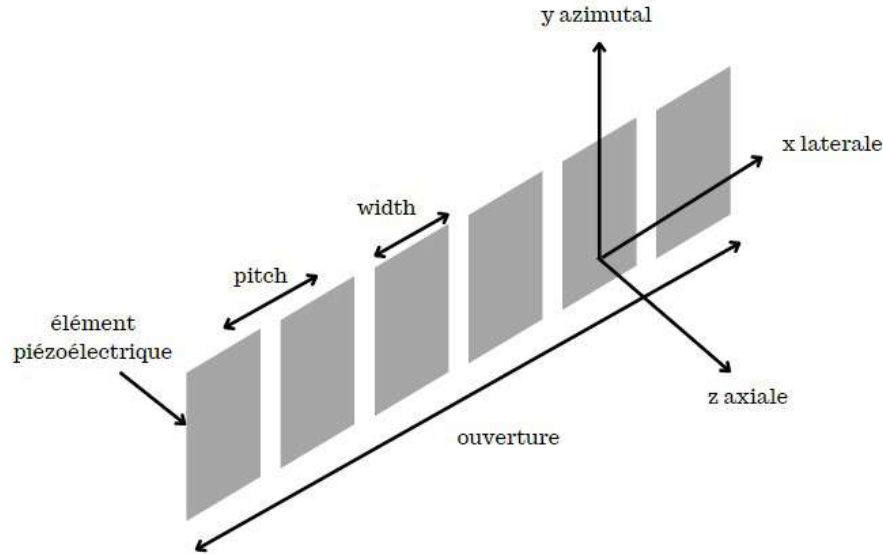


FIGURE 2.1 Géométrie d'une sonde linéaire.

Ces éléments piézoélectriques sont alimentés par des impulsions électriques hautes fréquences qui font rentrer ces derniers en résonance. L'élément en résonance va transmettre cette vibration au milieu en contact avec ce dernier : une onde ultrasonore sphérique est créée. La somme des différentes ondes sphériques produites par les éléments permet de former différents types d'ondes. En effet, en appliquant des délais d'émissions différents en fonctions des éléments de la sonde, on peut produire des ondes focalisées (pour l'imagerie ultrasonore conventionnelle), planes (pour l'imagerie ultrarapide) (voir Fig. 2.2), ou encore des ondes divergentes.

Par la suite, ces éléments sont utilisés pour recevoir les signaux rétrodiffusés par les réflecteurs présents dans le milieu. En recevant les échos réfléchis par les réflecteurs, chaque élément piézoélectrique va générer un signal électrique, dit signal radiofréquence (RF) sauvegardé par le système. Ce sont ces signaux qui vont être utilisées pour former une image des différents tissus traversés par l'onde émise (voir Fig. 2.3).

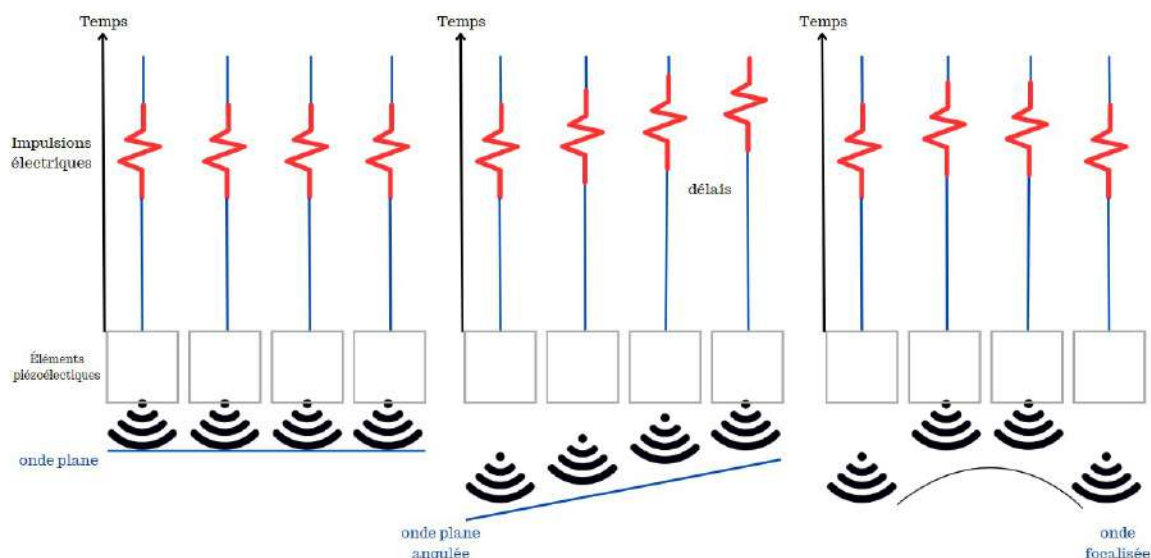


FIGURE 2.2 Différents types d’ondes peuvent être produits en appliquant différents délais entre les éléments.

2.1.3 Mise en forme du faisceau : Beamforming

À partir de la réception de RF, on peut former une image du milieu insonifié, en sommant les RF grâce à des techniques de beamforming (formation du faisceau) comme le Delay and Sum (DAS) [7] [8]. L’enveloppe (amplitude) de ces images obtenues forment ce qu’on appelle communément le B-mode.

On peut aussi obtenir des données complexes en démodulant les données RF. On obtient des IQ (In-phase and Quadrature-phase : composantes en phase et en quadrature). Nous verrons plus tard que ces données peuvent être filtrées pour retirer le signal provenant des tissus immobiles. L’amplitude des données beamformée représente l’échogénicité des réflecteurs présents dans le milieu (voir Fig. 2.4 qui illustre ce phénomène).

Un exemple d’image B-mode provenant de nos acquisitions sur un cerveau de rat est présenté dans la figure 2.5.

2.1.4 L’imagerie ultrasonore focalisée

L’imagerie ultrasonore focalisée est la technique principalement utilisée en clinique, ce qui lui vaut la dénomination d’imagerie ultrasonore conventionnelle. Cette méthode repose sur l’envoi par une sonde d’ondes focalisées.

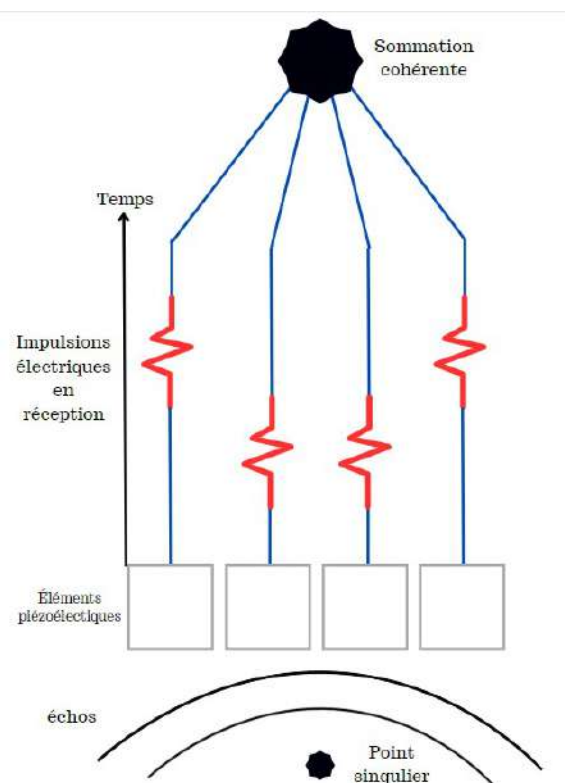


FIGURE 2.3 Réceptions des signaux produits par un réflecteur singulier.

Pour obtenir une émission focalisée, chaque élément de la sonde émettra un tir à des instants différents. Pour obtenir une onde focalisée sans angle par rapport à la profondeur (axe orthogonal au plan de la sonde) par exemple : les éléments extérieurs vont tirer en premier puis les éléments plus à l'intérieur pour finir par les éléments centraux (voir Fig. 2.2).

Après l'envoi de l'onde, on vient avec les mêmes éléments recueillir les signaux rétrodiffusés par les réflecteurs présents dans le milieu. On peut par la suite beamformer ces signaux RFs pour obtenir une image. Avec une onde focalisée, on est capable de produire l'image d'une ligne dans le milieu. On va ensuite décaler la focalisation à la ligne voisine, envoyer l'onde puis recevoir pour former l'image de cette ligne. Ce processus est répété le nombre de fois nécessaire pour former l'image complète du milieu. On comprend facilement pourquoi la fréquence d'imagerie est limitée puisque pour former une image, il faut envoyer une onde et la recevoir pour chaque ligne du milieu. Ainsi, plus la densité de ligne est importante, moins la fréquence temporelle d'imagerie sera importante, mais l'on obtiendra une résolution spatiale supérieure.

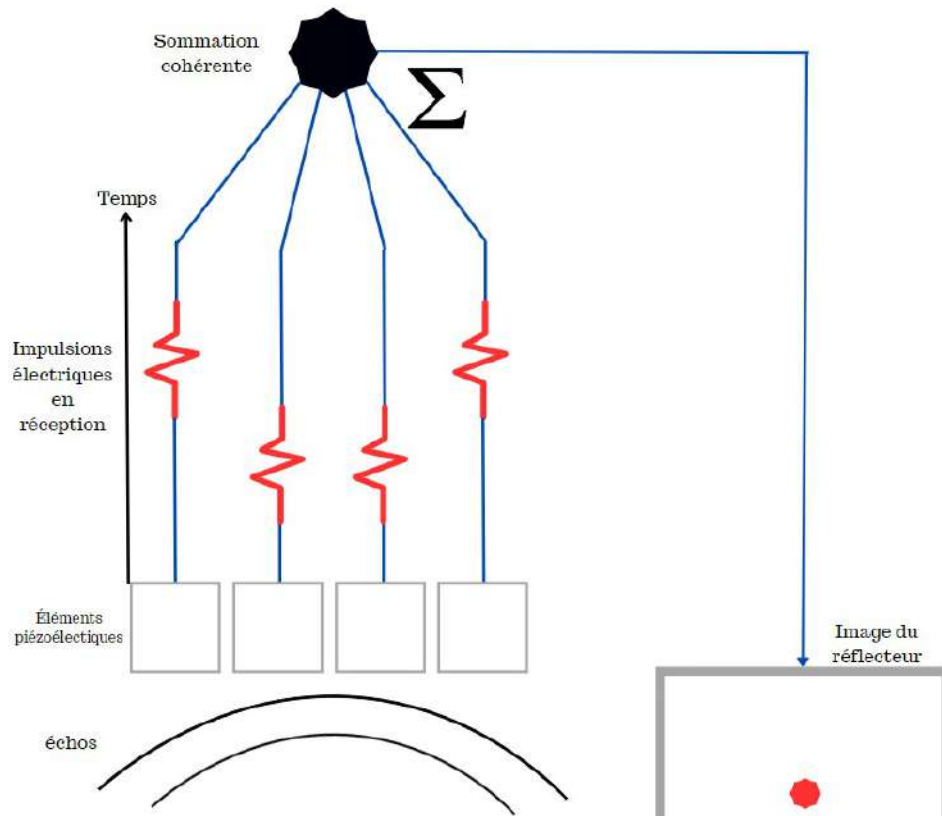


FIGURE 2.4 Formation d'image par sommation des données RF.

2.1.5 L'imagerie ultrasonore ultrarapide

L'imagerie ultrasonore ultrarapide, développée au début des années 2000, est une technique d'imagerie qui insonifie un large champ de vue contrairement à l'imagerie ultrasonore conventionnelle. Changer cette approche permet d'augmenter le nombre d'images par seconde et d'obtenir une meilleure sensibilité. Elle consiste à envoyer des ondes planes avec l'ensemble des éléments de la sonde pour insonifier tout le milieu à imager en un seul tir (voir Fig. 2.2). L'onde est ensuite réfléchi par les diffuseurs présents dans le milieu et enregistrée par l'ensemble des éléments de nouveau.

Les données de chaque élément sont ensuite traitées en parallèle, en sommant de façon cohérente les échos en provenance d'un point spécifique dans l'espace. La focalisation se fait donc en réception. En imagerie ultrarapide, on peut former jusqu'à 10 000 images par seconde. Cependant, l'image souffrira d'un faible contraste et d'une faible résolution spatiale.

On peut améliorer ces deux aspects, voir obtenir des images dont le Signal to Noise Ratio (SNR), le contraste et la résolution spatiale sont semblables à l'imagerie focalisée en envoyant plusieurs ondes planes inclinées d'un certain angle pour former une seule image (une dizaine).

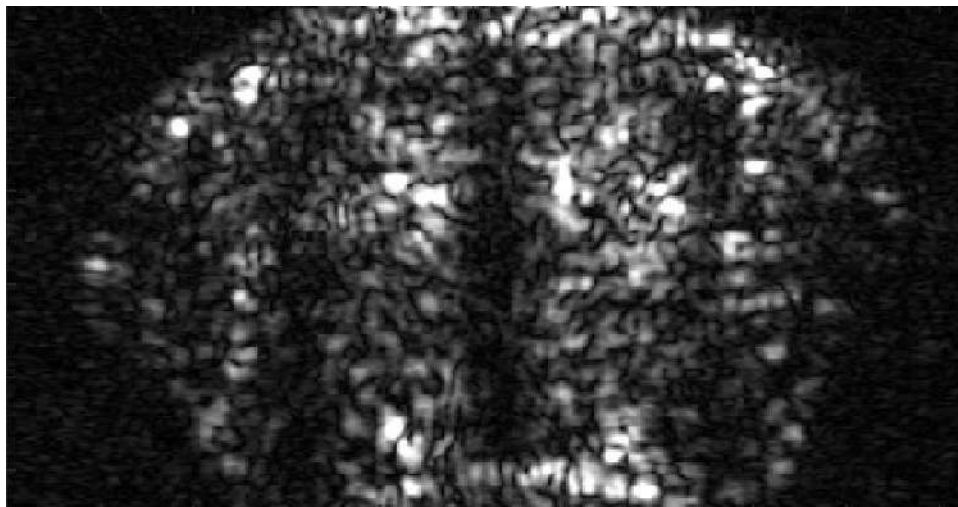


FIGURE 2.5 Image B-mode d'un cerveau de rat avec injection de microbulles.

Cela aura pour conséquence de dégrader notre échantillonnage temporel qui passe d'une dizaine de milliers d'images par seconde à un millier d'images par seconde, mais cela reste bien supérieur aux dizaines d'images par seconde de l'imagerie focalisée.

2.1.6 Limite en résolution spatiale

On vient de voir que l'imagerie ultrasonore ultrarapide permettait d'améliorer la résolution temporelle. Cependant, la résolution spatiale est toujours limitée par la limite de diffraction. C'est-à-dire l'observation de structures de l'ordre de la longueur d'onde.

On peut donc penser qu'augmenter la fréquence d'émission des tirs, donc de diminuer la longueur d'onde, améliora la résolution spatiale [9]. En effet, grâce à des sondes hautes fréquences de 15Mhz on obtient une résolution de l'ordre de $100\mu m$ ou de l'ordre de $50\mu m$ pour des sondes de 35 Mhz. Cependant, on obtient une pénétration de 30mm à 15 Mhz et seulement 10mm à 35Mhz [10].

Une pénétration de 30 mm est la pénétration minimale pour imager l'entièreté d'un cerveau de souris ou de rat, ainsi une fréquence de 15Mhz est plus ou moins la limite supérieure de fréquence utilisable. Avec ce genre de sonde, on obtient donc une résolution de l'ordre de la centaine de micromètres, insuffisant pour imager les capillaires.

2.1.7 Prémices de la super-résolution ultrasonore

De nombreuses études dans le domaine des ultrasons ont essayé de contourner le phénomène de diffraction ultrasonore : ce que l'on appelle communément la super-résolution. Couture et

al. dans [11] retracent les différentes études qui ont proposé des solutions pour améliorer la résolution spatiale des ultrasons :

- Imagerie harmonique [12].
- Imagerie en champ proche pour ne pas avoir à subir la limite de diffraction [13]. Seulement cette technique ne permet pas d'imager en profondeur.
- Imagerie ultrasonore couplée à d'autres types d'ondes [14].
- Super convergence en champ proche [15].
- Localisation d'un nombre très limité d'objets diffractants [16]. Seulement les tissus génèrent d'eux-mêmes aléatoirement des millions de points diffractant qu'on appelle : speckle noise, ce qui rend cette technique inutilisable en pratique.

Ces techniques font partie d'un ensemble d'études qui ont tenté de produire de la super-résolution, cependant l'incapacité à différencier des millions d'objets diffractants n'a pas permis de réaliser l'objectif souhaité.

2.1.8 La microscopie de localisation optique

Une découverte majeure en optique, récompensée par le prix Nobel de Chimie en 2014, a permis d'ouvrir de nouvelles perspectives à la super-résolution en imagerie ultrasonore [17]. Il s'agit de la microscopie de localisation optique. Nous allons rapidement décrire le principe des principales techniques en microscopie de localisation optique qui ont inspiré l'ULM que nous décrirons en détail par la suite.

Dans ces techniques, des fluorophores sont sélectivement attachés à la surface des objets que l'on souhaite observer (molécules, anticorps, ADN). Les microscopes optiques sont suffisamment sensibles pour détecter la lumière émise par ces fluorophores. Notamment, des méthodes telles que PALM [18] ou STORM [19] exploitent un phénomène d'activation/désactivation sélective des fluorophores, ce qui permet d'observer des tâches de diffraction distinctes provenant de quelques fluorophores activés (voir Fig 2.6). En modélisant l'intensité de ces tâches de diffraction par une gaussienne avec une largeur de l'ordre de grandeur de la longueur d'onde, il est possible de localiser précisément l'objet situé au centre de cette tâche.

En répétant l'opération de localisation un grand nombre de fois, en activant/désactivant différents fluorophores, on parvient à obtenir une image à une résolution inférieure à la longueur d'onde utilisée. En imagerie optique, on atteint des résolutions de l'ordre du nanomètre.

Ces principes ont inspiré l'imagerie ultrasonore, donnant ainsi naissance à la microscopie de localisation ultrasonore (ULM).

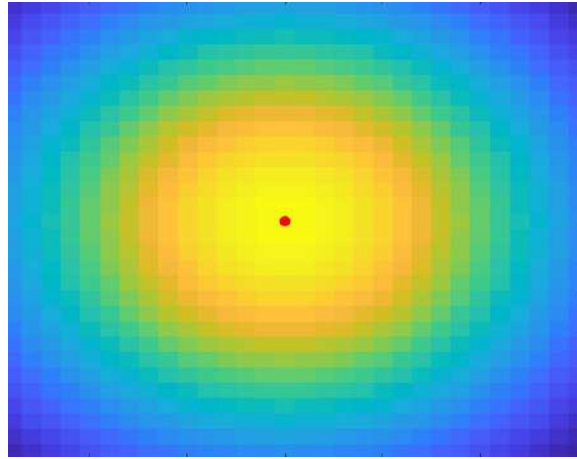


FIGURE 2.6 Localisation (point rouge) du centre de la tâche de diffraction (PSF) d'un fluorophore

2.2 La Microscopie de Localisation Ultrasonore (Ultrasound Localization Microscopy : ULM)

2.2.1 Les microbulles comme objets diffractants

L'ULM repose sur l'injection de microbulles dans l'arbre vasculaire. Ces microbulles, d'une taille d'environ 1 à $6\mu m$, sont constituées d'une paroi lipidique qui encapsule un gaz inerte. Dans notre laboratoire, nous utilisons les microbulles de la marque Definity qui utilise l'octafluoropropane comme gaz. Ces microbulles remplissent les différentes procédures de sûreté et sont déjà utilisées pour d'autres examens cliniques. Elles sont rapidement éliminées par l'organisme après quelques minutes via la respiration.

Techniquement, ces microbulles sont utilisées comme agent de contraste. En effet, la forte différence d'impédance entre la microbulle et les tissus environnants entraîne qu'une forte partie de l'énergie envoyée par la sonde est réfléchi au contact de la microbulle. Ces microbulles sont des points singuliers et une fois imagées, elles vont apparaître entourées d'une tâche de diffraction, on parle communément de réponse impulsionnelle : PSF (Point-Spread function).

2.2.2 Principe

Dans le cas de l'ULM [20] [21] [22], de faibles concentrations de microbulles sont injectées afin de pouvoir distinguer dans chaque image B-mode obtenue avec l'imagerie ultrarapide, la tâche de diffraction, d'environ $100\mu m$ de diamètre (Longueur d'onde associé à une fréquence de 15

MHz) autour de la microbulle. Dans chaque image, de la même manière qu'en microscopie optique, on vient détecter et localiser le centre de ces tâches qui se distinguent du speckle environnant, car le signal des microbulles est plus intense. Toutes ces positions sont enfin rassemblées et accumulées par former une carte super-résolue de l'arbre vasculaire cérébrale avec une résolution de l'ordre de la dizaine de micromètres (voir Fig. 2.7 pour un exemple de carte ULM).

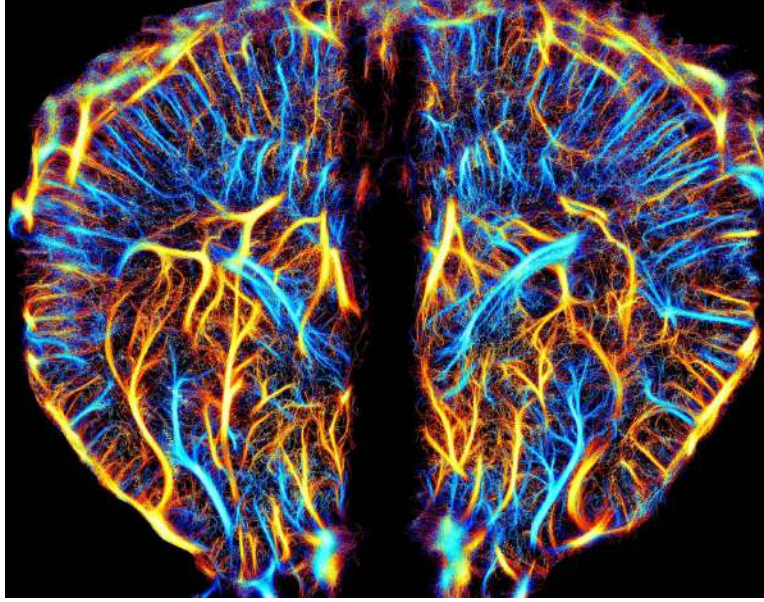


FIGURE 2.7 Un exemple de cartes ULM réalisées durant le projet. Cette carte est actuellement présentée dans le cadre d'un concours : la preuve par l'image

L'ULM permet de suivre des microbulles se déplaçant de 0 à quelques longueurs d'ondes par images. Dans notre cas, nous traiterons des acquisitions avec une fréquence d'imagerie de 1000 Hz (imagerie ultrarapide) avec une sonde de fréquence centrale de 15.625 Mhz ce qui nous donne une longueur d'onde de $98.56 \mu m$.

$$\lambda = \frac{c}{f} = \frac{1540}{15.625 \times 10^6} = 98.56 \mu m \quad (2.1)$$

Nous pourrions donc suivre des microbulles se déplaçant jusqu'à des vitesses d'une centaine de millimètres par seconde. Sachant que dans l'arbre vasculaire cérébrale la maximum de vitesse admissible est de l'ordre de 100 mm.s^{-1} [23].

Nous allons détailler par la suite les différents algorithmes majoritairement utilisés pour réaliser les étapes de localisation et de suivi des microbulles.

2.2.3 Filtrage des tissus : SVD

Comme nous l'avons dit précédemment, l'imagerie ultrasonore met en lumière les changements d'impédance et donc de milieu. Ainsi les tissus vont fortement apparaître à l'image, noyant le signal des microbulles. Dans notre étude, on va tenter davantage de retirer le signal provenant des tissus pour faire apparaître ce qui nous intéresse réellement, c'est-à-dire les microbulles à l'intérieur des vaisseaux sanguins. Les tissus sont des surfaces qui se déplacent faiblement. Par conséquent, en imagerie classique, on applique souvent un filtre passe-haut plus ou moins sélectif pour retirer les surfaces immobiles. Cependant, dans notre cas, le mouvement des microbulles dans les capillaires peut être extrêmement faible par rapport à la fréquence d'imagerie. Ainsi, des microbulles pourraient être confondues avec le tissu et être filtrées.

Ainsi, une approche différente pour filtrer les tissus a été proposée : le filtrage par SVD (Singular Value Decomposition) [24]. Techniquement, les tissus et le flux sanguin présentent des niveaux de cohérence spatiotemporelle différents. En effet, le signal des tissus, quasiment immobile, affiche une cohérence spatiotemporelle plus élevée que celui du sang. Lorsque l'acquisition ultrarapide est décomposée en vecteurs spatiotemporels par la SVD, le signal des tissus se retrouve principalement dans les premières valeurs singulières. Ainsi, il est possible d'atténuer considérablement le signal des tissus, en éliminant un nombre approprié des premières valeurs singulières. Cependant, la SVD, en retirant les structures immobiles, peut aussi filtrer les écoulements sanguins lents à l'intérieur des capillaires.

2.2.4 Détection et Localisation

Après beamforming des données RF et après SVD pour retirer les tissus, nous avons donc à dispositions des images d'un plan 2D de cerveau avec des microbulles visibles. L'objectif maintenant est de localiser ces dernières dans chaque image en dépassant la limite de diffraction ultrasonore. La localisation dans la littérature se sépare en deux étapes (détection puis super-résolution).

Avant de rentrer dans les détails, il ne faut pas perdre à l'esprit que les images sont numériques, et donc composées de pixels. À cette étape, la taille d'un pixel est souvent égale à λ , $\frac{\lambda}{2}$ ou $\frac{\lambda}{4}$. Puisque la limite de diffraction restreint notre résolution spatiale à la longueur d'onde. Ainsi, il n'est pas nécessaire d'avoir une image B-mode avec une taille de grille inférieure qui augmenterait le temps de traitement et la mémoire allouée à une image de la même qualité.

Ainsi, avant d'obtenir la position super-résolue des microbulles, on doit d'abord déterminer une première approximation pixélique de la position de chaque microbulle. Puis, dans un

second temps, pour chaque position détectée, un kernel centré à cette position va être extrait et un algorithme de super-résolution va être appliqué pour déterminer la position de la microbulle à une résolution sous-pixélique.

Détection des microbulles

La méthode la plus simple à comprendre et à implémenter pour déterminer cette première approximation des positions est de chercher dans l'image les maximums locaux et de garder uniquement ceux dont l'intensité est la plus forte [25]. On voit apparaître un premier choix empirique inhérent aux méthodes conventionnelles qui est le nombre de microbulles N_{MB} par images que l'utilisateur choisit de détecter.

Une seconde méthode largement employée également est de détecter les maximums locaux non pas dans les images B-mode, mais plutôt dans des images qu'on appelle cartes de corrélation. Ces cartes sont obtenues en réalisant le produit de convolution entre chaque image B-mode et la PSF d'une microbulle. On obtient finalement des images dont les valeurs sont comprises entre 0 et 1 où les valeurs les plus proches de 1 sont celles où la probabilité de trouver une microbulle à cet endroit est forte.

Cela permet de relever le signal des microbulles car la corrélation se concentre sur la forme et non sur l'intensité. En effet, certaines microbulles sont hors plan ou plus en profondeur, elles ont donc un contraste plus faible. La corrélation permet également de filtrer les régions sans microbulles, mais où le speckle pourrait être confondu avec une microbulle dans une détection classique. Une fois ces cartes de corrélation obtenues, on peut procéder à la détection des maximums régionaux dans ces dernières. On peut choisir de garder seulement N_{MB} par image et/ou de garder les microbulles avec un coefficient de corrélation avec la PSF supérieure à un niveau fixé [6].

Algorithmes de super-résolution

Une fois que nous avons cet ensemble de positions initiales des microbulles, on va appliquer un algorithme de super-résolution sur chaque kernel centré autour des positions initiales. Nous détaillerons ici les deux algorithmes les plus couramment utilisés : l'ajustement Gaussien et la symétrie radiale. Ces deux algorithmes ont obtenu les meilleures notes dans l'évaluation des différents algorithmes de super-résolution dans l'article [25].

L'ajustement Gaussien consiste à modéliser l'environnement autour des différentes positions pixéliques préalablement trouvé par une Gaussienne (modélisation la plus répandue pour modéliser mathématiquement la PSF) de moyenne $\mu = (\mu_z, \mu_x)$ et d'écart-type inconnue

$$\sigma = (\sigma_z, \sigma_x).$$

$$I = A \exp \left\{ - \left(\frac{(z - \mu_z)^2}{2\sigma_z} + \frac{(x - \mu_x)^2}{2\sigma_x} \right) \right\} \quad (2.2)$$

Puis, d'estimer grâce à l'environnement la moyenne et l'écart-type qui modélisent le mieux cette microbulle à l'intérieur de cette région. La moyenne estimée permet de déterminer précisément la position du centre de la microbulle. Ce problème se linéarise et peut se résoudre numériquement grâce aux travaux de [26].

L'algorithme de symétrie radiale, quant à lui, utilise le fait que, pour une distribution d'intensité radialement symétrique, ici la PSF d'une microbulle, une ligne traversant n'importe quel point et parallèle au gradient en ce point intersectera le centre de la particule. La distance entre le centre et une telle ligne est donc de 0. Dans une image bruitée et pixelisée, c'est-à-dire ce que nous rencontrons dans nos images, ces intersections ne seront pas exactes. En revanche, on peut néanmoins estimer le centre comme le point qui minimise la distance totale entre lui-même et toutes ces lignes [27].

Ainsi, en appliquant, l'un ou l'autre de ces algorithmes, on peut déterminer la position des microbulles préalablement détectées à une résolution inférieure à la limite de diffraction. Toutefois, ces algorithmes ne sont pas parfaits et peuvent entraîner des erreurs, ainsi, il a été établi que la limite théorique de l'ULM était de $1\mu m$ [28]. Concrètement, des outils théoriques ont été développés pour calculer la résolution obtenue sur des images ULM et ils ont révélé une résolution de l'ordre de la dizaine de micromètres [29].

Carte de densité des positions

La localisation de l'ensemble des microbulles dans chaque image peut suffire à former une image. En accumulant ces positions sur une grille d'une résolution de $\frac{\lambda}{10}$, par exemple, maintenant que nous avons franchi la limite de diffraction.

Seulement, ces images peuvent présenter une qualité dégradée en raison d'erreurs de localisation et surtout d'erreurs de détection. En effet, en détectant les microbulles images après image de façon indépendante, on utilise seulement l'information spatiale pour détecter et discriminer une microbulle. Or dans les images B-mode où se fait la détection, il y a du speckle, ainsi que des interactions entre les microbulles, ce qui peut entraîner des erreurs dans nos algorithmes de localisation.

Pour résoudre ces problèmes, on pourrait envisager de garder seulement les microbulles qui possèdent un niveau de corrélation élevé. Cependant, cela réduirait radicalement le nombre

de microbulles par image, nécessitant un plus grand nombre d'images pour obtenir l'intégralité du réseau vasculaire cérébral dans ce plan d'imagerie. Toutefois, cela entraînerait une augmentation du temps d'acquisition des données, ce qui constitue un obstacle à l'utilisation clinique de l'ULM [30].

2.2.5 Suivi des microbulles dans le temps : Tracking

La solution privilégiée dans la littérature est le tri des positions, en mettant en place le suivi de microbulles entre les images, aussi appelé tracking. En effet, la fréquence d'imagerie est assez élevée pour qu'une microbulle dans l'image i se retrouve non loin de cette position dans l'image $i+1$. Ainsi, on peut procéder à l'appariement des microbulles grâce à différents algorithmes, que nous détaillerons dans les sections suivantes. Ce processus d'appariement permet de rejeter les microbulles qu'il est impossible de suivre pendant un nombre N_f d'images. Cela revient concrètement à ajouter l'information temporelle à posteriori de l'information spatiale.

Le suivi des microbulles permet également de déterminer la vitesse du sang. En effet, les microbulles se déplacent dans le système sanguin, et en étant capable de déterminer leurs trajectoires, nous pouvons obtenir une estimation de la vitesse du sang à cet endroit précis.

Algorithme du plus proche voisin

Le premier algorithme que nous détaillerons ici est le plus naturel lorsqu'on souhaite apparier des objets en mouvement, ici des microbulles. Chaque microbulle détectée dans l'image i va être apparée avec la microbulle se trouvant à la position la plus proche dans l'image $i+1$. On appelle naturellement cet algorithme l'algorithme du plus proche voisin.

Algorithme Hongrois

L'algorithme de référence pour apparier les microbulles dans la littérature est l'algorithme hongrois [31] [25]. Il vise à minimiser la distance totale d'appariement entre l'image i et l'image $i+1$. En effet, au lieu de faire correspondre chaque bulle avec la plus proche dans l'image suivante, cet algorithme essaie plutôt de minimiser la distance totale d'appariement. Cela permet de réaliser davantage d'appariements de bulles, améliorant ainsi la précision du suivi des microbulles. Cet algorithme nécessite de fixer certains paramètres :

- Le nombre de microbulles à apparier N_f .
- La distance maximale d'appariement autorisée (d_{max}).
- Le nombre d'images maximales où une bulle peut ne pas être apparée avant d'être rappariée. (max_{gap})

Limites des algorithmes de suivi

Ces deux algorithmes, malgré leur utilisation répandue dans la littérature, présentent une limite importante qui a motivé la recherche de la méthode que nous proposons. En effet, le suivi des microbulles ne prend pas en compte le déplacement de ces dernières. Il se base uniquement sur l'information spatiale lors de l'appariement, ce qui peut entraîner des problèmes lorsque deux bulles se rapprochent ou se croisent dans le plan d'imagerie et qu'elles ont des vitesses différentes.

La figure 2.8 illustre ce problème. Elle montre les résultats de l'appariement par l'algorithme hongrois de deux microbulles évoluant à des vitesses différentes (20 mm/s et 45 mm/s) dans des simulations basiques sans bruit. À gauche, on observe les trajectoires effectives des microbulles, et à droite, les trajectoires obtenues par le suivi. On peut remarquer que la trajectoire bleue correspond à une fausse trajectoire. Ce problème peut être négligé si l'on travaille à faible concentration de microbulles et que la probabilité que deux microbulles se croisent est faible. Cependant, travailler à faible concentration entraîne des temps d'acquisition plus longs. La dynamique de la communauté est plutôt à chercher à augmenter la concentration [32] [33] [34] [35] [36]. De plus, ce problème d'appariement peut ne pas être un souci majeur si l'on se contente simplement d'afficher les trajectoires des microbulles. Cependant, il devient beaucoup plus visible lorsqu'il s'agit d'estimer la vitesse des microbulles. En effet, l'estimation des vitesses dépend directement de la construction des trajectoires. Si les trajectoires sont incorrectes en raison d'erreurs d'appariement, cela peut entraîner des estimations de vitesse inexactes et biaiser les résultats de l'analyse. C'est pourquoi il est crucial de développer des méthodes plus précises et robustes pour le suivi des microbulles, afin d'obtenir des mesures de vitesse fiables dans l'ensemble du cerveau.

Filtre de Kalman

Pour améliorer le suivi des microbulles, un groupe a récemment introduit le filtre de Kalman [37], déjà utilisé dans de nombreux domaines pour le suivi d'objets dans des trajectoires. Dans cette étude, les auteurs appariant les microbulles sur 10 images avec une méthode proche de l'algorithme hongrois. Puis utilise cet appariement comme entrée de leur filtre de Kalman pour rétablir une trajectoire plus en adéquation avec la vitesse de la microbulle calculée en dérivant la trajectoire. Cependant, le filtre de Kalman est ajouté après les détections de microbulles dans chaque image, et un appariement initial basé sur la distance et ne tient compte que d'un mouvement local et non du mouvement global de la microbulle.

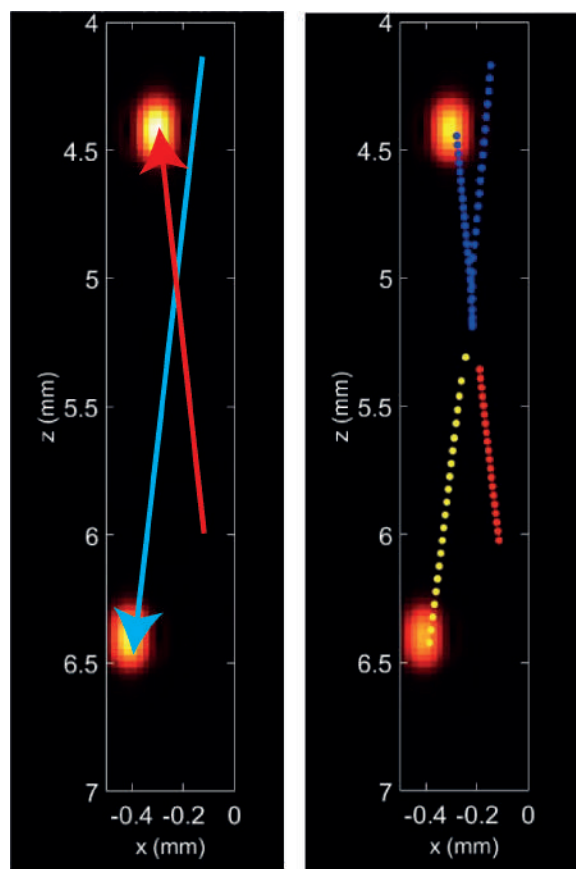


FIGURE 2.8 **Mauvais appariement de l'algorithme hongrois.** Les deux flèches dans l'image de droite représentent les trajectoires de deux bulles simulées. Les pointillées de couleur (bleu, rouge et jaune) représentent les trajectoires trouvées par l'algorithme hongrois

Les trajectoires

Au terme de l'un ou l'autre des algorithmes de suivi, on finit par obtenir des trajectoires qui se présentent sous la forme de suites de positions spatiales fonction du temps (chaque élément de la suite est une position à un instant différent).

2.2.6 Filtrage des trajectoires

Comme nous l'avons vu précédemment, des critères comme le nombre minimal d'images durant lequel la microbulle est suivie peuvent être fixés pour améliorer la confiance dans les positions trouvées.

D'autres critères peuvent être appliqués pour retirer les microbulles qui ne se déplacent pas suffisamment pour potentiellement enlever les microbulles voyageant dans des vaisseaux orthogonaux au plan d'imagerie. Ces critères sont cependant assez complexes à fixer, car ils

pourraient retirer des trajectoires de microbulles lentes.

Dans l'article introduisant le filtre de Kalman [37], des critères comme l'accélération maximale ou des critères sur la continuité de la direction empruntée par la microbulle sont appliquées (une bulle d'après leur modèle ne peut pas revenir sur ses pas).

Le problème avec l'ajout continu de critères est d'orienter les résultats par rapport à des modèles, or la complexité du flux sanguins dans les capillaires est encore étudié et ces hypothèses sont assez fortes. Ainsi une méthode avec peu de paramètres est souhaitée dans la mesure où la physique de l'écoulement est encore incomprise.

2.2.7 Interpolation

Une fois les trajectoires obtenues, il est possible de les interpoler pour ajouter artificiellement des positions entre les positions initiales, créant ainsi des trajectoires continues sur l'image finale et permettant de lisser les trajectoires.

Différentes interpolations sont utilisées. L'interpolation linéaire dans la dimension temporelle consiste à déterminer, pour chaque paire de positions consécutives de la trajectoire, la fonction affine passant par ces deux positions, puis à évaluer cette fonction à l'intérieur de ce segment. Cependant, cette interpolation est C^0 , ce qui n'assure pas la continuité de la vitesse. Il est donc nécessaire d'avoir une interpolation au moins de classe C^1 pour éviter des discontinuités de vitesse. Malgré cela, l'interpolation linéaire est encore utilisée en ULM dans quelques articles récents [38] [39] [32].

Une autre méthode est l'interpolation en spline cubique le long du temps. Elle permet de lisser davantage les trajectoires et est de classe C^2 , assurant la continuité de la vitesse et de l'accélération [40].

Une autre approche consiste à utiliser une interpolation adaptative sur la distance minimale qui doit séparer deux microbulles. Elle peut être linéaire ou en spline cubique. Dans cette approche, la trajectoire comme une fonction de la distance cumulative entre les microbulles. Par conséquent, on vient ajouter plus de positions artificielles entre deux microbulles rapides qu'entre deux microbulles lentes [37].

2.2.8 Formation de cartes de densité et de cartes de vitesses

Pour finaliser l'ULM classique, il nous reste à créer une image en combinant toutes ces trajectoires filtrées et interpolées. Les positions situées à l'intérieur de ces trajectoires sont projetées sur une grille de résolution inférieure à celle de l'image originale où la localisation

a été réalisée au préalable. Les grilles sélectionnées ont généralement une taille de pixel de l'ordre de $\frac{\lambda}{10}$, $\frac{\lambda}{20}$. On peut aussi projeter les vitesses pour obtenir des cartes de la vitesse moyenne passant à l'intérieur des vaisseaux repérés. La figure 2.9 présente un exemple d'une carte de densité et d'une carte de vitesse.

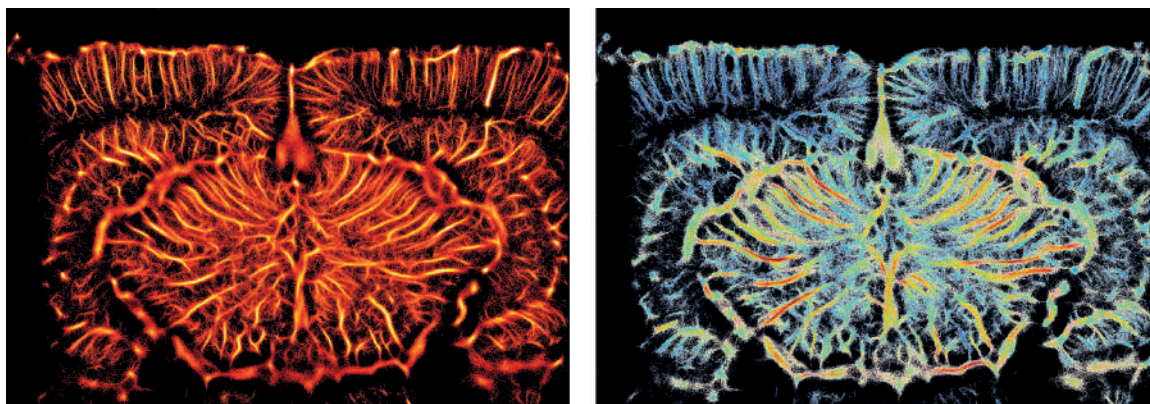


FIGURE 2.9 Illustration d'une carte de densité et d'une carte de vitesse. L'image de gauche représente une carte de densité d'un plan 2D d'un cerveau de rat et l'image de droite la carte de vitesse associée.

La figure 2.10 présente, de façon schématique, l'ensemble des étapes pour arriver à la formation d'une carte.

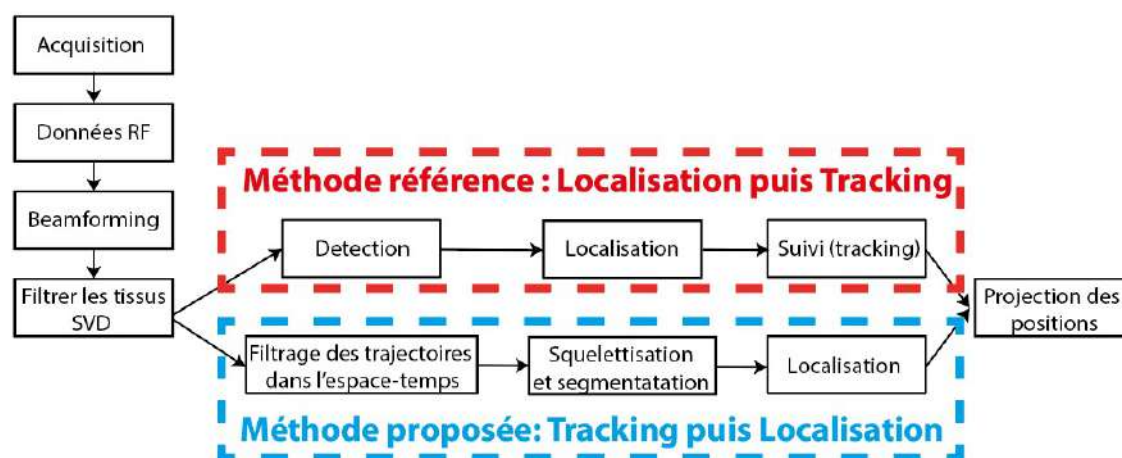


FIGURE 2.10 Schéma du pipeline usuel et du pipeline associé à la méthode proposée.

2.3 Microscopie de localisation ultrasonore dynamique : DULM

L'ULM permet d'obtenir des cartes statiques, mais cela n'est pas suffisant pour mesurer la pulsativité ou des changements de flux causés par une excitation extérieure, par exemple. En effet, bien que l'ULM fournisse une résolution spatiale permettant de visualiser les petits vaisseaux et les vitesses moyennes d'écoulement, il ne permet pas d'obtenir les variations de vitesses à l'intérieur de ces vaisseaux au fil du temps.

C'est pour résoudre ce problème que notre laboratoire a introduit l'ULM dynamique (DULM) [6], repris par la suite pour l'ULM fonctionnel (fULM) [38], ainsi que pour l'imagerie ULM du cœur (MULA) [41].

Cette technique repose sur l'acquisition répétée d'un même phénomène périodique à de multiples reprises, afin de sommer de manière cohérente les images obtenues. Dans la première application du DULM, l'acquisition était déclenchée par le début du rythme cardiaque de l'animal et arrêtée après deux battements cardiaques, correspondant à 400 ms (400 images avec une fréquence d'imagerie de 1000 Hz). Cette opération était répétée 384 fois. Ainsi, au lieu de former une seule carte de densité en sommant toutes les trajectoires, il est possible de créer 400 cartes de densités en sommant de manière cohérente les positions des différentes images. Cela permet de cartographier la dynamique de l'écoulement sanguin en exploitant la périodicité du phénomène observé.

En somme, l'ULM dynamique permet de capturer des informations temporelles sur les fluctuations de vitesses et les changements de flux, ce qui propose une vision plus complète et détaillée de la dynamique de l'écoulement sanguin.

DULM possède donc en principe la résolution spatiale et temporelle pour mesurer les évolutions de vitesse lors d'un cycle cardiaque dans les gros vaisseaux ainsi que dans les capillaires du cerveau.

2.4 La concentration comme levier pour diminuer le temps d'acquisition

Nous avons déjà introduit préalablement l'idée qu'augmentait la concentration de microbulles et par conséquent le nombre de détections diminuerait le temps d'acquisition pour former la même image. Nous avons également déjà introduit le compromis qu'il existe entre l'augmentation de la concentration et la capacité à distinguer les microbulles. En effet, plus on augmente la concentration, plus on augmente le nombre de microbulles par image et de ce fait la probabilité que le signal de deux microbulles se superposent.

L'apparition de ce phénomène cause des problèmes aux algorithmes classiques pour différen-

tier les microbulles ainsi que pour les suivre. Ainsi, l'augmentation de la concentration amène souvent à la détérioration de l'image à partir d'une certaine concentration. Ce compromis a été théorisé et dans [32], ils ont montré qu'il existait un compromis entre la résolution spatiale (faculté à reconstruire l'ensemble des vaisseaux) et le temps d'acquisition en ULM.

Ainsi, si on acquiert longtemps à faible concentration, on obtient des images très résolues. Cependant, le temps d'acquisition est un frein identifié à l'application de l'ULM en clinique [30]. Or, avec DULM, on produit beaucoup plus d'images. En effet, pour obtenir la même qualité d'image que pour une seule image finale, il faut soit une nouvelle fois augmenter le temps d'acquisition ou alors développer des méthodes qui permettent de travailler à haute concentration.

Des modèles ont été proposés pour optimiser la détection de microbulles à haute concentration. En effet, dans [42] une revue des différentes méthodes proposées pour résoudre ce problème sont énumérées.

Des techniques de représentation sparse pour résoudre la superposition des signaux des microbulles (SUSHI) [43]. Cette approche sans localisation améliore la vitesse d'imagerie, mais ne permet pas de mesurer la vitesse du flux sanguin.

Des algorithmes de compression (compressed sensing) permettent de localiser en environnement très concentré [44].

D'autres approches basées sur la déconvolution permettent de réduire itérativement la PSF autour des microbulles, ce qui entraîne une meilleure localisation lorsque des microbulles se superposent [45].

Ces approches améliorent la précision de localisation et peuvent générer des cartes de densité, mais elles ne permettent pas de suivre les trajectoires des microbulles.

- La super-résolution utilisant des nano-gouttelettes activées acoustiquement a démontré des temps d'acquisition extrêmement courts dans des études in vivo [46]. Cependant, la sélectivité de l'activation de ces dernières n'est pas encore clairement théorisée et maîtrisée.

Les solutions fondées sur le deep learning sont également utilisés en ULM, montrant des résultats prometteurs pour améliorer la précision de localisation, en particulier pour des concentrations élevées de microbulles. Ils permettent aussi d'accélérer le traitement pour générer une image à partir des données.

- Certaines études ont utilisé des réseaux de neurones pour extraire les positions des microbulles dans le domaine spatial. Notre laboratoire a proposé quant à lui une archi-

texture basée sur des convolutions prenant comme entrée quelques images consécutives d’une acquisition pour améliorer la précision de la localisation [34]. Ces solutions utilisant le deep learning génèrent directement des cartes super-résolues. Pourtant, comme pour les autres approches mentionnées, elles n’ont pas été développées pour produire des cartes de vitesse.

Ainsi, une véritable méthode de super-résolution capable de gérer les hautes concentrations et permettant d’obtenir des cartes de densité et de vitesse de l’arbre vasculaire cérébrale n’a pas encore été développée.

- Une étude récente [42] a développé un réseau de neurones avec comme objectif principal de retrouver les vitesses des microbulles en prenant en entrée des images consécutives. Cette étude produit des résultats très encourageants, en retrouvant le signal de pulsativité dans des expériences sur des membranes Chorioallantoic de poulet (qui sont des membranes très vascularisées). Seulement, ce réseau présente plusieurs limites. En effet, il a été entraîné via des vitesses trouvées avec de l’ULM conventionnel qu’on sait peu fiables et sur des hypothèses fortes de flux laminaires. Ce qui d’après les auteurs a pu influencer le modèle dans ses résultats.
- Une autre étude produite par le même groupe a proposé une méthode de filtrage dans l’espace de Fourier [47]. Cet algorithme propose de scinder l’acquisition initiale en sous acquisitions. Dans chacune de ces sous acquisitions se trouvent les microbulles se déplaçant entre deux vitesses. Le modèle est assez simple : le volume formé par l’acquisition ($N_z \times N_x \times N_t$) est transformé dans l’espace de Fourier. Les microbulles se déplaçant à des vitesses comprises entre deux vitesses possèdent un contenu fréquentiel se situant dans une région de cet espace ne se superposant pas avec les microbulles d’autres vitesses. Ainsi pour cette gamme de vitesse, on conserve uniquement cette région et en transformant cette région dans l’espace initial (transformée de Fourier inverse), on obtient une acquisition dans laquelle il n’y a que les microbulles de cette gamme de vitesse. Par la suite, on peut traiter chacune de ces sous acquisitions avec le traitement usuel et rassembler l’ensemble pour former un résultat final.

L’avantage de cette méthode est de partir d’une acquisition à haute concentration où les algorithmes usuels seraient limités et de la scinder en sous-acquisitions moins concentrées où les algorithmes usuels performant bien.

Le problème d’une telle technique est que pour éviter la formation d’artefacts de Gibbs, on doit prendre des filtres avec des transitions douces. Par conséquent, les microbulles allant à une vitesse à la jonction de deux filtres peuvent se retrouver dans deux acquisitions. Cela a pour conséquence de multiplier la localisation de ces dernières dans l’image finale et de biaiser potentiellement l’estimateur de vitesse moyenne. De

plus, scinder en sous acquisition l'acquisition initiale signifie de globalement multiplier le temps de traitement par le nombre de sous-acquisitions formées.

2.5 Conclusion de la revue de littérature

La revue de littérature que nous venons de développer a permis de mettre en évidence :

1. L'ULM Dynamique (DULM) présente la résolution spatiale et temporelle pour théoriquement mesurer les évolutions de flux sanguins à l'intérieur des vaisseaux du cerveau au cours des cycles cardiaques.
2. Le temps d'acquisition pour former une image freine l'utilisation de l'ULM en clinique et par extension de DULM qui nécessite de former un film d'image ULM.
3. L'augmentation de la concentration de microbulles injectées pour diminuer le temps d'acquisition pour former une image se heurte à une défaillance des algorithmes actuellement développés à distinguer et à suivre des microbulles dans ce genre d'environnement.
4. Dans les méthodes standard, les microbulles sont localisées dans chaque image de façon indépendante. Puis, dans un second temps, appariées entre elles selon des considérations de distance et non de mouvement. Cette manière de procéder entraîne des erreurs de localisation, de suivi des microbulles qui entraîne la dégradation de la résolution spatiale et la dégradation de l'estimateur de vitesse.

CHAPITRE 3 PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS

3.1 Problématique

Question de recherche : Dans quelle mesure intervertir l'étape de localisation avec celle de suivi des microbulles permettrait d'obtenir de meilleures cartes statiques et dynamiques du réseau vasculaire cérébral, en particulier à hautes concentrations de microbulles ?

3.2 Objectifs

Développer un modèle permettant l'extraction des trajectoires des microbulles, utilisées comme agent de contraste en ULM sans requérir de les localiser en amont.

1. Développer une méthode spatiotemporelle (espace $2D \times$ temps) permettant la détection et la localisation de trajectoires dans l'espace-temps pour des images en 2D.
 - Hypothèse : L'espace et le temps sans les découpler apportent plus d'informations pour suivre de façon efficace le mouvement des microbulles.
 - Challenge : Réussir à filtrer sélectivement le signal des microbulles par rapport au bruit environnant, et réussir à segmenter ces trajectoires.
 - Approche : Deux algorithmes existants (Le filtre de Jerman et l'algorithme par amincissement des structures) ont été couplés, ajustés et détournés de leur utilisation première pour filtrer et segmenter les trajectoires des microbulles.
 - Impact : Cette approche est plus robuste à l'augmentation de la concentration, permet d'être sélectif sur les microbulles repérées et permet une plus haute confiance dans les trajectoires trouvées.
2. Optimiser les différents paramètres de la méthode en comparer qualitativement et quantitativement les performances de détection et d'appariement de la méthode développée par rapport à la méthode de référence, en simulation.
 - Hypothèses : La méthode de référence utilisée est la localisation utilisant l'algorithme de symétrie radiale et le suivi de microbulles utilisant l'algorithme Hongrois.
 - Challenge : Trouver des métriques afin de comparer objectivement les performances de la méthode proposée avec celles de la méthode de référence.
 - Approche : Pour rester objectif dans nos comparaisons, nous utiliserons le pipeline, les données et une partie des métriques misent à disposition par un autre groupe : PALA, ainsi que certaines métriques utilisées dans d'autres articles du domaine. Nous conduirons cette étude en faisant varier la concentration de microbulles ainsi

que le bruit présent dans les acquisitions.

- Impact : Obtention d'un algorithme supérieur à la méthode standard en simulation pour différentes concentrations de microbulles et de bruit.
3. Valider qualitativement et quantitativement le gain en résolution ainsi que la capacité d'extraire un signal de pulsatilité plus représentatif pour la méthode développée par rapport à la méthode de référence sur différents modèles animaux in vivo.
- Hypothèses : Les paramètres optimisés in silico pour l'ULM se transfèrent aux expériences in vivo en ULM, mais également pour l'ULM Dynamique.
 - Challenge : La vérité terrain n'est pas accessible, que ce soit pour l'anatomie ou pour les flux à l'intérieur des vaisseaux.
 - Approche : Nous utiliserons les données d'un autre groupe pour assurer une comparaison objective en ULM pour la résolution. Nous procéderons à des comparaisons, portant sur les vitesses obtenues dans différents vaisseaux aux cours de plusieurs cycles cardiaques, entre des acquisitions à différentes concentrations d'un cerveau de rat. Également à des comparaisons sur le flux passant dans des vaisseaux symétriques aux cours de plusieurs cycles cardiaques dans les deux hémisphères d'un cerveau de souris.
 - Impact : Les améliorations dues à la méthode proposée pourraient faciliter l'extraction de biomarqueurs liés à l'estimation de la vitesse du sang ainsi que la confiance dans ces derniers. En plus de permettre de travailler à plus haute concentration et de par conséquent réduire le temps d'acquisition.

CHAPITRE 4 MÉTHODOLOGIES

Dans cette section, nous prendrons le temps de détailler le modèle que nous avons développé en illustrant les différents résultats intermédiaires qui nous ont conduit à la méthode proposée dans l'article soumis (Chapitre 5).

4.1 Mettre en évidence les microbulles dans l'espace-temps

Comme nous l'avons décrit en conclusion de notre revue de littérature dans la section 2.5 les méthodes classiques en ULM reposent sur la détection et la localisation image après image. Ainsi seulement l'information spatiale est utilisée, ce que nous avons identifié comme une limite dans la section 2.2.5.

Ainsi, notre motivation première est d'utiliser la fréquence d'imagerie importante par rapport aux vitesses des microbulles. En effet, cela entraîne une continuité du signal des microbulles entre les images. Si nous représentons le volume formé par les données beamformées post-SVD (voir Fig 4.1), on peut apercevoir les tâches de diffraction autour des microbulles qui se déplacent dans le temps de façon continue. Seulement, il n'y a pas uniquement les microbulles, il y a aussi du bruit. Ainsi, nous avons développé un filtre qui nous permettent de garder uniquement ces trajectoires et de rejeter le reste. Pour la suite, on notera $I(\mathbf{x})$ la fonction représentant le volume formé par les données beamformées post-SVD, qui est une fonction de l'espace-temps où $\mathbf{x} = (z, x, t)$ avec z la profondeur, x l'axe latéral et t le temps :

4.1.1 Filtrer des structures tubulaires dans un volume

On remarque que les trajectoires des tâches de diffraction autour des microbulles forment des structures tubulaires dans l'espace 2D+temps.

Dans d'autres domaines d'imagerie, des filtres pour garder uniquement les vaisseaux sanguins dans un volume ou plutôt des filtres pour garder uniquement les structures tubulaires qui se trouvent être la géométrie des vaisseaux sanguins ont été développés [48] [49] [50].

Il est donc possible de filtrer les trajectoires des microbulles en adaptant ce type de filtre.

4.1.2 Principes mathématiques du filtre

Les filtres tubulaires se fondent sur l'étude des valeurs propres de la matrice Hessienne associée à chaque voxel du volume $I(\mathbf{x})$ convolué à un kernel Gaussien $G(\mathbf{x}, \sigma) = \left(\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma}\right)^3 \exp\left(-\frac{\mathbf{x}^T \mathbf{x}}{2\sigma^2}\right)$

[50] [49]. Le kernel Gaussien permet d'assurer la continuité lors de la dérivation et de fixer la largeur de l'objet recherché, ici le diamètre de la structure tubulaire, avec son écart-type σ . Dans notre étude, nous recherchons des structures tubulaires dont le diamètre est égal à de la taille de la tâche de diffraction autour d'une microbulle donc $\sigma = \lambda$. On note $\mathbf{H}$ la matrice hessienne.

$$\mathbf{H}(I)(\mathbf{x}) = \sigma^2 \begin{pmatrix} \frac{\partial^2}{\partial z^2} & \frac{\partial^2}{\partial z \partial x} & \frac{\partial^2}{\partial z \partial t} \\ \frac{\partial^2}{\partial x \partial z} & \frac{\partial^2}{\partial x^2} & \frac{\partial^2}{\partial x \partial t} \\ \frac{\partial^2}{\partial t \partial z} & \frac{\partial^2}{\partial t \partial x} & \frac{\partial^2}{\partial t^2} \end{pmatrix} (I(\mathbf{x}) * G(\mathbf{x}, \sigma)) \quad (4.1)$$

$$= \sigma^2 I(\mathbf{x}) * \begin{pmatrix} \frac{\partial^2}{\partial z^2} & \frac{\partial^2}{\partial z \partial x} & \frac{\partial^2}{\partial z \partial t} \\ \frac{\partial^2}{\partial x \partial z} & \frac{\partial^2}{\partial x^2} & \frac{\partial^2}{\partial x \partial t} \\ \frac{\partial^2}{\partial t \partial z} & \frac{\partial^2}{\partial t \partial x} & \frac{\partial^2}{\partial t^2} \end{pmatrix} G(\mathbf{x}, \lambda) \quad (4.2)$$

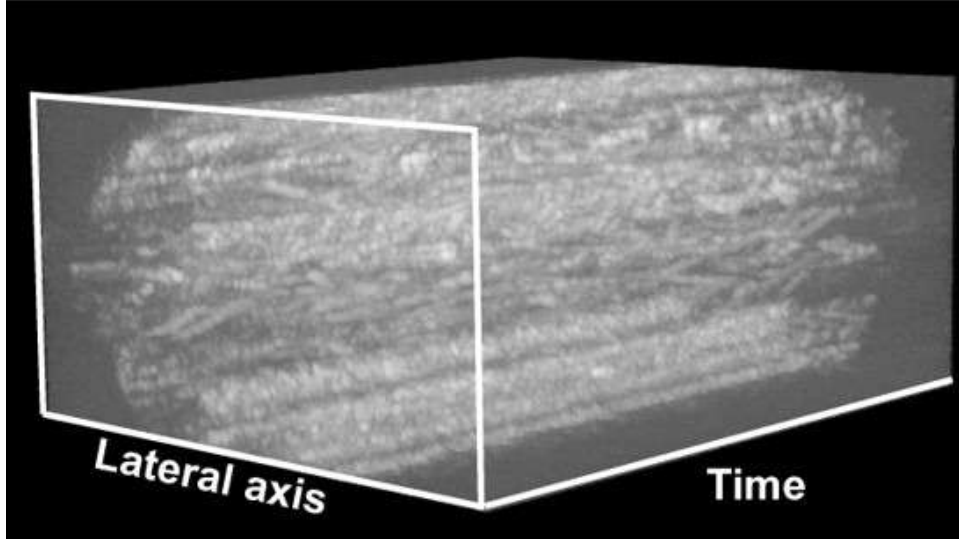


FIGURE 4.1 Volume formé par l'ensemble des images B-mode d'une acquisition ULM d'un cerveau de rat

Propriétés mathématiques de la matrice Hessienne

La matrice Hessienne est une matrice symétrique, donc diagonalisable dans une base orthonormée. On peut donc déterminer ses trois valeurs propres que nous rangeons dans l'ordre suivant ($\nu_1 \leq \nu_2 \leq \nu_3$) ainsi que les trois vecteurs propres associés ($V_{p_1}, V_{p_2}, V_{p_3}$), perpendiculaires entre eux pour le produit scalaire usuel.

Liens entre les valeurs propres et la géométrie locale

Dans cette base, le vecteur propre V_{p_1} associé à la valeur propre de plus faible amplitude donne la direction dans laquelle la continuité est la plus forte localement. Ainsi comparer les amplitudes des valeurs propres nous renseigne sur la géométrie locale. On peut ranger les structures géométriques locales possibles en trois grandes familles :

1. La forme d'assiette ($\nu_1 \approx \nu_2 \ll \nu_3$)
2. La forme de sphère ($\nu_1 \approx \nu_2 \approx \nu_3$)
3. La forme de tube ($\nu_1 \ll \nu_2 \approx \nu_3$)

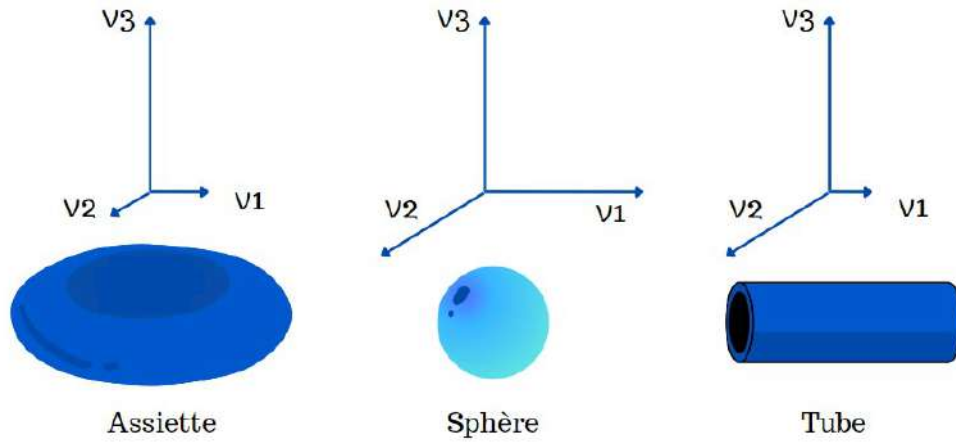


FIGURE 4.2 Les différentes configurations géométriques possibles en fonction des amplitudes des valeurs propres

La fonction de Jerman

Jerman et al. ont proposé la fonction suivante pour conserver uniquement les structures tubulaires du volume [49] :

$$J(\mathbf{x}) = \begin{cases} 0 & \nu_2 \leq 0 \text{ ou } \nu_\rho \leq 0 \\ 1 & \nu_2 \geq \nu_\rho/2 > 0 \\ \nu_2^2 (\nu_\rho - \nu_2) \left(\frac{3}{\nu_2 + \nu_\rho} \right)^3 & \text{sinon} \end{cases} \quad (4.3)$$

où ν_ρ est une version régularisée de ν_3 par rapport à l'ensemble des valeurs propres de chaque voxel afin d'adapter la sensibilité de la fonction aux vaisseaux plus ou moins contrastés dans le volume . En d'autres termes, il s'agit d'ajouter de l'information globale localement :

$$\nu_p = \begin{cases} \nu_3 & \nu_3 > \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) & 0 < \nu_3(z, x, t) \leq \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (4.4)$$

Avec $\tau \in [0, 1]$. Nous détaillerons dans la section 4.1.3, le rôle de τ .

Ainsi, en appliquant cette fonction sur le volume formé par les données beamformées, on obtient un volume dans lequel seules les structures se rapprochant d'une structure tubulaire sont présentes (voir Fig. 4.3)

La fonction de Jerman n'est pas la seule fonction utilisée dans la littérature pour filtrer les structures tubulaires. Dans une revue parue en 2020, un comparatif des différentes fonctions existantes a été proposé [50]. Aucune méthode n'est explicitement identifiée pour être supérieure aux autres dans tous les cas qu'ils ont étudiés. Toutefois, la fonction de Jerman apparaît comme la plus simple à paramétrer avec un unique paramètre τ à déterminer en fonction du volume étudié.

MB PSF trajectories (J)

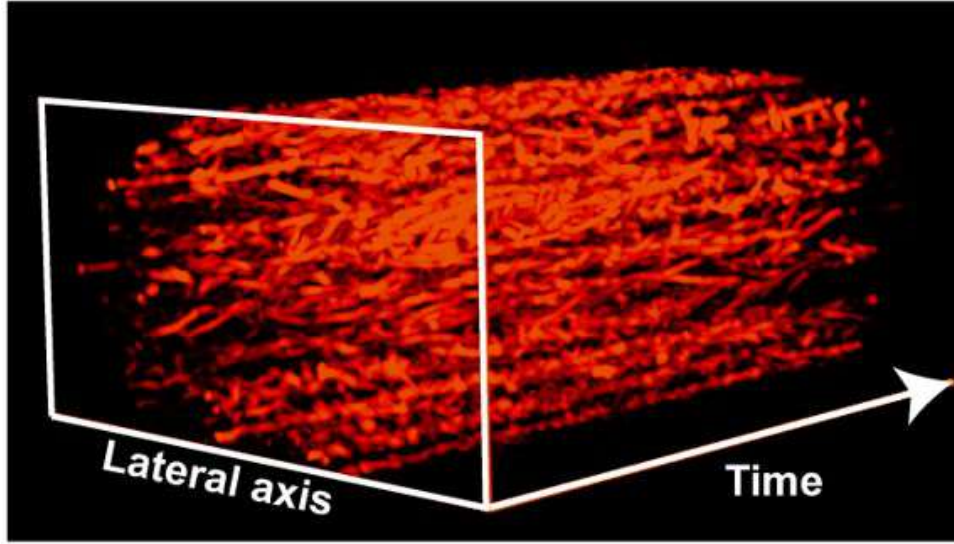


FIGURE 4.3 **Application de la fonction de Jerman sur le volume formé des données beamformer.** Les données initiales proviennent d'une acquisition d'un cerveau de rat.

4.1.3 Sélectivité du filtre sur les trajectoires de microbulles : le paramètre τ

La signification physique du paramètre τ est que plus τ est proche de 1 plus le filtre est sélectif, c'est-à-dire que seules les microbulles dans des trajectoires les plus contrastées seront mis en évidence. Alors que si τ est proche de 0 alors le filtre est très peu sélectif. La figure 4.4 illustre cette différence de sélectivité pour deux τ extrêmes (0.05 et 0.8). Empiriquement dans toutes les données que nous avons traitées $\tau \in [0.3, 0.6]$ pour des résultats assez proches.

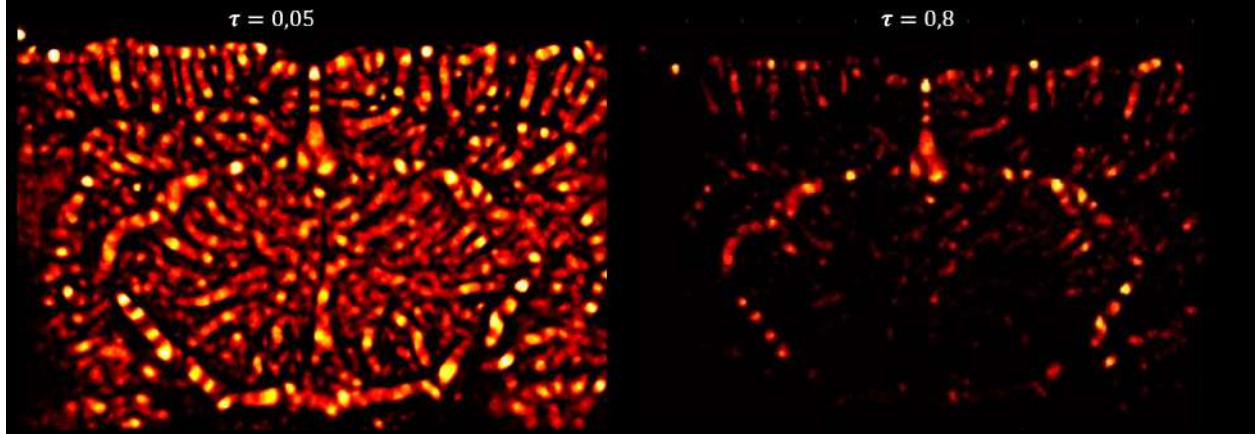


FIGURE 4.4 Moyenne selon la dimension temporelle du volume formé après application de la fonction de Jerman pour différentes valeurs de τ

4.1.4 Modification de la matrice Hessien : le paramètre ϵ

La proximité de microbulles dans l'espace peut créer après application de la fonction de Jerman des structures tubulaires orientées orthogonalement à l'espace temporelle, alors que le but de l'application de la fonction de Jerman est de sélectionner uniquement les trajectoires des microbulles orientées dans des directions hors du plan spatial.

Pour filtrer ces potentielles fausses trajectoires, nous avons introduit le paramètre : $\epsilon > 1$ dans la matrice Hessienne (voir eq.A.1). Ce paramètre permet d'augmenter la valeur des dérivées spatiales afin que l'amplitude des dérivées temporelles soit artificiellement abaissée. En d'autres termes, après diagonalisation, les vecteurs propres Vp_1 donnant la direction de la structure tubulaire mis en avant par la fonction de Jerman seront moins orientés orthogonalement à la dimension temporelle et plus on vient augmenter, ϵ plus, on va venir filtrer les hautes vitesses correspondant à des Vp_1 possédant un produit scalaire avec le vecteur unitaire temporel proche de 0.

$$\mathbf{H}(I)(\mathbf{x}) = \lambda^2 I(\mathbf{x}) * \begin{pmatrix} \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial z^2} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial z \partial x} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial z \partial t} \\ \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial x \partial z} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial x^2} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial x \partial t} \\ \epsilon \frac{\partial^2}{\partial t \partial z} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial t \partial x} & \frac{\partial^2}{\partial t^2} \end{pmatrix} G(\mathbf{x}, \lambda) \quad (4.5)$$

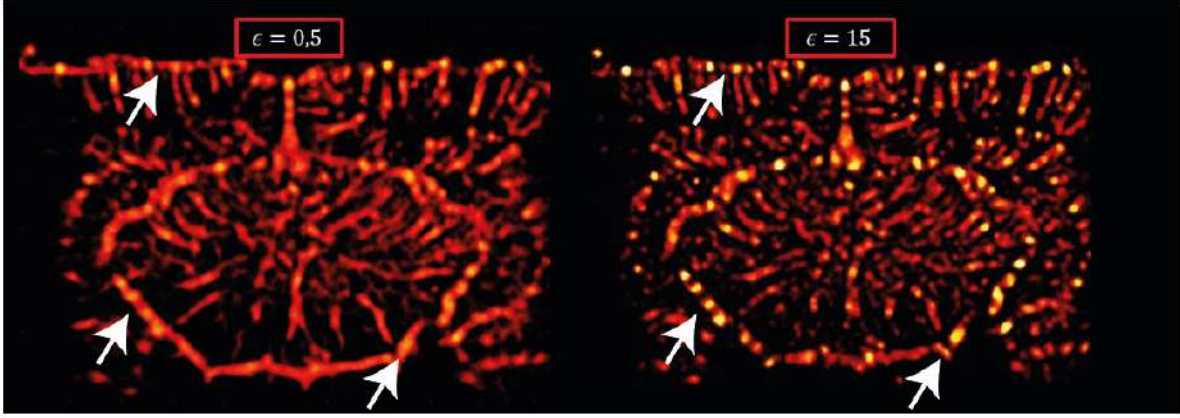


FIGURE 4.5 Moyenne selon la dimension temporelle du volume formé après application de la fonction de Jerman pour différentes valeurs de ϵ . Les flèches montrent les zones dans lesquelles les variations de ϵ se font le plus ressentir

4.2 Segmentation des trajectoires

Une fois le volume présenté dans la Fig.4.2 obtenu. On doit maintenant segmenter chacune de ces trajectoires. Cette problématique s'est déjà présentée dans de nombreux domaines associés au traitement d'images. En effet, dans une image où sont présents des chromosomes [51], ou encore pour différencier des lettres [52], en d'autres termes des objets présentant une géométrie tubulaire. On peut chercher à segmenter chacun de ces objets pour quantifier leurs tailles ou leurs diamètres respectifs ou encore pour les classer en fonction de leurs tortuosités.

Notamment, un ensemble de techniques qui cherche à déterminer la ligne traversant le centre de chacune de ces structures ont été développés [53]. On parle d'algorithmes de segmentation du squelette d'une structure.

Pour notre utilisation, ce type d'algorithme est parfait. En effet, à l'étape précédente, nous avons filtré les trajectoires des tâches de diffraction entourant les microbulles, mais ce qui nous intéresse réellement, c'est la ligne traversant le centre de ces trajectoires (la position réelle de la microbulle).

4.2.1 L'algorithme d'amincissement

Pour notre étude, nous avons utilisé un algorithme récemment proposé [53] qui présente les caractéristiques d'être facile à utiliser (l'utilisateur n'a pas besoin de définir de paramètres) et d'être un algorithme conçu pour donner des résultats en temps réel, présentant ainsi un temps de calcul optimisé. Cet algorithme prend en entrée un volume binaire. C'est-à-dire que les voxels ont une valeur de 1 si une structure traverse ce voxel sinon 0. Pour chaque voxel des conditions que nous ne détaillerons pas ici sont appliquées pour enlever progressivement les voxels se situant sur le pourtour des structures pour finalement s'arrêter lorsqu'il ne reste plus que les lignes de voxels centrales de chaque structure tubulaire. Ces lignes sont ensuite compartimentées.

En appliquant cette fonction après binérisation du volume trouvé par la fonction Jerman, on obtient N_{traj} dont les positions dans l'espace temps sont pixeliques (même taille de pixel que pour les données IQ) : $\{\mathbf{r}_1^i, \dots, \mathbf{r}_{L_t}^i\}_{i \in [1, N_{traj}]}$ et où $\mathbf{r} = (z, x, t)$ est la position dans l'espace-temps.

4.2.2 Filtrer les trajectoires

Comme nous l'avons introduit dans la section 2.2.6 pour augmenter la confiance dans les trajectoires trouvées, nous allons nous limiter à des trajectoires où les microbulles ont pu être suivies au moins durant un certain nombre d'images : N_f .

4.3 Pourrait-on passer outre une étape de super-résolution ?

Avec l'étape précédente, on a donc les trajectoires des microbulles, mais dont les positions sont attachées à une grille dans laquelle les pixels sont de la taille des IQ. Une de nos premières idées fut d'appliquer seulement un filtre passe-bas sur chaque trajectoire afin de lisser les trajectoires dans le temps et obtenir des positions sous-pixeliques. Les images produites dès lors semblaient d'une très bonne qualité qualitative (voir Fig.4.6).

Cependant, en regardant de plus près à la distribution de vitesse (voir Fig. 4.7), on s'aperçoit qu'un artefact de grille est présent, biaisant l'estimation des vitesses et des positions.

De plus, sans algorithme de super-résolution, on perd tout argument physique démontrant qu'on obtient des positions à une résolution sous-pixeliques, dépassant la résolution limite causée par la diffraction.

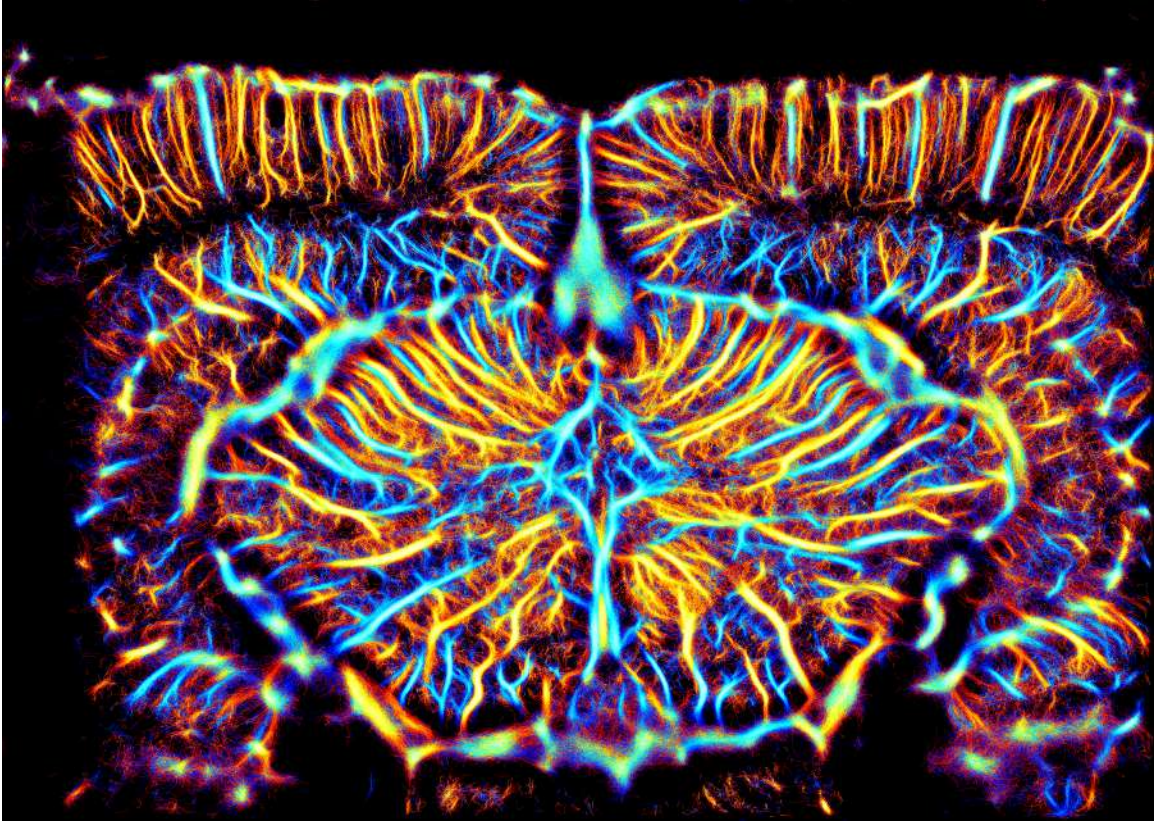


FIGURE 4.6 Carte de densité signée, d'un cerveau de rat, obtenue avec la méthode proposée en filtrant les trajectoires avec un filtre passe-bas. Les vaisseaux en bleu sont associés à du sang se dirigeant vers le haut et le rouge à du sang se dirigeant vers le bas.

4.3.1 Application d'un algorithme de super-résolution

Pour passer outre ce problème, nous avons choisi d'appliquer un algorithme de super-résolution classique à chaque position de chaque trajectoire. Nous avons conduit une comparaison dans notre article (Chapitre 5) avec une méthode de référence [25] qui utilise l'algorithme de symétrie radiale présenté dans la section 2.2.4 pour localiser les microbulles.

4.4 Ajuster et interpoler la trajectoire

L'estimation des vitesses provient de la dérivation par rapport au temps des positions successives des microbulles dans leurs trajectoires. Comme énoncé dans la section 2.2.7, nous allons utiliser un lissage en spline cubique qui permet de trouver une fonction $S \in \mathcal{C}^2$ qui

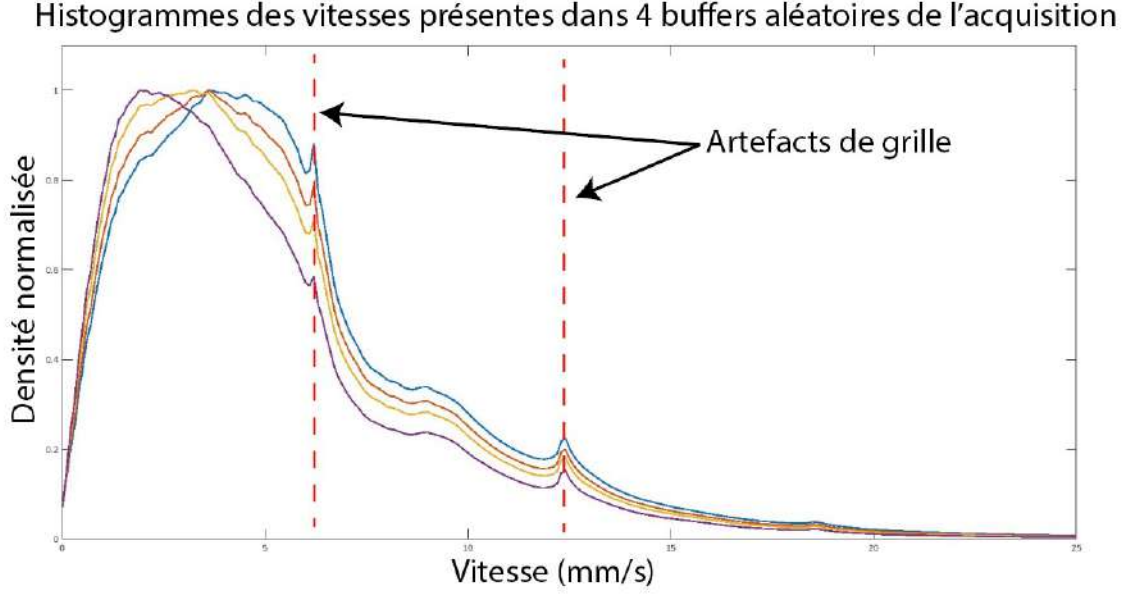


FIGURE 4.7 **Histogramme illustrant l'artefact de grille présent lorsque aucune localisation n'est effectuée.** Nous avons les lignes de crête de 4 histogrammes de vitesses pour 4 buffers aléatoires

représente chaque trajectoire :

$$S = \min_S J(S) \quad (4.6)$$

$$= \min_S p J_{data}(S) + (1 - p) J_{lisseur}(S) \quad (4.7)$$

$$= \min_S p \sum_j^l \|r_j - S(t_j)\|^2 + (1 - p) \int \left\| \frac{d^2 S}{dt^2}(t) \right\|^2 dt \quad (4.8)$$

Le paramètre $p \in [0, 1]$ détermine le poids relatif que l'on place entre deux demandes contradictoires d'avoir S proche des données initiales ($p=1$) ou d'avoir les données très lissées ($p=0$).

4.4.1 Sens physique de p

On peut trouver un sens physique au paramètre p . En effet, via le théorème de Plancherel, la transformée de Fourier définit un automorphisme sur l'espace $\mathcal{L}^2$. De plus, c'est une isométrie de cet espace de Hilbert, donc $\|f\|^2 = \|\hat{f}\|^2$ où $\hat{f}$ est la transformée de Fourier de f . Le produit scalaire associé à l'espace $\mathcal{L}^2$ est : $(f, g)_{\mathcal{L}^2} = \int f(t)g^*(t)dt$

Ainsi, on a :

$$J(S) = pJ_{data}(S) + (1 - p) \int \|f\|^4 \|\hat{S}\|^4 df \quad (4.9)$$

Qui est équivalent à minimiser la fonction :

$$J(S) = J_{data}(S) + \frac{1-p}{p} \int \|f\|^4 \|\hat{S}\|^4 df \quad (4.10)$$

$$J(S) = J_{data}(S) + \int \left\| \frac{f}{\frac{1-p}{p}} \right\|^4 \|\hat{S}\|^4 df \quad (4.11)$$

Ainsi, on peut définir une fréquence de coupure : $f_c = \frac{1-p}{p}$. En effet si $f \gg f_c$ alors le terme de lissage sera très important et inversement si $f \ll f_c$. On obtient donc un filtre passe bas où $p = \frac{f_c^4}{1+f_c^4}$.

Dans le cadre de notre étude, la fréquence de variation du flux sanguin est celle du cœur. Pour des petits animaux, la fréquence cardiaque est de quelques hertz. On définit donc dans nos expériences $f_c = 45Hz$ pour ne pas filtrer le signal de pulsatilité.

4.4.2 Interpolation

Une fois qu'on obtient la fonction S de chaque trajectoire, on peut interpoler ces trajectoires et dériver cette fonction pour obtenir la vitesse de chaque microbulle au cours du temps.

4.5 Preuve de concept sur des simulations simples

Dans la section 2.2.5, nous faisions état des difficultés d'appariements que pouvaient rencontrer l'algorithme Hongrois sur des simulations basiques. Nous pouvons maintenant voir si notre méthode performe mieux que la méthode de référence avant de développer des simulations plus complexes.

Dans la figure 4.8, nous pouvons voir les résultats obtenus par la méthode que nous proposons comparé à la méthode de référence. La méthode proposée, à l'intersection des deux microbulles simulées, scinde les trajectoires, mais ne commet pas de faux appariements, comparée à la méthode de référence qui commet une erreur d'appariement avec la trajectoire en bleu, causant une discontinuité importante dans l'estimation de la vitesse.

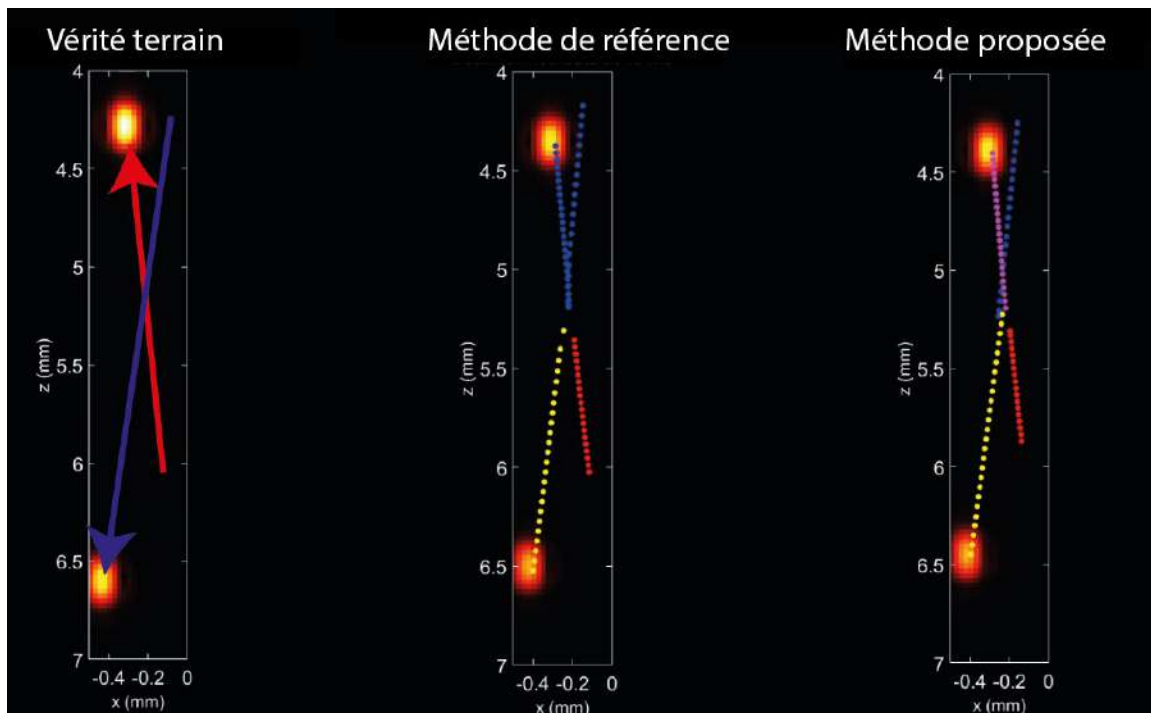


FIGURE 4.8 Résultats d'appariement de la méthode de référence et de la méthode proposée. À gauche, les trajectoires simulées. Au milieu les trajectoires trouvées par l'algorithme Hongrois (référence) et à gauche celles trouvées par la méthode proposée. Les différentes couleurs illustrent les différentes trajectoires trouvées par les différents algorithmes

4.6 Robustesse de la méthode

Par ailleurs, lors du développement de la méthode, nous avons pu traiter un grand nombre d'acquisitions différentes, argumentant en faveur de la robustesse de la méthode que l'on propose. (Voir Fig. 4.9)

L'ensemble des résultats concernant cette méthode sont présentés dans le chapitre 5.

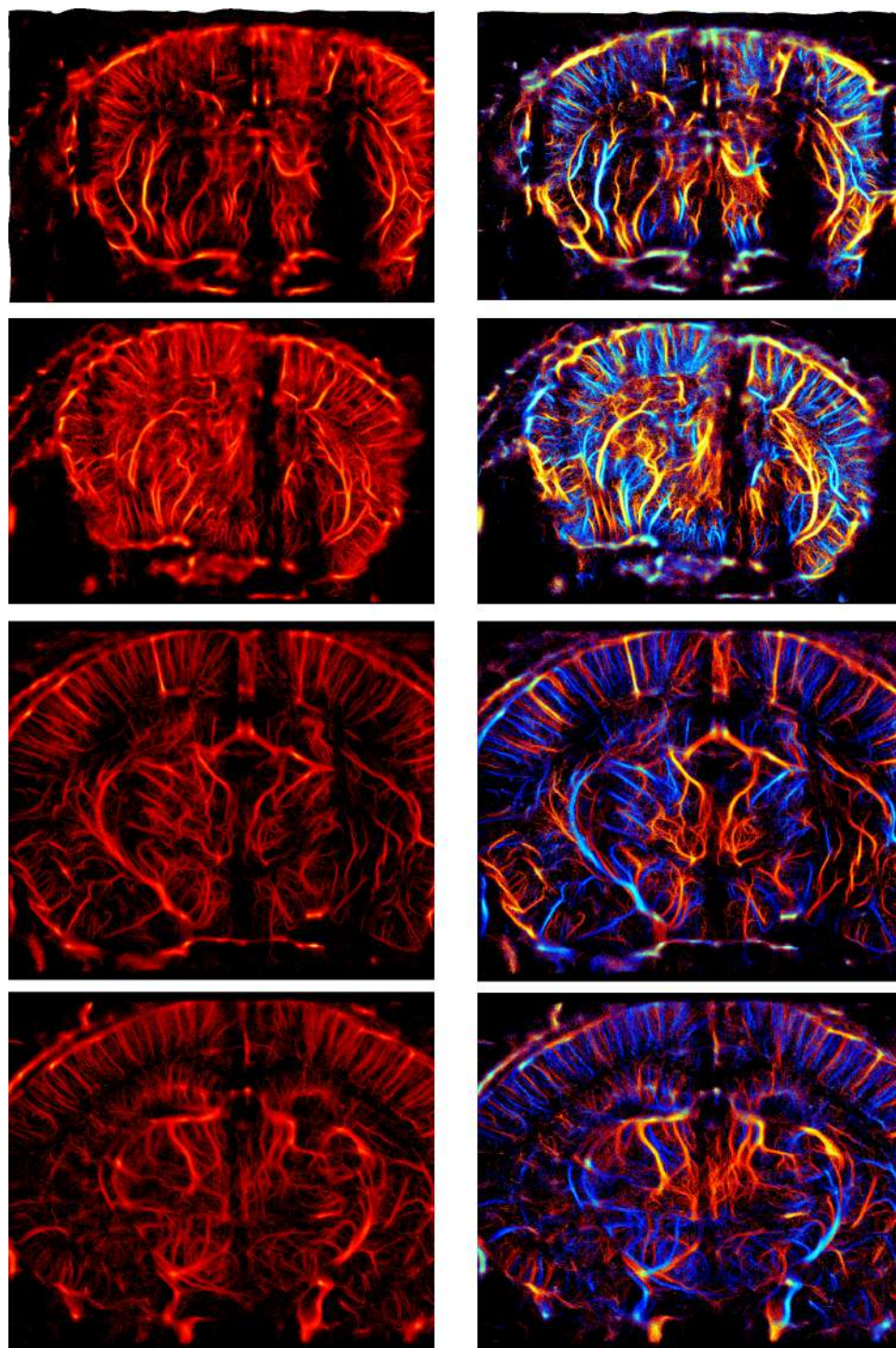


FIGURE 4.9 Cartes de densité et cartes de densité signées de cerveaux de souris obtenues lors d'acquisitions transcrâniennes

CHAPITRE 5 ARTICLE 1 : A TRACKING PRIOR TO LOCALIZATION WORKFLOW FOR ULTRASOUND LOCALIZATION MICROSCOPY

Alexis Leconte¹, Jonathan Porée¹, Brice Rauby¹, Alice Wu¹, Nin Ghigo¹, Paul Xing¹, Chloé Bourquin¹, Gerardo Ramos-Palacios², Abbas F. Sadikot² and Jean Provost^{1,3}

¹ Engineering Physics Department, Polytechnique Montréal, Montréal, Canada

² Montreal Neurological Institute, McGill University, Montréal, Canada

³ Montreal Heart Institute, Montréal, Canada

This work was supported in part by the Institute for Data Valorization (IVADO), in part by the Canada Foundation for Innovation under Grant 38095, in part by the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) under Grant 452530, in part by the New Frontiers in Research Fund under Grant NFRFE-2018-01312 and in part by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) under Grant RGPIN-2019-04982. The work of J. Porée was supported in part by the TransMedTech Institute (TMT). The work of B. Rauby was supported in part by TMT, in part by IVADO and in part by the Fonds de recherche du Québec — Nature et technologies (FRQNT). The work of A. Wu was supported in part by TMT, in part by FRQNT and in part by the Quebec Bio-Imaging Network (RBIQ-QBIN). The work of P.Xing was supported in part by TMT and in part by NSERC. The work of C. Bourquin was supported in part by TMT, in part by IVADO, in part by FRQNT, in part by RBIQ-QBIN and in part by the Canada First Research Excellence Fund (Apogée/CFREF). The work of G.Ramos was supported in part by CONAHCYT and in part by Insightec. This research was enabled in part by support provided by Calcul Québec (calculquebec.ca) and the Digital Research Alliance of Canada (alliancecan.ca). (Corresponding author : Jean Provost).

Soumis : IEEE Transactions on Medical Imaging, 04/08/2023

Abstract— Ultrasound Localization Microscopy (ULM) has proven effective in resolving microvascular structures and local mean velocities at sub-diffraction-limited scales, offering high-resolution imaging capabilities. Dynamic ULM (DULM) enables the creation of angiography or velocity movies throughout cardiac cycles. Currently, these techniques rely on a Localization-and-Tracking (LAT) workflow consisting in detecting microbubbles (MB) in the frames before pairing them to generate tracks. While conventional LAT methods perform well at low concentrations, they suffer from longer acquisition times and degraded localization and tracking accuracy at higher concentrations, leading to biased angiogram reconstruction and velocity estimation. In this study, we propose a novel approach to address these challenges

by reversing the current workflow. The proposed method, Tracking-and-Localization (TAL), relies on first tracking the MB and then performing localization. Through comprehensive benchmarking using both *in silico* and *in vivo* experiments and employing various metrics to quantify ULM angiography and velocity maps, we demonstrate that the TAL method consistently outperforms the reference LAT workflow. Moreover, when applied to DULM, TAL successfully extracts velocity variations along the cardiac cycle with improved repeatability. The findings of this work highlight the effectiveness of the TAL approach in overcoming the limitations of conventional LAT methods, providing enhanced ULM angiography and velocity imaging.

Index Terms— Contrast Ultrasound, Ultrasound Localization Microscopy (ULM), super-resolution tracking.

5.1 Introduction

Ultrasound Localization Microscopy (ULM) enables the high-resolution imaging of blood vessels by localizing and tracking a large number of individual microbubbles (MB) injected as a contrast agent [1]–[3]. ULM can provide maps of the angioarchitecture along with mean flow velocities in a wide range of vessel diameters, overcoming the ultrasound diffraction limit [4]–[9]. Recently, Dynamic Ultrasound Localization Microscopy (DULM) [10] has been introduced to enable the generation of super-resolved cine-loops of the vasculature. DULM can be used, e.g., to generate videos of the pulsatile blood flow in the brain [10], to map the micro angioarchitecture of the beating heart [11] and to perform functional imaging in the rodent brain [12]. Since DULM requires the localization of single MB both in space and time, it needs longer acquisitions, which could become prohibitive for clinical translation [13]–[16]. While increasing the concentration can be used to shorten acquisition times, high concentrations of MB in ULM lead to compromised localization precision and accuracy in both angioarchitecture maps and blood flow measurements [8], [14], [15], [17].

Standard methods in ULM and DULM [2], [5], [10], [12], [14], [18]–[21] are typically based on a localize-and-track (LAT) workflow : detect and localize MB in a frame-per-frame fashion and then use pairing algorithms to track them in the temporal dimension. While this approach works well at low concentrations, it rapidly breaks down when the number of MB per frame increases [22]–[24].

Moreover, ULM studies often assume that precise MB localization and high frame rate compared to the velocities of the MB enables accurate velocity estimations [2], [7], [9]. However, there is a lack of studies confirming the velocities obtained *in vivo*. Even *in silico*, the ins-

stantaneous velocities found by the tracker have not been validated. While many studies have reported issues such as the absence of a ground truth [5] or the impact of missing positions between frames, false detections and incorrect pairing can significantly bias the velocity estimation [6], [9], [13].

Kalman filtering tracking [17], [18] can also be used to inject physically consistent criteria (e.g. velocity continuity) to improve the selection and accuracy of trajectories. However, Kalman filtering is added after a standard LAT workflow.

Different approaches have been introduced either to handle the overlapping MB signals but remained limited to the imaging of the angioarchitecture [25]– [34] or to separate MB into sub-populations of different velocity range [35] to reduce overlapping MB events. However, the MB separation increased the processing time and was associated with a ‘MB doubling’ effect that could bias the number of localized MB as well as the velocity [35].

Recently, a deep learning method (Deep-SMV) has been proposed for velocity recovery, with convincing results in this direction [6]. Nevertheless, the authors pointed out that the model has been trained on the velocity flows found by standard ULM approaches and that the model depends on laminar flow assumptions which might implicitly influence the model.

We propose instead to detect and segment the MB trajectories as 1-D objects in a 3D spatiotemporal volume before localizing them in a Track-and-Localize (TAL) workflow. The underlying principle is to leverage the continuity between frames, enabled by the high frame rate relative to the velocity of MB, to directly segment MB trajectories without the need for spatial and temporal separation through localization and tracking.

Herein, we demonstrate that TAL matches at low concentration and overperforms at high concentration the standard LAT approaches. Specifically, we build the theoretical framework enabling the segmentation of trajectories in three-dimensional space-time and validate its performance *in silico* and *in vivo* by benchmarking it using publicly available codes and datasets [36]. We then show that, in the context of DULM, TAL outperforms standard LAT approaches, especially at high concentration in a rat and transcranial mouse brain model. Overall, the proposed TAL method leads to systematically improved performance in terms of angioarchitecture and velocity maps and provides better and more robust cine-loops in the context of dynamic imaging.

5.2 Methods

In the following we first describe our proposed TAL workflow based on a modified Hessian matrix and a thinning algorithm to segment trajectories in space-time. Then we describe the

standard ULM pipeline based on the LAT workflow, which is used as a gold-standard in this study. We also describe the DULM acquisition and processing pipeline. We end this section by introducing a series of metrics to quantify the performances of the proposed methodology.

5.2.1 Spatiotemporal Tracking of MB Trajectories

After In-phase and Quadrature complex (IQ) image formation (i.e., beamforming) [37], [38], tissue was removed using a Singular Value Decomposition (SVD) clutter filter to recover signals from MB [39], [40]. The proposed tracking method then takes for input the envelope of the post-SVD IQ data, i.e., $I(\mathbf{x})$. Inspired by [41], where the objective is to enhance tubular structures in a spatial volume, we developed a spatiotemporal filter to enhance the trajectories of the Point Spread Function (PSF) of the MB, which possess a tubular geometry in space-time. A modified Hessian matrix is calculated for each voxel of the spatiotemporal volume $I(\mathbf{x})$:

$$\mathbf{H}(I)(\mathbf{x}) = \lambda^2 I(\mathbf{x}) * \begin{pmatrix} \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial z^2} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial z \partial x} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial z \partial t} \\ \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial x \partial z} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial x^2} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial x \partial t} \\ \epsilon \frac{\partial^2}{\partial t \partial z} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial t \partial x} & \frac{\partial^2}{\partial t^2} \end{pmatrix} G(\mathbf{x}, \lambda) \quad (5.1)$$

Where $x = [z, x, t]^T$ are the spatiotemporal coordinates of the voxels in the volume, and $G(x, \lambda) = \left(\frac{1}{\sqrt{(2\pi\lambda^2)}} \right)^3 \exp(-(x^T x)/(2\lambda^2))$ is a Gaussian kernel, where the standard deviation is defined as the width of the tubular objects, which corresponds, in our case, to the size of the PSF. While this standard deviation can be adjusted for each pixel of the image, we found that setting it to the wavelength λ in the context of plane wave imaging yielded good results. $\epsilon > 1$ is a scalar parameter that we introduced to reject potential structures that are orthogonal to the temporal dimension, which could be enhanced because of the proximity between MB in the same frame. While ϵ can, in principle, limit the measured velocities if chosen to be too large, detected tracks were not sensitive to its value. Setting ϵ to any value between 1.2 and $2 \lambda/\text{frames}$ was sufficient to regularize the tracking operation. After diagonalization of each Hessian matrix, the Jerman function [41], developed to enhance the tubular geometry structures, is applied on the three eigenvalues ($\nu_1 \leq \nu_2 \leq \nu_3$) :

$$J(\mathbf{x}) = \begin{cases} 0 & \nu_2 \leq 0 \text{ ou } \nu_\rho \leq 0 \\ 1 & \nu_2 \geq \nu_\rho/2 > 0 \\ \nu_2^2 (\nu_\rho - \nu_2) \left(\frac{3}{\nu_2 + \nu_\rho} \right)^3 & \text{sinon} \end{cases} \quad (5.2)$$

where ν_ρ is a regularized parametric version of ν_3 , via the $\tau \in [0, 1]$ parameter, to adapt the

sensitivity of the function to the non-homogeneous MB PSF trajectory's intensity :

$$\nu_\rho = \begin{cases} \nu_3 & \nu_3 > \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z,x,t) \\ \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z,x,t) & 0 < \nu_3(z,x,t) \leq \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z,x,t) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (5.3)$$

After binarization, a thinning algorithm is used to segment the MB PSF trajectories centerline at a pixel resolution [42]. Thus, we obtain N_{traj} tracks with a pixel precision $\{r_1^i, \dots, r_{l^i}^i\}_{i \in [1, N_{traj}]}$, where $r = (z, x, t)$ is the position in the space-time of a MB and l^i is the length of the i^{th} track. We kept only the $\hat{N}_{traj}$ tracks longer than N_f frames to increase the confidence that the trajectories obtained. τ, ϵ and N_f are the only dataset dependent parameters. Then, from each position in each track, a localization algorithm is applied to obtain the subwavelength positions of the MB $\{\hat{r}_1^i, \dots, \hat{r}_{l^i}^i\}_{i \in [1, \hat{N}_{traj}]}$ (see Fig.1).

Many approaches can be used to localize the MB ; here, we used the radial symmetry algorithm [36]. Finally, a function S is determined for each track by applying a cubic smoothing spline as follows :

$$S = \arg \min_S p \sum_j^l \|r_j - S(t_j)\|^2 + (1-p) \int \left\| \frac{d^2 S}{dt^2}(t) \right\|^2 dt \quad (5.4)$$

From the Plancherel theorem, we can extract a link between the p parameter and a cut-off frequency f_c : $p = \frac{f_c^4}{1+f_c^4}$ as in [43] which will enforce the spatiotemporal smoothness of the trajectory. The representative function S_p of each trajectory can be interpolated and differentiated to obtain dense trajectories and their respective velocities. The choice of the different parameters for the TAL workflow are presented in Table I.

5.2.2 Standard LAT ULM and DULM

Standard LAT ULM was implemented using the publicly available PALA toolbox [36]. Briefly, after IQ image formation, individual MB were detected as local maxima in the B-mode images and localized using radial symmetry. The Hungarian method (Kuhn-Munkres algorithm) was used for tracking [44]. Different parameters need to be set to perform the tracking : the number of MB per frame that we consider (Nb), the Maximum Linking Distance to pair MB (MLD), the Maximum Frame Gap allowed for pairing (MFG) and the minimum length of a track (N_f) (see Table I). Then tracks were accumulated on a finer grid corresponding to approximately

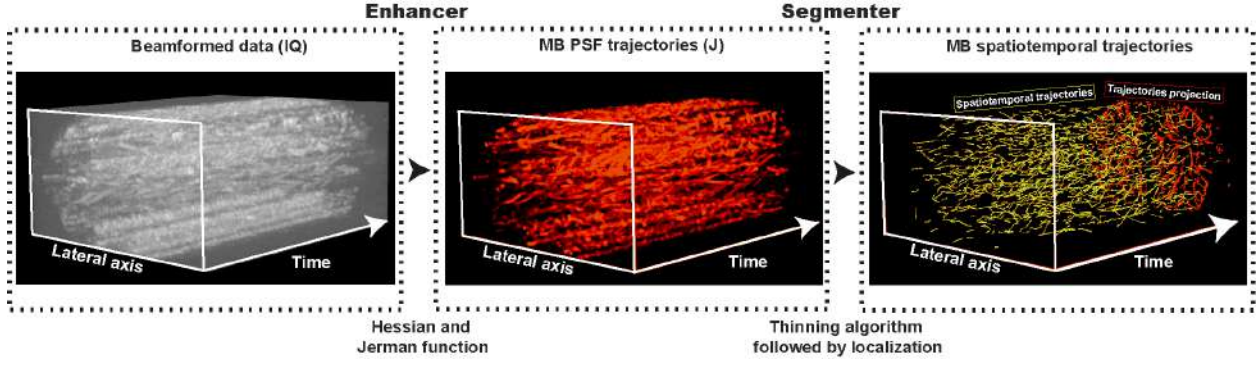


FIGURE 5.1 **Localization and Tracking workflow (TAL)**. TAL takes a spatiotemporal (space $\times$ time) input of beamformed data, where the Jerman function is calculated (J) to extract the spatiotemporal MB PSF trajectories, before applying a thinning algorithm supported by localization algorithm to segment and super-resolve the trajectories of the moving MB

one tenth of the wavelength. LAT DULM was implemented following the methods of [10]. Briefly, retrospective gating on the ECG allows for the localization of MB in space and time within the cardiac cycle. LAT and TAL tracking were performed in the same manner as for static ULM, with adapted parameters as described in Table II.

5.2.3 In silico localization metrics

Metrics introduced in [36] and available in the PALA toolbox were used to quantify the quality of localization and detection knowing the ground truth : 1) Localization error defined as the Root Mean Square Error (RMSE) between the i^{th} simulated (z_i^0, x_i^0) and detected (z_i, x_i) MB positions. 2) Jaccard index : $JAC = \frac{TP}{FN+TP+FP}$, that measures the detection rate. 3) Detection precision : $Pr = \frac{TP}{FP+TP}$. 4) Detection sensitivity : $r = \frac{TP}{FN+TP}$. Where TP is the number of MB found in the $\frac{\lambda}{4}$ neighborhood of a simulated MB. FP is the number of localized MB, but where no simulated MB can be found in a $\frac{\lambda}{4}$ neighborhood. FN is the number of simulated MB where there is no localized MB to be paired within a $\frac{\lambda}{4}$ -neighborhood.

5.2.4 In silico tracking metrics

To evaluate the performance of the tracking algorithm, we employed both local and global quality metrics. Local measurements involve assessing the accuracy of velocity estimates at specific points of interest, while global measurements involve evaluating the correlation coefficients calculated to quantify the relationship between the estimated velocities and the ground truth values.

$$\hat{C}(V_{GT}, V_{map}) = \frac{1}{N+1} \sum_{i=1}^N \left(\frac{V_{GT}^i - \nu_{GT}}{\sigma_{GT}} \right) \left(\frac{V_{map}^i - \nu_{map}}{\sigma_{map}} \right) \quad (5.5)$$

where V_{GT} represents the velocity map obtained from the trajectories of the simulated positions and V_{map} represents the velocity map obtained from trajectories found either by the LAT or TAL workflow. N is the number of pixels.

5.2.5 In vivo metrics

Resolution was evaluated using the Fourier Ring Correlation (FRC) introduced for ULM in [45]. Briefly, an estimate of the image resolution is obtained by splitting the localization dataset into two sub-images and establishing a threshold for the consistency of the frequency information. To generate the two sub-images, all the trajectories obtained with the tracker were randomly separated into two datasets. The FRC was computed by using the spatial spectra F_1 and F_2 of each sub-image, as follows :

$$FRC(R) = \frac{\sum_r F_1(r) \cdot F_2(r)^*}{\sqrt{\sum_r |F_1(r)|^2 \cdot \sum_r |F_2(r)|^2}} \quad (5.6)$$

The 1/2-bit threshold was used to assert image resolution, which corresponds to the highest spatial frequency containing at least 1/2 bit of information [46].

Locally, the Full Width at Half Maximum (FWHM) was used to measure the diameter of the vessels found.

5.2.6 In silico validation dataset

The in silico PALA dataset is composed of 20 buffers with 1000 simulated ultrasound frames, each containing moving MB at various velocities in crossing vessels of varying sizes and shapes [36]. To achieve higher MB concentration, consecutive buffers were summed. By doing so, the number of buffers was reduced while preserving the same total number of MB simulated. The concentration (C) is presented in arbitrary units based on the number of buffers summed. $C=5$ a.u. means that 5 consecutive buffers have been summed to form a buffer five times more concentrated than the original ones. Note that since the total number of MB is maintained, higher concentrations are associated with shorter acquisition times.

5.2.7 In vivo validation dataset

The in vivo PALA dataset is composed of 240 buffers, containing 800 frames of rat brain measurements each. A craniotomy had been performed and MB were injected at $80\mu L.min^{-1}$ during 4 min [36]. As in the in silico study, the concentration was artificially increased while maintaining a constant total number of MB. Higher concentrations are thus associated with proportionally shorter acquisition times.

5.2.8 In vivo Dynamic ULM rat and mouse datasets

The acquisitions performed for the DULM study adhered to the guidelines outlined in the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" set forth by the Canadian Council for Animal Care. The rat study procedures were granted ethical approval by the Animal Care Ethics Committee of the Montreal Heart Institute (Permit Number : 2019-2464, 2018-32-03). Similarly, the mouse study procedures were approved by the McGill University Animal Care Committee under the regulations of Animal Use Protocol AUP-4532.

Rat model

The surgical procedure and ultrasound acquisitions were performed on a 500 g female adult rat under 2% isoflurane anesthesia. Throughout the procedure, the body temperature was maintained at 35 °C using a small animal monitoring platform (Labeo Technologies Inc., QC, Canada). To minimize movement, the rat's head was secured in a stereotaxic frame, and a surgical micro drill was used to remove the skull, creating a window over the brain measuring approximately $15mm \times 10mm$.

Three datasets were obtained for the same two-dimensional plane using different concentrations. Prior to ultrasound acquisitions, an intravenous bolus injection of a MB solution (1.2×10^{10} MB per milliliter, Definity, Lantheus Medical Imaging, MA, USA) was administered through the jugular vein. The injection lasted 30-60 seconds and consisted of 50, 25 and $12.5\mu L$ MB solutions diluted in saline, followed by a saline flush using a 27G needle.

A Vantage system (Verasonics Inc., Redmond, WA) emitting 3-cycle pulses centered at 15.625 MHz using 3 tilted plane waves ($-1^\circ/0^\circ/1^\circ$) was used to sample 384 radiofrequency (RF) buffers with a 100% bandwidth sampling scheme of 400 ms, at 1000 frames per second. Each buffer was gated on the R-wave of the ECG recorded using the monitoring platform.

Mouse Model

The ultrasound acquisitions were conducted on a 7-week-old male mouse under 2% isoflurane anesthesia. The mouse’s body temperature was maintained at 35 °C using a feedback heated blanket. To minimize movement, the head of the mouse was secured in a stereotaxic frame. The ultrasound acquisitions started following a tail vein bolus injection of 80 μ L MB solution. (Freshly activated Definity MB were diluted in sterile PBS at 7.4pH in a 1 :10 ratio immediately before injecting). Each buffer was gated on the R-wave of the ECG recorded using the monitoring platform.

3-cycle pulses centered on 15.625 MHz using 11 tilted plane waves (-5° to 5° with 1° step) were used and 400 RF buffers of 600 ms at a rate of 1000 frames per second were acquired using a 100% bandwidth sampling scheme.

Table 5.1 TAL and LAT parameters for the different datasets

Dataset	LAT	TAL
In Silico	$Nb = 90$ $MLD = 2pixels$ $MFG = 0frame$ $N_f = 15$	$\tau = 0.5$ $\epsilon = 1.4$ $N_f = 15$ $f_c = 45Hz$
Rat ULM	$Nb = 30$ $MLD = 2pixels$ $MFG = 0frame$ $N_f = 15$	$\tau = 0.4$ $\epsilon = 1.4$ $N_f = 15$ $f_c = 45Hz$
Rat and Mouse DULM	$Nb = 500$ $MLD = 3pixels$ $MFG = 1frame$ $N_f = 15$	$\tau = 0.4$ $\epsilon = 1.4$ $N_f = 20$ $f_c = 45Hz$

5.3 Results

5.3.1 In Silico localization performance of TAL

Performance at different concentrations

Figure 2 presents both qualitative (Fig. 2b) and quantitative (Fig. 2c) comparisons between the standard LAT workflow and the proposed TAL workflow for reconstructing anatomic vessels in silico at various MB concentrations. The ground truth density map (Fig. 2a) is formed by accumulating all simulated MB positions. The qualitative performances for different concentrations (Fig.2b) are presented within a selected region of interest corresponding to

a challenging horseshoe pattern. The quantitative performances (Fig. 2c) are assessed using four different metrics : localization error, detection rate, precision, and sensitivity.

Across all concentrations, TAL consistently achieved a smaller localization error (maximum of 0.18λ) compared to LAT's smallest localization error, which was 0.23λ . For the standard concentration ($C=1$ a.u.), the localization error of TAL was measured at 0.11λ , whereas the LAT pipeline exhibited a larger localization error of 0.23λ .

For the same concentration ($C=1$ a.u.), TAL achieved a detection rate of 53%, while LAT achieved a detection rate of 27%. At the extreme concentration ($C=10$ a.u.), both methods exhibited poor detection rates, with TAL at 6% and LAT at 2%.

The detection precision represents the ratio of true positions found to all detections made. For the standard concentration ($C=1$ a.u.), TAL achieves a precision of 88%, indicating approximately seven times more true detections than false ones.

In contrast, the standard approach achieved a precision of 50%, indicating an equal number of true and false detections. As the concentration increased, only TAL consistently maintained a precision rate above 50%.

The detection sensitivity reflects the proportion of MB found in relation to the total number of simulated MB that can be found. TAL demonstrates a sensitivity of 57% at the standard concentration ($C=1$ a.u.) while LAT achieved a sensitivity of 37%. We also note that all TAL metrics at a doubled concentration ($C=2$ a.u.) were superior to LAT metrics at the standard concentration.

Performances at different SNR

Figure 3 quantitatively illustrates the robustness of TAL, when exposed to an increasing noise in the IQ data at the standard concentration ($C=1$ a.u.). At high SNR, both LAT and TAL exhibited comparable performances, although TAL appeared to yield incrementally better results. Notably, some TAL metrics degraded starting at approximately 25 dB, whereas all four LAT metrics degraded starting at approximately 40 dB.

Specifically, for TAL, the localization error remained stable between 50 and 20 dB of SNR, while the localization error was increasing as the SNR decreases for LAT. At high SNR, both approaches demonstrated a comparable RMSE, although TAL has a lower RMSE than LAT.

The detection rate indicates that both methods performed similarly well at high SNR (50-40 dB) and low SNR (15 - 10 dB). However, in the SNR range between 40 dB and 15 dB, TAL achieved better performances. At 30 dB, 25 dB, and 20 dB, the differences in detection rates between the two methods were 12%, 21%, and 26%, respectively. The precision analysis

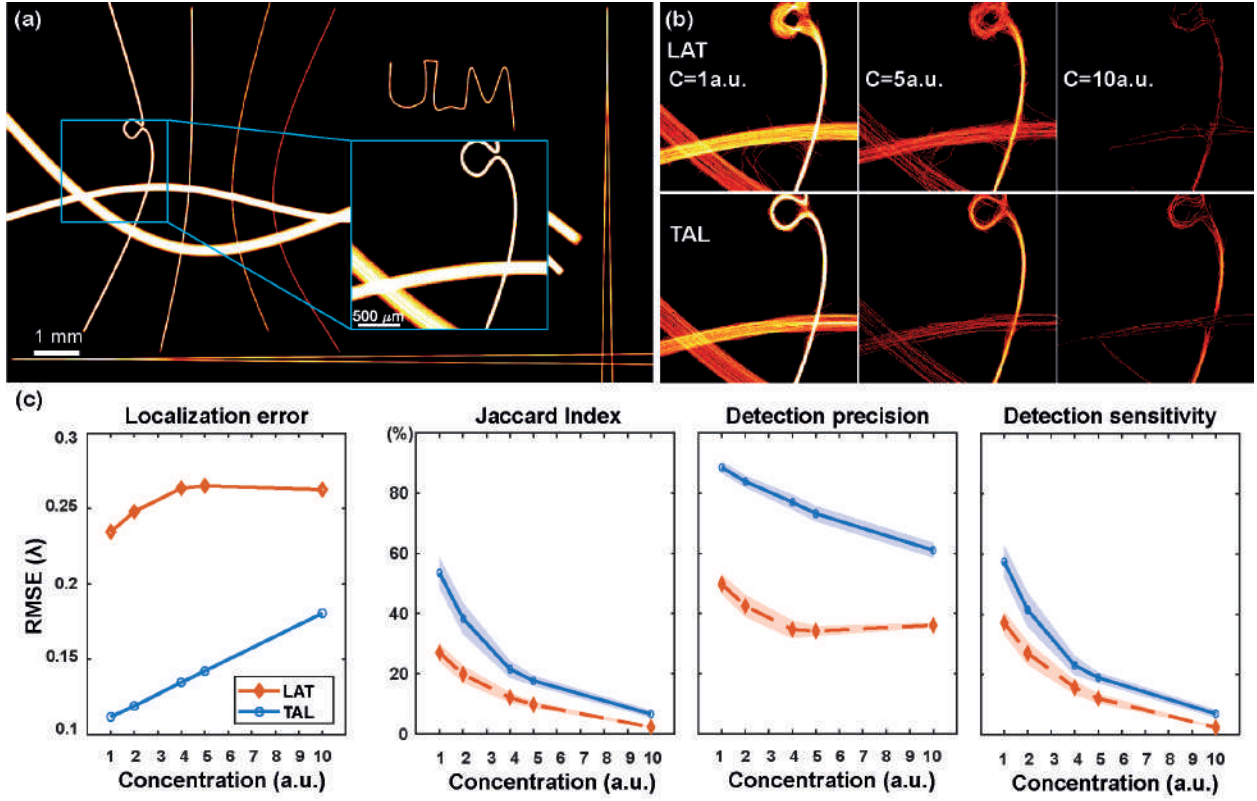


FIGURE 5.2 In silico localization and detection performances at different concentrations. (a) Ground truth density map resulting of the accumulation of positions in 20,000 frames divided into 20 buffers. (b) Zoomed-in renderings for both algorithms at different MB concentrations at a constant Signal-to-Noise Ratio (SNR) of 20 dB. (c) Performance metrics : localization error and statistical measurements, including the detection rate (Jaccard index), precision, and sensitivity, for both LAT and TAL pipelines, at a fixed Signal-to-Noise Ratio (SNR) of 20dB. The statistical measurements were computed for each buffer and shown as mean values with their respective standard deviations.

revealed that from an SNR of 60 dB to 15 dB, TAL maintained similar rates, indicating that the increased noise did not lead to a higher proportion of false detections relative to true detections. The precision rates for TAL were 90% at 50 dB and 86% at 15 dB. In contrast, the LAT algorithm exhibited a rapid decline in precision as SNR decreased, with rates of 83% at 50 dB and 28% at 15 dB.

The sensitivity of TAL was higher and more stable at low SNR (up to 25 dB) but decreased rapidly from that point.

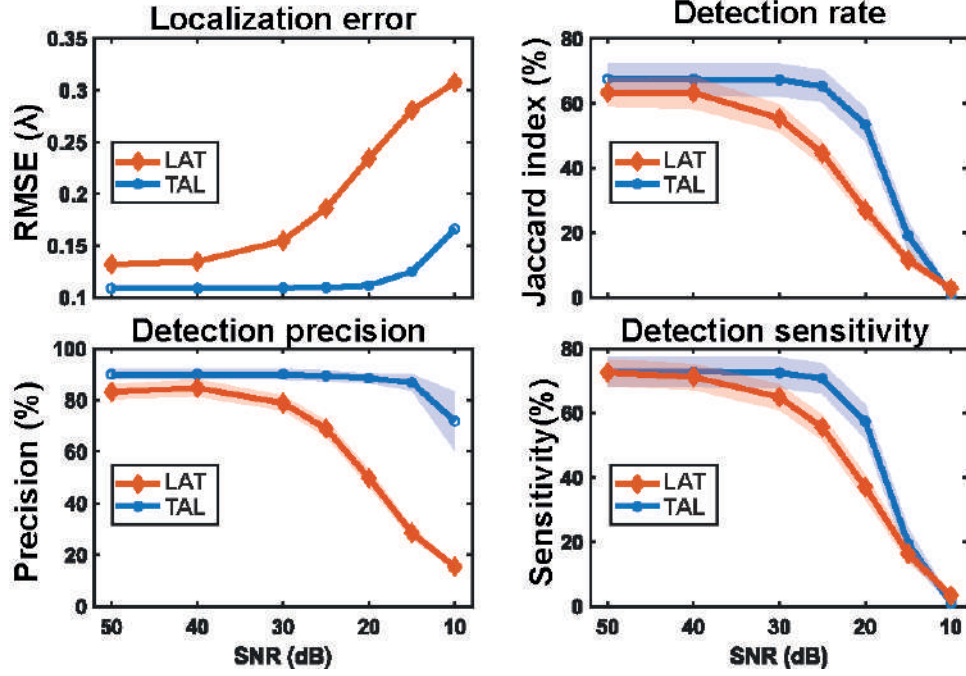


FIGURE 5.3 **Noise localization and detection robustness.** The four different metrics are presented for the standard concentration ($C=1$ a.u.). The statistical measures are computed across different numbers of buffers and shown as mean values with their respective standard deviations.

5.3.2 In Silico tracking performance of TAL

Figure 4 presents the tracking performance globally and locally of both methods via the velocity estimation for different concentrations. All the simulated MB trajectories were derived to obtain MB velocities. Those velocities were averaged at the positions of the associated MB to form the ground truth velocity map (Fig. 4a).

The global performance of the tracking is reflected by the correlation coefficient between the ground truth velocity map and the velocity maps obtained from the tracking of each method (Fig. 4b). At the standard concentration ($C=1$ a.u.), TAL achieved a correlation rate of 93%, whereas LAT achieved 79%. Similarly, at 5 times the standard concentration ($C=5$ a.u.), TAL achieved a correlation rate of 78%, which is comparable to LAT at the standard concentration ($C=1$ a.u.). Both methods exhibited a degradation in the velocity estimators as the concentration increased.

Locally, velocity profiles orthogonal to the flux in two distinct areas of the image were extracted (Fig 4.c). Those two profiles are indicated by the pink and green lines in Fig. 4.a. In the pink profiles, where both methods must estimate high velocities in large vessels, TAL demon-

trated a closer estimation of the velocity than LAT and a higher robustness in the estimation for the different concentrations, although the estimator was degraded as the concentration increased. We can notice a bias for the velocity positions of the vessels obtained with LAT. In the green profiles, where low velocities in a small vessel are estimated, TAL provided a better estimation of velocity at the standard concentration ($C=1$ a.u.). As concentration increased, both methods exhibited less accuracy, but TAL appeared to be more consistent than LAT.

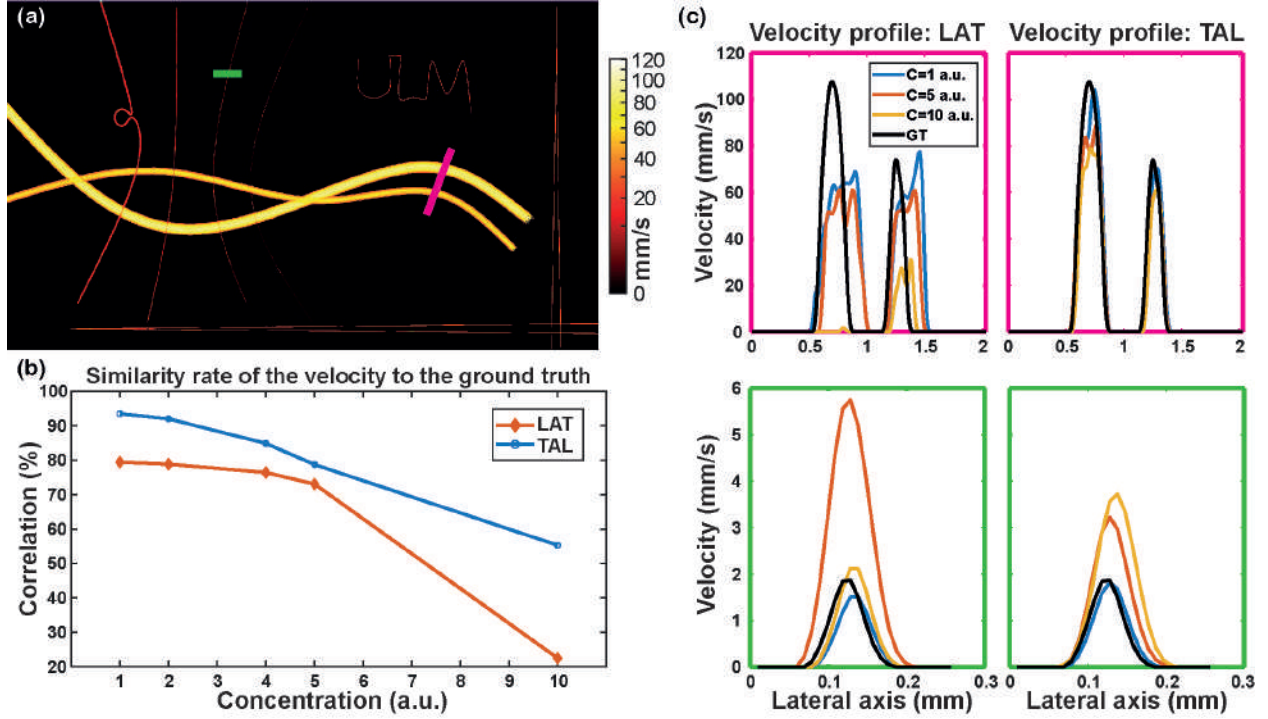


FIGURE 5.4 In Silico performances of the velocity estimator at different concentrations. (a) Ground truth velocity map resulting of the accumulation of the velocity at the positions of the MBs in 20,000 frames divided into 20 buffers initially. (b) Correlation coefficient between the ground truth velocity map and the velocity maps obtained from each approach. (c) Velocity profiles along two different lines for LAT and TAL workflow, each line taken orthogonal to the vessels to visualize the Poiseuille velocity profiles modeled in this simulation. (d) Superposed velocity profiles of the ground truth and both methods for different concentrations.

5.3.3 In vivo performance of TAL for ULM

Figure 5 displays the different density maps obtained for various concentrations using both methods ($C \in [1, 5, 10]$ a.u., see Fig. 5a) and closeup patches as well as normalized intensity profiles (Fig. 5b). The first row illustrates the density maps obtained with the LAT workflow, while the second row presents the density maps obtained with the TAL workflow.

Table 5.2 In vivo resolution performance (FRC) of ULM angiogram reconstruction at different concentrations for LAT and TAL workflows

Method	C=1a.u.	C=2a.u.	C=5a.u.	C=10a.u.
LAT	18.9 μm	24.4 μm	28.6 μm	30.3 μm
TAL	18.9 μm	20.4 μm	25.0 μm	27.0 μm

Qualitatively, there was a similarity between the two methods for the standard concentration, even if we notice some regions (pointed with the white arrows) where TAL recovered more details. However, as the concentration increased, both methods detected less vessels, but TAL still detected more than LAT, as illustrated by the white arrows. Moreover, as the concentration increased, both the number and length of detected vessels decreased

The associated FRC for each approach, at different concentrations, was also calculated (see Table II). At the standard concentration, both methods exhibited a similar resolution of 18.9 m. As the concentration increased, the resolution decreased for both approaches. TAL maintained an incrementally better robustness to resolution - e.g., at a five-fold increase in concentration, TAL and LAT achieved a 25- μm and 28.6- μm resolutions, respectively.

From the normalized density profiles extracted along the white dotted lines in the zoom-in regions in the cortex (Fig. 5b), we can see that for the two lowest concentrations, the differences in intensity between the vessels and the background are larger for TAL . The different values of FWHM for the main vessels are superposed to the graphs. At the standard concentration, TAL yielded a larger number of vessels and smaller diameters, indicating a better resolution. Both methods showed robustness to MB concentration in this region, as the number of vessels detected is similar, even if the size of the different vessels are changing with the concentration.

5.3.4 In vivo performance of TAL for DULM

Performance at different concentration

Figure 6 presents qualitative differences in the left hemisphere signed density maps of a rat brain for concentrations of 12.5 μL and 50 μL obtained using TAL (Fig. 6a). Quantitative differences are depicted when velocity extraction is performed over time for representative vessels using both approaches at concentrations of 12.5 μL , 25 μL and 50 μL (Fig. 6b). Qualitatively, some vessels showed differences in radius between concentrations, as exemplified by the vessel pointed out by the red arrow. At depth, both small and big vessels as well as connections between vessels were lost at high concentration. The arrows point to vessels

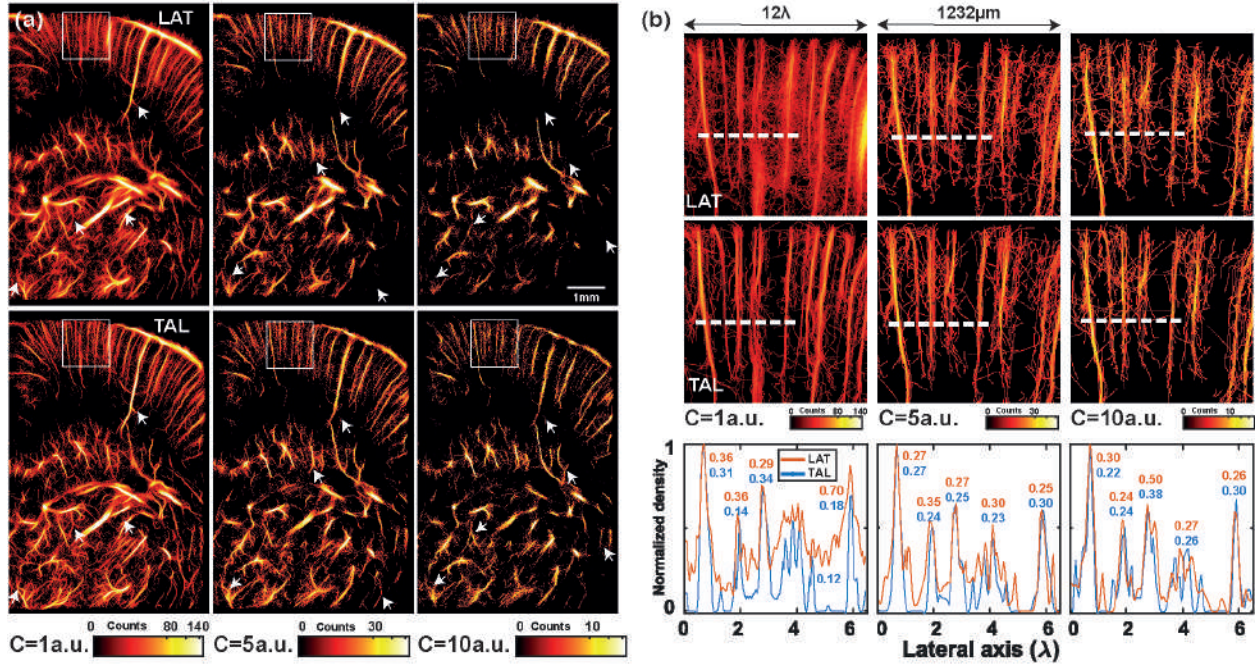


FIGURE 5.5 **Impact of concentration on the vessel rendering in vivo.** (a) First row presents the different density maps obtained with the standard approach (LAT pipeline), while the second presents the density maps obtained with the proposed method (TAL). Each density map is compressed with a cubic rate and saturated with a factor 0.5 relative to the maximum intensity. (b) Zoom-in of ULM angiograms on the cortex region (white square in Fig. 5a) at different concentrations for both approaches in the first two rows. The third row shows the normalized intensity profiles along a given horizontal lines overlaid by the white dotted line with corresponding vessel diameters estimated as the FWHM in wavelength

where the velocity profiles along two cardiac cycles have been extracted in the Fig. 6b. A difference in velocity amplitude can be noticed between both methods; for instance, TAL can detect a pulsatile flow, with two clear local maxima waveform patterns, where they are expected, in all three vessels while it is less clear in the case of LAT

Intra-animal comparison

Figure 7 shows a signed ULM reconstruction in a mouse brain using the proposed methods, with vessels highlighted by yellow, blue, red, and green arrows (Fig. 7a). These vessels' velocities over 5 complete cardiac cycles were extracted as shown in Fig. 7b for both methods. For analysis, those vessels correspond to pairs of symmetrical vessels between the hemispheres. It is observed that the mean velocity in both hemispheres is similar (solid line for the left hemisphere and dotted line for the right one) for both methods, but TAL exhibits more

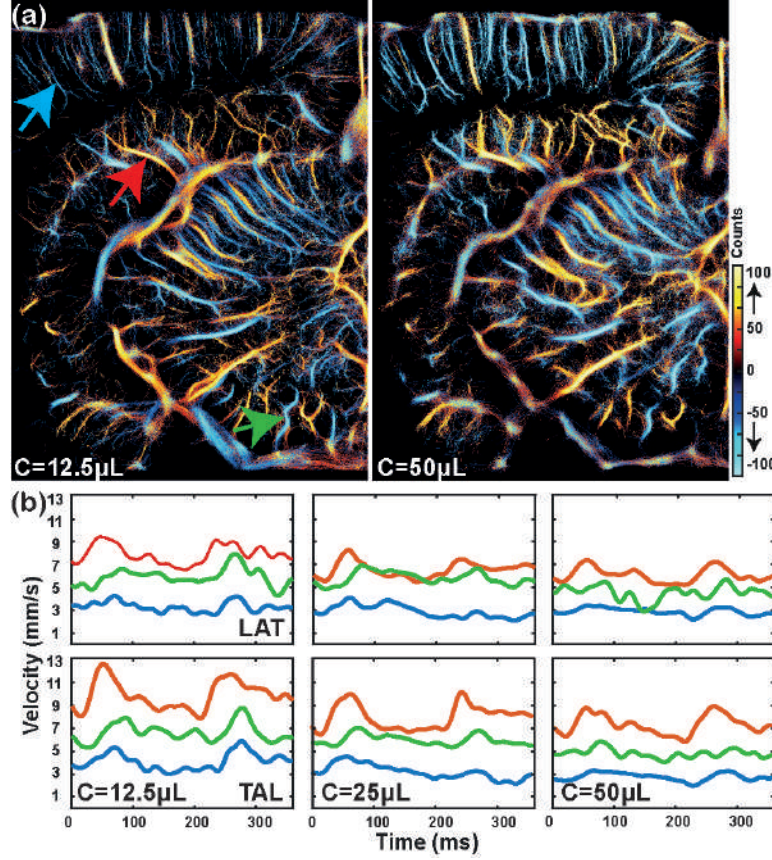


FIGURE 5.6 **Velocity estimator comparison for DULM application in vivo at different concentrations in a rat brain.** (a) Signed ULM maps in a rat brain for two different concentrations of microbubble ($C=12.5\mu\text{L}$ and $C=50\mu\text{L}$) obtained with the TAL pipeline. (b) Velocity profiles for different vessels overlaid by different colored arrows (blue, red, and green) from the lowest concentration to the highest one (left to right) ($12.5\mu\text{L}$ - $25\mu\text{L}$ - $50\mu\text{L}$) obtained with the LAT & TAL methods.

consistent and synchronized fluctuations during diastole and systole events (Fig. 7b).

5.4 Discussion

In this study, we introduced a processing approach that tracks prior to localizing the MB in ULM and DULM. The idea is related to the confirmation in a previous study of the hypothesis that the space-time ULM datasets carry richer information about the underlying microvascular network than individual ultrasound frames taken independently [11].

Specifically, we aimed to address the challenge of finding and tracking a larger number of MB in high concentration environments. To do so, we sought to replace the tracking part with a physically motivated pairing approach that considers global information from all

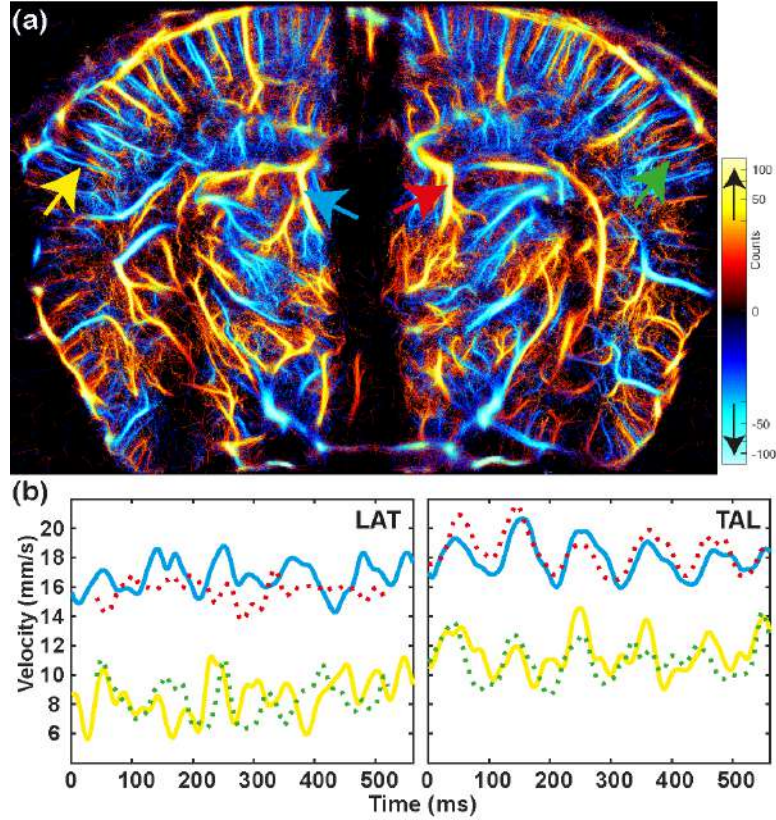


FIGURE 5.7 **Hemodynamics coherence between left and right hemisphere in a mouse brain** . (a) Signed Ultrasound Localization Microscopy map of a mouse brain obtained with the TAL pipeline. (b) Comparison between left and right hemisphere (solid lines : left hemisphere, dotted lines : right hemisphere) of velocity profiles for different sizes of vessels obtained with the LAT TAL methods.

frames in a buffer, rather than relying on frame-to-frame pairing based on minimal distance between localizations in adjacent frames. The choice of a tracking approach is particularly important, as recent publications in the field emphasize studying *in vivo* velocity to extract biomarkers [4], [5], [9], [10], [12], [47]. However, velocity estimation relies on the derivative of the trajectories, making it essential to have an accurate tracker in addition to an efficient space detection and localization algorithm to accurately estimate local blood flow. To demonstrate these objectives, we benchmarked the TAL method against the state-of-the-art LAT pipeline, both *in silico* and *in vivo*.

In the *in silico* experiments, we demonstrated that TAL yields superior reconstruction maps using four metrics at any concentration multiplier ranging from 1 to 10 (see Fig. 2.c). Specifically, we showed that at twice the concentration, TAL outperformed the LAT workflow at standard concentration. These results align with our first objective, as TAL allows for a

twofold increase in concentration, potentially reducing acquisition time while outperforming the standard method. Additionally, we observed that TAL exhibits robustness to increased noise levels, as evidenced by its performance across varying SNR levels in silico (see Fig. 3). This robustness contributes to the reproducibility of results between experiments, where SNR can significantly vary due to experimental factors. By studying velocity in silico, we revealed the biases that arise in velocity estimators based on the chosen method and varying concentrations (see Fig. 4). TAL showed better efficiency in tracking MB and extracting accurate blood flow velocity.

To further validate our findings, we conducted in vivo validation using an open-source rat dataset and demonstrated that TAL is more robust to increasing concentration with associated reduction of acquisition times (see Fig. 5a) and maintains better resolution in the FRC study (see Table II). Density profiles also confirmed better resolved vessels in the cortex (see Fig. 5b). Indeed, at lower concentrations, the background intensity between vessels is lower with TAL, reflecting its ability to highlight more likely MB trajectories. In fact, TAL only enhances positions that are susceptible to belong to a trajectory, while LAT enhances all the positions that are likely to be a MB in space. We also successfully applied TAL to different animal models, including rats and mice.

We applied LAT and TAL to DULM and observed consistent velocity estimations across different acquisitions and concentrations within the same animal for both methods (see Fig. 6 and 7). In DULM, the TAL approach seems to extract a better pulsatile blood flow along the cardiac cycle. Between the three rat datasets, the blood flow differences observed could be attributed to the increasing concentration biasing the tracking process as illustrated in silico. It could also be attributed to physiological changes in heart beating caused by prolonged anesthesia, as the datasets were acquired successively. Additionally, at high concentrations, we recovered larger vessels that may exhibit a more efficient mapping of the range of velocities, from higher velocities in the center to lower velocities near the vessel edges, potentially explaining the overall decrease in velocity. We also demonstrated the coherence of both methods in estimating mean velocities by comparing symmetrical vessels in both hemispheres of a mouse (see Fig. 7). TAL results seem to indicate more accurate velocity variations caused by the heartbeat of the animal. The cubic smoothing spline ensures the continuity on velocity and acceleration compared to the linear interpolation. In addition, the choice of a cut-off frequency leads to a better control over the smoothing.

It is however important to acknowledge certain limitations. First, in the in vivo experiments, the ground truth for microvessels structure and blood flow velocity remain unknown. To validate our angiography and velocity estimation, it would be necessary to compare it with

another imaging technique that can obtain similar spatial and temporal resolution, such as optical coherence tomography at superficial depth (1 or 2 mm). Second, while we highlighted issues with velocity estimations caused by the tracking algorithm in silico, the simulations were far from considering the complexity of a brain vasculature. Realistic simulations of brain vasculature could point out other and more specific issues [23].

From a processing perspective, the proposed method offers several advantages. First, it requires only three parameters to set, τ , ϵ and the length of the tracks N_f (see Table I). Note that all these parameters were very similar between the different experiments. Additionally, the calculation of the Jerman function for all voxels, which is the most computationally expensive operation (due to eigenvalues' extractions), depends on the volume size. The thinning algorithm, responsible for providing trajectory segmentation, is a real-time algorithm. Consequently, the computational cost of the tracking part does not depend on the number of MB to pair, unlike Hungarian or graph-based algorithms.

Overall, the introduction of TAL as a novel approach addresses the challenges of tracking MB in high concentration environment and provides a physically motivated pairing strategy that considers the global continuity information available in a buffer. The method demonstrates superior performance in reconstructing hemodynamics, exhibiting robustness to noise variations, and enabling accurate velocity estimations.

These findings, supported by in silico and in vivo experiments, contribute to the advancement of subwavelength hemodynamics imaging techniques

5.5 Conclusion

We demonstrated the feasibility of recovering ULM density maps and extracting blood velocities in a range of vessels using a novel approach that reverses the localization and tracking steps. The newly proposed Tracking and Localization workflow presents a promising solution to enhance the reliability and accuracy of anatomic and functional results obtained through ULM and DULM techniques.

5.6 References

- [1] M. A. O'Reilly and K. Hynynen, "A super-resolution ultrasound method for brain vascular mapping," *Medical Physics*, vol. 40, no. 11, p. 110701, 2013, doi : 10.1118/1.4823762.
- [2] C. Errico et al., "Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging," *Nature*, vol. 527, no. 7579, Art. no. 7579, Nov. 2015, doi : 10.1038/na-

ture16066.

- [3] O. M. Viessmann, R. J. Eckersley, K. Christensen-Jeffries, M. X. Tang, and C. Dunsby, “Acoustic super-resolution with ultrasound and microbubbles,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 18, p. 6447, Sep. 2013, doi : 10.1088/0031-9155/58/18/6447.
- [4] M. Wiersma, B. Heiles, D. Kalisvaart, D. Maresca, and C. S. Smith, “Retrieving Pulsatility in Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Open Journal of Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 2, pp. 283–298, 2022, doi : 10.1109/OJUFFC.2022.3221354.
- [5] M. R. Lowerison et al., “Aging-related cerebral microvascular changes visualized using ultrasound localization microscopy in the living mouse,” *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, Art. no. 1, Jan. 2022, doi : 10.1038/s41598-021-04712-8. [6] X. Chen, M. R. Lowerison, Z. Dong, N. V. C. Sekaran, D. A. Llano, and P. Song, “Localization free super-resolution microbubble velocimetry using a long short-term memory neural network,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, pp. 1–1, 2023, doi : 10.1109/TMI.2023.3251197.
- [7] O. Couture, V. Hingot, B. Heiles, P. Muleki-Seya, and M. Tanter, “Ultrasound Localization Microscopy and Super-Resolution : A State of the Art,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 65, no. 8, pp. 1304–1320, Aug. 2018, doi : 10.1109/TUFFC.2018.2850811.
- [8] K. Christensen-Jeffries, R. J. Browning, M.-X. Tang, C. Dunsby, and R. J. Eckersley, “In Vivo Acoustic Super-Resolution and Super-Resolved Velocity Mapping Using Microbubbles,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 34, no. 2, pp. 433–440, Feb. 2015, doi : 10.1109/TMI.2014.2359650.
- [9] S. Dencks and G. Schmitz, “Ultrasound localization microscopy,” *Zeitschrift für Medizinische Physik*, Jun. 2023, doi : 10.1016/j.zemedi.2023.02.004.
- [10] C. Bourquin, J. Porée, F. Lesage, and J. Provost, “In Vivo Pulsatility Measurement of Cerebral Microcirculation in Rodents Using Dynamic Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 41, no. 4, pp. 782–792, Apr. 2022, doi : 10.1109/TMI.2021.3123912.
- [11] P. Cormier, J. Porée, C. Bourquin, and J. Provost, “Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 40, no. 12, pp. 3379–3388, Dec. 2021, doi : 10.1109/TMI.2021.3086115. [12] N. Renaudin, C. Dmené, A. Dizeux, N. Ialy-Radio, S. Pezet, and M. Tanter, “Functional ultrasound localization microscopy reveals brain-wide neurovascular activity on a microscopic scale,” *Nat Methods*, vol. 19, no. 8, Art. no. 8, Aug. 2022, doi : 10.1038/s41592-022-01549-5.
- [13] P. Song, J. M. Rubin, and M. R. Lowerison, “Super-resolution ultrasound microvascular

- imaging : Is it ready for clinical use ?,” *Zeitschrift für Medizinische Physik*, May 2023, doi : 10.1016/j.zemedi.2023.04.001. [14] V. Hingot, C. Errico, B. Heiles, L. Rahal, M. Tanter, and O. Couture, “Microvascular flow dictates the compromise between spatial resolution and acquisition time in Ultrasound Localization Microscopy,” *Sci Rep*, vol. 9, no. 1, Art. no. 1, Feb. 2019, doi : 10.1038/s41598-018-38349-x.
- [15] K. Christensen-Jeffries et al., “Poisson Statistical Model of Ultrasound Super-Resolution Imaging Acquisition Time,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 66, no. 7, pp. 1246–1254, Jul. 2019, doi : 10.1109/TUFFC.2019.2916603.
- [16] M. R. Lowerison, C. Huang, Y. Kim, F. Lucien, S. Chen, and P. Song, “In Vivo Confocal Imaging of Fluorescently Labelled Microbubbles : Implications for Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 67, no. 9, pp. 1811–1819, Sep. 2020, doi : 10.1109/TUFFC.2020.2988159.
- [17] J. Yan, T. Zhang, J. Broughton-Venner, P. Huang, and M.-X. Tang, “Super-Resolution Ultrasound Through Sparsity-Based Deconvolution and Multi-Feature Tracking,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 41, no. 8, pp. 1938–1947, Aug. 2022, doi : 10.1109/TMI.2022.3152396.
- [18] S. Tang et al., “Kalman Filter-Based Microbubble Tracking for Robust Super-Resolution Ultrasound Microvessel Imaging,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 67, no. 9, pp. 1738–1751, Sep. 2020, doi : 10.1109/TUFFC.2020.2984384.
- [19] P. Xing et al., “Phase Aberration Correction for in vivo Ultrasound Localization Microscopy Using a Spatiotemporal Complex-Valued Neural Network.” *arXiv*, Feb. 02, 2023. Accessed : Jul. 07, 2023. [Online]. Available : <http://arxiv.org/abs/2209.10650>
- [20] C. Demene, J. Robin, M. Pernot, F. Perren, and M. Tanter, “Transcranial Ultrasound Localization Microscopy Reveals Sub-Resolution Blood Dynamics in Aneurysms and Stenosis in the Adult Human Brain,” presented at the 2019 IEEE, International Ultrasonics Symposium, Glasgow, UK, Oct. 2019..
- [21] H. Ul Banna, B. Mitchell, S. Chen, and J. Palko, “Super-Resolution Ultrasound Localization Microscopy Using High-Frequency Ultrasound to Measure Ocular Perfusion Velocity in the Rat Eye,” *Bioengineering (Basel)*, vol. 10, no. 6, p. 689, Jun. 2023, doi : 10.3390/bioengineering10060689.
- [22] L. Milecki et al., “A Deep Learning Framework for Spatiotemporal Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. PP, pp. 1–1, Feb. 2021, doi : 10.1109/TMI.2021.3056951.
- [23] H. Belgharbi et al., “An Anatomically Realistic Simulation Framework for 3D Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Open Journal of Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency*

Control, vol. 3, pp. 1–13, 2023, doi : 10.1109/OJUFFC.2023.3235766.

[24] “Context-Aware Deep Learning Enables High-Efficacy Localization of High Concentration Microbubbles for Super-Resolution Ultrasound Localization Microscopy | bioRxiv.” <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.04.21.536599v1> (accessed Jul. 16, 2023).

[25] J. Kim, Q. Wang, S. Zhang, and S. Yoon, “Compressed Sensing-Based Super-Resolution Ultrasound Imaging for Faster Acquisition and High Quality Images,” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 68, no. 11, pp. 3317–3326, Nov. 2021, doi : 10.1109/TBME.2021.3070487.

[26] Y. Shin et al., “Context-Aware Deep Learning Enables High-Efficacy Localization of High Concentration Microbubbles for Super-Resolution Ultrasound Localization Microscopy.” *bioRxiv*, p. 2023.04.21.536599, Apr. 23, 2023. doi : 10.1101/2023.04.21.536599.

[27] X. Liu, T. Zhou, M. Lu, Y. Yang, Q. He, and J. Luo, “Deep Learning for Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 39, no. 10, pp. 3064–3078, Oct. 2020, doi : 10.1109/TMI.2020.2986781.

[28] U.-W. Lok et al., “Fast Super-resolution Ultrasound Microvessel Imaging using Spatio-temporal Data with Deep Fully Convolutional NeuralNetwork,” *Phys Med Biol*, vol. 66, no. 7, p. 10.1088/1361-6560/abeb31, Mar. 2021, doi : 10.1088/1361-6560/abeb31.

[29] A. Bar-Zion, C. Tremblay-Darveau, O. Solomon, D. Adam, and Y. C. Eldar, “Fast Vascular Ultrasound Imaging With Enhanced Spatial Resolution and Background Rejection,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 36, no. 1, pp. 169–180, Jan. 2017, doi : 10.1109/TMI.2016.2600372.

[30] J. Yu, L. Lavery, and K. Kim, “Super-resolution ultrasound imaging method for microvasculature in vivo with a high temporal accuracy,” *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, Art. no. 1, Sep. 2018, doi : 10.1038/s41598-018-32235-2.

[31] R. J. G. van Sloun et al., “Super-Resolution Ultrasound Localization Microscopy Through Deep Learning,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 40, no. 3, pp. 829–839, Mar. 2021, doi : 10.1109/TMI.2020.3037790.

[32] A. Bar-Zion, O. Solomon, C. Tremblay-Darveau, D. Adam, and Y. C. Eldar, “SUSHI : Sparsity-based Ultrasound Super-resolution Hemodynamic Imaging.” *arXiv*, Sep. 17, 2018. doi : 10.48550/arXiv.1712.00648.

[33] Q. Chen, J. Yu, B. M. Rush, Sean D. Stocker, R. J. Tan, and K. Kim, “Ultrasound super-resolution imaging provides a noninvasive assessment of renal microvasculature changes during mouse acute kidney injury,” *Kidney Int*, vol. 98, no. 2, pp. 355–365, Aug. 2020, doi :

10.1016/j.kint.2020.02.011.

- [34] L. Milecki et al., “A Deep Learning Framework for Spatiotemporal Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 40, no. 5, pp. 1428–1437, May 2021, doi : 10.1109/TMI.2021.3056951.
- [35] C. Huang et al., “Short Acquisition Time Super-Resolution Ultrasound Microvessel Imaging via Microbubble Separation,” *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, Art. no. 1, Apr. 2020, doi : 10.1038/s41598-020-62898-9.
- [36] B. Heiles, A. Chavignon, V. Hingot, P. Lopez, E. Teston, and O. Couture, “Performance benchmarking of microbubble-localization algorithms for ultrasound localization microscopy,” *Nat. Biomed. Eng.*, vol. 6, no. 5, Art. no. 5, May 2022, doi : 10.1038/s41551-021-00824-8.
- [37] G. Montaldo, M. Tanter, J. Bercoff, N. Benech, and M. Fink, “Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 56, no. 3, pp. 489–506, Mar. 2009, doi : 10.1109/TUFFC.2009.1067.
- [38] V. Perrot, M. Polichetti, F. Varray, and D. Garcia, “So you think you can DAS? A viewpoint on delay-and-sum beamforming,” *Ultrasonics*, vol. 111, p. 106309, Mar. 2021, doi : 10.1016/j.ultras.2020.106309.
- [39] J. Baranger, B. Arnal, F. Perren, O. Baud, M. Tanter, and C. Demené, “Adaptive Spatiotemporal SVD Clutter Filtering for Ultrafast Doppler Imaging Using Similarity of Spatial Singular Vectors,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 37, no. 7, pp. 1574–1586, Jul. 2018, doi : 10.1109/TMI.2018.2789499.
- [40] C. Demené et al., “Spatiotemporal Clutter Filtering of Ultrafast Ultrasound Data Highly Increases Doppler and fUltrasound Sensitivity,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 34, no. 11, pp. 2271–2285, Nov. 2015, doi : 10.1109/TMI.2015.2428634.
- [41] T. Jerman, F. Pernuš, B. Likar, and Ž. Špiclin, “Enhancement of Vascular Structures in 3D and 2D Angiographic Images,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 35, no. 9, pp. 2107–2118, Sep. 2016, doi : 10.1109/TMI.2016.2550102.
- [42] M. G. Wagner, “Real-time thinning algorithms for 2D and 3D images using GPU processors,” *J Real-Time Image Proc*, vol. 17, no. 5, pp. 1255–1266, Oct. 2020, doi : 10.1007/s11554-019-00886-7.
- [43] J. Porée, M. Baudet, F. Tournoux, G. Cloutier, and D. Garcia, “A Dual Tissue-Doppler Optical-Flow Method for Speckle Tracking Echocardiography at High Frame Rate,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 37, no. 9, pp. 2022–2032, Sep. 2018,

doi : 10.1109/TMI.2018.2811483.

[44] H. W. Kuhn, “The Hungarian method for the assignment problem,” *Naval Research Logistics Quarterly*, vol. 2, no. 1–2, pp. 83–97, 1955, doi : 10.1002/nav.3800020109.

[45] V. Hingot, A. Chavignon, B. Heiles, and O. Couture, “Measuring Image Resolution in Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 40, no. 12, pp. 3812–3819, Dec. 2021, doi : 10.1109/TMI.2021.3097150. [46] M. van Heel and M. Schatz, “Fourier shell correlation threshold criteria,” *Journal of Structural Biology*, vol. 151, no. 3, pp. 250–262, Sep. 2005, doi : 10.1016/j.jsb.2005.05.009.

[47] K. Christensen-Jeffries et al., “Super-resolution Ultrasound Imaging,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 46, no. 4, pp. 865–891, Apr. 2020, doi : 10.1016/j.ultrasmedbio.2019.11.013.

CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE

6.1 Retour sur les objectifs

Une étude précédente de notre laboratoire avait montré qu’un modèle de deep learning considérant l’information de plusieurs images permettait une meilleure localisation [34]. Dans cette étude, nous sommes partis de cette observation pour construire un modèle physique qui ne découple pas l’espace et le temps pour localiser et suivre les microbulles de façon plus efficace.

L’enjeu de développer un tel modèle était d’apporter une solution au problème explicitement identifié dans la littérature :

- L’augmentation de la concentration, entraîne le déclin en performances des modèles standards, à cause des recouvrements des signaux de microbulles, et un appariement qui ne considère pas le mouvement des microbulles, mais uniquement leurs positions spatiales. Causant une dégradation manifeste de l’estimateur de la vitesse de sang.

Nous avons donc développé un modèle qui renverse les deux étapes centrales de l’ULM standard (localisation puis tracking). Nous avons montré, au cours d’expérience *in silico* et *in vivo*, dans le chapitre 4 et en particulier dans le chapitre 5, que ce modèle performe mieux à basses et hautes concentrations, que ce soit pour produire des cartes de l’anatomie vasculaire cérébrale ou pour estimer la vitesse de sang dans ces vaisseaux.

6.2 Limites de la méthode proposée

Il faut cependant relever certaines limites à notre travail. En effet, les conclusions que nous tirons *in vivo* auraient pu être plus fortes si nous avions eu accès à la confirmation de l’anatomie et des flux que nous avons mesurés. Cependant, cette limite s’applique à toutes les études dans le milieu actuellement. Pour pallier ce manque, nous avons produit des résultats *in silico*. Cependant, les simulations que nous avons choisies ne représentent pas la complexité de l’arbre vasculaire cérébral et des flux à l’intérieur de ce dernier. On peut donc se questionner sur la généralisation des résultats *in silico* à des expériences *in vivo*.

Des simulations réalistes de microbulles voyageant à l’intérieur du réseau vasculaire d’un cerveau de souris pourraient permettre de simuler des images ultrasonores proches d’images acquises *in vivo*. De telles simulations pourraient être construites à partir d’acquisition de microscopie par excitation à deux photons par exemple. Une étude complète sur l’impact de la concentration sur l’estimateur de vitesse pourrait alors être réalisée. Ces simulations réalistes pourraient aussi permettre de quantifier des corrélations entre la complexité du

réseaux vasculaires et le biais sur l'estimation des vitesses.

En outre, la méthode que nous proposons repose sur l'extraction des valeurs propres d'une matrice hessienne pour chaque voxel du volume. La taille du volume concerné établit donc la complexité du traitement. Actuellement, ce traitement est assez lent, mais l'algorithme pourrait vraisemblablement se paralléliser sous GPU.

6.3 Remarques Générales

Lors de la conduite de ce projet, j'ai pu relever plusieurs aspects qui méritent d'être mentionnés.

L'estimateur de vitesse est très peu robuste dans les méthodes actuelles. En effet, les vitesses dépendent des microbulles trouvées, et de l'appariement fait dans un second temps. Il est donc clair que la moindre erreur sur chaque étape entraîne une grande variabilité dans la mesure de la vitesse.

Pour bien comprendre à quel point il est peu robuste. Imaginons une rivière, pour calculer la vitesse de l'eau s'y écoulant on peut placer un dispositif mesurant le débit. On peut aussi mesurer la vitesse de la rivière en mesurant la position au cours du temps de multitudes de flotteurs s'y laissant porter. Le second cas est l'analogie de la mesure de la vitesse du sang par l'ULM. Si on perd le flotteur, qu'on le confond avec un autre ou qu'on détecte un flotteur alors que c'était un poisson, la mesure de la vitesse de la rivière ne sera pas exacte.

De plus, si la rivière se rétracte ou qu'il y a une intersection, le nombre de flotteurs risque d'augmenter, entraînant une plus forte probabilité de commettre des erreurs. Par conséquent, l'erreur varie en fonction de l'environnement spatiale, c'est-à-dire d'où se situent les microbulles dans le réseau vasculaire. Le biais sur les vitesses obtenues n'est donc pas uniforme sur toute l'image.

Ainsi avec la méthode que nous proposons nous augmentons la confiance que nous avons dans notre estimateur de vitesse car nous ne détectons que des positions qui appartiennent vraisemblablement à des trajectoires de microbulles et non toutes les positions qui sont vraisemblablement des microbulles et il s'agit d'une différence fondamentale. Nous pensons que cette différence est à l'origine de l'extraction de signaux de pulsativité plus réalistes avec la méthode développée qu'avec les méthodes actuelles.

En outre, réussir à correctement détecter et suivre des microbulles dans des environnements très concentrés en microbulles n'est pas uniquement un levier pour diminuer les temps d'acquisitions. C'est aussi un levier pour peupler davantage l'entièreté des vitesses admissibles dans un vaisseau. Comme nous l'avons vu dans nos résultats de l'article présenté au chapitre

5, pour une concentration plus importante de microbulles, on obtient des vaisseaux avec un diamètre plus important. En théorie, c'est assez simple à comprendre, plus on a de microbulles, plus on a de probabilités de cartographier efficacement la zone dans lesquelles elles se déplacent. Ainsi, lorsqu'on mesure la vitesse d'un vaisseau en ULM on ne peut pas savoir à priori si on a cartographié l'ensemble du vaisseau où seulement sa partie centrale, ce qui ajoute un biais à notre estimation de vitesse.

6.4 Perspectives de généralisation à l'ULM 3D

Nous pouvons naturellement nous demander si ce modèle peut s'étendre à l'imagerie 3D, en concevant un filtre de structure tubulaire dans l'espace 4D (3D+temps) et un algorithme d'amincissement de ces structures dans cet espace.

6.4.1 Généralisation de la fonction de Jerman à la 4D

Nous avons proposé dans l'annexe A, une généralisation de la fonction de Jerman pour des matrices 4D. On obtient que :

$$J(\mathbf{x}) = \nu_2^2 \nu_\rho \nu_\phi \left(\frac{4}{2\nu_2 + \nu_r h o + \nu_\phi} \right)^4 \quad (6.1)$$

Avec

$$\begin{aligned} \nu_\rho &= \begin{cases} \nu_3 & \nu_3 > \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) & 0 < \nu_3(z, x, t) \leq \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \\ \nu_\phi &= \begin{cases} \nu_4 & \nu_4 > \tau \max_{(z,x,t)} \nu_4(z, x, t) \\ \tau \max_{(z,x,t)} \nu_4(z, x, t) & 0 < \nu_4(z, x, t) \leq \tau \max_{(z,x,t)} \nu_4(z, x, t) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \end{aligned} \quad (6.2)$$

6.4.2 Résultats préliminaires

Nous avons appliqué la fonction à un volume d'image 4D tronqué, contenant une à deux microbulles qui se déplacent dans l'espace 3D au cours du temps, provenant d'une acquisition transcrânienne d'un cerveau de souris 6.1.

Pour visualiser la réponse du filtre, nous avons choisi de moyenner les volumes selon la dimension temporelle. On peut voir que la structure spatiale de la microbulle est bien filtrée.

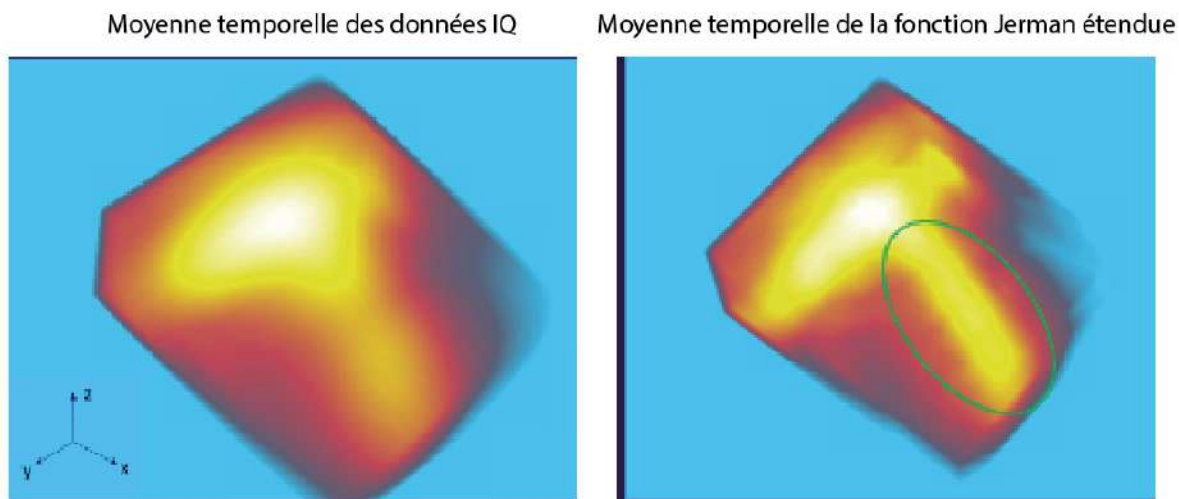


FIGURE 6.1 **Carté de densité et cartes de densité signée de cerveaux de souris obtenues lors d'acquisitions transcrâniennes**

Nous avons par la suite traité le volume entier pour finalement obtenir les résultats présents dans la figure 6.2. On peut voir sur cette image des résultats prometteurs de la fonction de Jerman étendue pour filtrer efficacement le signal des microbulles en 4D.

6.4.3 Futurs développements

L'extension de l'algorithme d'amincissement doit pouvoir se généraliser à des structures tubulaires en 4D. En effet, la théorie de réduire un volume tubulaire à son squelette a été généralisée en dimension supérieure [54].

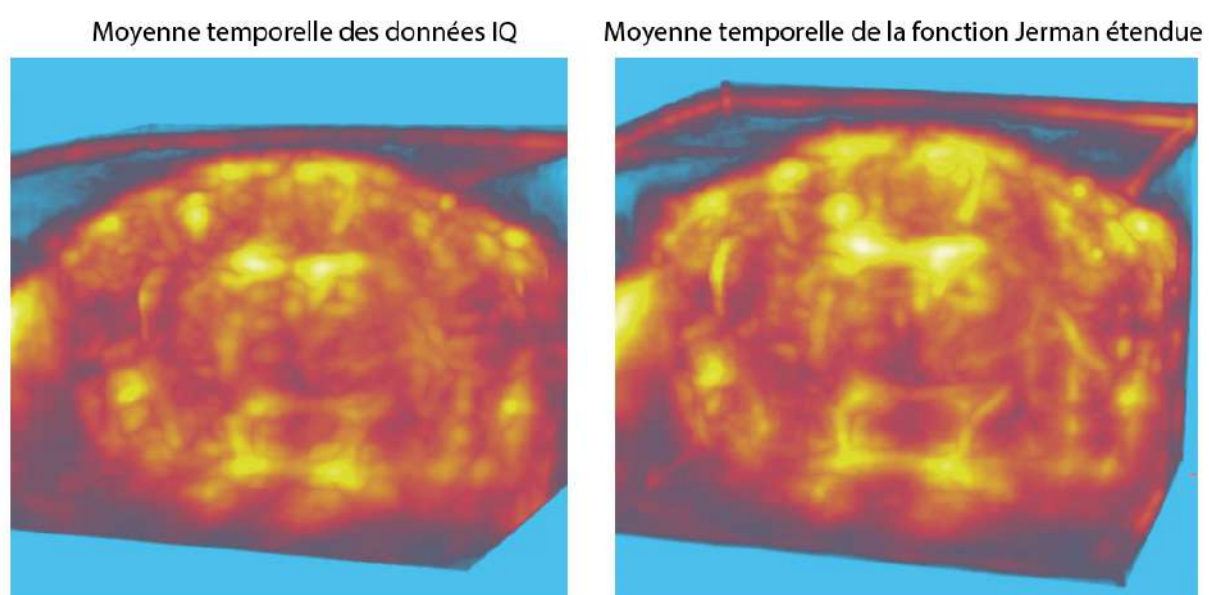


FIGURE 6.2 Carté de densité et cartes de densité signée de cerveaux de souris obtenues lors d'acquisitions transcrâniennes

CHAPITRE 7 CONCLUSION

L'ensemble de cette étude a permis de développer et de valider une nouvelle méthode de localisation et de suivi des microbulles en ULM. Cette méthode, en reversant les étapes actuelles de l'ULM a montré des résultats supérieurs (robustesse à la concentration, aux bruits, meilleure résolution spatiale, meilleures estimations des vitesses) par rapport aux méthodes conventionnelles, que ce soit en simulation et in vivo, et ce, peu importe le niveau de concentration en microbulles. Cette approche apporte donc une nouvelle solution, face aux problèmes identifiés lors de la revue de littérature, qui sont la défaillance de la méthode standard de localisation puis de suivi dans des environnements à haute concentration de microbulles.

Cette étude souligne également, d'un point de vue plus général, les limites actuelles de l'ULM pour estimer les flux dans l'arbre vasculaire cérébrale, alors que ces estimations commencent déjà à être utilisées dans des études sur certaines maladies.

De plus, cette méthode semble pouvoir se généraliser à l'imagerie ULM 3D, ce qui occupera nos futurs travaux.

Par ailleurs, nous pensons que cette façon de procéder peut s'utiliser ailleurs qu'en ULM. Notamment, en microscopie de localisation optique lors du suivi de fluorophores.

Pour conclure, cette étude ouvre la voie à d'autres techniques utilisant ce renversement de la méthode standard, afin de continuer le développement de méthodes pouvant estimer correctement les flux dans la microcirculation dans des environnements dans lesquels la concentration des microbulles est importante.

RÉFÉRENCES

- [1] W. F. Ganong. Physiologie médicale. DeBoeck Université.
- [2] H. R. Muñoz et C. M. Sacco, “Cardiac mechanical energy and effects on the arterial tree,” vol. 11, n^o. 3, p. 289–298. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053077097900987>
- [3] E. G. Lakatta, M. Wang et S. S. Najjar, “Arterial aging and subclinical arterial disease are fundamentally intertwined at macroscopic and molecular levels,” vol. 93, n^o. 3, p. 583–Contents. [En ligne]. Disponible : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2943242/>
- [4] G. F. Mitchell, “Effects of central arterial aging on the structure and function of the peripheral vasculature : implications for end-organ damage,” vol. 105, n^o. 5, p. 1652–1660. [En ligne]. Disponible : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2584844/>
- [5] M. P. Pase, A. Herbert, N. A. Grima, A. Pipingas et M. F. O’Rourke, “Arterial stiffness as a cause of cognitive decline and dementia : a systematic review and meta-analysis,” vol. 42, n^o. 7, p. 808–815, _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1445-5994.2011.02645.x>. [En ligne]. Disponible : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1445-5994.2011.02645.x>
- [6] C. Bourquin, J. Porée, F. Lesage et J. Provost, “In vivo pulsatility measurement of cerebral microcirculation in rodents using dynamic ultrasound localization microscopy,” vol. 41, n^o. 4, p. 782–792, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [7] G. Montaldo, M. Tanter, J. Bercoff, N. Benech et M. Fink, “Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography,” vol. 56, n^o. 3, p. 489–506.
- [8] V. Perrot, M. Polichetti, F. Varray et D. Garcia, “So you think you can DAS? a viewpoint on delay-and-sum beamforming,” vol. 111, p. 106309. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041624X20302444>
- [9] G. Lockwood, D. Turnbull, D. Christopher et F. Foster, “Beyond 30 MHz [applications of high-frequency ultrasound imaging],” vol. 15, n^o. 6, p. 60–71, conference Name : IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine.
- [10] F. S. Foster, J. Mehi, M. Lukacs, D. Hirson, C. White, C. Chaggares et A. Needles, “A new 15–50 MHz array-based micro-ultrasound scanner for

- preclinical imaging,” vol. 35, n°. 10, p. 1700–1708. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030156290900180X>
- [11] O. Couture, V. Hingot, B. Heiles, P. Muleki-Seya et M. Tanter, “Ultrasound localization microscopy and super-resolution : A state of the art,” vol. 65, n°. 8, p. 1304–1320, conference Name : IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control.
- [12] R. C. Gessner, C. B. Frederick, F. S. Foster et P. A. Dayton, “Acoustic angiography : A new imaging modality for assessing microvasculature architecture,” vol. 2013, p. 936593. [En ligne]. Disponible : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3730364/>
- [13] G. S. Shekhawat et V. P. Dravid, “Nanoscale imaging of buried structures via scanning near-field ultrasound holography,” vol. 310, n°. 5745, p. 89–92, publisher : American Association for the Advancement of Science. [En ligne]. Disponible : <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1117694>
- [14] M. Fink et M. Tanter, “Multiwave imaging and super resolution,” vol. 63, n°. 2, p. 28–33. [En ligne]. Disponible : <https://doi.org/10.1063/1.3326986>
- [15] G. Lerosey, J. de Rosny, A. Tourin et M. Fink, “Focusing beyond the diffraction limit with far-field time reversal,” vol. 315, n°. 5815, p. 1120–1122, publisher : American Association for the Advancement of Science. [En ligne]. Disponible : <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1134824>
- [16] P. Blomgren, G. Papanicolaou et H. Zhao, “Super-resolution in time-reversal acoustics,” vol. 111, n°. 1, p. 230–248. [En ligne]. Disponible : <https://doi.org/10.1121/1.1421342>
- [17] E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz et H. F. Hess, “Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution,” vol. 313, n°. 5793, p. 1642–1645, publisher : American Association for the Advancement of Science. [En ligne]. Disponible : <https://www.science.org/doi/full/10.1126/science.1127344>
- [18] S. T. Hess, T. P. K. Girirajan et M. D. Mason, “Ultra-high resolution imaging by fluorescence photoactivation localization microscopy,” vol. 91, n°. 11, p. 4258–4272. [En ligne]. Disponible : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1635685/>
- [19] M. J. Rust, M. Bates et X. Zhuang, “Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM),” vol. 3, n°. 10, p. 793–795.
- [20] M. A. OReilly et K. Hynynen, “A super-resolution ultrasound method for brain vascular mapping,” vol. 40, n°. 11, p. 110701, _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1118/1.4823762>. [En ligne]. Disponible : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1118/1.4823762>

- [21] O. M. Viessmann, R. J. Eckersley, K. Christensen-Jeffries, M. X. Tang et C. Dunsby, “Acoustic super-resolution with ultrasound and microbubbles,” vol. 58, n^o. 18, p. 6447, publisher : IOP Publishing. [En ligne]. Disponible : <https://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/58/18/6447>
- [22] C. Errico, J. Pierre, S. Pezet, Y. Desailly, Z. Lenkei, O. Couture et M. Tanter, “Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging,” vol. 527, n^o. 7579, p. 499–502, number : 7579 Publisher : Nature Publishing Group. [En ligne]. Disponible : <https://www.nature.com/articles/nature16066>
- [23] O. Demeulenaere, A. Bertolo, S. Pezet, N. Ialy-Radio, B. Osmanski, C. Papadacci, M. Tanter, T. Deffieux et M. Pernot, “In vivo whole brain microvascular imaging in mice using transcranial 3d ultrasound localization microscopy,” vol. 79, p. 103995. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352396422001797>
- [24] C. Demené, T. Deffieux, M. Pernot, B.-F. Osmanski, V. Biran, J.-L. Gennisson, L.-A. Sieu, A. Bergel, S. Franqui, J.-M. Correas, I. Cohen, O. Baud et M. Tanter, “Spatiotemporal clutter filtering of ultrafast ultrasound data highly increases doppler and fUltrasound sensitivity,” vol. 34, n^o. 11, p. 2271–2285, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [25] B. Heiles, A. Chavignon, V. Hingot, P. Lopez, E. Teston et O. Couture, “Performance benchmarking of microbubble-localization algorithms for ultrasound localization microscopy,” vol. 6, n^o. 5, p. 605–616, number : 5 Publisher : Nature Publishing Group. [En ligne]. Disponible : <https://www.nature.com/articles/s41551-021-00824-8>
- [26] H. Guo, “A simple algorithm for fitting a gaussian function [DSP tips and tricks],” vol. 28, n^o. 5, p. 134–137, conference Name : IEEE Signal Processing Magazine.
- [27] R. Parthasarathy, “Rapid, accurate particle tracking by calculation of radial symmetry centers,” vol. 9, n^o. 7, p. 724–726.
- [28] Y. Desailly, J. Pierre, O. Couture et M. Tanter, “Resolution limits of ultrafast ultrasound localization microscopy,” vol. 60, n^o. 22, p. 8723–8740.
- [29] V. Hingot, A. Chavignon, B. Heiles et O. Couture, “Measuring image resolution in ultrasound localization microscopy,” vol. 40, n^o. 12, p. 3812–3819, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [30] P. Song, J. M. Rubin et M. R. Lowerison, “Super-resolution ultrasound microvascular imaging : Is it ready for clinical use?” [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939388923000430>

- [31] H. W. Kuhn, “The hungarian method for the assignment problem,” vol. 2, n^o. 1, p. 83–97, _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/nav.3800020109>. [En ligne]. Disponible : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/nav.3800020109>
- [32] V. Hingot, C. Errico, B. Heiles, L. Rahal, M. Tanter et O. Couture, “Microvascular flow dictates the compromise between spatial resolution and acquisition time in ultrasound localization microscopy,” vol. 9, n^o. 1, p. 2456, number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. [En ligne]. Disponible : <https://www.nature.com/articles/s41598-018-38349-x>
- [33] K. Christensen-Jeffries, J. Brown, S. Harput, G. Zhang, J. Zhu, M.-X. Tang, C. Dunsby et R. J. Eckersley, “Poisson statistical model of ultrasound super-resolution imaging acquisition time,” vol. 66, n^o. 7, p. 1246–1254, conference Name : IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control.
- [34] L. Milecki, J. Porée, H. Belgharbi, C. Bourquin, R. Damseh, P. Delafontaine-Martel, F. Lesage, M. Gasse et J. Provost, “A deep learning framework for spatiotemporal ultrasound localization microscopy,” vol. 40, n^o. 5, p. 1428–1437, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [35] R. J. G. van Sloun, O. Solomon, M. Bruce, Z. Z. Khaing, H. Wijkstra, Y. C. Eldar et M. Mischi, “Super-resolution ultrasound localization microscopy through deep learning,” vol. 40, n^o. 3, p. 829–839, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [36] H. Belgharbi, J. Porée, R. Damseh, V. Perrot, L. Milecki, P. Delafontaine-Martel, F. Lesage et J. Provost, “An anatomically realistic simulation framework for 3d ultrasound localization microscopy,” vol. 3, p. 1–13, conference Name : IEEE Open Journal of Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control.
- [37] S. Tang, P. Song, J. D. Trzasko, M. Lowerison, C. Huang, P. Gong, U.-W. Lok, A. Manduca et S. Chen, “Kalman filter-based microbubble tracking for robust super-resolution ultrasound microvessel imaging,” vol. 67, n^o. 9, p. 1738–1751, conference Name : IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control.
- [38] N. Renaudin, C. Demené, A. Dizeux, N. Ialy-Radio, S. Pezet et M. Tanter, “Functional ultrasound localization microscopy reveals brain-wide neurovascular activity on a microscopic scale,” vol. 19, n^o. 8, p. 1004–1012, number : 8 Publisher : Nature Publishing Group. [En ligne]. Disponible : <https://www.nature.com/articles/s41592-022-01549-5>
- [39] H. Ul Banna, B. Mitchell, S. Chen et J. Palko, “Super-resolution ultrasound localization microscopy using high-frequency ultrasound to measure ocular perfusion velocity in the rat eye,” vol. 10, n^o. 6, p. 689. [En ligne]. Disponible : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10295416/>

- [40] B. Heiles, M. Correia, V. Hingot, M. Pernot, J. Provost, M. Tanter et O. Couture, “Ultrafast 3d ultrasound localization microscopy using a 32×32 matrix array,” vol. 38, n^o. 9, p. 2005–2015, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [41] P. Cormier, J. Porée, C. Bourquin et J. Provost, “Dynamic myocardial ultrasound localization angiography,” vol. 40, n^o. 12, p. 3379–3388, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [42] X. Chen, M. R. Lowerison, Z. Dong, N. V. C. Sekaran, D. A. Llano et P. Song, “Localization free super-resolution microbubble velocimetry using a long short-term memory neural network,” p. 1–1, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [43] A. Bar-Zion, O. Solomon, C. Tremblay-Darveau, D. Adam et Y. C. Eldar, “SUSHI : Sparsity-based ultrasound super-resolution hemodynamic imaging.” [En ligne]. Disponible : <http://arxiv.org/abs/1712.00648>
- [44] J. Kim, Q. Wang, S. Zhang et S. Yoon, “Compressed sensing-based super-resolution ultrasound imaging for faster acquisition and high quality images,” vol. 68, n^o. 11, p. 3317–3326, conference Name : IEEE Transactions on Biomedical Engineering.
- [45] Q. Chen, J. Yu, B. M. Rush, S. D. Stocker, R. J. Tan et K. Kim, “Ultrasound super-resolution imaging provides a noninvasive assessment of renal microvasculature changes during mouse acute kidney injury,” vol. 98, n^o. 2, p. 355–365. [En ligne]. Disponible : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7387159/>
- [46] K. Riemer, M. Toulemonde, J. Yan, M. Lerendegui, E. Stride, P. D. Weinberg, C. Dunsby et M.-X. Tang, “Fast and selective super-resolution ultrasound in vivo with acoustically activated nanodroplets,” vol. 42, n^o. 4, p. 1056–1067, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [47] C. Huang, M. R. Lowerison, J. D. Trzasko, A. Manduca, Y. Bresler, S. Tang, P. Gong, U.-W. Lok, P. Song et S. Chen, “Short acquisition time super-resolution ultrasound microvessel imaging via microbubble separation,” vol. 10, n^o. 1, p. 6007, number : 1 Publisher : Nature Publishing Group. [En ligne]. Disponible : <https://www.nature.com/articles/s41598-020-62898-9>
- [48] A. Frangi, W. Niessen, K. Vincken et M. Viergever, “Multiscale vessel enhancement filtering,” vol. 1496, p. 130–137.
- [49] T. Jerman, F. Pernuš, B. Likar et Špiclin, “Enhancement of vascular structures in 3d and 2d angiographic images,” vol. 35, n^o. 9, p. 2107–2118, conference Name : IEEE Transactions on Medical Imaging.
- [50] J. Lamy, O. Merveille, B. Kerautret, N. Passat et A. Vacavant, “Vesselness filters : A survey with benchmarks applied to liver imaging,” dans *2020 25th International*

- Conference on Pattern Recognition (ICPR)*. IEEE, p. 3528–3535. [En ligne]. Disponible : <https://ieeexplore.ieee.org/document/9412362/>
- [51] D. RUTOVITZ, “AUTOMATIC CHROMOSOME ANALYSIS,” vol. 24, n°. 3, p. 260–267. [En ligne]. Disponible : <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a070647>
- [52] S. Kahan, T. Pavlidis et H. S. Baird, “On the recognition of printed characters of any font and size,” vol. PAMI-9, n°. 2, p. 274–288, conference Name : IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence.
- [53] M. G. Wagner, “Real-time thinning algorithms for 2d and 3d images using GPU processors,” vol. 17, n°. 5, p. 1255–1266. [En ligne]. Disponible : <https://doi.org/10.1007/s11554-019-00886-7>
- [54] P. P. Jonker et O. Vermeij, “On skeletonization in 4d images,” dans *Advances in Structural and Syntactical Pattern Recognition*, ser. Lecture Notes in Computer Science, P. Perner, P. Wang et A. Rosenfeld, édit. Springer, p. 79–89.

ANNEXE A EXTENSION DE LA FONCTION DE JERMAN À DES MATRICES 4D

La matrice Hessienne se généralise à la 4D immédiatement. Si l'on utilise les mêmes notations qu'au chapitre. On a $I(\mathbf{x})$ où $\mathbf{x} = (z, y, x, t)$, qui représente le volume formé par l'ensemble des images de volume 3D :

$$\mathbf{H}(I)(\mathbf{x}) = \sigma^2 I(\mathbf{x}) * \begin{pmatrix} \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial z^2} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial z \partial y} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial z \partial x} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial z \partial t} \\ \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial y \partial z} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial y^2} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial y \partial x} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial y \partial t} \\ \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial x \partial z} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial x \partial y} & \epsilon^2 \frac{\partial^2}{\partial x^2} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial x \partial t} \\ \epsilon \frac{\partial^2}{\partial t \partial z} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial t \partial y} & \epsilon \frac{\partial^2}{\partial t \partial x} & \frac{\partial^2}{\partial t^2} \end{pmatrix} G(\mathbf{x}, \lambda) \quad (\text{A.1})$$

Nous pouvons diagonaliser cette matrice également et obtenir les 4 valeurs propres : $\nu_1 < \nu_2 < \nu_3 < \nu_4$.

La fonction de Jerman est dérivée de l'inégalité arithmético-géométrique. La moyenne géométrique de n réels strictement positifs $x_1, \dots, x_n$ est inférieure à leur moyenne arithmétique :

$$\sqrt[n]{\prod x_i} \leq \frac{1}{n} \sum x_i \quad (\text{A.2})$$

En effet, si on vient remplacer les x_i par les valeurs propres, on obtient :

$$\sqrt[4]{\prod \nu_i} \leq \frac{1}{4} \sum \nu_i \quad (\text{A.3})$$

$$|\det(\mathbf{H})| \geq \frac{|\text{tr}(\mathbf{H})|^4}{4^4} \quad (\text{A.4})$$

Par conséquent, le ratio $v = \frac{|\det(\mathbf{H})|n^n}{|\text{tr}(\mathbf{H})|^4} \in [0, 1]$ représente la similitude du volume formé à une structure sphérique. En effet, on a vu dans la section que pour des matrices hessiennes 3D, si les 3 valeurs propres sont du même ordre de grandeur, alors la structure locale s'approche

d'une structure sphérique, donc si $\nu_1 \approx \nu_2 \approx \nu_3$ alors :

$$v = \frac{|det(\mathbf{H})|3^3}{|tr(\mathbf{H})|^3} \quad (\text{A.5})$$

$$\approx \frac{|\nu_1^3|3^3}{|4\nu_1|^3} = 1 \quad (\text{A.6})$$

Ce qui se généralise à la dimension 4. Or, on veut nous conserver des structures tubulaires, donc le ratio suivant, en 3D, proposé par Jerman et al. [49] est plutôt étudié :

$$v = |(\nu_2 - \nu_1)\nu_2\nu_3| \left[\frac{3}{|2\nu_2 - \nu_1 + \nu_3|} \right]^3 \quad (\text{A.7})$$

En effet, cela supprime plutôt les structures sphériques car si $\nu_1 \approx \nu_2$ alors $V = 0$, et dans le cadre de structure tubulaire où $\nu_1 << \nu_2 \approx \nu_3$ alors :

$$V \approx |\nu_2^3| \left[\frac{3}{3\nu_2} \right]^3 = 1$$

Finalement, la fonction du filtre a été réécrite de la sorte :

$$V = |\nu_2^2\nu_3| \left[\frac{3}{2\nu_2 + \nu_3} \right]^3 \quad (\text{A.8})$$

Puis, en remplaçant ν_3 par une valeur propre de régularisation ν_ρ on introduit le paramètre τ pour considerer les différents contraste entre les structures :

$$V = \nu_2^2 (\nu_\rho - \nu_2) \left(\frac{3}{\nu_2 + \nu_\rho} \right)^3 \quad (\text{A.9})$$

avec :

$$\nu_\rho = \begin{cases} \nu_3 & \nu_3 > \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) & 0 < \nu_3(z, x, t) \leq \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (\text{A.10})$$

Par conséquent, nous avons naturellement proposé la fonction suivante pour filtrer les structures tubulaires en 4D :

$$V = \nu_2^2 \nu_\rho \nu_\phi \left(\frac{4}{2\nu_2 + \nu_r h o + \nu_\phi} \right)^4 \quad (\text{A.11})$$

Avec

$$\begin{aligned} \nu_\rho &= \begin{cases} \nu_3 & \nu_3 > \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) & 0 < \nu_3(z, x, t) \leq \tau \max_{(z,x,t)} \nu_3(z, x, t) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \\ \nu_\phi &= \begin{cases} \nu_4 & \nu_4 > \tau \max_{(z,x,t)} \nu_4(z, x, t) \\ \tau \max_{(z,x,t)} \nu_4(z, x, t) & 0 < \nu_4(z, x, t) \leq \tau \max_{(z,x,t)} \nu_4(z, x, t) \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \end{aligned} \quad (\text{A.12})$$