

Titre: Modulation de la rétrodiffusion de microbulles en imagerie
ultrasonore : application à la planification de procédures de thérapie
ultrasonore et à la microscopie de localisation ultrasonore
Title:

Auteur: Samuel Desmarais
Author:

Date: 2023

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Desmarais, S. (2023). Modulation de la rétrodiffusion de microbulles en imagerie
ultrasonore : application à la planification de procédures de thérapie ultrasonore
et à la microscopie de localisation ultrasonore [Mémoire de maîtrise,
Polytechnique Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/55221/>
Citation:

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

URL de PolyPublie:
PolyPublie URL: <https://publications.polymtl.ca/55221/>

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

Programme: Génie physique
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Modulation de la rétrodiffusion de microbulles en imagerie ultrasonore :
application à la planification de procédures de thérapie ultrasonore et à la
microscopie de localisation ultrasonore**

SAMUEL DESMARAIS

Département de génie physique

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

Génie physique

Août 2023

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

**Modulation de la rétrodiffusion de microbulles en imagerie ultrasonore :
application à la planification de procédures de thérapie ultrasonore et à la
microscopie de localisation ultrasonore**

présenté par **Samuel DESMARAIS**

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

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

Frédéric LEBLOND, président

Jean PROVOST, membre et directeur de recherche

Lucien WEISS, membre

DÉDICACE

À mes parents

RÉSUMÉ

Les microbulles sont un élément essentiel dans deux domaines de pointe de la recherche en ultrasons médicaux : la thérapie de perméabilisation de la barrière hématoencéphalique par ultrasons focalisés (FUS-BBBO) et la microscopie de localisation ultrasonore (ULM). De récents travaux ont identifié une nouvelle façon, appelée la modulation radiale (RM), d'exploiter les caractéristiques acoustiques de microbulles. Ces méthodes utilisent une onde d'excitation pour faire osciller radialement les microbulles et ainsi moduler leurs caractéristiques de rétrodiffusion pour les isoler du signal tissulaire.

La FUS-BBBO est une thérapie ultrasonore qui reçoit actuellement beaucoup d'attention en recherche préclinique et clinique. Elle perméabilise la barrière hématoencéphalique (BBB) de manière temporaire, ciblée, et non invasive pour permettre à des agents thérapeutiques normalement rejetés par la BBB de passer outre cette barrière ouvre la porte au traitement non invasif de nombreuses maladies neurologiques. Pour ce faire, la technique utilise l'action mécanique de microbulles qui oscillent sous un phénomène de cavitation non inertielle dans la zone focale d'un champ acoustique focalisé au travers du crâne. Or, les méthodes qui existent pour cartographier cette cavitation ne sont pas en mesure de résoudre l'anatomie vasculaire la contient. Dans ce projet, une méthode appelée la cartographie active de la cavitation à temps équivalent (ETACI) a été redéfinie à l'aide d'un cadre théorique basé sur l'échantillonnage bande passante (BP-ETACI). La BP-ETACI a été utilisée pour faire la cartographie de la cavitation en FUS-BBBO sur un modèle murin à une résolution suffisante pour visualiser l'anatomie vasculaire. Cette cartographie a été faite de manière transcrânienne à partir de doses de cavitation insuffisantes pour perméabiliser la BBB et a prédit la zone où un agent fluorescent normalement rejeté par la BBB a été observé après sa perméabilisation. La BP-ETACI permet donc d'améliorer le ciblage et peut minimiser les effets secondaires en FUS-BBBO. De plus, elle fournit un nouvel outil dans l'étude de l'interaction entre les microbulles qui cavitent et les vaisseaux sanguins FUS-BBBO.

L'ULM est une modalité d'imagerie super-résolue émergente qui permet de cartographier l'arbre vasculaire jusqu'aux capillaires en profondeur dans les tissus. La technique est basée sur la localisation de microbulles portées par la circulation sanguine et parcimonieuses dans le champ de vue. L'ULM dynamique (DULM), un développement récent, donne accès à la vitesse de flux des vaisseaux sanguins en suivant ces microbulles le long de leur parcours et a été appliqué pour

observer la pulsatilité du flux dans l'arbre vasculaire cérébral. Or, l'ULM a de la difficulté à localiser les microbulles qui évoluent très lentement ou qui stagnent dans les fins capillaires. Effectivement, leur signal est rejeté par la méthode de filtrage standard, basée sur le mouvement, qui est utilisée pour les distinguer du tissu. En principe, puisque la BP-ETACI utilise une propriété intrinsèque des microbulles pour faire cette distinction, elle peut détecter ces microbulles lentes. La BP-ETACI a donc été appliquée pour faire le filtrage tissu-microbulles en ULM. Il a été possible d'obtenir des trajectoires de microbulles super-résolues en fantôme de flux. Des détections de microbulles ont aussi été réalisées de manière transcrânienne in vivo sur le cerveau de souris, mais de manière plus diffuse qu'en fantôme. Des améliorations au montage expérimental sont proposées. Néanmoins, les résultats obtenus sont encourageants et montrent que la BP-ETACI a du potentiel pour étudier le rôle de la stagnation du flux sanguin dans les capillaires dans les maladies neurologiques.

ABSTRACT

Recent works have identified a method, called radial modulation (RM), to highlight microbubble contrast agent signals through tissue clutter in ultrasound imaging. RM uses an ultrasound wave to excite the microbubbles and modulate their backscattering characteristics by making them oscillate radially. Microbubbles are central to two research domains currently being researched in medical ultrasound: Focused-Ultrasound Blood-Brain Barrier Opening Therapy (FUS-BBBO) and ultrasound localisation microscopy (ULM). Incidentally, RM can play a major role to support both FUS-BBBO and ULM.

First, FUS-BBBO is an ultrasound therapeutic technique actively being researched at the preclinical and clinical levels. It disrupts the blood-brain barrier (BBB) locally in a reversible and non-invasive manner. This type of therapeutic intervention allows the use of therapeutic drugs that are normally excluded from the central nervous system by the BBB to be used non-invasively to treat neurological diseases. FUS-BBBO permeabilizes the BBB using the mechanical action of microbubbles oscillating, a phenomenon called non-inertial cavitation, in the focal zone of an ultrasound field focused through the skull. However, current methods to map this cavitation cannot resolve the vascular anatomy that contains the cavitating microbubbles. For this project, a method called Equivalent-Time Active Cavitation Imaging (ETACI) was updated with a framework based on Bandpass Sampling (BP-ETACI). BP-ETACI was used to map cavitation transcranially in the mouse brain at a resolution which showed cavitation bearing blood vessels in FUS-BBBO. The mapping was done with cavitation doses that did not permeabilize the BBB and predicted the region where a large fluorescent tracer normally blocked by the BBB leaked in the brain tissue after FUS-BBBO. BP-ETACI thus improves targeting in FUS-BBBO and can be used to minimize off-target effects. It also provides a new tool in the study of cavitation at a vascular scale in FUS-BBBO.

Second, ULM allows for super-resolved imaging of blood vessels down to capillaries at depth in tissues. The technique is based on the localization of microbubbles circulating inside blood vessels and sparsely distributed in the field of view. Dynamic ULM (DULM), a recent development, uses the tracking of these microbubbles to assess the local flow speed in blood vessels. It was able to measure pulsatile flow in the brain vasculature. However, ULM relies on the movement of microbubble to distinguish them from tissue and has difficulty localising microbubbles that stall in capillaries. BP-ETACI was applied as an alternative way to do this filtering step, since it uses a

property inherent to microbubbles instead of movement to separate them from tissue signals. Super-resolved trajectories of the microbubbles flowing in a channel phantom were obtained. Using the method transcranially in the mouse brain yielded microbubble detections that were more diffuse than the phantom study. Improvements to the experimental setup were proposed. Nonetheless, the results are encouraging for the use of BP-ETACI in ULM in vivo to study the role of capillary stalling in neurological diseases.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
RÉSUMÉ.....	IV
ABSTRACT	VI
LISTE DES FIGURES.....	XII
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XVI
CHAPITRE 1 INTRODUCTION	1
1.1 Échographie	1
1.1.1 Principe pulse-écho	1
1.1.2 Formation d'images.....	2
1.1.3 Dimension de l'élévation	3
1.1.4 Paradigme ultrarapide	4
1.1.5 Échographie Doppler.....	6
1.1.6 Agents de contraste en échographie	8
1.2 Détection de microbulles par modulation de leurs caractéristiques de rétrodiffusion	8
1.3 Ouverture de la barrière hématoencéphalique avec l'ultrason focalisé.....	9
1.4 Microscopie de localisation ultrasonore	9
1.5 Hypothèse et Objectifs.....	11
CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE	12
2.1 Utilisation de microbulles et de leurs caractéristiques acoustiques.....	12
2.2 Méthodes de détection de microbulles basée sur la RM	13
2.3 Cartographie de la cavitation en FUS-BBBO.....	15
2.3.1 Signature acoustique de microbulles en cavitation	15
2.3.2 Cartographie passive	16

2.3.3	Cartographie active	17
2.4	Méthodes alternatives de détection des microbulles en ULM.....	17
CHAPITRE 3	MÉTHODES.....	19
3.1	Cadre théorique.....	19
3.1.1	Signal provenant du mouvement.....	19
3.1.2	Modulation	20
3.1.3	Parcimonie du spectre	20
3.1.4	Échantillonnage.....	21
3.1.5	Isolation des microbulles.....	22
3.1.6	Illustration du cadre théorique.....	23
3.2	Montages expérimentaux.....	23
3.2.1	Montage expérimental 1 : Transducteur monoélément plan.....	25
3.2.2	Montage expérimental 2 : Transducteur monoélément focalisé	26
3.3	Considérations pratiques de la méthode	28
3.3.1	Application à l'ULM.....	29
3.3.2	Application à la cartographie de la cavitation	30
3.4	Expériences additionnelles à celles présentées dans l'article 1	30
3.4.1	In vitro	30
3.4.2	In vivo	32
CHAPITRE 4	: ARTICLE 1 : EQUIVALENT-TIME-ACTIVE-CAVITATION-IMAGING ENABLES VASCULAR-RESOLUTION BLOOD-BRAIN-BARRIER-OPENING-THERAPY PLANNING	33
4.1	Abstract.....	33
4.2	Introduction	34
4.3	Methods	36

4.3.1	Theoretical Framework	36
4.3.2	Experimental Setup	40
4.3.3	Imaging.....	41
4.3.4	In Vitro Experiments.....	42
4.3.5	In Vivo Experiments	43
4.4	Results	45
4.4.1	Illustration of the Theoretical Framework	45
4.4.2	In Vitro Study.....	46
4.4.3	In Vivo Study	49
4.5	Discussion.....	54
4.6	Conclusion.....	56
4.7	Ethics	57
4.8	Funding.....	57
4.9	References	57
CHAPITRE 5	RÉSULTATS ADDITIONNELS NE FIGURANT PAS DANS L'ARTICLE 1	58
5.1	Résultats propres au cadre théorique en BP-ETACI	58
5.1.1	Placement des bandes modulées dans le spectre échantillonné	58
5.1.2	Influence de la cadence d'imagerie	59
5.2	Résultats propres à l'ULM	60
5.2.1	In vitro	60
5.2.2	In vivo	60
CHAPITRE 6	DISCUSSION GÉNÉRALE	62
6.1	Sous-objectif 1 : Cadre théorique, montages expérimentaux et séquence d'imagerie	62
6.2	Sous-objectif 2 : Cartographie de la cavitation	63

6.3	Sous-objectif 3 : Application à l'ULM.....	65
CHAPITRE 7	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	67
RÉFÉRENCES.....		69

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Encodage de la structure du tissu imagé dans le signal rétrodiffusé vers la sonde.....	1
Figure 1.2 Différentes modalités de focalisation de transducteurs ultrasonores. A) Sans focalisation. B) Focalisation à l'aide d'une lentille. Le champ transmis atteint une épaisseur minimale, puis s'élargit rapidement. C) Focalisation électronique.....	3
Figure 1.3 Focalisation dans la dimension de l'élévation pour une sonde linéaire.....	4
Figure 1.4 Paradigmes d'émission en échographie. A) Paradigme d'émission focalisée. Historiquement, il s'agit du paradigme le plus utilisé. B) Paradigme d'émission ultrarapide en ondes planes.	5
Figure 1.5 Principe de fonctionnement du Doppler pulsé. A) Une structure qui se rapproche de la sonde à une vitesse v_z . B) Le signal reçu par la sonde en provenance de la structure de tir en tir. Puisque la structure se rapproche de la sonde, le retour est observé de plus en plus tôt et le signal est déphasé de tir en tir. C) Phase du signal à un instant $t = \tau$ dans l'échantillonnage du temps rapide. D) Spectre correspondant au signal observé à $t = \tau$ dans le temps rapide de tir en tir. Une fréquence unilatérale est observée dans le spectre complexe, puisque la phase change de tir en tir.	7
Figure 2.1 Principe de la modulation radiale. A) Microbulle excitée dans sa bande de résonance. La microbulle est atteinte par un pulse d'imagerie à une phase différente de son excitation de tir en tir. B) Signaux reçus en provenance de la microbulle de tir en tir. Puisque les caractéristiques de rétrodiffusion de la microbulle sont modulées par son oscillation, l'amplitude du signal reçu change. C) Allure temporelle du signal provenant de la microbulle dans le temps lent. D) Spectre du signal provenant de la microbulle dans le temps lent. Une bande bilatérale est ajoutée au spectre par rapport à celui qui aurait été obtenu sans modulation.....	14
Figure 2.2 Techniques passives de suivi de la cavitation. A) Détection passive de la cavitation. Aucune information spatiale disponible. B) Cartographie passive de la cavitation. C) Cartographie passive de la cavitation en utilisant de courts pulses thérapeutiques.	17

Figure 3.1 Diagramme d'organisation des expériences pour le reste du mémoire.....	24
Figure 3.2 Photo de la sonde L8-18i à côté d'une règle centimétrique.	25
Figure 3.3 Schéma du montage expérimental 1 sur un fantôme de flux Humimic Hm2.0. A) Vue dans le plan YZ. B) Vue dans le plan XZ. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022.....	26
Figure 3.4 Schéma du moule imprimé en 3D utilisé pour aligner la sonde à la zone focale du transducteur focalisé.....	28
Figure 3.5 Chaîne de traitement associée à la méthode proposée. A) Données brutes. B) Données reconstruites. Toutes les microbulles dans le champ de vue sont visibles. C) Données filtrées autour d'une bande modulée. Seules les microbulles dans la zone focale du transducteur focalisé sont mises en évidence. D-E) Étapes de post-traitement prévues pour effectuer la cartographie de la cavitation (D) et pour obtenir une image super-résolue (E).	29
Figure 3.6 Image en mode B du fantôme de flux. Le canal est visible en coupe dans le plan d'imagerie et est délimité en pointillé. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022.....	31
Figure 4.1 Spectral View of ETACI Signal Formation. (A) Slow-time-wise spectrum of moving μB . (B) Slow-time spectrum containing the pulsed-Doppler band at $f = 0$ (orange) and modulated bands at $f = -fm; fm$ (blue). (C) Slow-time spectrum that contains non-overlapping bands between $-fs2$ and $fs2$. (D) Slow-time spectrum with overlapping bands between $-fs2$ and $fs2$	39
Figure 4.2 Cut view of the experimental assembly used for all acquisitions.....	41
Figure 4.3 Slow-time spectra predicted by the developed signal framework. (A) Slow-time spectrum of scatterers moving at different speeds. The parameters used are realistically attainable with ultrasound equipment. (B) Slow-time Spectrum averaged over 1000 scatterers with speeds distributed according to a Poiseuille Flow. All other parameters are the same as in (A).	46
Figure 4.4 Mapping the acoustic amplitude of the focused transducer's emission in free field. (A) Plane wave acquisition of agitated dilute microbubbles. (B) Beamforming and coherent compounding. (C) Demodulation and filtering as described in (11) highlights microbubbles	

inside the focal. (D) Cavitation map obtained by accumulating BP-ETACI images over a long timeframe to ensure the agitated microbubbles visited every point of the field of view uniformly. (E) Peak Negative Pressure map over the imaging plane obtained by raster-scanning the focal spot with a hydrophone. Both the raster scan and the BP-ETACI-obtained map give similar results..... 47

Figure 4.5 Cavitation mapping with BP-ETACI when part of the focal spot is obstructed by tissue.

(A) Ultrafast plane wave acquisition of dilute microbubbles flowing in a flow phantom. (B) beamforming and coherent compounding. (C) BP-ETACI cavitation map showing the focal spot interrupted by the phantom walls (D-E-F) Double-sided-slow-time-DFTs averaged over subregions of the field of view. 48

Figure 4.6 Cavitation mapping with BP-ETACI at increasingly fast flow rates. (A) Compounded

frames of dilute microbubbles flowing in a flow phantom. (B) Double-sided-slow-time-DFTs of increasingly fast flow. (C) Zoom over the BP-ETACI demodulation signal band. (D-E-F) Similar cavitation maps obtained at increasingly fast flow rates. (G) Cavitation map when the flow is fast enough to mix the signal bands. 49

Figure 4.7 BP-ETACI cavitation mapping. (A) BP-ETACI cavitation map created when the

focused transducer is OFF. Signal is only visible in vessels where the PD spectrum overlaps with the BP-ETACI spectrum. (B) Slow-time spectrum averaged over selected subregions in the field of view. (C) BP-ETACI cavitation map created from data when the focused transducer is ON. The focal zone becomes visible. (D) Slow-time spectrum averaged over selected subregions in the field of view. 50

Figure 4.8 BP-ETACI-produced cavitation maps show the same structures when built from doses

the do not induce BBBO as when built from data acquired over a BBBO procedure. (A-C) Cavitation maps produced with doses that do not open the BBBO. (D-F) Cavitation maps produced over an entire BBBO procedure. (G-I) Pixel to pixel comparison between non-BBBO and BBBO cavitation maps. (J-L) Mean BP-ETACI intensity over the therapeutic focused bursts. The bursts used to build the non-BBBO and the BBBO cavitation maps are highlighted, and the moment μB were injected is indicated. 51

Figure 4.9 Transcranial BBBO prediction in the in vivo mouse with BP-ETACI cavitation maps.

(A-F) Cavitation maps (red) produced in each animal of the study overlayed on a B-mode

image of the skull (gray). (G-L) Correspondence between the cavitation map (red) and the ULM-mapped vasculature (Blue). The ULM vascular map for K was not available. (M-R) Evans blue fluorescence showing the extent of the delivery area. The dynamic range was adjusted for each fluorescence image to show either single sided openings or the absence of opening. (M-O) In the mapping-only group, no Evans blue extravasation. (P-R) in the BBBO-group, single sided Evans blue extravasation consistent with the position of the focal zone. 53

Figure 5.1 Spectre fréquentiel selon les paramètres de repliement. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022. 58

Figure 5.2 Spectre fréquentiel selon la cadence d'imagerie. Les bandes modulées pour chaque condition expérimentale sont indiquées par des flèches. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022. 59

Figure 5.3 Trajectoires super-résolues obtenues après un traitement ULM à partir d'acquisitions sur fantôme de flux. A) Trajectoires obtenues après l'extraction du signal des microbulles avec la SVD. Des trajectoires sont détectées dans tout le canal du fantôme. B) Trajectoires obtenues après l'extraction du signal des microbulles avec la BP-ETACI. La détection des trajectoires est limitée à la zone focale du transducteur focalisé. 60

Figure 5.4 Densité de détection de microbulles par ULM de manière transcrânienne sur le cerveau de souris in vivo. Blanc) détections de microbulles après l'extraction du signal des microbulles avec la SVD. Jaune) détections de microbulles après l'extraction du signal des microbulles avec BP-ETACI..... 61

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

BBB	Blood-Brain Barrier
BBBO	Blood-Brain Barrier Opening
BP-ETACI	Bandpass Equivalent Time Active Cavitation Imaging
DAS	Delay and Sum
DULM	Dynamic Ultrasound Localization Microscopy
ETACI	Equivalent Time Active Cavitation Imaging
FUS-BBBO	Focused Ultrasound Blood-Brain Barrier Opening
PAM	Passive Acoustic Mapping
PCD	Passive Cavitation Detector
PRF	Pulse Repetition Frequency
PSF	Point Spread Function
RM	Radial Modulation
SURF	Second-order Ultrasound Field Imaging
SVD	Singular Value Decomposition
ULM	Ultrasound Localization Microscopy
uRMI	Ultrafast Radial Modulation Imaging

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Échographie

L'échographie est la modalité d'imagerie médicale privilégiée pour observer les phénomènes dynamiques et transitoires. En échographie, une sonde est posée sur la surface du corps vis-à-vis l'organe à étudier. Des ondes acoustiques de fréquences ultrasonores sont émises par la sonde, se propagent dans les tissus et sont rétrodiffusées par ceux-ci, selon leur différence d'impédance acoustique. Le signal rétrodiffusé est alors capté et celui-ci encode la structure des tissus selon leurs propriétés acoustiques, comme illustré sur la figure 2.1.

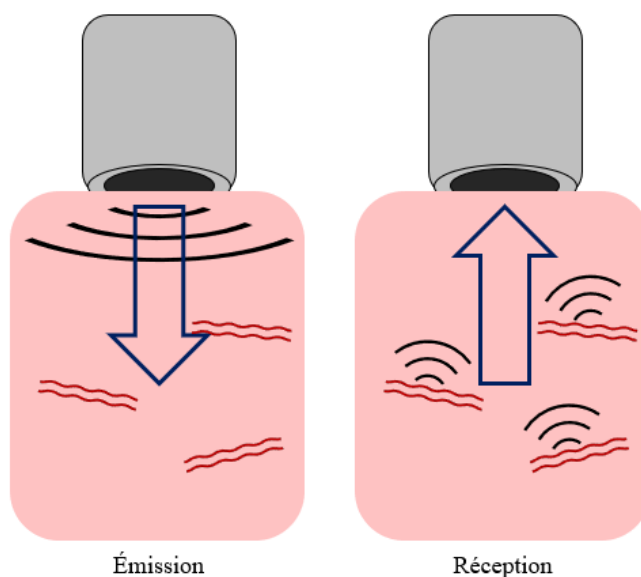


Figure 1.1 Encodage de la structure du tissu imagé dans le signal rétrodiffusé vers la sonde

1.1.1 Principe pulse-écho

L'onde acoustique est émise par la sonde sous la forme d'un pulse court. Ce pulse se propage dans les tissus et subit de l'atténuation, de la diffraction, et de la diffusion. Pour former une image, le pulse doit se propager vers une structure, être rétrodiffusé, puis se propager de la structure à la sonde pour être enregistré. Tout le long du parcours du pulse, une partie de l'énergie du pulse est transmise alors qu'une autre partie est rétrodiffusée vers la sonde. Le signal reçu par la sonde est donc composé d'une superposition de pulses reçus à différents instants. En connaissant la vitesse

du son dans le milieu, il est possible de déterminer à quelle distance se trouvent les structures en calculant le temps que le pulse met à revenir après avoir été rétrodiffusé.

Plus ces pulses sont courts, plus il est possible de les distinguer entre eux et donc plus la résolution axiale est petite. La résolution axiale d'un système d'échographie est liée à la longueur l du pulse par l'équation suivante :

$$R_a = \frac{l}{2} = \frac{Nc}{2f} \quad (1)$$

Où l est la longueur spatiale du pulse, N est le nombre de cycles contenus dans l'enveloppe du pulse, f est la fréquence du pulse et c est la vitesse du son dans le milieu où se propage le pulse [12]. Il est possible de remarquer que la résolution axiale est améliorée en réduisant le nombre de cycles dans le pulse et en augmentant la fréquence.

1.1.2 Formation d'images

Une sonde, si elle ne focalise pas ses pulses latéralement, obtient de l'information portant sur une large section de tissu, tel que montré à la figure 2.2 A. L'ajout d'un moyen de focalisation permet de limiter la provenance de l'information à un fin faisceau de tissu. La résolution latérale de la sonde dépend de la géométrie de ce faisceau. La résolution latérale est la meilleure à la distance focale d , qui correspond à la profondeur où le faisceau est le plus fin. La largeur du faisceau L_d est donnée par l'équation suivante :

$$L_d = \frac{\lambda d}{D} \quad (2)$$

Où λ est la longueur d'onde et D est la largeur de l'ouverture de la sonde [12].

Les premières sondes ultrasonores étaient constituées d'un seul élément piézo-électrique accompagné d'une lentille ou géométriquement conçu pour focaliser l'onde, tel que montré à la figure 2.2 B. Elles produisaient donc une « image » unidimensionnelle où l'amplitude représente la rétrodiffusion des ultrasons par les tissus selon la profondeur. Cette méthode d'échographie est appelée le mode A.

L'ajout d'un mécanisme de balayage mécanique a permis l'obtention d'une image en deux dimensions, la dimension axiale et la dimension latérale. L'image est créée à partir de plusieurs événements d'émission-réception et la sonde est incrémentalement balayée entre chaque événement, de manière à former l'image colonne par colonne. Cette méthode d'échographie est

appelée le mode B. Les sondes à mécanisme de balayage ont éventuellement été remplacées par des sondes comportant une barrette d'éléments piézo-électriques, qui permettent une focalisation électronique décalant l'émission du pulse selon une loi de focalisation pour chaque élément, tel que montré sur la figure 2.2 C. En modifiant la loi de délais, il est possible de focaliser le pulse transmis sur chaque colonne du champ de vue sans pièce mobile.

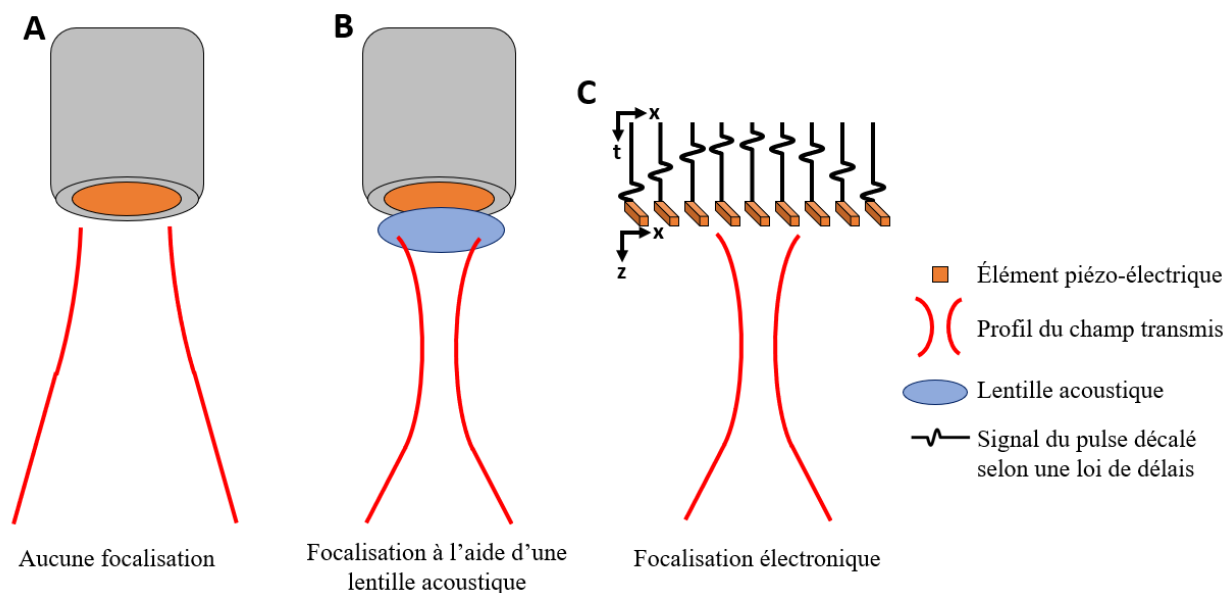


Figure 1.2 Différentes modalités de focalisation de transducteurs ultrasonores. A) Sans focalisation. B) Focalisation à l'aide d'une lentille. Le champ transmis atteint une épaisseur minimale, puis s'élargit rapidement. C) Focalisation électronique.

1.1.3 Dimension de l'élévation

La plupart des sondes échographiques créent une image bidimensionnelle. L'utilisation d'une lentille cylindrique de longueur focale $d_{\text{élévation}}$ fixe permet de focaliser chaque pulse dans la dimension de l'élévation et ainsi de réduire l'épaisseur élévationnelle du volume imagé. Une image en mode B contient donc de l'information provenant d'une tranche de tissu d'une épaisseur donnée, qui est limitée par l'ouverture de la sonde en élévation $D_{\text{élévation}}$, la longueur focale $d_{\text{élévation}}$ et la longueur d'onde λ , comme pour la dimension latérale. De plus, l'utilisation d'une lentille de longueur focale fixe en élévation implique que chaque sonde est calibrée pour former des images à une profondeur $d_{\text{élévation}}$ donnée, tel qu'illustré sur la figure 2.3. Il existe d'autres types de sondes classifiées sous les étiquettes 1.25D, 1.5D, 1.75D et 2D qui utilisent plusieurs barrettes

d'éléments piézo-électriques pour permettre divers degrés de focalisation électronique dans la dimension de l'élévation, mais elles n'ont pas été utilisées dans le cadre de ce projet.

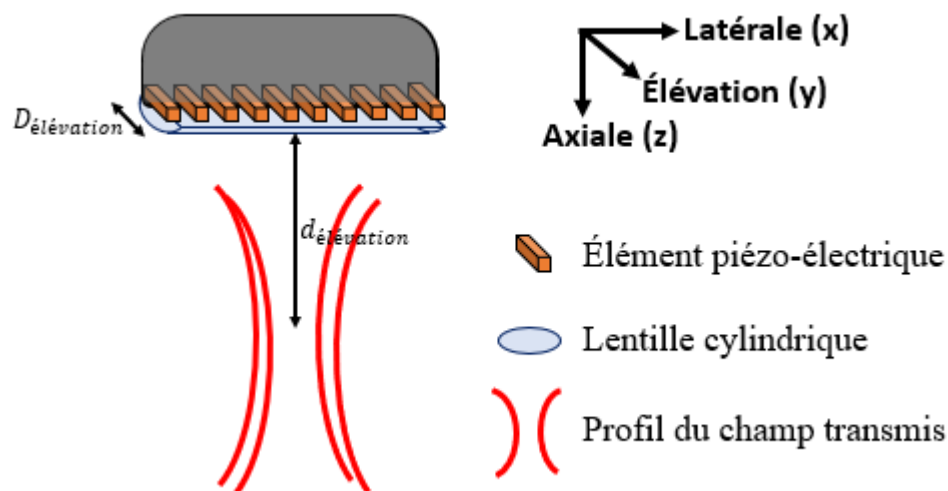


Figure 1.3 Focalisation dans la dimension de l'élévation pour une sonde linéaire

1.1.4 Paradigme ultrarapide

Le facteur limitant la cadence d'imagerie en échographie est la propagation du son. Effectivement, lors de chaque événement d'émission-réception, il faut attendre que l'onde acoustique se propage dans tout le champ de vue, puis qu'elle retourne à la sonde. Pour une profondeur d'acquisition donnée, il y a une fréquence maximale à laquelle des pulses successifs peuvent être émis sans risquer de confondre les signaux de deux tirs successifs. Le nombre de tirs nécessaire pour former une image exerce donc une grande influence sur la cadence d'imagerie maximale qui peut être atteinte. Dès les années 1970-80, des chercheurs ont cherché à réduire ce nombre de tirs en focalisant dynamiquement en réception au lieu de focaliser colonne par colonne en émission, comme sur la figure 2.4 A. Cette méthode, appelée l'échographie ultrarapide, insonifie le champ de vue à l'aide d'ondes planes angulées [13], [14], tel que montré sur la figure 2.4 B.

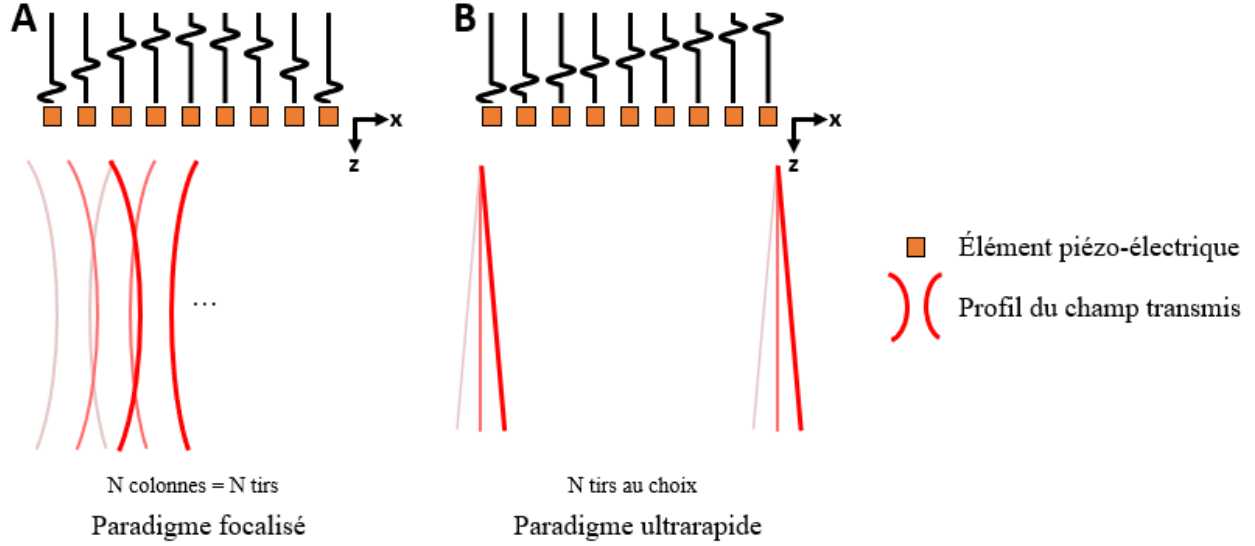


Figure 1.4 Paradigmes d'émission en échographie. A) Paradigme d'émission focalisée. Historiquement, il s'agit du paradigme le plus utilisé. B) Paradigme d'émission ultrarapide en ondes planes.

L'ajout d'une électronique d'échantillonnage et de stockage des signaux bruts enregistrés par chaque élément a permis de développer plus profondément l'ultrarapide afin de l'appliquer au suivi d'ondes mécaniques se propageant rapidement en élastographie pulsée [15]. L'avantage de l'échographie ultrarapide est qu'elle permet de construire une image à partir de quelques événements d'émission-réception. En fait, elle peut même n'utiliser qu'un seul tir pour former une image.

Pour ce faire, un algorithme appelé le 'delay-and-sum' (DAS) est utilisé. À titre d'exemple, l'équation 3 montre le temps de réception du signal en provenance d'un pixel situé aux coordonnées (x_p, z_p) sur un élément situé aux coordonnées $(x_e, 0)$ à partir du temps d'émission d'une onde plane parallèle à la surface de la sonde dans un milieu où la vitesse du son est c . [16]

$$t_r = t_{aller} + t_{retour} = \frac{x_p}{c} + \frac{\sqrt{(x_p - x_e)^2 + (z_p)^2}}{c} \quad (3)$$

En décalant temporellement les signaux reçus sur chaque élément de manière à aligner la contribution de plusieurs éléments et en les additionnant, il est possible de focaliser les signaux reçus sur les coordonnées d'un pixel. Donc, pour trouver la valeur d'un pixel, l'algorithme DAS calcule le temps de réception du signal qui lui correspond sur chaque élément de la sonde et somme

la valeur du signal de chaque élément à cet instant. Pour reconstruire une image, le processus est répété pour chaque pixel.

En utilisant des ondes planes émises à plusieurs angles, et en sommant de manière cohérente leurs contributions, la qualité de l'image est améliorée jusqu'à s'approcher de celle de l'échographie focalisée colonne par colonne, tout en utilisant moins de tirs [16], [17].

1.1.5 Échographie Doppler

L'échographie Doppler a été développée pour estimer la vitesse de flux sanguins. D'abord développée en régime d'émission-réception continue [18], avec différents transducteurs pour l'émission et la réception, la forme d'échographie Doppler la plus couramment utilisée en clinique utilise plutôt une émission pulsée. Cette technique, dénommée « Doppler pulsé » (simplement appelé Doppler dans ce document) [19], n'utilise pas l'effet Doppler pour estimer les vitesses. Elle est plutôt basée sur la mesure de la différence de phase reçue de pulses successifs. Pour comprendre le Doppler pulsé, il est nécessaire d'introduire les termes « temps rapide » et « temps lent », ou *slow time* et *fast time*, respectivement. Ces termes sont utilisés pour désigner différentes échelles de temps en échographie. Le temps « rapide » est le temps à l'échelle d'un événement d'émission-réception. Il est généralement défini à partir du temps d'émission et est utilisé pour calculer le temps de propagation de l'onde acoustique. Le temps « lent » est le temps à l'échelle de l'enchaînement des tirs successifs. Le mouvement d'une structure est observé dans le temps lent. La différence de phase utilisée pour estimer la vitesse est donc observée dans le temps lent. Cette différence de phase s'exprime aussi comme une fréquence dans le temps. L'origine de cette différence de phase est illustrée à la figure 2.5. Une structure qui bouge vers la sonde à une vitesse v_z et qui est imagée à une cadence de tir (PRF) donnée se déplace de $\Delta z = v_z / PRF$ entre chaque tir (figure 2.5 A). Le pulse diffusé par la structure est donc déphasé de

$$\Delta\phi = \frac{2\Delta z f_0}{c} = \frac{2v_z f_0}{PRF c} \quad (4)$$

entre chaque tir (figure 2.5 B-C). Ce déphasage est perçu comme une fréquence Doppler f_d correspondant à l'équation suivante : (figure 2.5 D)

$$f_d = PRF \Delta\phi = \frac{2v_z f_0}{c} \quad (5)$$

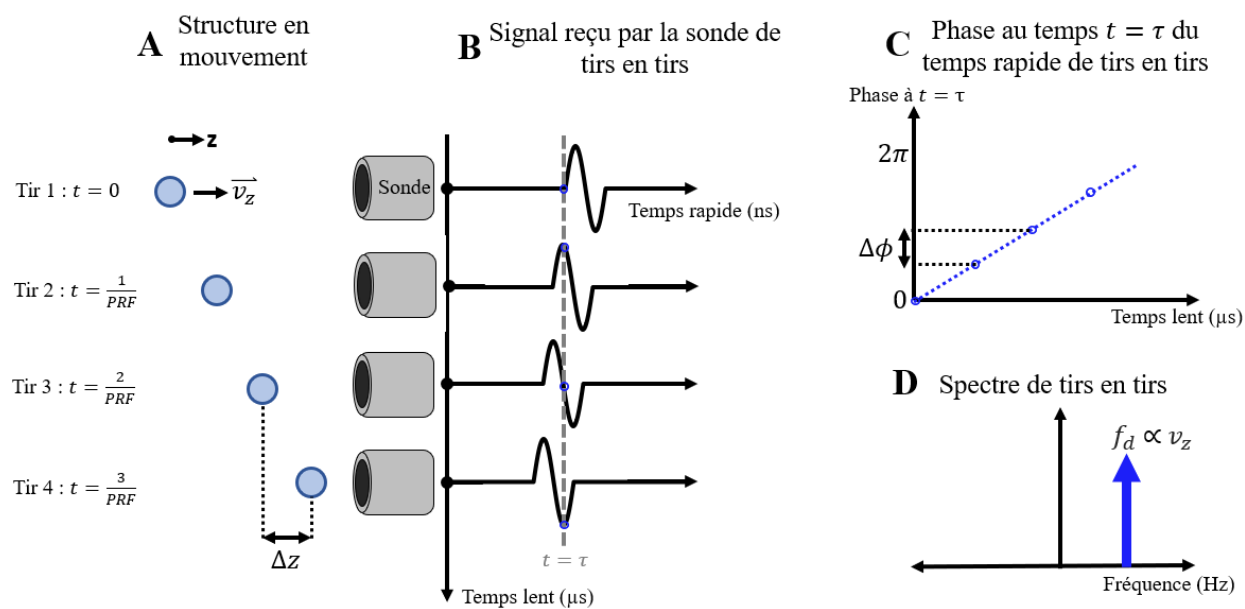


Figure 1.5 Principe de fonctionnement du Doppler pulsé. A) Une structure qui se rapproche de la sonde à une vitesse v_z . B) Le signal reçu par la sonde en provenance de la structure de tir en tir. Puisque la structure se rapproche de la sonde, le retour est observé de plus en plus tôt et le signal est déphasé de tir en tir. C) Phase du signal à un instant $t = \tau$ dans l'échantillonnage du temps rapide. D) Spectre correspondant au signal observé à $t = \tau$ dans le temps rapide de tir en tir. Une fréquence unilatérale est observée dans le spectre complexe, puisque la phase change de tir en tir.

Avant de pouvoir estimer la vitesse, il faut retirer la contribution provenant des structures tissulaires du signal, puisque celles-ci bougent peu. Ce signal est plus fort que le signal provenant du sang et fausserait l'estimation. [20] Ce filtrage est facile à appliquer pour les flots sanguins rapides. Cependant, l'échographie Doppler éprouve de la difficulté à mesurer les flots lents qu'on retrouve dans les veines ainsi qu'aux abords des parois des vaisseaux sanguins. Dans ce cas, la fréquence Doppler du sang est très proche de celle associée au tissu et le filtrage fréquentiel devient difficile. Pour pallier ce problème, une nouvelle technique de filtrage basée sur la décomposition en valeurs singulières (SVD) a été développée [21]. Cette technique décompose le signal en vecteurs propres ordonnés selon leur corrélation spatiotemporelle. Le filtrage SVD ne s'appuie donc pas sur une base purement temporelle, mais sur une base spatiotemporelle, qui lui permet de discerner entre le sang et les tissus de manière plus efficace qu'un filtre fréquentiel. Le filtrage consiste au retrait des vecteurs propres les plus corrélés. L'hypothèse est que le signal provenant du flux sanguin se décorrèle plus rapidement que le signal tissulaire, qui bouge peu au fil du temps. Cependant, pour

effectuer ce filtrage, la SVD doit être alimentée d'une quantité d'information importante et donc le paradigme ultrarapide est utilisé pour augmenter la cadence d'imagerie. Combinés, le filtrage spatiotemporel basé sur la SVD et l'acquisition ultrarapide forment une modalité nommée le Doppler ultrasensible, capable d'isoler le signal sanguin ayant des vitesses beaucoup plus lentes que le Doppler filtré dans le domaine fréquentiel seulement et qui a été utilisé pour faire de l'imagerie fonctionnelle [22].

1.1.6 Agents de contraste en échographie

Le type d'agent de contraste le plus utilisé en échographie est composé d'une suspension de microbulles de gaz stabilisées en solution par une coquille lipidique. La suspension de microbulles est administrée par la voie intraveineuse et, étant trop volumineuses pour s'infiltrer dans les tissus, les microbulles sont confinées dans le système vasculaire. À l'origine, ces microbulles ont été développées pour rehausser la rétrodiffusion d'ultrasons par le sang. Effectivement, étant composées de gaz, ces microbulles rétrodiffusent fortement les ultrasons à cause de leur grande différence d'impédance acoustique avec le sang. Elles ont notamment été utilisées pour produire des images de la vascularisation à des résolutions et à une profondeur jamais atteinte auparavant, grâce à une technique appelée ULM. De plus, les microbulles ont des propriétés acoustiques remarquables. Lorsqu'elles sont excitées à leur fréquence de résonance, elles vibrent et génèrent une convection fluide de haute intensité, un phénomène appelé cavitation non inertielle qui perméabilise les parois des vaisseaux sanguins, dont ceux du cerveau, entourés par la barrière hématoencéphalique. Couplé à l'administration intraveineuse de médicaments présumés efficaces, mais normalement rejetés par la barrière hématoencéphalique, ce pouvoir de perméabilisation ouvre la porte au traitement non invasif de maladies neurologiques.

1.2 Détection de microbulles par modulation de leurs caractéristiques de rétrodiffusion

Comme mentionné plus haut, les microbulles vibrent lorsqu'elles sont excitées par une onde acoustique d'une fréquence proche de leur résonance. Cette vibration est en fait composée d'une oscillation radiale, qui module le volume des microbulles au fur et à mesure qu'elles sont exposées aux cycles de compression et d'expansion de l'onde d'excitation. Or, les caractéristiques de rétrodiffusion d'une microbulle dépendent de son volume. Il a été observé qu'une même microbulle diffuse une onde acoustique haute fréquence différemment selon si elle est en phase de compression

ou en phase d'expansion. Les techniques de détection de microbulles basées sur cet effet sont généralement regroupées sous le nom de techniques RM.

1.3 Ouverture de la barrière hématoencéphalique avec l'ultrason focalisé

Normalement, la barrière hématoencéphalique (BBB), qui agit en défense contre les pathogènes et comme agent régulateur, restreint l'échange entre les tissus cérébraux et le sang grâce aux jonctions serrées qui lient les cellules qui la composent [1]. Elle empêche donc l'utilisation de plusieurs molécules dans le traitement de maladies neurologiques, trop volumineuses pour diffuser au travers. Une approche utilisant les propriétés acoustiques des microbulles pour perméabiliser la BBB de manière ciblée, temporaire et non invasive a été élaborée. Appelée FUS-BBBO, cette thérapie consiste à utiliser focaliser des ultrasons sur une région du cerveau. Lorsque des microbulles sont administrées dans la circulation sanguine et qu'elles passent au travers de la zone focale, elles entrent en cavitation non inertielle et la BBB est perméabilisée localement et temporairement [2]. La FUS-BBBO permet à des molécules et à des agents pharmacologiques relativement volumineux de diffuser au travers de la BBB, et est donc étudiée pour le traitement de maladies neurologiques. Lors de ces traitements, il est important de vérifier la zone atteinte par le faisceau focalisé pour minimiser les effets secondaires [3]. La cavitation non inertielle, utilisée thérapeutiquement en FUS-BBBO, est composée d'une oscillation radiale. Les microbulles qui cavitent ont leurs propriétés de rétrodiffusion modulées par le faisceau focalisé et sont donc détectables par RM. Des travaux en ce sens ont mené l'établissement d'une technique appelée ETACI et à des résultats préliminaires encourageants [4]. Il serait intéressant de développer la technique davantage pour établir son potentiel in vivo sur le cerveau de souris, un modèle animal majeur en neurologie. En ce sens, un des objectifs du projet de maîtrise présenté dans ce document a été d'adapter puis d'utiliser ETACI comme méthode de planification et de suivi de procédures FUS-BBBO sur le cerveau de souris de manière transcrânienne.

1.4 Microscopie de localisation ultrasonore

La microscopie de localisation ultrasonore a été développée pour produire des images du réseau vasculaire à très haute résolution et permet de cartographier les fins capillaires en profondeur dans les tissus. L'ULM se base sur l'observation de microbulles en concentration parcimonieuse. Les microbulles, bien que d'une taille de l'ordre du micron, apparaissent comme des taches beaucoup plus volumineuses, appelées fonctions d'étalement (PSF), sur les images échographiques limitées

en résolution par la diffraction. Cependant lorsqu'elles sont parcimonieuses dans le champ de vue, les PSF sont distinguables les unes des autres dans l'espace-temps [5]. En localisant leur centroïde, et en les accumulant sur une grille super-résolue, il est possible d'obtenir une image du réseau vasculaire à la résolution des capillaires en profondeur dans les tissus. De plus, les microbulles peuvent être suivies le long de leur parcours dans le réseau vasculaire. Alors, en plus de fournir des images super-résolues du réseau vasculaire, l'ULM donne accès à la dynamique vasculaire [6]–[8]. Effectivement, puisque chaque microbulle est suivie, elle fournit de l'information sur la vitesse d'écoulement locale. Cette information dynamique a été mise à profit, notamment à la détection de maladies cérébrales, puisque plusieurs de ces maladies ont des marqueurs et des origines vasculaires [9], [10]. Une étape cruciale de la chaîne de traitement ULM est la séparation du signal des microbulles du reste du signal, issu des tissus, présent sur les images échographiques. Pour ce faire, la décomposition en valeurs singulières (SVD) est l'approche privilégiée. Celle-ci utilise le mouvement des microbulles pour les distinguer du tissu et n'est donc pas en mesure d'isoler le signal de microbulles qui sont immobiles ou très lentes par rapport au tissu. Or, plusieurs maladies neurovasculaires sont associées à un flot qui stagne ou qui est intermittent dans les capillaires cérébraux [11]. Des méthodes alternatives de discernement tissu-microbulles sont donc nécessaires. Il serait intéressant d'explorer une approche basée sur la RM, puisque celle-ci utilise une caractéristique intrinsèque aux microbulles, pas leur mouvement, pour les détecter. Un des objectifs du projet de maîtrise présenté dans ce document est d'appliquer la RM en tant que filtre tissu-microbulles dans le contexte de l'ULM, dans le but d'évaluer si elle pourrait éventuellement détecter les microbulles lentes.

1.5 Hypothèse et Objectifs

L'hypothèse sous-jacente à ce projet de maîtrise est qu'une reformulation de l'ETACI sous une forme utilisant l'échantillonnage bande passante (BP-ETACI) pour détecter la RM est une méthode particulièrement adaptée à la cartographie de zones de cavitation en FUS-BBBO et à la détection de microbulles dans le cadre de l'ULM.

L'objectif principal est d'établir une méthode de RM, qui sera appelée la BP-ETACI, pour application en cartographie de la cavitation et en microscopie de localisation ultrasonore.

Les sous objectifs sont les suivants :

SO1 : Concevoir un montage expérimental, une séquence ultrasonore ainsi qu'une méthode de reconstruction pour la mise en œuvre de la BP-ETACI.

SO2 : Évaluer la pertinence de la BP-ETACI dans le cadre de la cartographie de la cavitation en FUS-BBBO sur le cerveau de souris.

SO3 : Évaluer la pertinence de la BP-ETACI dans le cadre de la microscopie de localisation.

CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE

2.1 Utilisation de microbulles et de leurs caractéristiques acoustiques

Les microbulles mentionnées dans l'introduction ont été utilisées dans l'élaboration de plusieurs techniques d'échographie. Elles ont été utilisées en échocardiographie pour améliorer la délimitation des cavités du cœur [23]. Elles ont été utilisées pour amplifier le signal sanguin et ainsi permettre l'étude de structures microvasculaires, par exemple dans le myocarde [24], le rein [25], [26], et dans divers environnements tumoraux [27]–[29].

Comme mentionné dans l'introduction, elles ont des caractéristiques acoustiques qui ont permis leur utilisation pour élaborer un large éventail de techniques d'imagerie. Voici quelques-unes de leurs propriétés acoustiques ainsi que la manière dont elles sont utilisées en imagerie.

Premièrement, les microbulles peuvent être détruites lorsqu'elles sont exposées à une haute intensité acoustique. Cette propriété a été utilisée pour extraire des métriques semi-quantitatives sur la dynamique de perfusion d'organes via une technique appelée destruction-reperfusion. Suite à l'introduction de microbulles dans la circulation, une forte amplitude acoustique est utilisée pour détruire les microbulles dans le champ de vue. L'arrivée de sang chargé de microbulles en provenance du reste du volume sanguin est alors observée. En comparant le film de l'arrivée du sang chargé en microbulles à une image prise juste après la destruction, qui ne contient donc pas de microbulles, il est possible de déterminer la vitesse de remplacement du sang dans l'organe [30], [31].

Deuxièmement, les microbulles ont une réponse acoustique non linéaire beaucoup plus forte que les tissus. Cette réponse est caractérisée par la production d'échos harmoniques lorsqu'elles sont excitées près de leur fréquence de résonance. Cette propriété favorise leur utilisation comme agent de contraste, puisqu'elle est utilisée pour amplifier leur réponse par rapport à celle du tissu. Elle est aussi utilisée pour améliorer la résolution en reconstruisant les échos harmoniques. La méthode généralement employée utilise une combinaison de tirs, qui, en présence d'une cible à comportement linéaire, s'annulent. Par exemple, deux pulses de phases opposées devraient s'annuler lorsqu'additionnés de manière cohérente, ce qui ne se produit pas pour les microbulles. [32], [33].

2.2 Méthodes de détection de microbulles basée sur la RM

La RM est une autre propriété acoustique des microbulles qui a d'abord été étudiée au début des années 2000. C'est cette propriété qui est étudiée dans ce projet de maîtrise. La RM a d'abord été observée sous une forme à insonation continue en utilisant trois transducteurs. Un transducteur basse fréquence a été utilisé pour induire l'oscillation volumétrique des microbulles, et deux transducteurs haute fréquence ont été utilisés, l'un pour émettre une onde haute fréquence et l'autre pour recevoir le signal diffusé par les microbulles [34]. L'effet modulateur a ensuite été observé lorsque l'onde de haute fréquence est envoyée sous la forme de pulses [35]. Alors, le transducteur de réception à haute fréquence n'est plus nécessaire puisque le transducteur d'émission à haute fréquence peut être commuté en mode réception entre les envois de pulses. Les pulses haute- et basse-fréquence sont synchronisés pour qu'un pulse haute fréquence atteigne les microbulles alternativement en phase de compression et d'expansion du pulse basse fréquence. Le développement de l'imagerie par champ ultrasonore de deuxième ordre (SURF) marque la première utilisation de la RM pour créer une image 2D [36]–[38]. Les transducteurs haute- et basse-fréquence sont assemblés de manière concentrique et montés dans une sonde d'imagerie à balayage mécanique. Cet assemblage facilite la synchronisation entre les deux pulses, car ceux-ci se propagent sur le même axe. Il est alors possible de définir un pulse haute fréquence et une paire de pulses basse fréquence de phases opposées qui font en sorte que lorsqu'une paire de pulses haute- et basse-fréquence est émise de manière simultanée, le pulse haute fréquence « surfe » sur une crête du premier pulse basse fréquence et « surfe » dans une vallée de l'autre pulse basse fréquence. La technique SURF a permis de former des images de contraste dans le rein.

Plus récemment, à partir de 2020, la RM a été étudiée dans le contexte de l'imagerie ultrarapide. La technique est appelée « imagerie par modulation radiale ultrarapide » (uRMI) [39]. En uRMI, une onde d'excitation est émise en continu à la fréquence de résonance des microbulles par un transducteur plan et les microbulles sont imagées à l'aide d'une sonde multiélément haute fréquence en paradigme ultrarapide dans le but d'observer les microbulles à plus de deux phases de RM, comme c'était le cas en SURF. Puisque le nombre de phases du cycle de RM observées est supérieur à 2, l'uRMI remplace la somme cohérente par une opération de démodulation. Des travaux subséquents sur l'uRMI ont identifié que l'utilisation d'une très basse fréquence ultrasonore (100 kHz) était aussi possible profondément dans les tissus et que la détection des microbulles par démodulation peut être remplacée par une détection basée sur la SVD [40], [41].

Dans notre laboratoire, la RM a aussi été utilisée pour détecter les microbulles oscillant volumétriquement dans la zone focale d'un transducteur, une technique appelée ETACI, développée dans le but de monitorer la thérapie par FUS-BBBO [4].

Afin d'étudier la RM, il est possible de faire analogie avec l'échographie Doppler pulsée (figure 2.6). Une microbulle est observée tir par tir. De tir en tir, la microbulle est observée à différentes phases de modulation soit grâce à l'utilisation de l'effet de battement [39], ou soit grâce à l'introduction de délais de l'ordre de la microseconde [4], [41] (figure 2.6 A). Puisque les caractéristiques de rétrodiffusion de la microbulle sont différentes selon la phase RM à laquelle elle est observée, l'amplitude du signal rétrodiffusé par celle-ci est différente de tir en tir (figure 2.6 B). Alors, le signal en provenance de cette microbulle a une fréquence non nulle dans le temps lent (figure 2.6 C). De plus, puisque l'amplitude du signal de la microbulle ne croise jamais zéro, un pic à fréquence nulle est aussi présent dans le spectre (figure 2.6 D). Le signal en provenance du tissu, qui ne subit pas la modulation, se trouve lui aussi dans le pic central à fréquence nulle. Alors, pour utiliser la RM pour séparer le signal des microbulles du reste du signal, il faut isoler une bande modulée et retirer la bande non modulée à fréquence nulle.

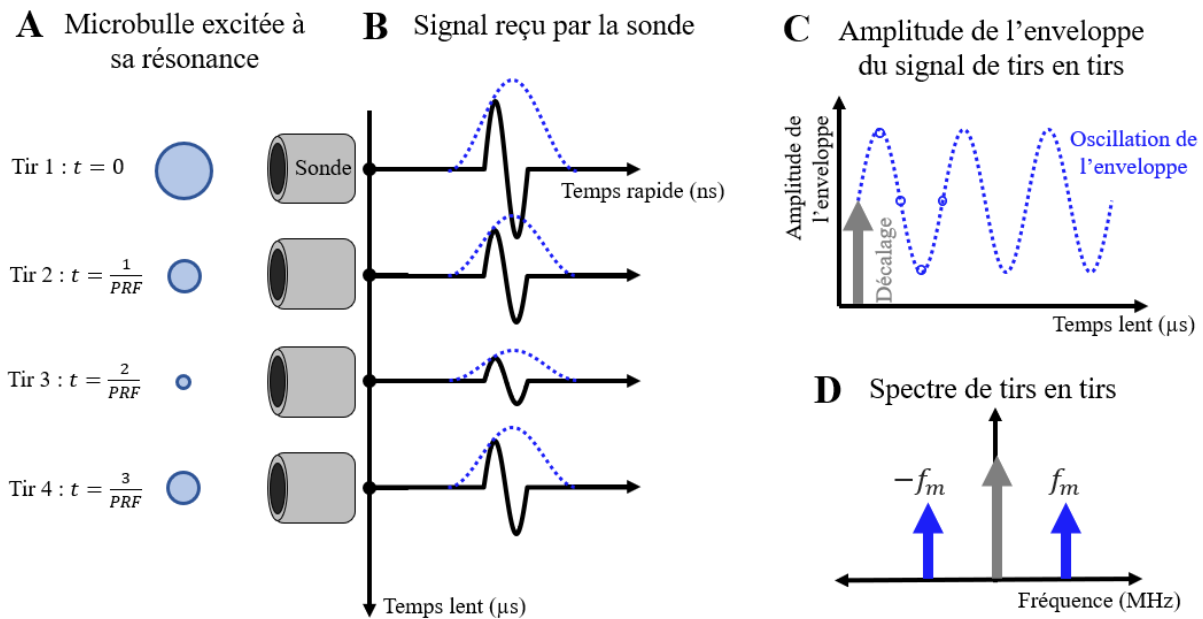


Figure 2.1 Principe de la modulation radiale. A) Microbulle excitée dans sa bande de résonance. La microbulle est atteinte par un pulse d'imagerie à une phase différente de son excitation de tir en tir. B) Signaux reçus en provenance de la microbulle de tir en tir. Puisque les caractéristiques de rétrodiffusion de la microbulle sont modulées par son oscillation, l'amplitude du signal reçu

change. C) Allure temporelle du signal provenant de la microbulle dans le temps lent. D) Spectre du signal provenant de la microbulle dans le temps lent. Une bande bilatérale est ajoutée au spectre par rapport à celui qui aurait été obtenu sans modulation.

Le premier sous-objectif de ce projet de maîtrise comprend l'élaboration d'un cadre théorique pour exprimer l'échantillonnage de la RM sous une nouvelle forme, la BP-ETACI. Cette méthode a été choisie puisque la fréquence de résonance des microbulles, et donc la fréquence de la RM, est de l'ordre des MHz. Or, la fréquence de répétition de pulses est limitée à quelques dizaines de kHz par la vitesse de propagation du son. Ceci rend l'échantillonnage bande passante particulièrement approprié. La combinaison du spectre Doppler et du spectre RM donne un spectre comportant trois bandes de fréquences dont l'étendue est déterminée par la vitesse du flux sanguin, à cause de l'effet Doppler. Pour s'assurer d'une séparation adéquate entre les bandes modulées et la bande non modulée, il faudra que la BP-ETACI permette de contrôler l'étendue du spectre échantillonné ainsi que l'emplacement des bandes modulées dans ce spectre.

2.3 Cartographie de la cavitation en FUS-BBBO

2.3.1 Signature acoustique de microbulles en cavitation

Lorsque les microbulles cavitent sous l'effet des cycles de haute et de basse pression d'une onde acoustique, elles agissent elles-mêmes comme des sources de signal acoustique. Lorsqu'elles sont en cavitation non inertielle, les microbulles émettent aux fréquences harmoniques de la fréquence d'excitation (figure 2.7 A). Dès le milieu des années 2000, cette signature acoustique a été utilisée pour mesurer le niveau de cavitation [42]. Un transducteur monoélément large bande appelé détecteur de cavitation passif (PCD) peut être utilisé pour recevoir les signaux en provenance de la zone focale et faire un suivi de la cavitation lors de procédures thérapeutiques par ultrasons focalisés. Dans le cas de la FUS-BBBO, l'intégration du signal prélevé par un PCD aux fréquences harmoniques de la fréquence thérapeutique a été utilisée comme quantification de la dose de cavitation administrée et une corrélation entre cette dose et les effets du traitement a été établie [43]. La dose de cavitation a aussi été utilisée pour calibrer la puissance d'émission lors de procédures FUS-BBBO [44]–[46]. Cependant, une étude subséquente a déterminé qu'il était difficile d'utiliser la dose de cavitation ainsi mesurée, puisque les signatures acoustiques émises par un nuage de microbulles dépendent de l'angle entre le transducteur thérapeutique et le PCD [47]. De plus, un transducteur PCD, composé d'un seul élément piézo-électrique, ne fournit pas

d'information sur l'allure spatiale de la cavitation. Il est impossible de focaliser dynamiquement les signaux reçus par un PCD pour cartographier la cavitation.

2.3.2 Cartographie passive

Pour remédier au manque d'information spatiale de la technique PCD, plusieurs techniques ont été établies pour reconstruire une image à partir des signaux acoustiques émis par les microbulles lorsqu'elles cavitent. Ces techniques utilisent une sonde multiélément pour capter les signaux émis par les microbulles et les focaliser dynamiquement pour former une image des sources de cavitation. En 2010, une technique appelée cartographie passive de la cavitation (PAM) et qui utilise ce principe a été élaborée [48]. Des techniques de focalisation dynamique de plus en plus complexes qui améliorent la performance de la PAM ont ensuite été développées [49]. L'absence d'émission sous la forme d'un pulse court, et donc de l'information sur le temps de vol de l'onde acoustique, fait en sorte que la résolution axiale des méthodes PAM est dégradée (figure 2.7 B). Néanmoins, La PAM a été utilisée pour guider la cavitation chez la souris [50], chez le rat [51] et chez le primate non humain [52]–[54].

Lorsque l'insonation appliquée par le transducteur focalisé est courte, c'est-à-dire que les pulses thérapeutiques sont formés d'un petit nombre de cycles, comme ceux utilisés en imagerie, il devient possible d'utiliser un algorithme comme le DAS pour reconstruire des images de la cavitation à haute résolution (figure 2.7 C) [55]. Cette technique a été utilisée lors d'une procédure de FUS-BBBO chez la souris [56]. La fonction d'imagerie et la fonction thérapeutique ont aussi été combinées en utilisant une sonde d'imagerie pour mener la FUS-BBBO ainsi que la cartographie de la cavitation [57]. Or, une grande portion des études sur la FUS-BBBO n'utilise pas une insonation thérapeutique sous la forme de pulses courts et l'insonation thérapeutique sous la forme de sinusoïdes longues est couramment utilisée. Dans ce cas, les approches PAM ne peuvent pas produire des cartes de la cavitation à haute résolution axiale et il faut privilégier une approche d'imagerie active.

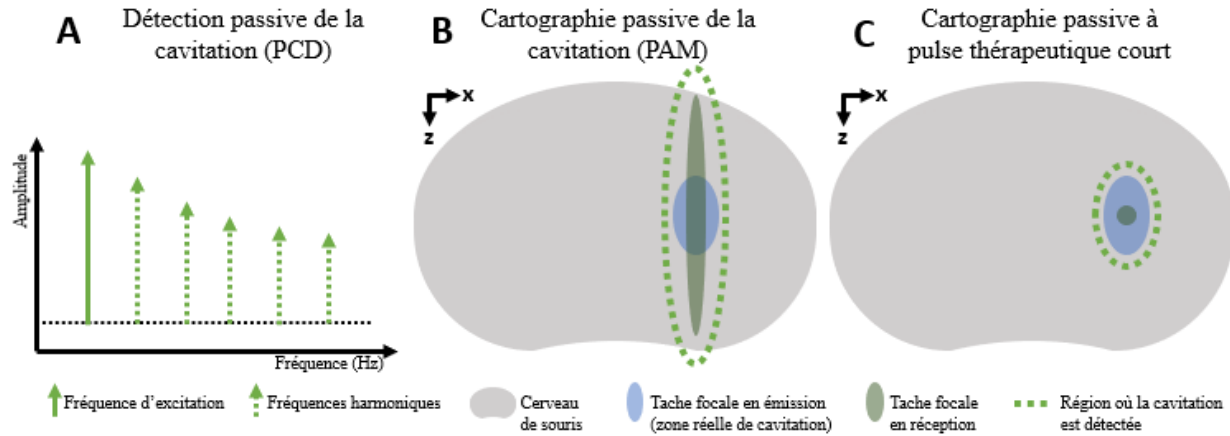


Figure 2.2 Techniques passives de suivi de la cavitation. A) Détection passive de la cavitation. Aucune information spatiale disponible. B) Cartographie passive de la cavitation. C) Cartographie passive de la cavitation en utilisant de courts pulses thérapeutiques.

2.3.3 Cartographie active

L'imagerie active implique que la sonde d'imagerie est utilisée en mode émission-réception au lieu de n'être utilisée qu'en mode réception comme dans le cas de l'imagerie passive. Une technique d'imagerie active de la cavitation appelée ETACI a été développée par notre laboratoire pour palier à ce problème au début des années 2020 [4]. L'ETACI utilise le fait que seules les microbulles situées dans la tache focale du transducteur thérapeutique sont modulées par RM. Donc, en détectant la RM, l'ETACI a été en mesure de former des cartes de la cavitation sur des fantômes d'imagerie, et a donné des résultats préliminaires in vivo.

Dans le cadre du deuxième sous-objectif de ce projet, le cadre théorique de la technique BP-ETACI qui sera élaboré sera utilisé pour mieux comprendre la séparation entre le signal modulé et le signal non modulé, et pour la rendre plus efficace. L'origine des signaux qui forment la carte de cavitation en BP-ETACI sera explorée et il sera déterminé si la BP-ETACI produit des cartes de cavitation adéquates.

2.4 Méthodes alternatives de détection des microbulles en ULM

Comme mentionné dans l'introduction, la méthode privilégiée pour détecter les microbulles et pour isoler leur signal en ULM est l'utilisation d'un filtre spatiotemporel basé sur la SVD. Cependant, il existe aussi des approches alternatives, qui sont utilisées notamment pour détecter les microbulles lentes, ou, à l'inverse, pour détecter les microbulles qui circulent dans un environnement très

dynamique, comme la vascularisation coronaire du cœur. Premièrement, l'imagerie harmonique, développée à la fin des années 1990, décrite plus haut à la section 2.1.6, a l'avantage qu'elle ne dépend pas du mouvement des microbulles pour les distinguer du tissu [32], [33]. Elle a notamment été utilisée pour former des images super-résolues des capillaires coronaires dans le cœur battant en ULM [58]. Deuxièmement, l'imagerie super harmonique, développée un peu plus tard au début des années 2000, utilise la même propriété acoustique des microbulles, c'est-à-dire leur réponse harmonique lorsqu'elles sont imagées à dans leur bande de résonance. En utilisant une telle fréquence pour l'émission et en recevant à l'aide d'éléments dont la bande passante est centrée à une harmonique élevée, seuls les signaux en provenance de structures qui ont une réponse harmonique sont captés [59], [60]. L'imagerie super harmonique a été utilisée pour détecter les microbulles lentes dans le rein en ULM [61].

Les agents de contraste sous forme de microbulles, bien que populaires, ne sont pas le seul type d'agent de contraste en ultrasons. Effectivement, le développement d'une nouvelle classe d'agents de contraste dits à changement de phase a reçu de l'intérêt accru à partir des années 2000. Ces agents sont conçus pour être administrés dans le sang sous forme liquide, puis pour se vaporiser in situ lorsqu'ils sont exposés à une onde ultrasonore d'une intensité supérieure à un seuil. Le signal différentiel entre une image en phase liquide et une image post-vaporisation a été utilisé pour former des images ULM [62], [63].

Le sous-objectif 3 de ce projet de maîtrise consiste à explorer les caractéristiques de RM des microbulles pour les distinguer du tissu en ULM. Comme pour le sous-objectif 2, ceci implique que la méthode BP-ETACI devra être en mesure d'isoler la bande modulée de la bande non modulée. Cependant, un défi additionnel existe dans le cas de l'ULM : la méthode BP-ETACI devra être assez sensible pour distinguer des microbulles seules.

CHAPITRE 3 MÉTHODES

3.1 Cadre théorique

Le sous-objectif 1 de ce projet de maîtrise était d'utiliser la propriété des microbulles qui module leurs caractéristiques de rétrodiffusion lorsqu'elles sont excitées par une onde acoustique dans leur bande de résonance. Particulièrement, il s'agissait d'établir une méthode d'échantillonnage de cette RM en échographie. La difficulté associée à cet objectif est que la cadence d'imagerie atteignable en échographie pulse-écho est limitée par le temps de propagation du son et est de l'ordre de la dizaine de kHz, alors que les microbulles résonnent à une fréquence de l'ordre de quelques MHz, ce qui place la fréquence de RM largement en dehors de la bande de fréquence échantillonnable sans ambiguïté selon le théorème d'échantillonnage de Nyquist. Pour résoudre ce problème, l'échantillonnage bande passante a été utilisé sous la forme d'une nouvelle méthode de cartographie active de la cavitation, appelée la BP-ETACI. Or, le processus de sélection des paramètres d'imagerie à utiliser pour effectuer cet échantillonnage bande passante est complexe. Afin de mieux comprendre les défis associés à cette sélection et à l'utilisation de la modulation radiale in vivo, un cadre théorique comprenant un modèle du signal a été développé. Le modèle développé comprend la contribution de deux phénomènes physiques sur le signal en échographie pulse-écho : le mouvement et la modulation radiale.

Il est à noter qu'une description du modèle théorique présenté dans la section 3.1 est aussi disponible dans l'article 1 à la section 4.3.1, mais la version de l'article 1 est adaptée à la cartographie de la cavitation alors que la version de la présente section est généralisée.

3.1.1 Signal provenant du mouvement

Le mouvement des structures d'intérêt affecte le signal en échographie. Effectivement, une structure rétrodiffusante qui se déplace entre deux pulses d'imagerie induit un décalage entre la phase du signal issu du premier pulse reçu et celle du signal reçu du deuxième pulse. Ce déphasage peut aussi s'exprimer comme une fréquence et le spectre calculé pulse à pulse comporte des fréquences non nulles. Le signal produit par une structure qui se déplace correspond à l'équation suivante :

$$d(t) = h(t) \exp(-i2\pi f_d t) \quad (6)$$

Où $\exp(-i2\pi f_d t)$ est un phaseur de fréquence $f_d = 2v_z f_0 / c$ décalé de la fréquence nulle par le déphasage produit par le mouvement avec c, v_z, f_0 respectivement la vitesse du son, la vitesse de déplacement axiale et la fréquence du pulse d'imagerie. $h(t)$ est un terme qui correspond au temps pour lequel la structure est observée à une certaine profondeur qui peut s'exprimer sous la forme d'une fonction porte de longueur $|Mc/f_0 v_z|$ avec M le nombre de cycles par pulses d'imagerie. Le signal $d(t)$ est le fondement de l'échographie en Doppler pulsé. Il encode la dynamique des structures observées dans le spectre. Ce phénomène est illustré à la figure 4.1 A.

3.1.2 Modulation

En plus du signal issu du mouvement, les techniques RM ajoutent une modulation des caractéristiques de rétrodiffusion au signal provenant des microbulles. Cette modulation a été modélisée sous la forme d'une modulation en amplitude. Le signal provenant d'une microbulle prend alors la forme suivante :

$$s(t) = d(t)[A + B \cos(2\pi f_m t)] = h(t) \exp(-i2\pi f_d t) [A + B \cos(2\pi f_m t)] \quad (7)$$

Avec A et B , des paramètres de la modulation et f_m la fréquence de modulation.

3.1.3 Parcimonie du spectre

Le spectre résultant est parcimonieux. Effectivement, $s(t)$ est composé de :

$$\begin{aligned} s(t) = & A h(t) \exp(-i2\pi f_d t) \\ & + \frac{B}{2} h(t) \exp(-i2\pi(f_m + f_d)t) \\ & + \frac{B}{2} h(t) \exp(-i2\pi(-f_m + f_d)t) \end{aligned} \quad (8)$$

trois bandes de fréquences dans le domaine fréquentiel

$$\begin{aligned} S(f) = & A \pi H(f) * \delta(f - f_d) \\ & + \frac{B\pi}{2} H(f) * \delta((f - f_m) - f_d) \\ & + \frac{B\pi}{2} H(f) * \delta((f + f_m) - f_d) \end{aligned} \quad (9)$$

La première correspond au mouvement (Doppler) des microbulles alors que les deux suivantes sont des translations fréquentielles modulées qui répliquent le signal Doppler $h(t) \exp(-i2\pi f_d t)$ autour de f_m et de $-f_m$.

Pour les vitesses de flux atteintes dans le système sanguin, f_d est de l'ordre de la dizaine de kHz alors que f_m est dicté par la fréquence de résonance des microbulles, de l'ordre de quelques MHz. Le spectre obtenu est donc parcimonieux avec plus d'un ordre de magnitude entre la largeur des bandes fréquentielles et leur espacement, tel qu'illustré sur la figure 4.1 B.

3.1.4 Échantillonnage

Cette parcimonie du spectre permet de conserver la séparation entre les trois différentes bandes de signaux au travers du processus d'échantillonnage bande passante même si l'étendue du spectre échantillonné est beaucoup plus petite que l'étendue des fréquences du phénomène physique réel. Le seul critère est d'utiliser une fréquence d'échantillonnage f_s (ici la cadence d'imagerie) assez élevée pour contenir ces trois bandes côte à côte. Effectivement, un spectre échantillonné est contenu entre $-f_s/2 \leq f < f_s/2$. De plus, selon la théorie sur l'échantillonnage bande passante, le spectre échantillonné est une superposition de toutes les régions spectrales $-f_s/2 \leq f - kf_s < f_s/2$ du signal physique réel pour tous les $k \in \mathbb{Z}$. Le spectre observé est donc

$$S_o(f) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} S(f) * \delta(f - kf_s) \quad (10)$$

Exprimé entre $-1/2 \leq f/f_s < 1/2$, sous une forme normalisée par la cadence d'imagerie, le spectre s'écrit sous la forme suivante :

$$S_o\left(\frac{f}{f_s}\right) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k\right) \quad (11)$$

et celui-ci contient les trois bandes de signaux contenues dans le spectre continu décrit plus haut, c'est-à-dire la bande non modulée, et des répliques spectrales des deux bandes modulées, mais décalées entre $-1/2 \leq f/f_s < 1/2$:

$$\begin{aligned} S_o\left(\frac{f}{f_s}\right) = & S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k_1\right) \\ & + S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k_2\right) \\ & + S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k_3\right) \end{aligned} \quad (12)$$

Toujours avec $k_1 = 0; k_2; k_3 \in \mathbb{Z}$, respectivement les entiers qui décalent la bande non-modulée, la bande modulée centrée à $f = f_m$, et la bande modulée centrée à $f = -f_m$ entre $-1/2 \leq f/f_s < 1/2$.

3.1.5 Isolation des microbulles

Pour détecter adéquatement les microbulles, il est important de garder en tête qu'une acquisition échographique in vivo ne contient pas que des microbulles, mais aussi du tissu. Puisque la RM n'affecte que les microbulles, ces microbulles sont les seules contributrices aux bandes de signaux modulées, alors que la bande non modulée contient du signal provenant du tissu en plus du signal provenant des microbulles. Donc, pour effectuer une séparation du signal tissu-microbulle dans le domaine fréquentiel, il faut s'assurer que les bandes modulées soient repliées de manière à ce qu'elles ne chevauchent pas la bande non modulée et qu'il soit possible d'isoler uniquement le signal d'une bande modulée.

Les bandes sont repliées aux fréquences centrales suivantes :

$$\begin{aligned} 1/2 &\leq 0/f_s - k_1 < 1/2 \\ 1/2 &\leq f_m/f_s - k_2 < 1/2 \\ 1/2 &\leq -f_m/f_s - k_3 < 1/2 \end{aligned} \quad (13)$$

Puisque la bande non modulée est fixée à une fréquence centrale de $f = 0$, il faut que les bandes modulées soient placées loin de la fréquence nulle. Les paramètres qui déterminent ce placement sont f_m et f_s . Effectivement, lorsque le ratio f_m/f_s n'est pas entier, les bandes modulées ne sont pas repliées à $f = 0$. Il faut donc s'assurer de configurer ces paramètres de façon à séparer les bandes de signaux suffisamment pour éviter le chevauchement de l'étalement Doppler qui compose chaque bande. La figure 4.1 C montre un repliement adéquat alors que la figure 4.1 D montre un repliement inadéquat.

Une fois le signal échantillonné de manière à séparer les bandes modulées de la bande non modulée, il faut démoduler le signal autour de l'une des bandes modulées pour extraire l'information associée aux microbulles. Cette démodulation s'effectue au moyen d'un phaseur qui translate le spectre du signal et d'un filtre passe-bas, qui sélectionne les fréquences associées à la bande démodulée, retirant ainsi la contribution des deux autres bandes qui composent le signal.

$$g(t) = LP \left[s(t) \exp \left(i2\pi \left(\frac{f_m}{f_s} - k_2 \right) t \right) \right] = \frac{1}{2} Bh(t) \exp \left(-i2\pi \left(\frac{f_d}{f_s} \right) t \right) \quad (14)$$

Le résultat est une bande de signaux Doppler qui ne contient que la contribution des microbulles.

3.1.6 Illustration du cadre théorique

Afin de montrer comment les équations du cadre théorique produisent un spectre qui sépare les bandes modulées de la bande non modulée, le logiciel de calcul scientifique MATLAB a été utilisé pour illustrer le spectre reçu $S_o(f)$. Le signal $s(t)$ a d'abord été calculé, puis échantillonné à la cadence d'imagerie pour obtenir un vecteur temporel échantillonné 1D. Les paramètres utilisés sont une vitesse du son $c = 1540$ m/s, un pulse d'imagerie centré en $f_0 = 12.5$ MHz et comportant $M = 3$ cycles, une cadence d'imagerie $f_s = 4$ kHz et une modulation de fréquence $f_m = 1.50132$ MHz, paramétrée par $A = 1$ et $B = 0.01$. $h(t)$ a été considéré comme étant une fenêtre de Hann. Dans ces conditions, le ratio f_m/f_s dans l'équation 12 donne 375.33. L'équation 11, avec $k_2 = 375$ et $k_3 = 375$, prédit donc que les bandes modulées seront observées à $f/f_s = \pm 0.33$ dans le spectre.

Le signal temporel 1D correspondant à trois diffuseurs ponctuels pris seuls circulant à différentes vitesses a été calculé, puis le spectre a été tracé pour chacun de ces diffuseurs ponctuels et est montré sur la figure 4.3 A.

Le signal temporel 1D contenant la contribution de 1000 de ces diffuseurs ponctuels circulant en flux de Poiseuille dans un canal de rayon 2.5 mm a aussi été calculé en additionnant les contributions temporelles 1D de chaque diffuseur calculées individuellement, puis le spectre tracé et affiché sur la figure 4.3 B.

3.2 Montages expérimentaux

Maintenant qu'un cadre théorique a été élaboré et qu'il a été utilisé pour sélectionner les paramètres d'imagerie, il faut prendre en considération l'aspect pratique de la méthode et concevoir des montages expérimentaux qui comportent des pièces d'équipement réelles pour mettre en œuvre la BP-ETACI. La technique d'imagerie élaborée lors de ce projet de maîtrise comporte deux aspects importants : l'imagerie échographique, menée à partir d'une sonde multiélément et la modulation, menée à partir d'un transducteur monoélément. Un montage expérimental pour mettre en œuvre cette technique d'échographie doit donc positionner une sonde d'imagerie et un transducteur

monoélément l'un par rapport à l'autre de manière à ce que le plan d'imagerie contienne la région d'intérêt du champ acoustique transmis par le transducteur monoélément. De l'eau peut être utilisée pour faciliter la mise en relation de la sonde et du transducteur monoélément tout en maintenant le couplage acoustique entre ceux-ci et le sujet d'imagerie. Des réservoirs ou des contenants adaptés doivent alors être conçus et des membranes employées pour retenir l'eau dans le montage expérimental tout en permettant la transmission d'ultrasons. Deux montages expérimentaux différents ont été conçus de manière à répondre à ces critères lors de ce projet de maîtrise. La figure 3.1 indique quelles expériences ont été réalisées avec ces montages expérimentaux et dans quel but. Elle est incluse à titre d'aide à la lecture du reste du présent mémoire, puisque bien qu'il comporte l'article 1 qui figure au chapitre 4, il décrit aussi d'autres expériences qui ne sont pas incluses dans l'article.

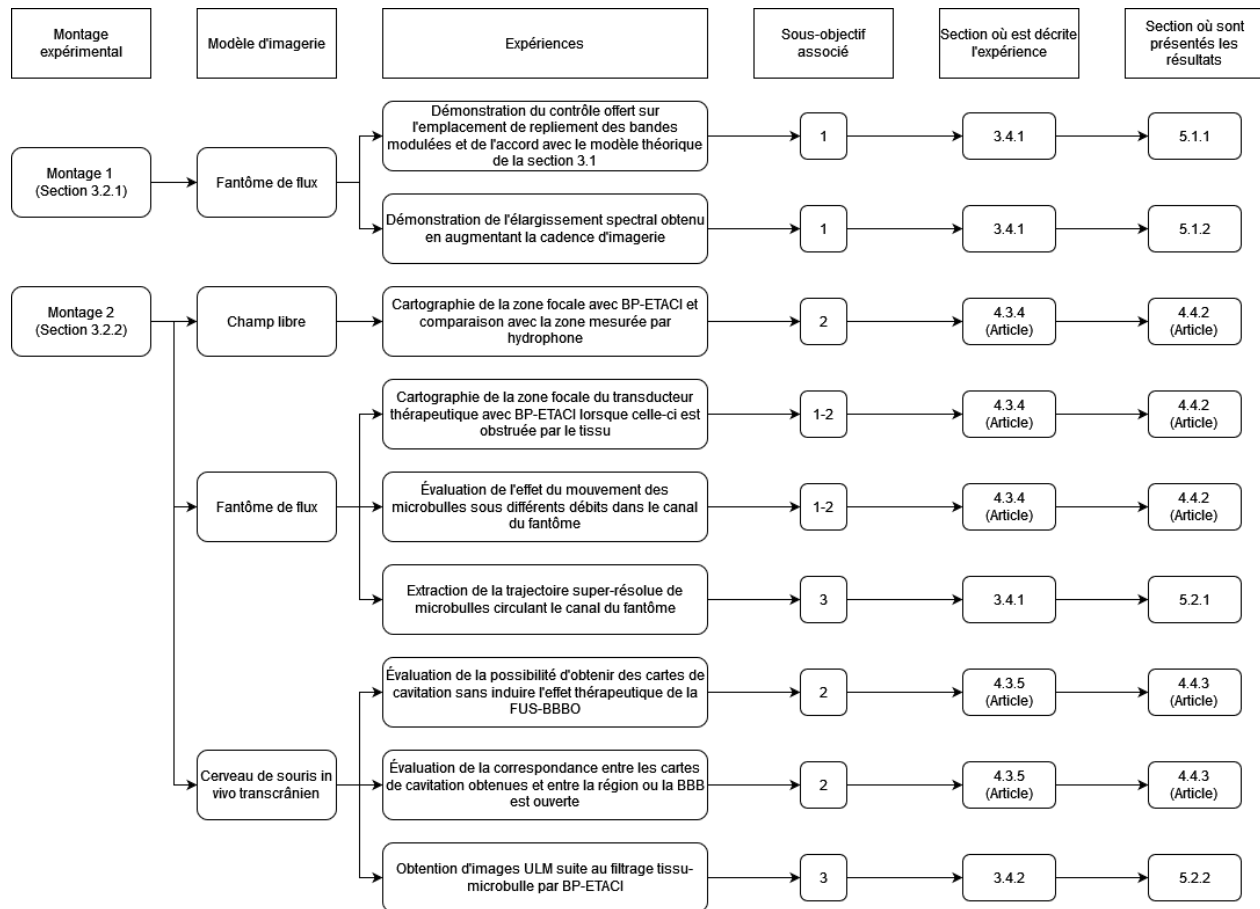


Figure 3.1 Diagramme d'organisation des expériences pour le reste du mémoire.

3.2.1 Montage expérimental 1 : Transducteur monoélément plan

Le montage expérimental 1 est composé d'une sonde d'imagerie L8-18i de GE et d'un transducteur monoélément planaire (non-focalisé) v306 d'Olympus. La figure 3.2 montre une photo de la sonde L8-18i.



Figure 3.2 Photo de la sonde L8-18i à côté d'une règle centimétrique.

Le montage expérimental 1 a été utilisé pour réaliser certaines des expériences in vivo sur fantôme de flux. L'utilisation d'un fantôme de flux donne plus de liberté sur le positionnement des deux composants par rapport à une utilisation in vivo sur le cerveau de souris. Un schéma du montage 1 est disponible à la figure 3.3. Le transducteur plan a été placé de manière à ce que son axe soit perpendiculaire au plan d'imagerie. Le couplage acoustique a été effectué à l'aide de gel échographique qui conduit les ultrasons.

Le montage expérimental 1 a été utilisé avec une séquence d'imagerie qui utilise le transducteur plan v306 ainsi que la sonde d'imagerie L8-18i. La séquence était basée sur le paradigme ultrarapide, avec des émissions d'ondes planes et a été conçue pour mettre en œuvre la BP-ETACI. Les données acquises avec cette séquence ont été utilisées pour étudier l'effet de paramètres d'imagerie sur le spectre échantillonné.

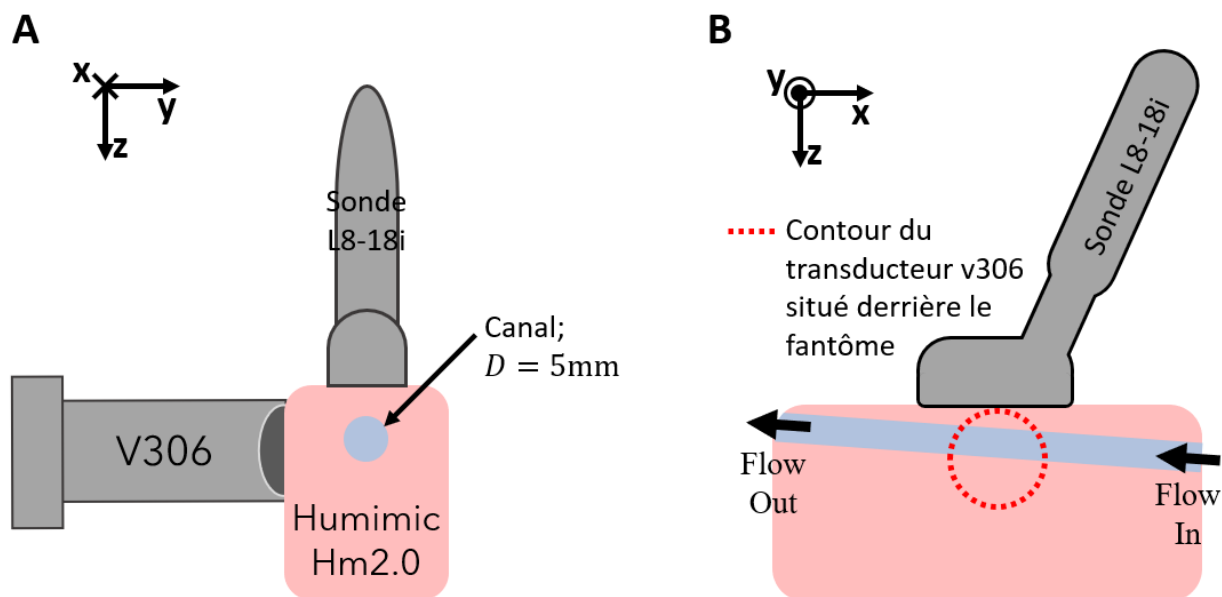


Figure 3.3 Schéma du montage expérimental 1 sur un fantôme de flux Humimic Hm2.0. A) Vue dans le plan YZ. B) Vue dans le plan XZ. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022.

3.2.2 Montage expérimental 2 : Transducteur monoélément focalisé

Le montage 2 est composé d'une sonde d'imagerie de modèle L8-18i conçue par GE et d'un transducteur monoélément focalisé de modèle H-234 conçu par Sonic Concepts. Le transducteur H-234 a été sélectionné puisque le volume de sa zone focale est adapté à une utilisation unilatérale dans le cerveau de souris. Effectivement, les expériences de thérapie ultrasonore dans le cerveau ciblent généralement un seul hémisphère pour obtenir un hémisphère affecté par la procédure thérapeutique et un hémisphère non affecté au sein du même animal pour pouvoir comparer les deux conditions expérimentales plus facilement. De plus, le H-234 a une fréquence centrale de 1.5 MHz, ce qui est proche de la fréquence de résonance des microbulles. Ce montage expérimental a été conçu à des fins de cartographie de la cavitation, mais il a aussi été utilisé pour démontrer l'application de la BP-ETACI à la séparation tissu-microbulles en ULM. Pour une utilisation in

vivo sur le cerveau de souris, d'importantes contraintes d'espace doivent être respectées. Effectivement, avec la souris à plat ventre sur une plaque qui maintient sa température corporelle et avec sa tête maintenue en place à l'aide d'un montage stéréotaxique qui inclut des points d'ancrage aux oreilles et à la bouche, la seule fenêtre acoustique disponible est le haut du crâne. Le design du transducteur focalisé H-234 est torique et inclut une ouverture au centre de la surface d'émission qui permet l'insertion d'une sonde d'imagerie co-axialement à l'axe du transducteur. La figure 4.2 présente un schéma en coupe de ce montage. Les détails sur le design du montage expérimental 2 sont disponibles dans l'article 1 à la section 4.3.2 du présent document.

Une partie importante du design du montage expérimental 2 qui n'est pas décrite dans l'article 1 est l'alignement du plan d'imagerie de la sonde à l'axe de la zone focale du transducteur focalisé. Pour ce faire, les modèles numériques de chaque composant du montage ont été assemblés dans le logiciel fusion 360. Les surfaces délimitant l'espace inclus dans l'assemblage du support, du transducteur focalisé et du réservoir d'eau ont été identifiées. Ces surfaces ont été utilisées pour concevoir un moule pour couler un manchon en silicone ayant deux fonctions. La première fonction du manchon était de maintenir le plan d'imagerie de la sonde aligné à la zone focale du transducteur focalisé. La deuxième fonction du manchon était de sceller le réservoir d'eau à l'ouverture du transducteur focalisé. Pour aligner la sonde à la zone focale, le moule comportait un relief de visée en forme de croix à la position de la zone focale, qui est montré sur la figure 3.4 A. Cette position étant déterminée par la géométrie du transducteur, elle était connue. Pour que le manchon de silicone puisse sceller le réservoir d'eau, le moule comporte une section circulaire du même diamètre que l'ouverture du transducteur focalisé qui est montrée sur la figure 3.4 B. Le moule a été imprimé en 3D avec des parois à l'épaisseur d'un seul trait de filament thermoplastique, pour faciliter le démoulage. Le moule a été rempli d'eau et la sonde immergée, positionnée grâce à la visée, et immobilisée. La position de la sonde dans le moule est montrée à la figure 3.4 C. Une fois l'alignement de la sonde jugé satisfaisant, l'eau a été retirée du moule et remplacée par du silicone durcissable en deux parties. Une fois le temps de durcissement écoulé, le silicone a été extrait du moule et taillé au couteau de manière à assurer le support de la sonde tout en interférant le moins possible avec le champ acoustique du transducteur focalisé.

Le montage expérimental 2 a été utilisé avec deux séquences d'imagerie différentes. Les deux séquences étaient basées sur le paradigme ultrarapide, avec des émissions d'ondes planes. L'une de ces séquences a été conçue pour mettre en œuvre la BP-ETACI. Cette séquence utilise la sonde

L8-18i pour échantillonner la RM induite par le transducteur focalisé H-234. Les données acquises avec cette séquence ont été utilisées pour faire la cartographie de la cavitation ainsi que pour effectuer le filtrage tissu-microbulles en ULM. L'autre séquence utilisée avec le montage expérimental 2 n'utilise pas le transducteur focalisé. Cette séquence a plutôt été conçue pour cartographier le réseau vasculaire dans tout le cerveau avec un filtrage tissu-microbulle basé sur la SVD et un algorithme d'ULM. Les données acquises par cette séquence ont permis de montrer les vaisseaux sanguins dans le plan d'imagerie et d'identifier de quels d'entre eux provient le signal de cavitation. Les séquences d'imagerie conçues pour être utilisées avec ce montage sont décrites en détail dans l'article 1 à la section 4.3.4.

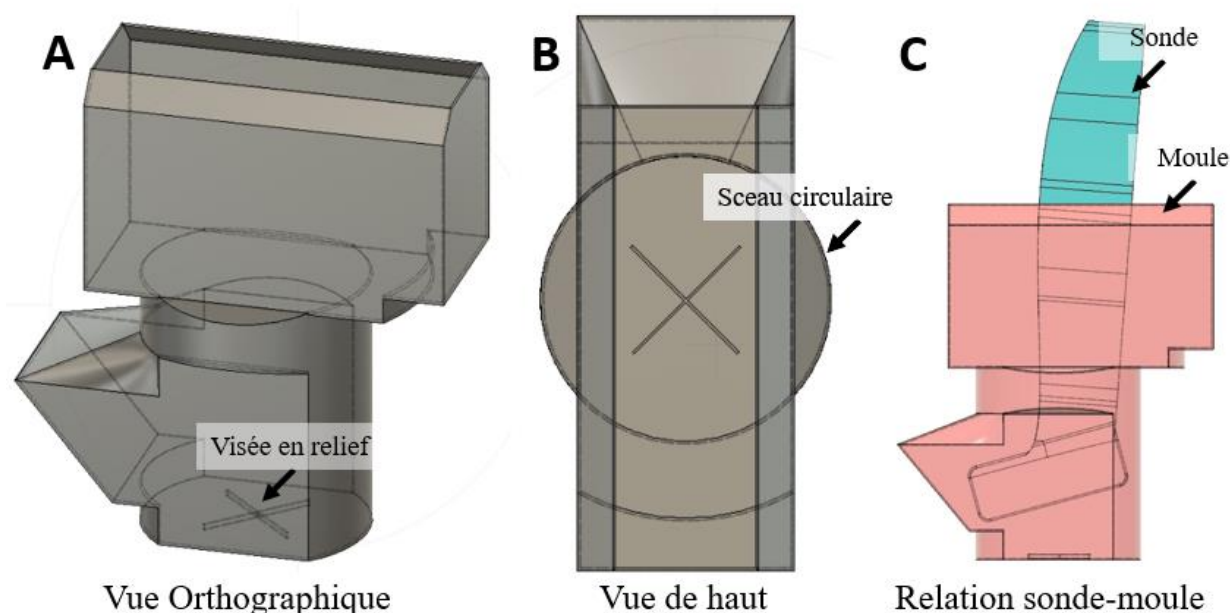


Figure 3.4 Schéma du moule imprimé en 3D utilisé pour aligner la sonde à la zone focale du transducteur focalisé

3.3 Considérations pratiques de la méthode

La BP-ETACI permet de séparer le signal des microbulles du signal du tissu. Les données obtenues grâce à cette méthode sont utilisées différemment selon l'application, comme illustré par la figure 3.5.

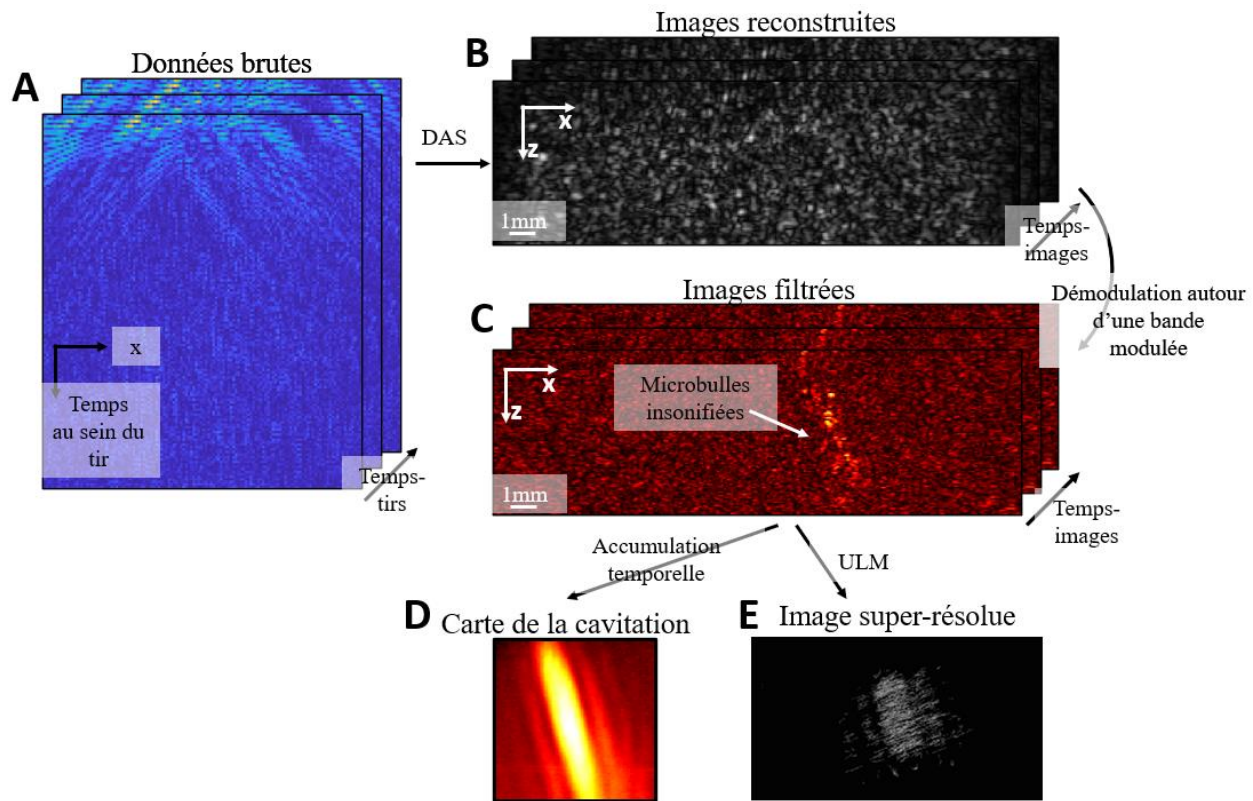


Figure 3.5 Chaîne de traitement associée à la méthode proposée. A) Données brutes. B) Données reconstruites. Toutes les microbulles dans le champ de vue sont visibles. C) Données filtrées autour d'une bande modulée. Seules les microbulles dans la zone focale du transducteur focalisé sont mises en évidence. D-E) Étapes de post-traitement prévues pour effectuer la cartographie de la cavitation (D) et pour obtenir une image super-résolue (E).

3.3.1 Application à l'ULM

Le signal $g(t)$ résultant de la démodulation à l'équation 14 est dépendant de f_d et est dépendant du mouvement des microbulles de la même manière que le signal Doppler non modulé équivalent. Le film de $g(t)$ montre donc les microbulles le long de leur trajectoire, tout en retirant la contribution du tissu. De plus, ce film a la même cadence d'imagerie que la séquence ultrarapide utilisée pour le composer. Il est donc approprié pour paier les microbulles d'une image à l'autre en réduisant les ambiguïtés en ULM.

3.3.2 Application à la cartographie de la cavitation

Les transducteurs utilisés pour mener les procédures de thérapie FUS-BBBO sont focalisés. Le champ acoustique qu'ils produisent est donc restreint à une zone focale. Or, le paramètre B de la modulation dépend de la distribution spatiale du champ acoustique qui l'induit. De cette manière, la distribution spatiale du champ acoustique est contenue dans les bandes modulées, et donc dans $g(t)$, qui peut se réécrire :

$$g(t) = \frac{1}{2}B(r)h(t) \exp\left(-i2\pi\left(\frac{f_d}{f_s}\right)t\right) \quad (15)$$

Avec r , les coordonnées spatiales.

Puisque le spectre est évalué pour chaque pixel du film ultrarapide acquis, le signal $g(t)$ est obtenu pour chaque pixel. Si suffisamment de données sont acquises et en assumant que les microbulles visitent le champ de vue de manière uniforme, il est possible d'intégrer le signal $g(t)$ dans le temps et d'obtenir un estimateur proportionnel à la distribution du champ acoustique produit par le transducteur focalisé avec c une constante.

$$\hat{B}(r) = cB(r) \quad (16)$$

3.4 Expériences additionnelles à celles présentées dans l'article 1

3.4.1 In vitro

Selon le modèle théorique développé à la section 3.1, un contrôle fin sur la fréquence de modulation permet de contrôler où se replient les bandes modulées dans le spectre échantillonné. Le montage expérimental 1 a donc été utilisé pour le démontrer. Deux des parois du fantôme de flux ont été recouvertes de gel de couplage acoustique. Des supports universels ont été utilisés pour aligner et maintenir en place la sonde d'imagerie et le transducteur plan. La sonde a été alignée pour que le plan d'imagerie soit le long de l'axe du canal du fantôme, tel qu'il est possible de le voir sur la figure 3.6. Le canal a été rempli d'une solution de microbulles diluées dans de l'eau à une concentration de 13 $\mu\text{L/L}$ maintenue à débit nul. La fréquence d'imagerie utilisée était de $f_0 = 12 \text{ MHz}$. Une cadence d'imagerie de 1 kHz a été utilisée et la fréquence de cavitation induite par le transducteur plan a été ajustée à des fréquences de 1.1001, 1.1002, 1.1003 et de 1.1004 MHz de manière à replier les bandes modulées à des endroits prédits par le cadre théorique de $f/f_s =$

$\pm 0.1, \pm 0.2, \pm 0.3$ et ± 0.4 , respectivement. Le signal provenant des pixels dans le canal a été moyenné et le spectre calculé pour chaque condition expérimentale.

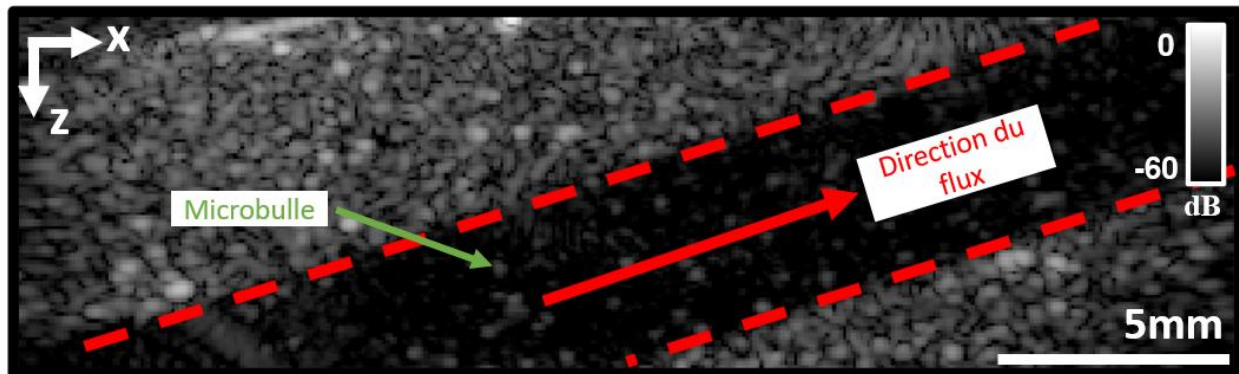


Figure 3.6 Image en mode B du fantôme de flux. Le canal est visible en coupe dans le plan d'imagerie et est délimité en pointillé. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022.

Toujours selon le modèle théorique développé à la section 3.1, l'augmentation de la cadence d'imagerie élargit l'espace spectral disponible dans le spectre échantillonné. Effectivement, puisque la fréquence d'échantillonnage du signal f_s correspond à la cadence d'imagerie, et que le spectre échantillonné s'étend de $-f_s/2$ à $f_s/2$, augmenter la cadence d'imagerie devrait augmenter l'espace spectral disponible pour séparer la bande non modulée des bandes modulées. Le montage expérimental 1 a été utilisé pour le démontrer. Avec le montage expérimental dans la même configuration et avec le canal du fantôme aussi rempli d'une solution de microbulles à une concentration de $13 \mu\text{L/L}$ maintenue à débit nul, la cadence d'imagerie a été ajustée à 0.5, 1.0, 5.0 et 10 kHz. Pour chaque cadence d'imagerie testée, la fréquence de cavitation a été ajustée pour maintenir le repliement des bandes modulées à $f/f_s = \pm 0.3$. Le signal des pixels dans le canal a été moyenné et le spectre calculé pour chaque condition expérimentale.

Ensuite, puisque le modèle théorique de la section 3.1 prévoit que seul le signal des microbulles est modulé par la RM, et donc que seul celui-ci compose les bandes de signaux modulées, il devrait être possible d'utiliser la BP-ETACI comme filtre tissu-microbulles avant l'ULM, ce qui correspond au sous-objectif 3 du projet. Le montage expérimental 2 a été utilisé pour le démontrer. La face supérieure d'un fantôme de flux a été couverte de gel de couplage acoustique. Le montage expérimental a été positionné au-dessus du fantôme à l'aide d'un support universel et aligné de manière à ce que l'axe du canal du fantôme soit dans le plan d'imagerie. Des microbulles ont été

diluées jusqu'à ce qu'elles paraissent parcimonieuses dans le canal du fantôme. Une seringue a été remplie de la solution de microbulles et montée dans un pousse-seringue. La sortie de la seringue a été connectée au canal du fantôme. Le pousse-seringue a été mis en marche et des ensembles d'images ont été acquis avec les mêmes paramètres d'imagerie et de modulation que ceux décrits à la section 4.3.4 du présent document. Une fois les données acquises, elles ont été reconstruites à l'aide d'un algorithme DAS et les angles d'émission ont été additionnés de manière cohérente. Deux façons de traiter les images résultantes ont alors été employées. Pour le premier traitement, utilisant la BP-ETACI, une démodulation telle que celle décrite à l'équation 14 a été appliquée avec un filtre d'une étendue de 1.6 kHz. Pour le deuxième traitement, un filtrage basé sur la SVD a été utilisé pour isoler le signal des microbulles de celui du tissu. Ensuite, pour les deux façons de traiter les données, le film de chaque ensemble d'images a été utilisé pour suivre et localiser les microbulles grâce à un algorithme ULM spatiotemporel [64]. Les trajectoires localisées obtenues pour les deux traitements ont été accumulées sur deux grilles super-résolues.

3.4.2 In vivo

Pour le deuxième sous objectif du projet, c'est-à-dire la production de cartes de cavitation à l'aide de la BP-ETACI, la méthode d'acquisition des données avec le montage expérimental 2 in vivo sur le cerveau de souris est décrite dans l'article 1 aux sections 4.3.4 et 4.3.6 du présent document.

Pour le troisième sous objectif du projet, c'est-à-dire le filtrage tissu-microbulles avant l'ULM à l'aide de la BP-ETACI, la même procédure que celle décrite aux sections 4.3.4 et 4.3.6 a été utilisée pour acquérir des données modulées de manière transcrânienne sur le cerveau de souris. Les données ont été reconstruites par DAS et les angles d'émission ont été sommés de manière cohérente. Ces données ont été traitées de deux façons : un filtrage tissu-microbulle par SVD, l'approche standard en traitement ULM, et un filtrage tissu-microbulles BP-ETACI comme ce qui est décrit à l'équation 14 avec un filtre passe-bas d'une largeur de 2.4 kHz. Ensuite, au lieu d'intégrer le signal temporellement pour faire la cartographie de la cavitation, les films obtenus pour chaque méthode de filtrage ont été utilisés pour suivre et localiser les microbulles grâce au même algorithme ULM spatiotemporel utilisé sur le fantôme de flux in vitro [64]. Les trajectoires localisées obtenues ont été accumulées sur des grilles super-résolues.

CHAPITRE 4 : ARTICLE 1 : EQUIVALENT-TIME-ACTIVE-CAVITATION-IMAGING ENABLES VASCULAR-RESOLUTION BLOOD-BRAIN-BARRIER-OPENING-THERAPY PLANNING

Le développement théorique, la conception, l'expérimentation, l'analyse, la rédaction et la recherche bibliographique ont été effectués par Samuel Desmarais. Gerardo Ramos-Palacios agit à titre de collaborateur important et a effectué la chirurgie animale, l'histologie et il a contribué de son expertise en neurologie et en anatomie.

Soumis à Physics in Medicine and Biology le 07 aout 2023

Authors – Samuel Desmarais¹, Gerardo Ramos-Palacios², Jonathan Porée¹, Stephen A. Lee¹, Alexis Leconte¹, Abbas F. Sadikot², Jean Provost^{1,3}; ¹Polytechnique Montréal, Montréal, Canada; ²Montreal Neurological Institute and Hospital, McGill University, Montréal, Canada; ³Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, Canada

Samuel Desmarais: samuel.desmarais@polymtl.ca, <https://orcid.org/0009-0000-5886-7748>

Gerardo Ramos-Palacios: gerardo.ramos@mail.mcgill.ca, <https://orcid.org/0000-0003-0861-6152>

Jonathan Porée: jonathan.poree@polymtl.ca, <https://orcid.org/0000-0002-4179-9264>

Stephen A. Lee: stephen.lee@polymtl.ca, <https://orcid.org/0000-0002-1315-4266>

Alexis Leconte: alexis.leconte@polymtl.ca, <https://orcid.org/0009-0001-2420-9250>

Abbas F. Sadikot: abbas.sadikot@mcgill.ca, <https://orcid.org/0000-0003-1491-2038>

Jean Provost: **Corresponding Author**, jean.provost@polymtl.ca, <https://orcid.org/0000-0003-2057-2199>

4.1 Abstract

Objective – Linking cavitation and anatomy was found to be important for predictable outcomes in Focused-Ultrasound Blood-Brain-Barrier-Opening and requires high resolution cavitation mapping. However, cavitation mapping techniques for planning and monitoring of therapeutic procedures either 1) do not leverage the full resolution capabilities of ultrasound imaging or 2) place strong constraints on the length of the therapeutic pulse. This study aimed to develop a high-resolution technique that could resolve vascular anatomy in the cavitation map.

Approach – Herein, we develop BP-ETACI, derived from bandpass sampling and dual-frequency contrast imaging at 12.5 MHz to produce cavitation maps prior and during blood-brain barrier

opening with long therapeutic bursts using a 1.5-MHz focused transducer in the brain of C57BL/6 mice.

Main Results – The BP-ETACI cavitation maps were found to correlate with the vascular anatomy in ultrasound localization microscopy vascular maps and in histological sections. Cavitation maps produced from non-blood-brain-barrier disrupting doses showed the same cavitation-bearing vasculature as maps produced over entire blood-brain-barrier opening procedures, allowing use for 1) monitoring FUS-BBBO, but also for 2) therapy planning and target verification.

Significance – BP-ETACI is versatile, created high resolution cavitation maps in the mouse brain and is easily translatable to existing FUS-BBBO experiments. As such, it provides a means to further study cavitation phenomena in FUS-BBBO.

4.2 Introduction

Ultrasound Blood-Brain-Barrier-Opening (FUS-BBBO) with microbubbles (μB) was first observed in rabbits [2] and is an emerging therapeutic tool under clinical trial that has the potential to lessen the impact of neurological diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and brain cancer [65]. The technique is promising because it allows known large molecular weight therapeutic agents to cross the BBB and be effective in the brain.

Other techniques have been studied for promoting the action of diverse pharmacological agents in the central nervous system across the BBB. These techniques include intrathecal injections [66], [67] pharmacological agents that promote BBB permeability [68], and delivery of vectors that readily cross the BBB [69], [70]. FUS-BBBO is of particular interest because focused ultrasound allows the technique to be less invasive and its effect limited to the region of highest intensity in the emitted pressure field.

The BBB disrupting effect of FUS comes from the action of ultrasound on contrast agents composed of μB administered intravenously. As μB circulate and are exposed to the rapidly oscillating pressure in the acoustic field, they undergo rapid changes in size without bursting, a phenomenon termed non-inertial cavitation, which induces intense mechanical and fluidic processes in the immediate surroundings and triggers transport across the BBB [71].

The localized effect of FUS-BBBO requires targeting (1) to ensure that the brain regions requiring treatment receive the therapeutic agent and (2) to minimize off-target delivery. This is especially

important because interaction between different tissue structures and FUS leads to different outcomes depending on the target [72], [73]. Current methods of visualizing the opening include post-therapeutic magnetic resonance imaging (MRI) and concurrent acoustic mapping. MRI of gadolinium in the brain parenchyma is used [2] to verify the extent of BBBO because the gadolinium compounds used as contrast agents in MRI do not cross the undisturbed BBB. Acoustic monitoring is used in FUS-BBBO to minimize damage because inertial and non-inertial cavitation have particular backscatter signatures which are used to distinguish and quantify them [74]. Acoustic mapping approaches use a multi-element imaging transducer to receive scattered signals during FUS sonication and beamform maps of the acoustic activity. Passive Acoustic Mapping (PAM) is one such approach but its axial resolution is limited by the use of continuous mode therapeutic sonication [49]. Imaging transducers can also be used as the receiving component in a pulse-echo ultrasound system where the pulse is provided by the focused transducer. Paired with the use of few-cycles therapeutic pulses comparable to those used in ultrasound imaging, the technique produced B-mode images of the cavitation activity [56]. Therapy and cavitation mapping was also conducted together from the imaging probe [57]. However, to our knowledge, no cavitation mapping technique allows for in vivo vascular-resolution cavitation imaging without requiring very short therapeutic pulses.

Recently, it has been shown that it is possible to map non-inertial cavitation at high resolution using Equivalent-Time Active-Cavitation Imaging (ETACI), Phantom studies demonstrated the correlation between the ETACI signal and pressure levels and showed initial results in vivo [4]. ETACI is a method based on Radial Modulation (RM) where Doppler spectral replicates are generated in the pixels undergoing cavitation. Briefly, RM methods typically use a two-frequency approach where a low-frequency wave is used to modulate the size of μB and thus their scattering characteristics, and a high-frequency pulse is used to image the μB at different phases of the RM cycle.

RM has been used mostly as a μB -contrast imaging technique because the scattering-modulation effect is specific to μB . Work on RM first showed the change in amplitude of a high-frequency wave scattered by microbubbles through RM cycles induced by a low-frequency wave [34] which has been used to measure the size of individual ho μB [75]. μB were found to produce different backscattered signal when high-frequency imaging pulses imaged them in compression and expansion phases of the RM [35]. Second order ultrasound field (SURF) imaging used dual-band

pulses emitted by the imaging probe to image μB in compression and expansion in vivo to conduct contrast imaging [38].

Recently, ultrafast imaging was used to develop contrast RM techniques in phantoms. Ultrafast radial modulation imaging (uRMI) [39] increased the number of sample phases at which the RM cycle is sampled by leveraging ultrafast image formation used demodulation to produce contrast images. Further work identified that RM could be induced by low frequency ultrasound (100 kHz) at depth and that Singular Value Decomposition (SVD)-based extraction of the RM signal was possible in phantoms, making RM more robust to tissue motion [41]. [39], [41] and [4] found artifacts in the form of additional peaks in the Doppler spectrum, which remained unexplained.

The objective of this study was to establish the potential of ETACI to reliably map the non-inertial cavitation produced by a therapeutic transducer at high resolution in the mouse brain in vivo and support BBBO therapy planning. We developed and validated a novel framework for ETACI based on bandpass sampling (BP-ETACI), that solved the spectral artifacts, enabled further uncoupling of the framerate and the modulation frequency, simplifying the method, increasing adaptability by allowing the selection of the aliasing frequency in the received signal, and improving image quality by eliminating spectral artifacts. In vitro, we validated the selectivity of BP-ETACI towards cavitating μB and explored how modulation and Doppler mix. We then illustrated the potential of BP-ETACI by demonstrating that cavitation can be mapped in vivo in mouse models transcranially in the context of FUS-BBBO.

4.3 Methods

4.3.1 Theoretical Framework

First, we develop the equations that describe the framework. Then, we use these equations to trace the shape of the spectrum that would be obtained with the imaging and modulation parameters selected for this study.

Pulsed-Doppler

For pulsed-Doppler (PD), the signal of interest comes from the movement of scatterers between pulse-echo events. As such, the received signal in slow time can be modeled with (1) for a scatterer moving towards the probe at speed v_z , in a medium where the speed of sound is c , and observed with M cycle pulses of center frequency f_0 .

$$d(t) = h(t) \exp(-i2\pi f_d t) \quad (1)$$

Where $h(t)$ is a window of length $|Mc/f_0 v_z|$, which corresponds to the transit time of the scatterer as observed by the system at a fixed depth. The motion of the scatterer is observed as a frequency $f_d = 2v_z f_0/c$ in slow time. This frequency shift is shown in Fig. 4.1. A where the spread of the frequency band is attributed to scatterer motion. [20]

BP-ETACI Modulation

In BP-ETACI, the scatterers are μB and their backscatter amplitude is modulated externally. The received signal can thus be modeled with (2) in which A and B parametrize this modulation.

$$s(t) = d(t)[A + B \cos(2\pi f_m t)] \quad (2)$$

Combining, (1) and (2), we obtain

$$s(t) = h(t) \exp(-i2\pi f_d t) [A + B \cos(2\pi f_m t)] \quad (3)$$

The received signal $s(t)$ develops to a sum of three scaled and gated complex exponentials.

$$s(t) = A h(t) \exp(-i2\pi f_d t) + \frac{B}{2} h(t) \exp(-i2\pi(f_m + f_d)t) + \frac{B}{2} h(t) \exp(-i2\pi(-f_m + f_d)t) \quad (4)$$

In the frequency domain, these complex exponentials yield three signal bands around $f = 0$, $f = f_m$ and $f = -f_m$.

$$S(f) = A\pi H(f) * \delta(f - f_d) + \frac{B\pi}{2} H(f) * \delta((f - f_m) - f_d) + \frac{B\pi}{2} H(f) * \delta((f + f_m) - f_d) \quad (5)$$

The modulating pressure field is not spatially uniform, as it originates from a focused transducer in FUS-BBBO. We can rewrite the received signal as

$$S(f) = A\pi H(f) * \delta(f - f_d) + \frac{\pi}{2} B(r) H(f) * \delta((f - f_m) - f_d) + \frac{\pi}{2} B(r) H(f) * \delta((f + f_m) - f_d) \quad (6)$$

With $B(r)$ the spatial distribution of the focused transducer's pressure field. Thus, the last two bands of $S(f)$ contain information about the spatial distribution of the focused transducer's pressure field. Fig. 4.1. B shows the two bands added by modulating the scatterers amplitude over time. The central band (orange) does not contain $B(r)$ in its expression whereas the two side-bands

(blue) do contain $B(r)$ in their expression. Thus, the central band, which contains unmodulated PD signal from all moving structures, not only from modulated μB , is spurious when mapping cavitation.

Sampling

Using bandpass sampling, one can extract $B(r)$ even when using a framerate f_s much smaller than the modulation frequency. Indeed, for a signal sampled at a sampling frequency f_s , the baseband spectrum contained between $-f_s/2 \leq f < f_s/2$, is the superposition of all bands $-f_s/2 \leq f - kf_s < f_s/2$ for all $k \in \mathbb{Z}$. Thus, the observed spectrum $S_o(f)$ is

$$S_o(f) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} S(f) * \delta(f - kf_s) \quad (7)$$

Applying a change of variables to obtain the spectrum between $-1/2 \leq f/f_s < 1/2$ gives

$$S_o\left(\frac{f}{f_s}\right) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k\right) \quad (8)$$

As such, the received signal contains the three signal bands of (6) between $-1/2 \leq f/f_s < 1/2$

$$S_o\left(\frac{f}{f_s}\right) = S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k_1\right) + S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k_2\right) + S\left(\frac{f}{f_s}\right) * \delta\left(\frac{f}{f_s} - k_3\right) \quad (9)$$

With $k_1 = 0$, k_2 and k_3 obeying these constraints:

$$\{1/2 \leq 0/f_s - k_1 < 1/2\}; \{1/2 \leq f_m/f_s - k_2 < 1/2\}; \{1/2 \leq -f_m/f_s - k_3 < 1/2\} \quad (10)$$

Thus, choosing f_m and f_s so their ratio is not whole separates the signal bands that contain $B(r)$ from the central band, which is fixed at 0 Hz. Fig. 4.1. illustrates the possibility of generating separated bands (C) or superimposed bands at 0 Hz (D).

BP-ETACI Demodulation

Information on $B(r)$ is only present in the spectral bands created by the modulation. Thus, to isolate this information, the slow time-sampled data $s(t)$ must be demodulated at the modulation frequency. The width of the demodulation low-pass (LP) filter is chosen so that only one band of the received signal is preserved. Demodulating around the $f = f_m$ band gives

$$\begin{aligned} g(t) &= \text{LP} \left[s(t) \exp \left(i2\pi \left(\frac{f_m}{f_s} - k_2 \right) t \right) \right] \\ &= \frac{1}{2} B(r) h(t) \exp \left(-i2\pi \left(\frac{f_d}{f_s} \right) t \right) \quad (11) \end{aligned}$$

When sufficient data is acquired, averaging temporally reduces (11) to

$$\hat{B}(r) = q(r)B(r) \quad (12)$$

Where $q(r)$ is the spatial distribution of μB . $\hat{B}(r)$ is thus a quantity that reflects the number of microbubbles and the amplitude of their non-inertial cavitation, which is directly related to the local pressure.

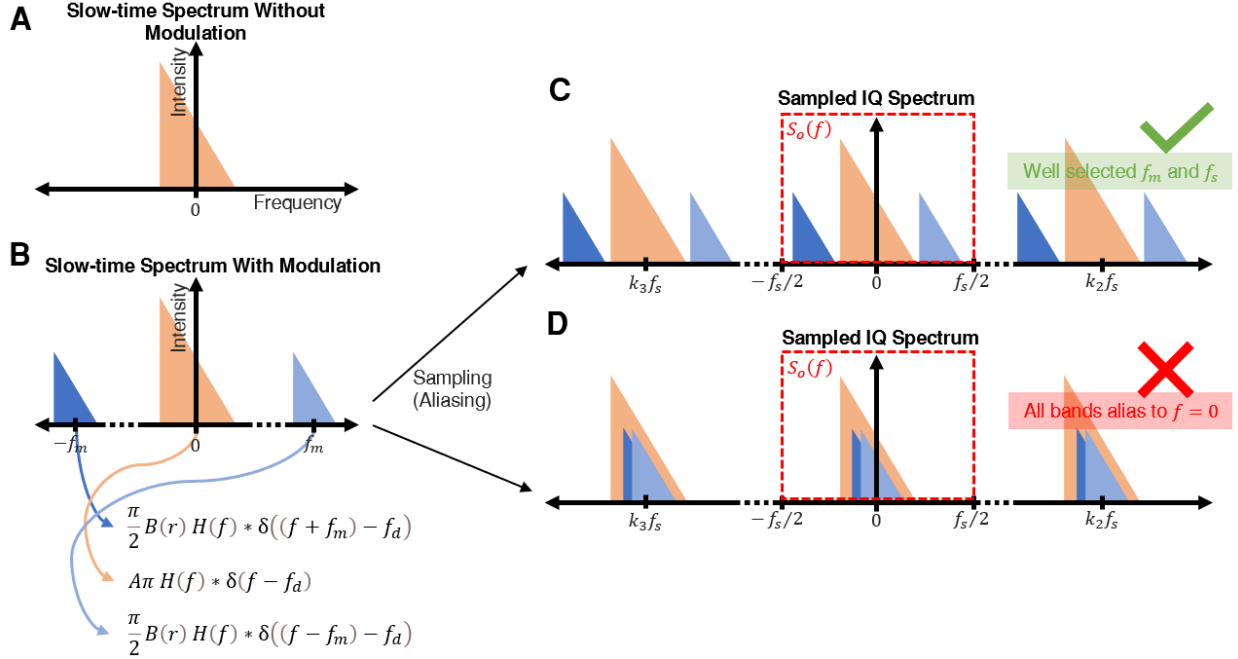


Figure 4.1 Spectral View of ETACI Signal Formation. (A) Slow-time-wise spectrum of moving μB . (B) Slow-time spectrum containing the pulsed-Doppler band at $f = 0$ (orange) and modulated bands at $f = -f_m; f_m$ (blue). (C) Slow-time spectrum that contains non-overlapping bands between $-f_s/2$ and $f_s/2$. (D) Slow-time spectrum with overlapping bands between $-f_s/2$ and $f_s/2$.

Validation of the Framework

The spectrum obtained from (4) was traced to validate the separation between modulated and unmodulated bands and to understand how both the motion signal (PD) and the modulation signal interacted to produce the resulting signal.

Specifically, equation (4) was sampled at a single location and a rate of $f_s = 4$ kHz with the following parameters: $c = 1540$ m/s, $M = 3$, $f_0 = 12.5$ MHz, $f_m = 1.50132$ MHz, $A = 1$ and $B = 0.1$, $v_z = 5; 10; 15$ mm/s and $h(t)$ a Hann window. Doing so, a 1D temporally sampled

signal vector was obtained. The spectrum of this signal was then computed. In this situation, $\pm f_m/f_s = \pm 375.33$, $k_2 = 375$ and $k_3 = -375$ thus we expect the modulated bands to be centered at $f/f_s = \pm 0.33$ to satisfy (10). To model multiple scatterers, the process was repeated and averaged while maintaining all the parameters constant, except for the velocity, which was uniformly selected along the radius according to Poiseuille flow (radius = 2.5mm, $v_{z\max} = 5; 10; 15$ mm/s).

4.3.2 Experimental Setup

For imaging, a programmable ultrasound scanner (Vantage 256, Verasonics) was used to control a linear imaging probe (L8-18i, GE). For RM and BBBO therapy, a focused monoelement transducer (H-234, Sonic Concepts) was driven by an RF amplifier (Empower RF) with a signal generated by a function generator (SDG6000, Siglent).

The focused transducer was mounted transducing-face down in a 3D-printed conical water reservoir. A silicone cast of the imaging transducer was used to mount it in a way that placed the focal zone of the focused transducer in the imaging plane of the probe. Both the focused transducer and the imaging probe were mounted to a 3D-printed bracket. The reservoir was filled with room-temperature water and a latex membrane was used to seal the bottom. Fig. 4.2 shows a cross-section view of the assembly.

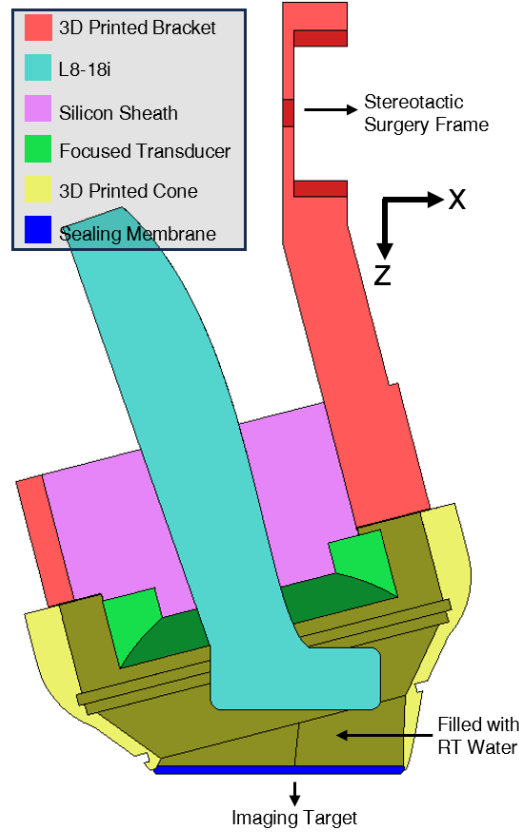


Figure 4.2 Cut view of the experimental assembly used for all acquisitions.

4.3.3 Imaging

The imaging sequences used for this study are detailed here. The ultrasound scanner emitted 3-cycle pulses centered at 12.5 MHz in a plane wave imaging scheme. Transmission and reception occurred only on the 128 middle elements of the imaging probe. For all acquisitions, the reception bandwidth was 100%, frames were acquired in ensembles of 1200 with pauses between each ensemble. Frames were DAS beamformed and plane wave angles were coherently compounded.

For ULM acquisitions, the frame rate was 1.6 kHz with 5 angles per frame. The focused transducer was kept off. An SVD-based clutter filter was applied to each ensemble to highlight circulating μB [21] and a spatiotemporal localization algorithm [64] was used to extract super-resolved μB trajectories. These trajectories were accumulated on a high-resolution grid to obtain maps of μB density.

For BP-ETACI acquisitions, the frame rate was $f_s = 4$ kHz with 4 planewave angles per frame. The focused transducer emitted 300 ms tone bursts at $f_m = 1.50132$ MHz with a PRF of 1 Hz.

Here, $f_m/f_s = 375.33$ thus modulated bands are expected at $f/f_s = \pm 0.33$ so, after coherent compounding, each ensemble was demodulated in slow time according to (11) at a normalized frequency of $f/f_s = 0.33$. The demodulation filter used in (11) was a frequency-domain Blackman-Harris window of width 1.6 kHz. The recording of each ensemble was triggered on the start of a tone burst. Some strong clutter remained at the skull and was removed by removing the first two singular values of the Casorati matrix formed with the middle 1000 frames of the ensemble [21]. Then, the magnitude of each pixel was averaged temporally to get a spatial map of the cavitation induced by the focused transducer.

4.3.4 In Vitro Experiments

Free-Field Experiments

BP-ETACI was used to map the focal zone of the focused transducer. The experimental assembly was mounted above a tank filled with a 14 $\mu\text{L/L}$ dilution of contrast agent (Definity, Lantheus) in room temperature water agitated with a magnetic stirrer (Fig. 4.4. A). 60s of BP-ETACI data were acquired. The total acquisition time was chosen to ensure μB visited the field of view uniformly, under which conditions the resulting map is proportional to the spatial distribution of the pressure induced by the focused transducer. The focused transducer was driven at very low amplitude (0.01 MPa) for this experiment to limit the radiation force and avoid pushing the μB , as significant PD frequencies can be achieved from this push and could be confused with modulation.

Peak Negative Pressure Field Map

The focal zone was mapped with a hydrophone to verify the BP-ETACI cavitation map. The experimental assembly was mounted on a bracket and submerged in a tank filled with room-temperature water. A hydrophone (Y-104, Sonic Concepts) was mounted on a 3-axis robot (X-LSM200A-E03, Zaber) and connected to a data acquisition device (5242D, Picoscope). The minimum value of each pressure waveform was extracted and converted to a peak negative pressure map.

Channel Phantom Experiments

We verified that BP-ETACI only detects cavitating μB , not tissue and μB outside the focal zone. The experimental assembly was mounted and aligned above a channel phantom, with the probe imaging along the length of the channel (Fig. 4.5. A). The channel was angled at 8° from the

horizontal to allow for an axial component in μB speed. A solution of 56 $\mu\text{L/L}$ Definity contrast agent was prepared by dilution with water. The channel diameter was 2.5 mm. The focused transducer was driven at 0.02 MPa. The flow rate was set to 5 mL/min and 6s of BP-ETACI data were acquired. The slow-time spectrum of each pixel was computed and then averaged over three subregions of the field of view: 1) inside the channel and the focal spot, 2) inside the channel, but outside the focal spot, and 3) inside the focal spot but outside the channel in the tissue portion of the phantom.

With the same setup, we verified that BP-ETACI produces similar cavitation maps under various flow rates. BP-ETACI cavitation maps were acquired at flow rates of 5, 10, 20 mL/min, and at a fourth, very fast, flow rate achieved by pushing the μB solution manually. This fourth flow rate was selected because it made the central PD band overlap the filter passband in (11). For each experimental condition, 6 s of BP-ETACI data were acquired. Before demodulating according to (11), the spectrum of each pixel was computed and averaged over a group of pixels spanning the width of the channel inside the focal spot for each flow rate.

4.3.5 In Vivo Experiments

We used BP-ETACI to map the cavitation transcranially in the mouse brain prior to and during FUS-BBBO treatments. The study group was composed of 6 wild type C57BL/6 female mice and was split into two groups of 3 animals. BP-ETACI cavitation maps were produced at low cavitation doses for each animal in the first group, termed the mapping-only-group. The second group, termed the BBBO-group, underwent a BBBO therapy procedure and BP-ETACI data was acquired during the whole procedure. This served two purposes: 1) establishing that BP-ETACI can map the cavitation transcranially in the mouse brain at doses that do not open the BBB, and 2) establishing that BP-ETACI reliably maps regions where the BBB is opened by FUS-BBBO therapy.

The mice were deeply anesthetized using a mix of 1L/min of oxygen and isoflurane 5% for induction and maintained at 1.5-2.5% for the duration of the procedure. Their heads were immobilized in a stereotactic frame (Model 940, Kopf), were shaved, and were depilated. Their temperature was maintained with a warm-water-circulation blanket. Sterile saline solution 0.9 % was administered intra-peritoneally at 0.5 mL per 10g of body weight to maintain adequate intravascular volume during the procedure. Room-temperature deionized water was applied to the skin and to the outside of the experimental assembly's water retaining membrane. Ultrasound

coupling gel was then applied to the mouse head, the experimental assembly was mounted to the stereotactic system, and lowered above the head to provide coronal imaging planes (Fig. 4.9. A). The acoustic coupling between the assembly and the animal was verified with B-mode imaging.

All mice underwent an ULM imaging protocol prior to BP-ETACI cavitation mapping. For ULM imaging, 5 minutes of data was recorded over 15 minutes. A bolus consisting of a 4 $\mu\text{L/g}$ of bodyweight dose of 1:20 phosphate buffered saline (PBS)-diluted Definity solution was injected in the tail vein of the animal following the start of the recording.

BP-ETACI was conducted after the previously injected μB were allowed to decay. For all in vivo BP-ETACI experiments, one bolus consisting of a 4 $\mu\text{L/g}$ dose of 1:20 PBS-diluted Definity solution and of a 2 $\mu\text{L/g}$ dose of 1% Evans blue dye in PBS was used. The focused transducer was set to a peak-negative-pressure of 0.1 MPa. For animals in the mapping-only-group, the focused transducer was set to emit 5 bursts and thus 5 ensembles were recorded. The bolus was injected in the tail vein of the animal 10 seconds before the start of the sonication. For the animals in the BBBO-group, real time BP-ETACI cavitation mapping and focused transducer sonication were initiated, and bolus injection occurred within 30 seconds from the start of the sonication. The arrival of the bolus was observed in BP-ETACI. The real-time BP-ETACI processing was then done for 1 therapeutic burst every 20 to monitor that the focal zone placement was maintained. Recording and focused transducer sonication were continued for a total of 4 minutes after bolus injection. The total time of BP-ETACI data recorded during BBBO varied between animals depending on the save and process time of ensembles. Some of the focused transducer bursts that occurred late into each BBBO procedure were not recorded because their trigger signal overlapped with the save time of the previous burst. From all the ensembles acquired during BBBO, two cavitation maps were produced. One from the first 5 focused transducer bursts acquired later than 10s after the bolus injection and one from all ensembles acquired later than 10s after the bolus injection.

The mice were transcardially perfused with 4% paraformaldehyde at 7.4 pH 24h after the procedure. The brains were cryoprotected, frozen, and cut into 40 μm coronal sections. The section that best aligned with the focal zone for each animal was identified and tile scanned with a fluorescence microscope (Aperio Versa 200, Leica). The same exposure settings were used for each slide.

4.4 Results

4.4.1 Illustration of the Theoretical Framework

Simulations of the signal framework were conducted to evaluate the capability of BP-ETACI to separate the BP-ETACI signal, originating from the modulation induced by the focused transducer, from the PD signal, originating from scatterer motion. This separation was evaluated in the frequency domain. The signal spectrum was simulated for single scatterers and Poiseuille flow. We show that BP-ETACI can separate modulation from flow in the frequency domain. For the single scatterer model, the frame rate and the modulation frequency used in the simulation were chosen because at those frequencies the signal framework in (6) places the center of the modulated spectral bands at $0 \neq f/f_s = 0.33, -0.33$, away from the PD signal at $f/f_s = 0$. Fig. 4.3. A shows simulated spectra for single scatterers moving at different speeds. The curves show modulated sidebands around $f/f_s = 0.33$ and -0.33 , as predicted. Scatterer movement shifts all signal bands off their $v = 0$ m/s frequency, shown with dotted lines. Increasingly fast movement increases this shift and broadens the bands, which was predicted by (6). Fig. 4.3. B shows simulated spectra for an ensemble of 1000 particles in a simulation of Poiseuille flow. The signal is concentrated in the same three spectral bands as in Fig. 4.3. A. A Poiseuille flow produced spectral bands that hold two peaks: one at the $v = 0$ m/s frequency corresponding to scatterers in no-slip-condition along the walls, and one corresponding to flowing scatterers, increasingly offset from the first one as the flow rate increases.

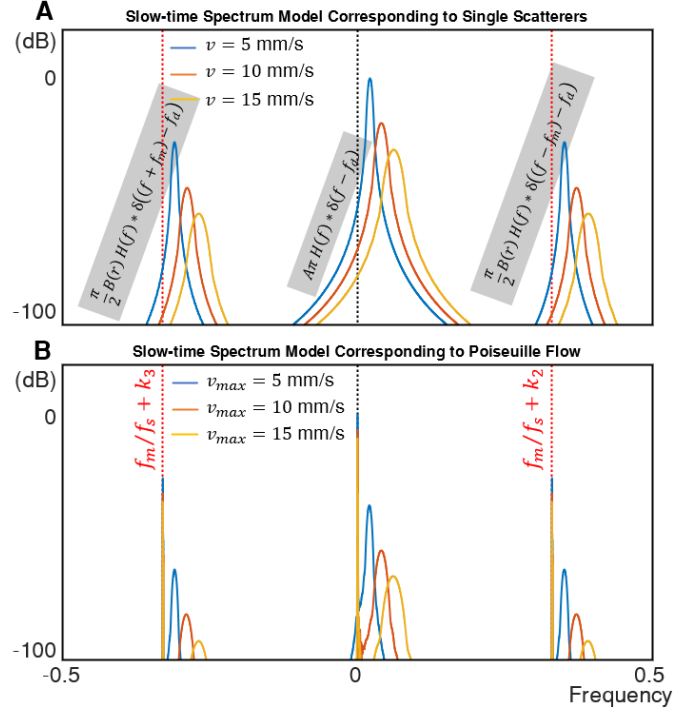


Figure 4.3 Slow-time spectra predicted by the developed signal framework. (A) Slow-time spectrum of scatterers moving at different speeds. The parameters used are realistically attainable with ultrasound equipment. (B) Slow-time Spectrum averaged over 1000 scatterers with speeds distributed according to a Poiseuille Flow. All other parameters are the same as in (A).

4.4.2 In Vitro Study

Shape of the Focal Zone

Prior to demodulation according to (11), the B-mode frames showed μB in the field of view (Fig. 4.4. B). After demodulation, only the μB inside the focal zone were distinguishable (Fig. 4.4. C). The temporal accumulation of 60s of demodulated BP-ETACI frames showed the shape of the focal zone (Fig. 4.4. D) and presented strong similarities with a map of the focused transducer's peak negative pressure as measured with a hydrophone (Fig. 4.4. E) that was registered to the same field of view as Fig. 4.4. D. Both the BP-ETACI map and the hydrophone map showed a clearly defined focal zone in the same location and with similar sizes.

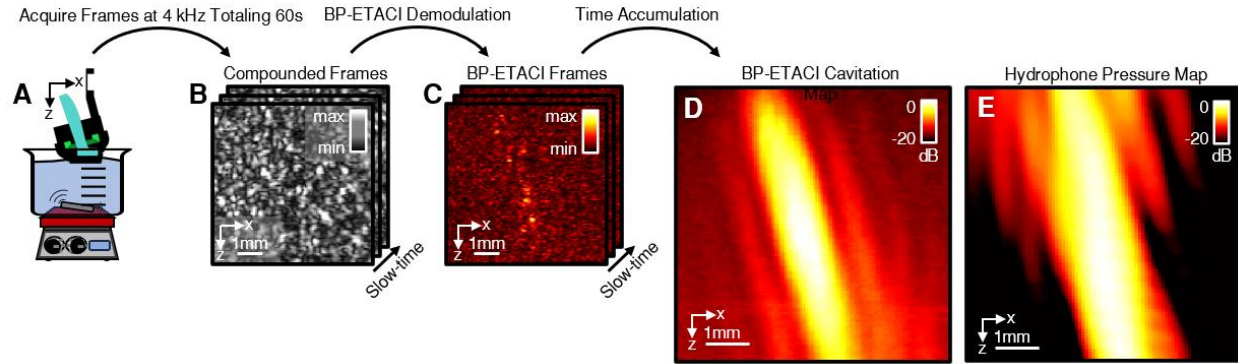


Figure 4.4 Mapping the acoustic amplitude of the focused transducer's emission in free field. (A) Plane wave acquisition of agitated dilute microbubbles. (B) Beamforming and coherent compounding. (C) Demodulation and filtering as described in (11) highlights microbubbles inside the focal. (D) Cavitation map obtained by accumulating BP-ETACI images over a long timeframe to ensure the agitated microbubbles visited every point of the field of view uniformly. (E) Peak Negative Pressure map over the imaging plane obtained by raster-scanning the focal spot with a hydrophone. Both the raster scan and the BP-ETACI-obtained map give similar results.

Selectivity of BP-ETACI Towards Cavitating Microbubbles

While the B-mode frames showed the whole channel phantom (Fig. 4.5. B), the BP-ETACI cavitation map only held signal in the part of the μ B-containing-phantom's channel intersecting the focal zone (Fig. 4.5. C). Evaluating the average spectrum in sections of the field of view (Fig. 4.5. D-E-F) revealed that modulated bands appeared strongest at the overlap of the focused transducer's focal zone and of the phantom's channel. Both the signal spectrum in the overlap between the phantom's tissue mimicking material and the focused transducer's focal and the signal spectrum in the phantom's channel outside the focused transducer's focal contained almost no modulated bands.

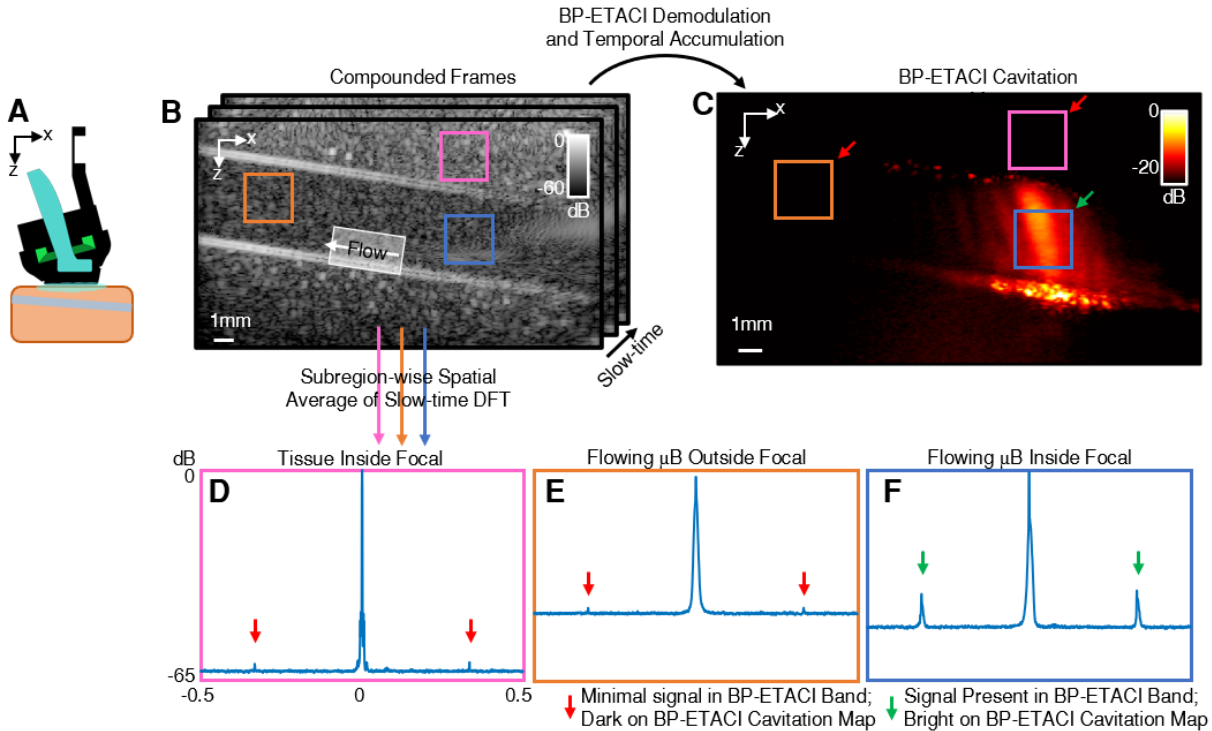


Figure 4.5 Cavitation mapping with BP-ETACI when part of the focal spot is obstructed by tissue. (A) Ultrafast plane wave acquisition of dilute microbubbles flowing in a flow phantom. (B) beamforming and coherent compounding. (C) BP-ETACI cavitation map showing the focal spot interrupted by the phantom walls (D-E-F) Double-sided-slow-time-DFTs averaged over subregions of the field of view.

Effect of Flow on BP-ETACI

In Fig. 4.6., the influence of flow on BP-ETACI cavitation maps was evaluated in a flow phantom. The spectrum evaluated on B-mode frames (Fig. 4.6. A) showed BP-ETACI bands for all flow rates (Fig. 4.6. B-C). The BP-ETACI bands were composed of 1) A tall narrow peak at $f/f_s = 0.33$ which corresponded to μB confined to the phantom's walls. 2) As the flow rate was increased the signal bands corresponding to moving μB shifted in frequency and widened. After demodulation according to (11) and time accumulation, cavitation maps contained the signature of both immobile and flowing μB (Fig. 4.6. D-E-F-G). The immobile μB were confined by the slow flow near the walls and most likely by radiation forces on the wall away from the focused transducer. Cavitation maps produced with significantly different flow rates were virtually identical (Fig. 4.6. D-E-F). When a threshold flow rate was reached, the central PD band was wide

enough to be included in the filter passband in (11) and was visible in the cavitation map (Fig. 4.6. G). Bright streaks associated with fast flow appeared over the whole channel.

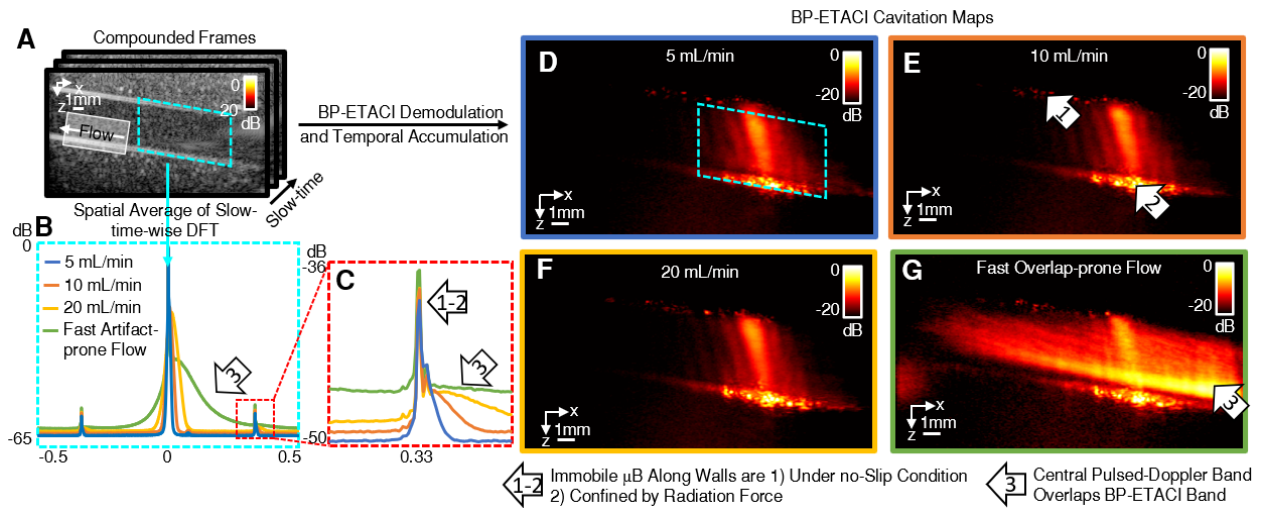


Figure 4.6 Cavitation mapping with BP-ETACI at increasingly fast flow rates. (A) Compounded frames of dilute microbubbles flowing in a flow phantom. (B) Double-sided-slow-time-DFTs of increasingly fast flow. (C) Zoom over the BP-ETACI demodulation signal band. (D-E-F) Similar cavitation maps obtained at increasingly fast flow rates. (G) Cavitation map when the flow is fast enough to mix the signal bands.

4.4.3 In Vivo Study

BP-ETACI Produces Cavitation Maps In Vivo

In vivo, focused-transducer-induced cavitation added a shape that matched the extent of the expected focal zone to BP-ETACI-produced images (Fig. 4.7. A C) and produced modulated bands in the spectrum (Fig. 4.7. B D). Additionally, there were noticeable details in the cavitation map along the focal zone, with bright blood vessels and dark low-vascular density regions like the corpus callosum and the ventricular system. The BP-ETACI signal was strongest in the cortex and in subcortical regions. Signal associated with high blood velocities that overlap the passband of the demodulation filter in (11) (Fig. 4.7. B D) were present bilaterally, whether the focused transducer was turned ON or OFF.

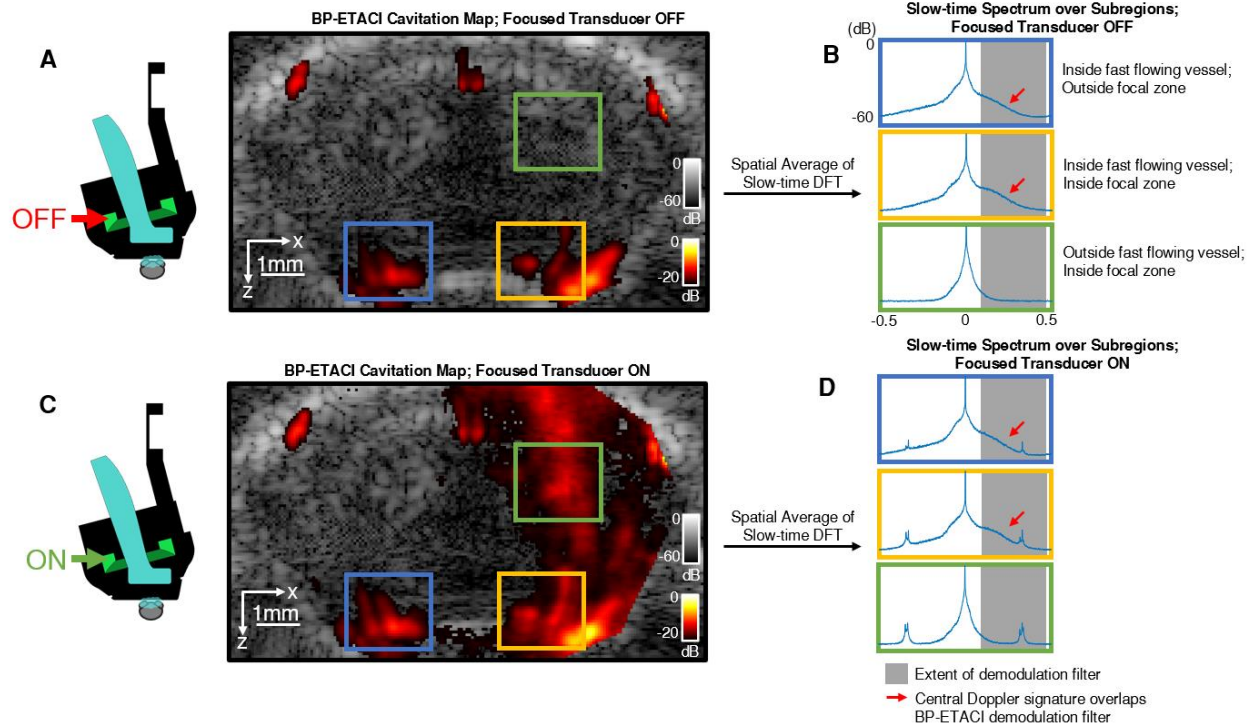


Figure 4.7 BP-ETACI cavitation mapping. (A) BP-ETACI cavitation map created when the focused transducer is OFF. Signal is only visible in vessels where the PD spectrum overlaps with the BP-ETACI spectrum. (B) Slow-time spectrum averaged over selected subregions in the field of view. (C) BP-ETACI cavitation map created from data when the focused transducer is ON. The focal zone becomes visible. (D) Slow-time spectrum averaged over selected subregions in the field of view.

BP-ETACI Cavitation Maps Can Be Obtained Without BBBO

For the animals in the in the BBBO-group, all the anatomical structures that were visible in the cavitation maps created from data acquired over the full BBBO were also visible in the cavitation maps created from only the first 5 focused transducer bursts that occurred 10 s after μ B injection, a non-BBB opening dose, even if noise was reduced when more data was used (Fig. 4.8. A-F). The cavitation map pixel values (Fig. 4.8. G-I) obtained at the no-BBBO dose tended to be higher than the pixel values obtained over the BBBO procedure, which was expected for noisy pixels, but this trend was even stronger for pixels in the vasculature. The pixels that deviated the most from the $y = x$ line, like those inside the cyan ellipse in Fig. 4.8. I, corresponded to cavitation bearing pixels in the cortical and subcortical regions of the corresponding cavitation map. The intensity of the cavitation signal was reduced over time as the μ B were eliminated by the mice's metabolism (Fig.

4.8. J-L). Thus, 5 focused transducers bursts were sufficient to produce cavitation maps and integrating over the whole BBBO-procedure reduced noise.

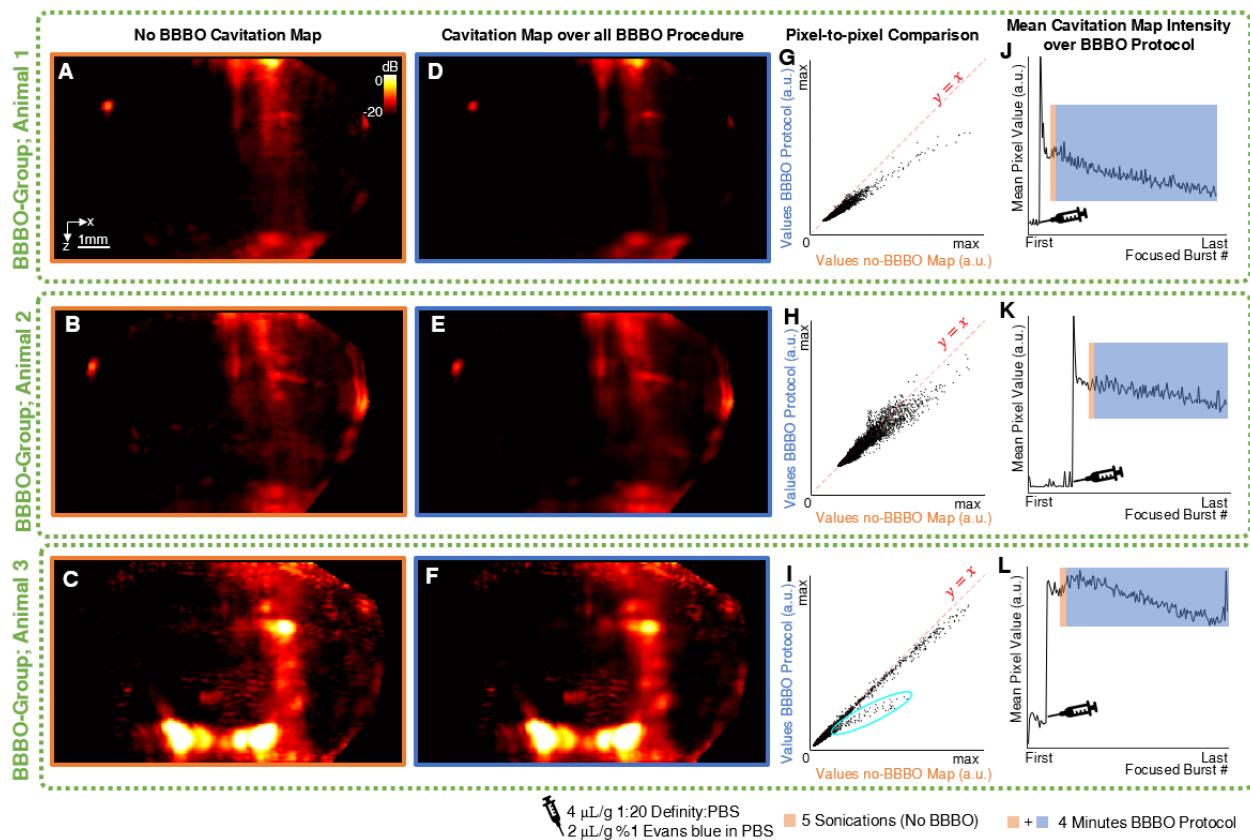


Figure 4.8 BP-ETACI-produced cavitation maps show the same structures when built from doses that do not induce BBBO as when built from data acquired over a BBBO procedure. (A-C) Cavitation maps produced with doses that do not open the BBBO. (D-F) Cavitation maps produced over an entire BBBO procedure. (G-I) Pixel to pixel comparison between non-BBBO and BBBO cavitation maps. (J-L) Mean BP-ETACI intensity over the therapeutic focused bursts. The bursts used to build the non-BBBO and the BBBO cavitation maps are highlighted, and the moment μB were injected is indicated.

BP-ETACI Cavitation Mapping Predicts BBBO Location In Vivo

BP-ETACI cavitation mapping showed cavitation regions in the ipsi-lateral side of the brain (Fig. 4.9. B-G). Superimposing ULM vascular maps on the BP-ETACI cavitation maps helped identify which parts of the underlying vascular anatomy generated BP-ETACI signal. There was strong cavitation in cortical vessels and in large subcortical vessels along the path of the focal zone (Fig. 4.9. H-M).

Evans blue histology of coronal sections that matched the imaging and therapeutic plane of the animals in the BBBO-group revealed one-sided BBB openings (Fig. 4.9. N-P). The BBBO region was always situated on the ipsi-lateral side. Overall, the fluorescence was most intense in the top half of the brain, in the cortex and in some subcortical regions. Fluorescence was more intense around vessels, especially in the cortex and subcortical regions. Histology of the animals in the mapping-only-group showed no fluorescence (Fig. 4.9. Q-S).

The BP-ETACI cavitation maps matched the most intense regions of fluorescence on the histological sections in the cortical and subcortical regions. Low-vascular regions like the corpus callosum and the ventricular system did not generate signal in the cavitation maps and did not show fluorescence in histology. Regions with BP-ETACI signal on the contra-lateral side of the cavitation maps were void of fluorescence in histology and thus contra-lateral BP-ETACI signal and BBBO were uncorrelated.

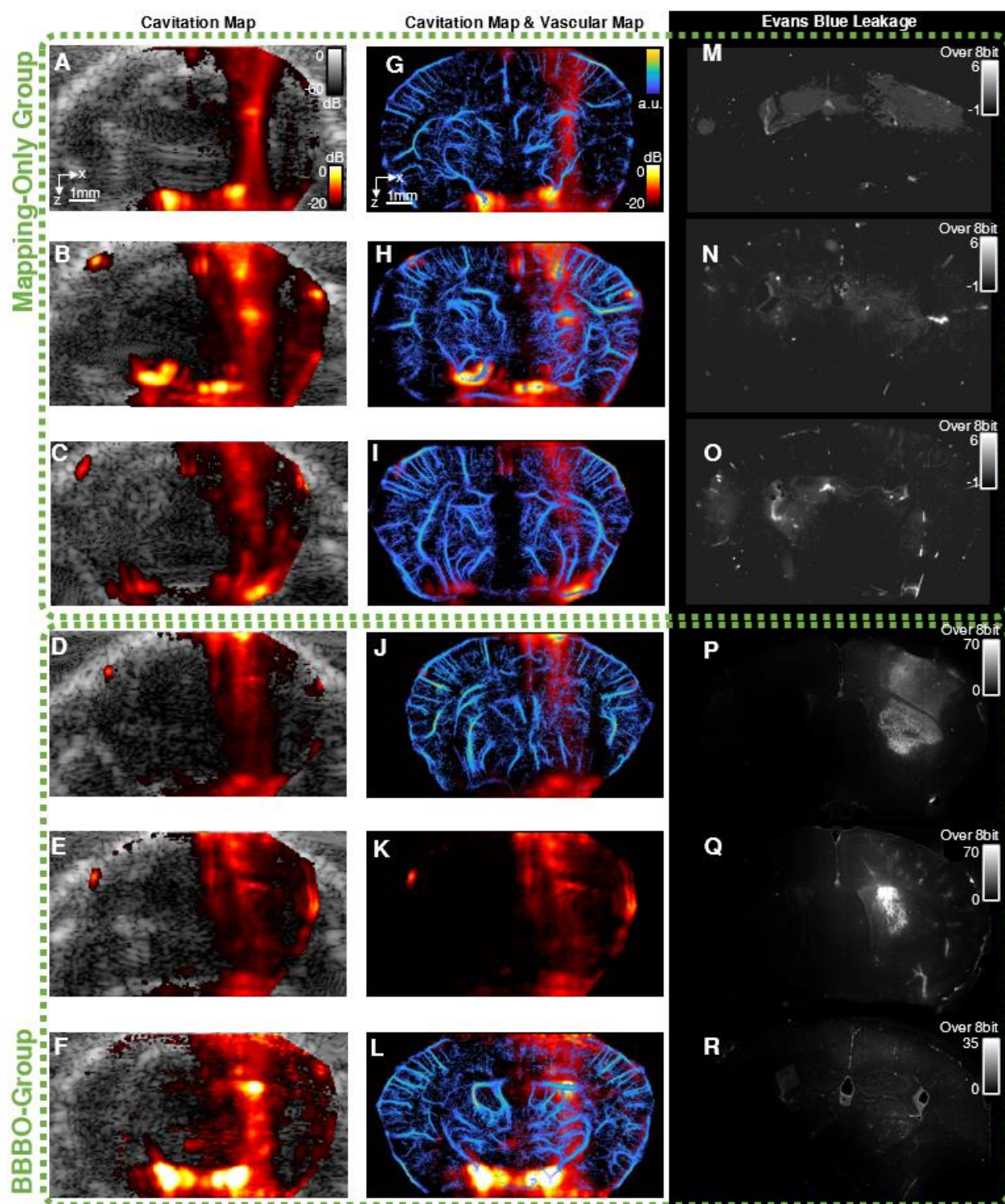


Figure 4.9 Transcranial BBBO prediction in the in vivo mouse with BP-ETACI cavitation maps. (A-F) Cavitation maps (red) produced in each animal of the study overlaid on a B-mode image of the skull (gray). (G-L) Correspondence between the cavitation map (red) and the ULM-mapped vasculature (Blue). The ULM vascular map for K was not available. (M-R) Evans blue

fluorescence showing the extent of the delivery area. The dynamic range was adjusted for each fluorescence image to show either single sided openings or the absence of opening. (M-O) In the mapping-only group, no Evans blue extravasation. (P-R) in the BBBO-group, single sided Evans blue extravasation consistent with the position of the focal zone.

4.5 Discussion

In this study, we evaluated the potential of BP-ETACI to map the non-inertial cavitation in the mouse brain in vivo to support FUS-BBBO planning. A sampling framework based on bandpass sampling to separate the cavitating μB from the rest of the signal was developed and validated in vitro. Precise aliasing allowed BP-ETACI to place the MHz range cavitation of μB away from unmodulated PD in the frequency domain by using a physically attainable framerate in ultrafast pulse-echo imaging. In vitro, tissue and non-cavitating μB did not produce BP-ETACI signal, while cavitating μB produced strong BP-ETACI signal at the expected location in the spectrum. In the mouse brain, BP-ETACI predicted BBBO location while requiring cavitation doses lower than the BBBO threshold.

The bandpass signal framework developed in this study allows for either the cavitation frequency or the frame rate to be adjusted to offset the cavitation signal from the unmodulated PD signal in the frequency domain. Previous studies have used both approaches under a paradigm that required the PRP and the cavitation period to have a common multiple which enabled ultrafast planewave acquisition as the steering angle could be changed between RM cycles. Muleki-Seya et al. [39] pioneered this paradigm and manipulated the cavitation frequency to create a beat with a set PRP. Instead of the expected single beat frequency, multiple frequencies were observed. All generated frequency bands were demodulated and summed to reconstruct contrast images. Jing and Lindsey [41] used a set, very low cavitation frequency of 100 kHz and were able to induce RM at depth through ex vivo bone. The 1 μs PRF quantum of their programmable ultrasound system was sufficient to sample the RM cycle at 10 different phases by adding a wait period of 1 μs to the PRP between frames. In a previous study with ETACI, Blais et al. [4] used a set RM frequency and manipulated the framerate by increasing the transmit beamforming delays frame-to-frame, which allowed the use of the higher frequency cavitation required for BBBO in the mouse brain. The ultrafast paradigm used in these studies required the use of commonly multipliable PRP and cavitation periods. We believe that the reliance on a whole number of samples per RM cycle, and

the precision in the timings required to do so, was why studies such as [39], [41] and [4] found frequency peaks not predicted by theory. A critical difference when reframing the sampling process as bandpass sampling is that it allowed the placement of the BP-ETACI aliases anywhere in the spectrum and it eliminated the constraining relationship between PRF and modulation frequency. It yielded a spectrum with a single modulated band on each side of the central PD band and made in vivo use possible as it allowed more frequency-space to separate unmodulated PD and cavitation.

BP-ETACI, like PD, is a pulse-echo technique where the signal is sampled in slow time for each pixel of the image. PD techniques enabled high resolution blood flow imaging by decoupling the imaging resolution from the blood-flow signal sampling. BP-ETACI inherits this advantage from PD imaging but applies it to cavitation imaging instead. As such, BP-ETACI's axial resolution is dictated by the imaging pulse and sequence, instead of being limited by the reception aperture like in PAM. The technique was also applied in real-time, which was used to monitor the targeting of the focal zone. We showed that BP-ETACI resolves the structure of brain tissue and the regional vascular topology that contains the cavitating μB . Resolving such structures is important because it has been demonstrated that vessels seed molecular extravasation in FUS-BBBO [76]. Indeed, in the current study, Evans blue fluorescence was most intense around vessels and was less intense in the corpus callosum.

Prior work has found that the size and density of vessels especially matter in FUS-BBBO [73]. Cavitation mapping at a vascular scale meant that BP-ETACI and Evans blue fluorescence represent different aspects of FUS-BBBO. BP-ETACI mapped the cavitation while fluorescence showed Evans blue extravasation and cellular uptake in the targeted region. BP-ETACI could be used to further study therapeutic agent kinetics after BBBO. Indeed, high-resolution cavitation imaging techniques like BP-ETACI make it possible to predict the regions reached by the delivered molecule and help planning for treatment to reduce off-target effects and increase therapeutic dose in FUS-BBBO [77].

The images presented in the current study were distorted because the experimental assembly used a layer of water at least 100 wavelengths thick above the target, which especially affected the ULM images. Because the relevant vasculature was still observable, no attempt was made to correct the difference in sound speed between the water and the target. However, ULM images and BP-ETACI

cavitation maps could benefit from aberration correction techniques [78], particularly when adapted to ultrafast imaging [79].

The BP-ETACI cavitation maps contained unmodulated PD signal from vessels undergoing fast flow. In principle, these areas could be detected beforehand and subtracted from the BP-ETACI maps. BP-ETACI still provided useful information as fast vessels did not overlap with the focal zone. Furthermore, they were easily identifiable with knowledge about the anatomy of the large, symmetrical, high-flow arteries of the brain. The current study made no attempt to eliminate this flow-generated signal, but it could be eliminated by increasing the framerate and using a scheme where the modulated bands are aliased to $f/f_s = 0.5$ to maximize the frequency separation between the modulated bands and the central PD band.

Long (300ms) tone bursts were used as the FUS sonication to create the cavitation maps in this study, allowing acquisition of ensembles of 1200 frames during a single focused transducer burst, which was optimal for the data transfers of the programmable ultrasound system. However, BP-ETACI does not require long bursts. Short therapeutic bursts of 10-50 ms, which are consistent with existing literature on FUS-BBBO [80] are most attainable as long as enough frames are acquired during a burst to allow the detection of the cavitation. However, short, few-cycles therapeutic pulses present a challenge. Further optimization on the framerate, the ensemble size and the demodulation filter transient time are possible.

4.6 Conclusion

BP-ETACI was used as a transcranial non-inertial cavitation mapping method for FUS-BBBO in the mouse brain. Using a novel RM framework based on bandpass sampling, we induced separation between motion and cavitation frequency bands. Cavitation mapping using this framework revealed cavitation-bearing vasculature at high resolution that matched vascular maps. Cavitation mapping was possible at non-BBBO doses and predicted the BBBO location, with ipsi-lateral cavitation signals correlating with Evans blue extravasation. The developed technique is easy to use and is directly compatible with broad sonication parameters in FUS-BBBO experiments. The high-resolution cavitation maps can be obtained in real time transcranially in mice, paving the way for further studying FUS-BBBO in the treatment of neurological diseases.

4.7 Ethics

Animal handling was done in observation of the Canadian Council on Animal Care guidelines and in accordance with McGill University Animal Care Committee regulation under protocol 4532.

4.8 Funding

We acknowledge the support of FRQNT, TransMedTech, IVADO, CIHR, NSERC (DGECR-2020-00229) and of the CFI (38095 and 246916)

4.9 References

References for the article are provided in the reference list at the end of the document.

CHAPITRE 5 RÉSULTATS ADDITIONNELS NE FIGURANT PAS DANS L'ARTICLE 1

5.1 Résultats propres au cadre théorique en BP-ETACI

5.1.1 Placement des bandes modulées dans le spectre échantillonné

La figure 5.1 montre les spectres obtenus avec différents paramètres de modulation visant à varier l'endroit où les bandes modulées sont repliées. Les paramètres de modulation ont été sélectionnés pour replier les bandes modulées à des fréquences de $f/f_s = \pm 0.1, \pm 0.2, \pm 0.3$ et ± 0.4 selon le cadre théorique développé dans la section 3.1. Chaque spectre comportait un pic central, ainsi que deux pics d'amplitude plus petite de chaque côté. Ces petits pics ont été observés aux endroits prédits par les paramètres sélectionnés.

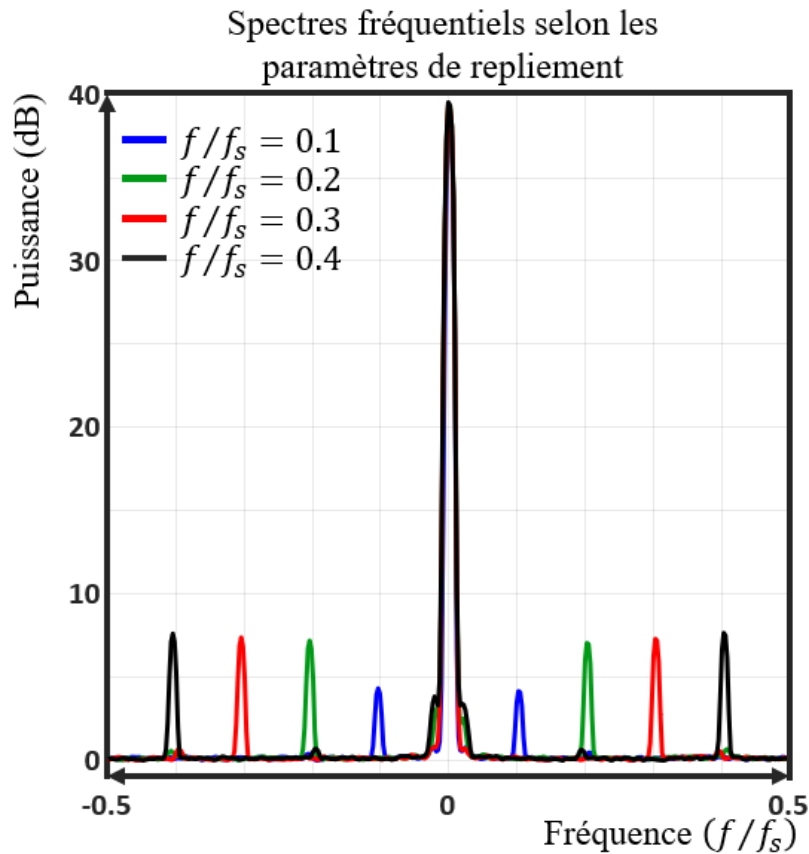


Figure 5.1 Spectre fréquentiel selon les paramètres de repliement. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022.

5.1.2 Influence de la cadence d'imagerie

La figure 5.1 montre le spectre obtenu en fonction de la cadence d'imagerie. Chaque spectre comportait un pic central accompagné de deux pics d'amplitude plus petite situés autour de $f/f_s = \pm 0.3$. Tous les pics du spectre occupaient une plus petite portion du spectre pour les cadences d'imagerie élevées. Les pics correspondant au signal modulé n'étaient pas parfaitement situés à $f/f_s = \pm 0.3$, tel qu'ils l'auraient dû selon les paramètres f_s et f_m sélectionnés.

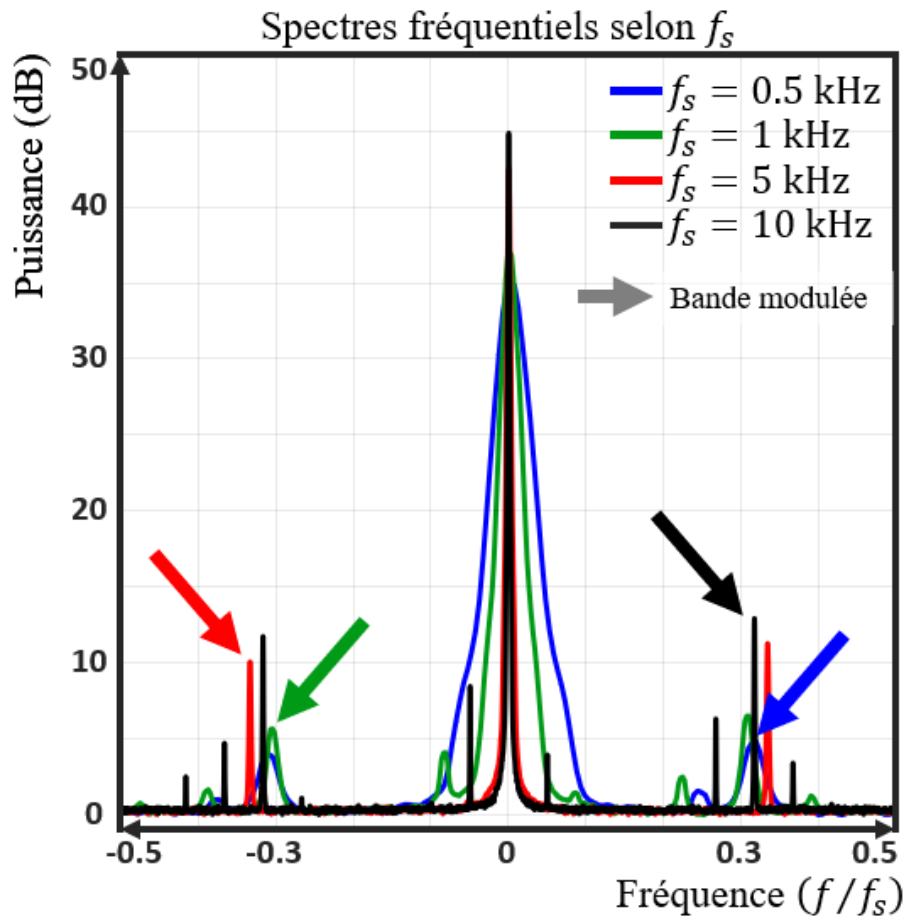


Figure 5.2 Spectre fréquentiel selon la cadence d'imagerie. Les bandes modulées pour chaque condition expérimentale sont indiquées par des flèches. Adapté de travaux que j'ai présentés sous la forme d'une affiche à l'International Ultrasonics Symposium 2022.

5.2 Résultats propres à l'ULM

5.2.1 In vitro

Des tracés ULM obtenus après la séparation du signal tissu-microbulles par SVD et par BP-ETACI à l'aide du montage expérimental 2 in vitro sont montrés sur la figure 5.3. La figure 5.3 A montre des tracés localisés grâce à un algorithme ULM spatiotemporel accompagné d'un filtre tissu-microbulles SVD. Les trajectoires détectées dans ce cas ont témoigné de microbulles circulant le long de lignes de flux parallèles les unes aux autres le long du canal du fantôme de flux. La zone focale du transducteur focalisé y a aussi été révélée par la trajectoire des microbulles poussées par la force de radiation acoustique induite par le transducteur focalisé. La figure 5.3 B montre des tracés localisés par le même algorithme ULM sur des données BP-ETACI. Les trajectoires qui ont été localisées sur les données BP-ETACI ont été restreintes à la zone focale du transducteur de modulation. Le grand nombre de traces ULM accumulées sur la figure 5.3 B a aussi révélé le patron de diffraction entourant la zone focale du transducteur de modulation. Les trajectoires des microbulles poussées par la force de radiation acoustique n'ont pas été révélées par l'ULM sur données BP-ETACI.

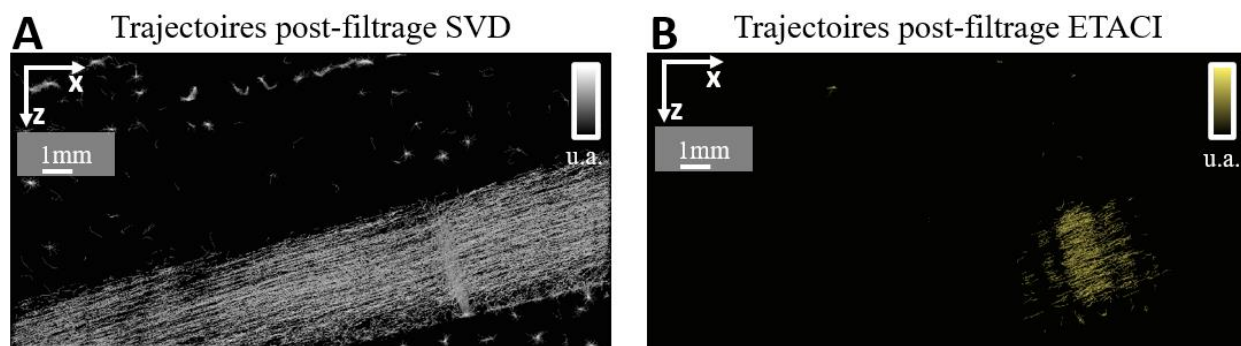


Figure 5.3 Trajectoires super-résolues obtenues après un traitement ULM à partir d'acquisitions sur fantôme de flux. A) Trajectoires obtenues après l'extraction du signal des microbulles avec la SVD. Des trajectoires sont détectées dans tout le canal du fantôme. B) Trajectoires obtenues après l'extraction du signal des microbulles avec la BP-ETACI. La détection des trajectoires est limitée à la zone focale du transducteur focalisé.

5.2.2 In vivo

Les résultats d'une expérience ULM effectuée avec le montage 2 sur le cerveau de souris in vivo sont présentés à la figure 5.4. Une carte vasculaire ULM obtenue à partir de données modulées

après la séparation du signal tissu-microbulles par BP-ETACI est montrée en jaune sur la figure 5.4. Une carte de la densité des détections de microbulles en ULM produite avec la séparation du signal tissu-microbulles par SVD y est superposée pour montrer le contexte. L'ULM appliqué sur données BP-ETACI a détecté des microbulles à l'intérieur de la zone focale du transducteur focalisé et n'a pas détecté de microbulles du côté du cerveau opposé celle-ci. À l'intérieur de la zone focale, l'ULM appliqué sur données BP-ETACI a effectué la majorité de ses détections dans le cortex ainsi que dans la région subcorticale. Des détections diffuses ont révélé des vaisseaux sanguins corticaux ainsi qu'un gros vaisseau subcortical. De plus, du côté de la zone focale du transducteur focalisé, la carte de densité de détection ULM obtenue à partir de données BP-ETACI montre des taches correspondant à de nombreuses détections sur la périphérie supérieure du cerveau.

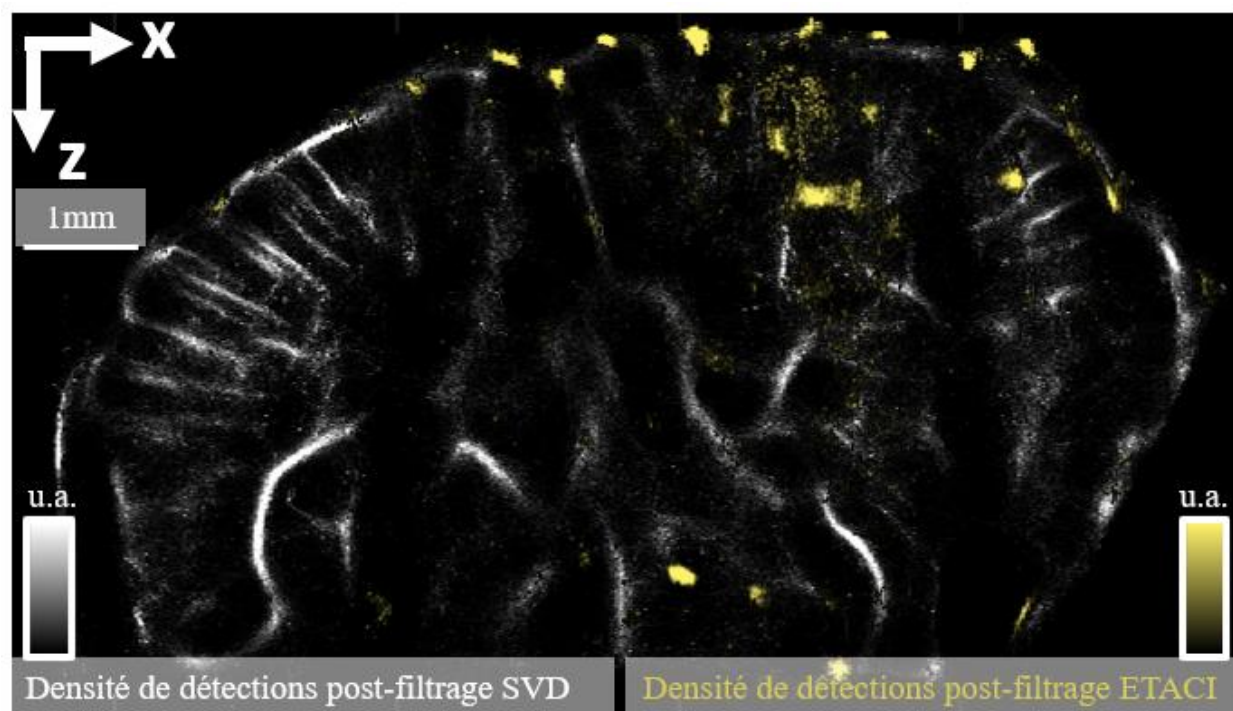


Figure 5.4 Densité de détection de microbulles par ULM de manière transcrânienne sur le cerveau de souris in vivo. Blanc) détections de microbulles après l'extraction du signal des microbulles avec la SVD. Jaune) détections de microbulles après l'extraction du signal des microbulles avec BP-ETACI.

CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE

Dans le cadre de ce projet de maîtrise, les propriétés de RM des microbulles ont été appliquées dans deux contextes : pour la cartographie de la cavitation et pour la microscopie de localisation ultrasonore. Pour ce faire, un cadre théorique utilisant l'échantillonnage bande passante a été développé et utilisé dans une technique appelée BP-ETACI. De plus, deux montages expérimentaux, ainsi qu'une séquence d'imagerie ont été conçus. Des expériences utilisant la BP-ETACI ont permis l'évaluation de la pertinence de la BP-ETACI dans les deux contextes.

6.1 Sous-objectif 1 : Cadre théorique, montages expérimentaux et séquence d'imagerie

Le premier sous-objectif du projet de maîtrise consistait en l'élaboration de deux montages expérimentaux, d'une séquence ainsi que d'une méthode de reconstruction pour la mise en œuvre de la BP-ETACI. Celle-ci a été en mesure de réaliser l'imagerie par RM en champ libre, en fantôme de flux, ainsi qu'in vivo dans le cerveau de souris à travers le crâne.

Le cadre théorique développé dans la section 3.1 a été utilisé pour choisir les paramètres f_m et f_s . D'abord, une cadence d'imagerie de $f_s = 4$ kHz a été sélectionnée pour obtenir une plage de fréquence assez large dans le spectre échantillonné. Ensuite, la fréquence de modulation a été ajustée finement à $f_m = 1.50132$ MHz pour produire un spectre à trois bandes : une bande non modulée à fréquence nulle ainsi que deux bandes modulées à $f/f_s = \pm 0.33$ dans le spectre échantillonné. Cet emplacement a été choisi pour maximiser la distance entre le centre des trois bandes et ainsi fournir le plus d'espace fréquentiel pour le décalage Doppler de chaque bande. Le cadre théorique a bien prédit le comportement de la BP-ETACI in vitro et in vivo. Effectivement, les spectres obtenus dans ces contextes comportaient les mêmes bandes situées aux mêmes endroits.

En fantôme de flux, la BP-ETACI a isolé le signal de microbulles modulées (figure 4.5). Effectivement, les microbulles dans la zone focale ont produit du signal, alors que le tissu du fantôme ainsi que les microbulles hors de la zone focale n'ont pas produit de signal. La BP-ETACI était robuste à la vitesse d'écoulement (figure 4.6 DEF). Il a néanmoins été possible d'atteindre une vitesse d'écoulement assez rapide pour que la bande Doppler non modulée chevauche en partie la bande passante filtre de l'équation 14. L'effet de cette inclusion a été observé in vitro (figure 4.6

G) ainsi qu'in vivo (figure 4.7). Or, la BP-ETACI est une méthode flexible et ses paramètres pourraient être ajustés pour éliminer ce chevauchement. Premièrement, l'emplacement des bandes modulées dans le spectre peut être contrôlé en ajustant le paramètre f_m , tel que démontré à la figure 5.1. Les bandes modulées pourraient donc être repliées de manière à ce qu'elles se superposent à $f/f_s = 1/2$. Cette configuration est celle qui séparerait le plus le signal modulé du signal non modulé pour une cadence d'imagerie f_s donnée. Puisqu'elles contiennent le même signal Doppler, cette superposition ne devrait pas poser de problèmes. Deuxièmement, la cadence d'imagerie f_s pourrait être augmentée afin d'agrandir la plage fréquentielle disponible dans le spectre échantillonné qui s'étend de $-f_s/2$ à $f_s/2$. Puisque le Doppler pulsé dicte que l'étendue fréquentielle de chaque bande en Hz (avant l'échantillonnage) est proportionnelle à la vitesse axiale du flux, ceci réduirait la portion du spectre échantillonné occupée par chaque bande, et donc leur chevauchement, comme démontré à la figure 5.2. Troisièmement, lors de la reconstruction, la bande passante du filtre de démodulation à l'équation 14 pourrait être réduite. Effectivement, la bande passante du filtre utilisé pour ce projet était relativement large pour inclure l'étendue des fréquences Doppler de la bande modulée. Le choix de l'étendue du filtre est un compromis : la réduire pourrait éliminer la contribution des microbulles modulées qui circulent rapidement, mais limiterait aussi l'inclusion de signal non modulé dans le résultat.

Finalement, un artefact a été observé lors de l'expérience sur la relation entre la cadence d'imagerie et le spectre. Les trois bandes fréquentielles décrites par le cadre théorique ont été observées à des fréquences légèrement décalées de $f/f_s = \pm 0.3$. Il est possible que ce décalage ait été induit par un réglage de la fréquence d'imagerie f_0 à une fréquence irréalisable par l'échographe programmable dans la séquence d'imagerie, ce qui a conduit à des erreurs de démodulation. Ce bogue a éventuellement été réglé, mais les expériences menées avec le montage expérimental 1 ont été menées avant. Les expériences avec le montage expérimental 2 ont été effectuées après avoir corrigé l'erreur et ont produit des spectres conformes aux paramètres f_m et f_s utilisés.

6.2 Sous-objectif 2 : Cartographie de la cavitation

Le deuxième sous-objectif du projet de maîtrise consistait en l'évaluation de la pertinence de la méthode de détection BP-ETACI dans le cadre de la cartographie de la cavitation. La cavitation induite par la zone focale du montage expérimental 2 a d'abord été cartographiée en champ libre

(figure 4.4), dans le canal d'un fantôme de flux (figures 4.5, 4.6), puis in vivo, de manière transcrânienne dans le cerveau de souris (figures 4.7, 4.8, 4.9).

En champ libre, l'utilisation d'une quantité suffisante de données pour que les microbulles visitent le champ de vue de manière uniforme grâce à l'agitation de la solution a permis l'estimation du champ de pression émis par le transducteur focalisé. Ensuite, sur le fantôme de flux, l'utilisation de divers débits a mené à l'obtention de cartes de cavitation similaires, ce qui témoigne de la robustesse de la BP-ETACI à diverses vitesses d'écoulement (figure 4.6 DEF), jusqu'à un seuil (figure 4.6 G). L'effet du chevauchement spectral décrit à la section 6.1 a été aperçu en provenance de vaisseaux sanguins à flux rapides in vivo (figure 4.7). Ces vaisseaux sanguins à haut débit sont ceux qui alimentent et qui drainent le cerveau de souris en sang. Vue leur importance, leur anatomie est intimement connue, donc ils peuvent facilement être identifiés. De plus, ils n'ont pas obstrué l'observation de la cavitation dans la zone focale. Des ajustements pour limiter ce chevauchement ont été suggérés dans la section précédente et pourraient être mis en application pour obtenir une carte qui ne montre que la cavitation.

L'application de la BP-ETACI pour planifier des procédures de livraison thérapeutique avec la FUS-BBBO a été évaluée. La distribution d'une molécule fluorescente appelée Evans blue qui ne transite habituellement pas à travers la BBB dans le cerveau de souris a été observée grâce à l'histologie après une procédure de BBBO où la cavitation avait été cartographiée avec la BP-ETACI. La région cérébrale où de la fluorescence a été détectée correspondait de manière plausible à la région identifiée comme comportant de la cavitation sur les cartes de cavitation BP-ETACI. Ces cartes de cavitation ont été réalisées à partir de doses de cavitation qui n'ouvrent pas la BBB, ce qui rend possible son utilisation pour planifier des procédures de livraison thérapeutique FUS-BBBO.

L'équation 14 décrit l'opération de démodulation qui a été appliquée après l'acquisition d'un ensemble d'images et après sa reconstruction avec l'algorithme DAS. Elle est composée de deux opérations simples : une multiplication par une exponentielle complexe et l'application d'un filtre. Le filtrage par l'algorithme SVD utilisé pour retirer deux vecteurs propres de l'ensemble d'images appliqué après la démodulation est lui aussi relativement rapide. Il a été possible de réaliser cette opération en un temps raisonnable et ainsi d'afficher la zone focale chaque 20 tirs lors du traitement

pour ouvrir la BBBO in vivo, afin de monitorer que le placement de la zone focale n'est pas perturbé.

Un aspect qui n'a pas été étudié est l'influence du placement de la sonde d'imagerie dans le champ acoustique du transducteur focalisé. Puisque la sonde d'imagerie utilisée n'était pas transparente aux ultrasons émis par le transducteur focalisé, la sonde d'imagerie a modifié la forme de la zone focale. Puisque le but du projet n'était pas d'assurer une ouverture de la BBB restreinte à une zone ellipsoïde, mais plutôt de cartographier la cavitation dans le plan d'imagerie, les effets hors du plan d'imagerie n'ont pas été considérés. L'utilisation d'une sonde d'imagerie compacte conçue pour s'insérer dans l'ouverture du transducteur focalisé sans interférer avec le champ acoustique de celui-ci permettrait de régler le problème.

Dans le futur, pour améliorer la cartographie de la cavitation par BP-ETACI en soutien à des procédures FUS-BBBO, il serait bénéfique d'étendre la technique à l'échographie en 3D. effectivement, ceci permettrait de refléter le caractère tridimensionnel du réseau vasculaire et de son interaction avec la zone focale.

6.3 Sous-objectif 3 : Application à l'ULM

Le troisième sous-objectif du projet de maîtrise consistait en l'évaluation de la pertinence de la méthode de détection dans le cadre de la microscopie de localisation. Des microbulles dont le signal a été séparé du signal tissulaire avec la BP-ETACI ont été suivies par localisation dans un fantôme de flux et in vivo dans le cerveau de souris.

La capacité de la BP-ETACI à isoler le signal de microbulles individuelles a été observée en fantôme de flux, où plusieurs microbulles ont pu être suivies après le filtrage tissu-microbulles BP-ETACI. Les trajectoires qui ont été obtenues étaient similaires aux trajectoires obtenues lorsqu'un filtre tissu-microbulle basé sur la SVD était utilisé à la place du filtre BP-ETACI. Les deux approches de filtrage ont donné des trajectoires similaires qui témoignaient d'un écoulement laminaire, mais les trajectoires détectées avec ETACI étaient limitées à la zone focale du montage expérimental 2. De plus, le filtre passe-bas appliqué par l'équation 14 a retiré du signal les microbulles très rapides poussées par la force de radiation du transducteur focalisé, qui ont été préservées par SVD et dont les trajectoires sont donc visibles dans la carte ULM sur données filtrées par la SVD.

In vivo, des vaisseaux sanguins orientés dans le plan d'imagerie ont été détectés dans le cortex et dans les régions subcorticales à l'intérieur de la zone focale. De plus, des taches composées de plusieurs détections ont aussi été aperçues en périphérie du cerveau. Ces taches pourraient correspondre à des vaisseaux sanguins perpendiculaires au plan d'imagerie.

Les détections obtenues par BP-ETACI et ULM in vivo avaient un aspect plus diffus que l'aspect des détections obtenues par BP-ETACI et ULM en fantôme de flux, qui montraient clairement des trajectoires. Une combinaison de plusieurs facteurs pourrait être responsable de ce phénomène. Premièrement, la localisation des microbulles a été restreinte à la zone focale du montage expérimental 2, ce qui a limité la longueur des trajectoires qui ont pu être détectées. Ceci a probablement dégradé le résultat, puisque l'ULM utilise la longueur des trajectoires pour déterminer si elles sont plausibles. Deuxièmement, la vitesse du son n'était pas la même dans l'eau contenue par le montage expérimental 2 et dans le tissu, ce qui implique une réfraction aux interfaces. Ceci a probablement dégradé la fonction d'étalement des microbulles, qui est utilisée pour faire la localisation en ULM. Troisièmement, la sonde L8-18i est conçue pour une utilisation superficielle et donc sa focale en élévation était probablement trop courte.

Or, les trois facteurs mentionnés plus haut ont aussi joué un rôle lors de l'utilisation du montage expérimental 2 en fantôme de flux et des trajectoires ont pu être obtenues dans ce cas. Cependant, deux autres facteurs supplémentaires sont entrés en jeu in vivo. D'abord, in vivo, le réseau vasculaire était composé d'un assemblage complexe vaisseaux sanguins avec des orientations variées, un cas beaucoup plus complexe que le fantôme de flux. Plusieurs vaisseaux sanguins traversaient le plan d'imagerie et la mauvaise focalisation en élévation a pu ajouter beaucoup d'ambiguïté lors de leur suivi. Ces ambiguïtés pourraient être réduites en utilisant moins de microbulles, en remplaçant la lentille de la L8-18i ou encore en choisissant une sonde plus adaptée à l'imagerie en profondeur. Le dernier facteur majeur présent in vivo chez le cerveau de souris est le crâne. Effectivement, étant composé d'os qui ont des caractéristiques acoustiques drastiquement différentes des tissus mous, le crâne a agi comme un atténuateur et comme un réfracteur puissant. Le signal des microbulles dans les données acquises sur le cerveau de souris a donc été beaucoup plus faible qu'en fantôme et il a été brouillé par la réfraction crânienne. Afin d'éliminer l'influence du crâne, de futures expériences pourraient corriger les aberrations créées par celui-ci, remplacer le cerveau par un autre organe plus facile d'accès, ou encore retirer le crâne avant d'effectuer l'imagerie afin d'éviter l'acquisition transcrânienne.

CHAPITRE 7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

L'objectif principal de ce projet de maîtrise a été atteint. Effectivement, une méthode qui utilise la propriété de RM des microbulles pour les détecter, la BP-ETACI, a été établie et a été appliquée à la cartographie de la cavitation ainsi que pour séparer le signal des microbulles du signal du tissu pour en faire le suivi à l'aide d'algorithmes d'ULM.

Le sous-objectif 1 a été atteint. Effectivement, une infrastructure a été développée et est composée d'un cadre théorique, de montages expérimentaux, et d'une séquence d'imagerie. Cette infrastructure a permis de séparer le signal modulé du signal non modulé dans le cadre de la BP-ETACI. De plus, divers paramètres pourraient être ajustés pour optimiser cette séparation de manière supplémentaire.

Le sous-objectif 2 a aussi été atteint. Effectivement, la BP-ETACI a imagé le réseau vasculaire qui contient des microbulles en cavitation de manière transcrânienne in vivo chez la souris. Lors de son utilisation dans le cadre de la thérapie de livraison thérapeutique par FUS-BBBO, elle a prédit la région de livraison de l'agent tout en utilisant une dose de cavitation inférieure à celle requise pour l'ouverture de la BBB. Elle a aussi été utilisée pour monitorer le maintien du placement de la zone focale en temps réel. Elle fournit donc un moyen de planification et de monitoring en FUS-BBBO et ainsi elle pourrait permettre d'optimiser la précision de ces traitements et de minimiser leurs effets secondaires. La BP-ETACI crée des cartes de cavitation à haute résolution et pourrait donc être utilisée pour mieux comprendre comment la cavitation interagit avec les structures vasculaires ainsi qu'avec le reste des structures anatomiques. Par exemple, elle pourrait être utilisée pour identifier quels vaisseaux sanguins ont été exposés à la cavitation, afin de déterminer lesquels y sont plus sensibles. De plus, la technique pourrait produire des cartes de cavitation à haute résolution en temps réel avec des paramètres d'insonation thérapeutique FUS-BBBO couramment utilisés dans la littérature, ce qui augmente son impact. Une éventuelle application en 3D serait aussi bénéfique à l'étude de la cavitation en FUS-BBBO. En bref, la BP-ETACI est une technique prometteuse dans l'étude de la FUS-BBBO pour le traitement de toutes sortes de maladies neurologiques.

Finalement, le sous-objectif 3 a été atteint. Effectivement, l'utilisation de la BP-ETACI comme méthode de filtrage tissu microbulles a aussi été réussie. Elle a permis à un algorithme ULM de suivre des microbulles pour créer des trajectoires super-résolues lors d'expériences sur un fantôme

de flux. In vivo, elle a détecté des microbulles, et ce même dans des régions qui semblent correspondre à des vaisseaux transversaux au plan d'imagerie, ce qui est encourageant pour application à la détection de microbulles lentes. Pour améliorer l'application in vivo sur le cerveau de souris à travers le crâne, il faudrait améliorer le montage expérimental. Ainsi, la BP-ETACI ouvrirait la porte à l'étude du rôle de la stagnation du flux sanguin dans les capillaires en profondeur dans les maladies neurodégénératives.

RÉFÉRENCES

- [1] R. Daneman and A. Prat, ‘The Blood–Brain Barrier’, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 7, no. 1, p. a020412, Jan. 2015, doi: 10.1101/cshperspect.a020412.
- [2] K. Hynynen, N. McDannold, N. Vykhodtseva, and F. A. Jolesz, ‘Noninvasive MR Imaging–guided Focal Opening of the Blood-Brain Barrier in Rabbits’, *Radiology*, vol. 220, no. 3, pp. 640–646, Sep. 2001, doi: 10.1148/radiol.2202001804.
- [3] N. Todd, C. Angolano, C. Ferran, A. Devor, D. Borsook, and N. McDannold, ‘Secondary effects on brain physiology caused by focused ultrasound-mediated disruption of the blood–brain barrier’, *J. Controlled Release*, vol. 324, pp. 450–459, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.jconrel.2020.05.040.
- [4] S. Blais *et al.*, ‘Equivalent time active cavitation imaging’, *Phys. Med. Biol.*, vol. 66, no. 19, p. 195010, Sep. 2021, doi: 10.1088/1361-6560/ac1877.
- [5] 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.
- [6] 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/nature16066.
- [7] D. Ackermann and G. Schmitz, ‘Detection and Tracking of Multiple Microbubbles in Ultrasound B-Mode Images’, *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 63, no. 1, pp. 72–82, Jan. 2016, doi: 10.1109/TUFFC.2015.2500266.
- [8] S. B. Andersen *et al.*, ‘Super-Resolution Ultrasound Imaging Can Quantify Alterations in Microbubble Velocities in the Renal Vasculature of Rats’, *Diagnostics*, vol. 12, no. 5, Art. no. 5, May 2022, doi: 10.3390/diagnostics12051111.
- [9] C. Bourquin, J. Porée, F. Lesage, and J. Provost, ‘In Vivo Pulsatility Measurement of Cerebral Microcirculation in Rodents Using Dynamic Ultrasound Localization Microscopy’, *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 41, no. 4, pp. 782–792, Apr. 2022, doi: 10.1109/TMI.2021.3123912.
- [10] M. Wiersma, B. Heiles, D. Kalisvaart, D. Maresca, and C. S. Smith, ‘Retrieving Pulsatility in Ultrasound Localization Microscopy’, *IEEE Open J. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 2, pp. 283–298, 2022, doi: 10.1109/OJUFFC.2022.3221354.
- [11] R. Crumpler, R. J. Roman, and F. Fan, ‘Capillary Stalling: A Mechanism of Decreased Cerebral Blood Flow in AD/ADRD’, *J. Exp. Neurol.*, vol. Volume 2, no. Issue 4, Art. no. Issue 4, Oct. 2021, doi: 10.33696/Neurol.2.048.
- [12] J. L. Prince and J. M. Links, *Medical imaging signals and systems*, 2nd ed. Boston: Pearson, 2015.

- [13] C. Bruneel, R. Torguet, K. M. Rouvaen, E. Bridoux, and B. Nongaillard, 'Ultrafast echotomographic system using optical processing of ultrasonic signals', *Appl. Phys. Lett.*, vol. 30, no. 8, pp. 371–373, Apr. 1977, doi: 10.1063/1.89436.
- [14] D. P. Shattuck, M. D. Weinshenker, S. W. Smith, and O. T. von Ramm, 'Explososcan: A parallel processing technique for high speed ultrasound imaging with linear phased arrays', *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 75, no. 4, pp. 1273–1282, Apr. 1984, doi: 10.1121/1.390734.
- [15] L. Sandrin, S. Catheline, M. Tanter, X. Hennequin, and M. Fink, 'Time-Resolved Pulsed Elastography with Ultrafast Ultrasonic Imaging', *Ultrason. Imaging*, vol. 21, no. 4, pp. 259–272, Oct. 1999, doi: 10.1177/016173469902100402.
- [16] 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.
- [17] M. Tanter and M. Fink, 'Ultrafast imaging in biomedical ultrasound', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 61, no. 1, pp. 102–119, Jan. 2014, doi: 10.1109/TUFFC.2014.2882.
- [18] D. L. Franklin, W. Schlegel, and R. F. Rushmer, 'Blood flow measured by Doppler frequency shift of back-scattered ultrasound', *Science*, vol. 134, no. 3478, pp. 564–565, Aug. 1961, doi: 10.1126/science.134.3478.564.
- [19] J. B. Kostis, E. Mavrogeorgis, A. Slater, and S. Bellet, 'Use of a Range-gated, Pulsed Ultrasonic Doppler Technique for Continuous Measurement of Velocity of the Posterior Heart Wall', *CHEST*, vol. 62, no. 5, pp. 597–604, Nov. 1972, doi: 10.1378/chest.62.5.597.
- [20] J. A. Jensen, *Estimation of Blood Velocities Using Ultrasound: A Signal Processing Approach*. Cambridge University Press, 1996.
- [21] 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.
- [22] C. Errico, B.-F. Osmanski, S. Pezet, O. Couture, Z. Lenkei, and M. Tanter, 'Transcranial functional ultrasound imaging of the brain using microbubble-enhanced ultrasensitive Doppler', *NeuroImage*, vol. 124, pp. 752–761, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.09.037.
- [23] B. A. Kaufmann, K. Wei, and J. R. Lindner, 'Contrast Echocardiography', *Curr. Probl. Cardiol.*, vol. 32, no. 2, pp. 51–96, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.cpcardiol.2006.10.004.
- [24] W. F. Armstrong, S. R. West, T. M. Mueller, J. C. Dillon, and H. Feigenbaum, 'Assessment of location and size of myocardial infarction with contrast-enhanced echocardiography', *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 2, no. 1, pp. 63–69, Jul. 1983, doi: 10.1016/S0735-1097(83)80377-5.
- [25] J.-M. Correas, M. Claudon, F. Tranquart, and O. Hélénon, 'The Kidney: Imaging with Microbubble Contrast Agents', *Ultrasound Q.*, vol. 22, no. 1, p. 53, Mar. 2006.

- [26] K. Wei, E. Le, J.-P. Bin, M. Coggins, J. Thorpe, and S. Kaul, 'Quantification of renal blood flow with contrast-enhanced ultrasound', *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 37, no. 4, pp. 1135–1140, Mar. 2001, doi: 10.1016/S0735-1097(00)01210-9.
- [27] F. Stuart Foster, P. N. Burns, D. H. Simpson, S. R. Wilson, D. A. Christopher, and D. E. Goertz, 'Ultrasound for the Visualization and Quantification of Tumor Microcirculation', *Cancer Metastasis Rev.*, vol. 19, no. 1, pp. 131–138, Jun. 2000, doi: 10.1023/A:1026541510549.
- [28] E. J. Halpern, 'Contrast-Enhanced Ultrasound Imaging of Prostate Cancer', *Rev. Urol.*, vol. 8, no. Suppl 1, pp. S29–S37, 2006.
- [29] H. Liu, Y.-X. Jiang, J.-B. Liu, Q.-L. Zhu, and Q. Sun, 'Evaluation of breast lesions with contrast-enhanced ultrasound using the microvascular imaging technique: Initial observations', *The Breast*, vol. 17, no. 5, pp. 532–539, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.breast.2008.04.004.
- [30] E.-M. Jung, M.-A. Weber, and I. Wiesinger, 'Contrast-enhanced ultrasound perfusion imaging of organs', *Radiol.*, vol. 61, no. Suppl 1, pp. 19–28, Dec. 2021, doi: 10.1007/s00117-021-00891-7.
- [31] N. Karogiannis and R. Senior, 'Contrast echocardiography for detection of myocardial perfusion abnormalities : A clinical perspective', *Herz*, vol. 42, no. 3, pp. 287–294, May 2017, doi: 10.1007/s00059-017-4536-7.
- [32] D. H. Simpson, C. T. Chin, and P. N. Burns, 'Pulse inversion Doppler: a new method for detecting nonlinear echoes from microbubble contrast agents', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 46, no. 2, pp. 372–382, Mar. 1999, doi: 10.1109/58.753026.
- [33] R. J. Eckersley, C. T. Chin, and P. N. Burns, 'Optimising phase and amplitude modulation schemes for imaging microbubble contrast agents at low acoustic power', *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 31, no. 2, pp. 213–219, Feb. 2005, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2004.10.004.
- [34] A. Bouakaz, M. Versluis, J. Borsboom, and N. De Jong, 'Radial Modulation of Microbubbles for Ultrasound Contrast Imaging', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 54, no. 11, pp. 2283–2290, Nov. 2007, doi: 10.1109/TUFFC.2007.532.
- [35] E. Chérin *et al.*, 'Radial Modulation Imaging of Microbubble Contrast Agents at High Frequency', *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 6, pp. 949–962, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2007.11.017.
- [36] B. A. J. Angelsen and R. Hansen, '7A-1 SURF Imaging - A New Method for Ultrasound Contrast Agent Imaging', in *2007 IEEE Ultrasonics Symposium Proceedings*, Oct. 2007, pp. 531–541. doi: 10.1109/ULTSYM.2007.140.
- [37] R. Hansen and B. A. J. Angelsen, 'SURF imaging for contrast agent detection', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 56, no. 2, pp. 280–290, Feb. 2009, doi: 10.1109/TUFFC.2009.1037.
- [38] S.-E. Masoy, O. Standal, P. Nasholm, T. F. Johansen, B. Angelsen, and R. Hansen, 'SURF imaging: In vivo demonstration of an ultrasound contrast agent detection technique', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 55, no. 5, pp. 1112–1121, May 2008, doi: 10.1109/TUFFC.2008.763.

- [39] P. Muleki-Seya, K. Xu, M. Tanter, and O. Couture, ‘Ultrafast Radial Modulation Imaging’, *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 67, no. 3, pp. 598–611, Mar. 2020, doi: 10.1109/TUFFC.2019.2949046.
- [40] B. Jing, H. Lee, P. Dash, C. D. Arvanitis, and B. D. Lindsey, ‘High contrast ultrasound imaging of very low frequency (100 kHz) modulated microbubbles’, in *2021 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)*, Sep. 2021, pp. 1–4. doi: 10.1109/IUS52206.2021.9593427.
- [41] B. Jing and B. D. Lindsey, ‘Very Low Frequency Radial Modulation for Deep Penetration Contrast-Enhanced Ultrasound Imaging’, *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 48, no. 3, pp. 530–545, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.11.010.
- [42] N. McDannold, N. Vykhodtseva, and K. Hynynen, ‘Targeted disruption of the blood–brain barrier with focused ultrasound: association with cavitation activity’, *Phys. Med. Biol.*, vol. 51, no. 4, p. 793, Jan. 2006, doi: 10.1088/0031-9155/51/4/003.
- [43] T. Sun, G. Samiotaki, S. Wang, C. Acosta, C. C. Chen, and E. E. Konofagou, ‘Acoustic cavitation-based monitoring of the reversibility and permeability of ultrasound-induced blood-brain barrier opening’, *Phys. Med. Biol.*, vol. 60, no. 23, p. 9079, Nov. 2015, doi: 10.1088/0031-9155/60/23/9079.
- [44] H. A. Kamimura *et al.*, ‘Feedback control of microbubble cavitation for ultrasound-mediated blood–brain barrier disruption in non-human primates under magnetic resonance guidance’, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 39, no. 7, pp. 1191–1203, Jul. 2019, doi: 10.1177/0271678X17753514.
- [45] M. A. O’Reilly and K. Hynynen, ‘Blood-Brain Barrier: Real-time Feedback-controlled Focused Ultrasound Disruption by Using an Acoustic Emissions–based Controller’, *Radiology*, vol. 263, no. 1, pp. 96–106, Apr. 2012, doi: 10.1148/radiol.11111417.
- [46] N. Lipsman *et al.*, ‘Blood–brain barrier opening in Alzheimer’s disease using MR-guided focused ultrasound’, *Nat. Commun.*, vol. 9, no. 1, p. 2336, Jul. 2018, doi: 10.1038/s41467-018-04529-6.
- [47] K. Sujarittam and J. J. Choi, ‘Angular dependence of the acoustic signal of a microbubble cloud’, *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 148, no. 5, pp. 2958–2972, Nov. 2020, doi: 10.1121/10.0002490.
- [48] M. Gyöngy and C.-C. Coussios, ‘Passive cavitation mapping for localization and tracking of bubble dynamics’, *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 128, no. 4, pp. EL175–EL180, Sep. 2010, doi: 10.1121/1.3467491.
- [49] M. Polichetti, ‘Traitement d’antenne adaptatif pour l’imagerie ultrasonore passive de la cavitation’, phdthesis, Université de Lyon, 2019. Accessed: Jul. 03, 2023. [Online]. Available: <https://theses.hal.science/tel-02437922>
- [50] J. J. Choi, R. C. Carlisle, C. Coviello, L. Seymour, and C.-C. Coussios, ‘Non-invasive and real-time passive acoustic mapping of ultrasound-mediated drug delivery’, *Phys. Med. Biol.*, vol. 59, no. 17, pp. 4861–4877, Sep. 2014, doi: 10.1088/0031-9155/59/17/4861.
- [51] A. Singh, J. Kusunose, M. A. Phipps, F. Wang, L. M. Chen, and C. F. Caskey, ‘Guiding and monitoring focused ultrasound mediated blood–brain barrier opening in rats using power

- Doppler imaging and passive acoustic mapping', *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, Art. no. 1, Aug. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-18328-z.
- [52] C. D. Arvanitis, M. S. Livingstone, and N. McDannold, 'Combined ultrasound and MR imaging to guide focused ultrasound therapies in the brain', *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 14, p. 4749, Jun. 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/14/4749.
- [53] S.-Y. Wu *et al.*, 'Efficient Blood-Brain Barrier Opening in Primates with Neuronavigation-Guided Ultrasound and Real-Time Acoustic Mapping', *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, Art. no. 1, May 2018, doi: 10.1038/s41598-018-25904-9.
- [54] S. Bae, K. Liu, A. N. Pouliopoulos, R. Ji, and Elisa. E. Konofagou, 'Real-Time Passive Acoustic Mapping With Enhanced Spatial Resolution in Neuronavigation-Guided Focused Ultrasound for Blood–Brain Barrier Opening', *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, pp. 1–12, 2023, doi: 10.1109/TBME.2023.3266952.
- [55] J. Gateau, J.-F. Aubry, M. Pernot, M. Fink, and M. Tanter, 'Combined passive detection and ultrafast active imaging of cavitation events induced by short pulses of high-intensity ultrasound', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 58, no. 3, pp. 517–532, Mar. 2011, doi: 10.1109/TUFFC.2011.1836.
- [56] M. T. Burgess, I. Apostolakis, and E. E. Konofagou, 'Power cavitation-guided blood-brain barrier opening with focused ultrasound and microbubbles', *Phys. Med. Biol.*, vol. 63, no. 6, p. 065009, Mar. 2018, doi: 10.1088/1361-6560/aab05c.
- [57] A. J. Batts *et al.*, 'Using a novel rapid alternating steering angles pulse sequence to evaluate the impact of theranostic ultrasound-mediated ultra-short pulse length on blood-brain barrier opening volume and closure, cavitation mapping, drug delivery feasibility, and safety', *Theranostics*, vol. 13, no. 3, pp. 1180–1197, Feb. 2023, doi: 10.7150/thno.76199.
- [58] J. Yan *et al.*, 'Transthoracic super-resolution ultrasound localisation microscopy of myocardial vasculature in patients'.
- [59] A. Bouakaz, S. Frigstad, F. J. Ten Cate, and N. de Jong, 'Super harmonic imaging: a new imaging technique for improved contrast detection', *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 28, no. 1, pp. 59–68, Jan. 2002, doi: 10.1016/S0301-5629(01)00460-4.
- [60] P. L. M. J. Van Neer, G. Matte, M. G. Danilouchkine, C. Prins, F. Van Den Adel, and N. De Jong, 'Super-harmonic imaging: development of an interleaved phased-array transducer', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 57, no. 2, pp. 455–468, Feb. 2010, doi: 10.1109/TUFFC.2010.1426.
- [61] T. M. Kierski *et al.*, 'Super harmonic ultrasound for motion-independent localization microscopy: applications to microvascular imaging from low to high flow rates', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 67, no. 5, pp. 957–967, May 2020, doi: 10.1109/TUFFC.2020.2965767.
- [62] G. Zhang *et al.*, 'Fast Acoustic Wave Sparsely Activated Localization Microscopy: Ultrasound Super-Resolution Using Plane-Wave Activation of Nanodroplets', *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 66, no. 6, pp. 1039–1046, Jun. 2019, doi: 10.1109/TUFFC.2019.2906496.

- [63] M. T. Burgess, M. Aliabouzar, C. Aguilar, M. L. Fabiilli, and J. A. Ketterling, ‘Slow-Flow Ultrasound Localization Microscopy Using Recondensation of Perfluoropentane Nanodroplets’, *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 48, no. 5, pp. 743–759, May 2022, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.12.007.
- [64] A. Leconte *et al.*, ‘A Tracking Prior to Localization Workflow for Ultrasound Localization Microscopy’, *IEEE Trans. Med. Imaging*, Aug. 2023.
- [65] C. M. Gorick *et al.*, ‘Applications of focused ultrasound-mediated blood-brain barrier opening’, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 191, p. 114583, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.addr.2022.114583.
- [66] M. M. Bottros and P. J. Christo, ‘Current perspectives on intrathecal drug delivery’, *J. Pain Res.*, vol. 7, pp. 615–626, Dec. 2014, doi: 10.2147/JPR.S37591.
- [67] P. Calias, W. A. Banks, D. Begley, M. Scarpa, and P. Dickson, ‘Intrathecal delivery of protein therapeutics to the brain: A critical reassessment’, *Pharmacol. Ther.*, vol. 144, no. 2, pp. 114–122, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.05.009.
- [68] J. Fenstermacher and J. Gazendam, ‘Intra-arterial infusions of drugs and hyperosmotic solutions as ways of enhancing CNS chemotherapy’, *Cancer Treat. Rep.*, vol. 65 Suppl 2, pp. 27–37, Jan. 1981.
- [69] E. Hudry and L. H. Vandenberghe, ‘Therapeutic AAV Gene Transfer to the Nervous System: A Clinical Reality’, *Neuron*, vol. 101, no. 5, pp. 839–862, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.neuron.2019.02.017.
- [70] X. Zhou, Q. R. Smith, and X. Liu, ‘Brain penetrating peptides and peptide–drug conjugates to overcome the blood–brain barrier and target CNS diseases’, *WIREs Nanomedicine Nanobiotechnology*, vol. 13, no. 4, p. e1695, 2021, doi: 10.1002/wnan.1695.
- [71] N. Sheikov, N. McDannold, N. Vykhodtseva, F. Jolesz, and K. Hynynen, ‘Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles’, *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 30, no. 7, pp. 979–989, Jul. 2004, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2004.04.010.
- [72] F. Marquet *et al.*, ‘Real-Time, Transcranial Monitoring of Safe Blood-Brain Barrier Opening in Non-Human Primates’, *PLOS ONE*, vol. 9, no. 2, p. e84310, Feb. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0084310.
- [73] S.-Y. Wu, C. S. Sanchez, G. Samiotaki, A. Buch, V. P. Ferrera, and E. E. Konofagou, ‘Characterizing Focused-Ultrasound Mediated Drug Delivery to the Heterogeneous Primate Brain In Vivo with Acoustic Monitoring’, *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, p. 37094, Nov. 2016, doi: 10.1038/srep37094.
- [74] P. Mondou, S. Mériaux, F. Nageotte, J. Vappou, A. Novell, and B. Larrat, ‘State of the art on microbubble cavitation monitoring and feedback control for blood-brain-barrier opening using focused ultrasound’, *Phys. Med. Biol.*, 2023, doi: 10.1088/1361-6560/ace23e.
- [75] S. Spiekhout *et al.*, ‘Time-resolved absolute radius estimation of vibrating contrast microbubbles using an acoustical camera’, *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 151, no. 6, pp. 3993–4003, Jun. 2022, doi: 10.1121/10.0011619.

- [76] J. J. Choi, M. Pernot, T. R. Brown, S. A. Small, and E. E. Konofagou, ‘Spatio-temporal analysis of molecular delivery through the blood–brain barrier using focused ultrasound’, *Phys. Med. Biol.*, vol. 52, no. 18, pp. 5509–5530, Sep. 2007, doi: 10.1088/0031-9155/52/18/004.
- [77] M. F. Haller and W. M. Saltzman, ‘Localized Delivery of Proteins in the Brain: Can Transport Be Customized?’, *Pharm. Res.*, vol. 15, no. 3, pp. 377–385, Mar. 1998, doi: 10.1023/A:1011911912174.
- [78] S. W. Flax and M. O’Donnell, ‘Phase-aberration correction using signals from point reflectors and diffuse scatterers: basic principles’, *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 35, no. 6, pp. 758–767, Nov. 1988, doi: 10.1109/58.9333.
- [79] J. Robin *et al.*, ‘In vivo adaptive focusing for clinical contrast-enhanced transcranial ultrasound imaging in human’, *Phys. Med. Biol.*, vol. 68, no. 2, p. 025019, Jan. 2023, doi: 10.1088/1361-6560/acabfb.
- [80] K. Gandhi, A. Barzegar-Fallah, A. Banstola, S. B. Rizwan, and J. N. J. Reynolds, ‘Ultrasound-Mediated Blood–Brain Barrier Disruption for Drug Delivery: A Systematic Review of Protocols, Efficacy, and Safety Outcomes from Preclinical and Clinical Studies’, *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 4, Art. no. 4, Apr. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14040833.