

Titre:	Méthode de suivi du champ de pression d'un transducteur ultrasonore focalisé à haute intensité pour l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique
Auteur:	Simon Blais
Author:	
Date:	2020
Type:	Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis
Référence:	Blais, S. (2020). Méthode de suivi du champ de pression d'un transducteur ultrasonore focalisé à haute intensité pour l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique [Mémoire de maîtrise, Polytechnique Montréal]. PolyPublie. https://publications.polymtl.ca/5585/
Citation:	

Document en libre accès dans PolyPublie

Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/5585/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Jean Provost, & Abbas Sadikot
Advisors:

Programme: Génie biomédical
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Méthode de suivi du champ de pression d'un transducteur ultrasonore focalisé
à haute intensité pour l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique**

SIMON BLAIS

Institut de génie biomédical

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

Génie biomédical

Décembre 2020

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

**Méthode de suivi du champ de pression d'un transducteur ultrasonore focalisé
à haute intensité pour l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique**

présenté par **Simon BLAIS**

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

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

Benjamin DE LEENER, président

Jean PROVOST, membre et directeur de recherche

Abbas SADIKOT, membre et codirecteur de recherche

François YU, membre

DÉDICACE

À ma famille.

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de recherche, Jean Provost, qui a su me donner de bons conseils tout au long de ma maîtrise, et ce, tant au niveau personnel qu'académique. Je tiens également à remercier le Dr Sadikot afin de m'avoir fortement encouragé à réaliser cette maîtrise et de m'avoir donné la chance de travailler dans son laboratoire.

J'aimerais ensuite remercier tous mes collègues du laboratoire Provost pour l'entraide et les bons moments. Je remercie particulièrement mon voisin de bureau Philipe, qui a su me motiver grâce à son travail assidu, et Erwan, mon Français favori. Mention spéciale pour Jonathan « Gaspajo » et Vincent qui m'ont particulièrement aidé lors de ce projet ainsi que Gerardo et Samuel avec qui j'ai eu une étroite collaboration tout au long du projet.

Je veux également remercier ma copine et ma famille qui ont su m'encourager au travers des derniers mois particulièrement chargés.

Finalement, j'aimerais remercier l'équipe de chez NOVO qui m'a permis de réaliser un stage incroyable durant les derniers mois de ma maîtrise.

RÉSUMÉ

Avec le vieillissement de la population, la prévalence d'affections neurologiques au sein de la population est en pleine croissance. La grande majorité de ces affections touche principalement le système nerveux central et peut provoquer divers symptômes affectant grandement la qualité de vie des patients atteints de ces maladies. Bien que certaines maladies, telles que l'Alzheimer, le Parkinson et la maladie d'Huntingdon, pourraient bénéficier de traitements par voie médicamenteuse, il est très difficile de traiter ces maladies dues à la quasi-incapacité des molécules thérapeutiques à se rendre et à agir sur le cerveau. Cette difficulté provient principalement de la présence d'une barrière biologique, nommée la barrière hémato-encéphalique, qui empêche plus de 98% des molécules thérapeutiques actuellement disponibles de se rendre au parenchyme cérébral. Bien que plusieurs méthodes existent afin de contourner cette protection intrinsèque à notre cerveau, celles-ci sont non spécifiques et peuvent provoquer plusieurs effets non désirés tels que des infections ou des effets hors cible. Toutefois, il a récemment été démontré qu'il était possible d'ouvrir la barrière hémato-encéphalique de façon non-invasive, temporaire et localisée grâce à l'utilisation d'ultrasons focalisés conjointement à l'injection de microbulles dans la circulation sanguine. Ainsi, avec l'intérêt croissant envers les interventions cliniques minimalement invasives et de courtes durées, l'intérêt pour les interventions par ultrasons focalisés connaît un essor fulgurant. Bien que la faisabilité de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique par ultrasons focalisés ait été démontrée en clinique, les techniques d'imagerie pour faire le suivi de ces traitements possèdent des lacunes majeures et n'assure pas le résultat, ce qui ralentit par le fait même le développement de ces traitements.

Le caractère non destructif de cette méthode repose principalement sur les interactions entre la propagation du champ de pression des ultrasons focalisés et les microbulles, causant par le fait même l'oscillation (cavitation) volumétrique des microbulles. Les phénomènes mécaniques résultant de ces interactions permettent l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique lorsque des conditions bien spécifiques sont atteintes. Ces conditions peuvent être affectées par une multitude de facteurs tels que la présence d'aberrations, la concentration spatiale en microbulles, la fréquence du transducteur utilisé, la variation de la température locale, etc. Il est donc nécessaire d'avoir une modalité d'imagerie permettant de faire un suivi spatiotemporel du champ de pression nécessaire à l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique. Ce mémoire a pour objectif de faire la preuve de concept d'une nouvelle modalité d'imagerie ultrasonore pouvant répondre à ces différents besoins

cliniques afin d'assurer un suivi du traitement de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique par ultrasons focalisés. La modalité d'imagerie développée lors de cette maîtrise, nommée *Equivalent Time Acoustic Cavitation Imaging* (ETACI), permet ainsi de caractériser spatiotemporellement l'intensité de l'oscillation stable des microbulles causée par le champ de pression du transducteur focalisé simultanément à l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique. Comme cette cartographie reflète directement l'intensité du champ de pression du transducteur focalisé, nous sommes en mesure de réaliser indirectement des cartes du champ de pression. Les résultats obtenus *in vitro* sur différents types de fantômes et *in vivo* sur une souris lors d'un traitement d'ouverture de la barrière hémato-encéphalique sont convaincants et démontrent le potentiel de la méthode. De ces résultats, il semblerait que cette modalité d'imagerie pourrait non seulement servir à faire le suivi de chirurgies non invasives par ultrasons focalisés couplés aux microbulles mais également à caractériser le champ de pression de transducteurs ainsi qu'à augmenter le contraste d'imagerie ultrasonore.

ABSTRACT

Neurological disorders are on the rise due to an increase in older demographics worldwide. Acting mainly on the central nervous system, they can cause various symptoms that considerably decrease the quality of life of the affected individuals. For instance, some patients with Alzheimer's, Parkinson's and Huntington's disease, could benefit from drug treatment. However, many promising therapeutics cannot access the brain cells due to the presence of a biological protection called the blood-brain barrier. It will prevent over 98% of currently available therapeutic molecules from reaching the parenchyma. Although several solutions exist for bypassing the blood-brain barrier, they remain non-specific and can cause several side effects such as infections, epileptic seizures and off-target effects. Recently, the use of focused ultrasound combined with the injection of microbubbles into the blood stream has shown promise for opening the blood-brain barrier in a transient non-invasive manner. With growing interest in minimally invasive and short-term clinical interventions, focused ultrasound procedures are thriving. Although the feasibility of this technique has been proven, imaging modalities to monitor the treatments have major shortcomings, hence the difficulty with the development of these treatments.

The non-destructive aspect of this method is mainly based on the interactions between the propagation of the pressure field of the focused ultrasound and the microbubbles. The resulting mechanical phenomenon leads to apparent, damage-free, reversible blood-brain barrier disruption when specific conditions are reached. The presence of aberrations, microbubble spatial concentration, transducer frequency and local temperature variations are amongst the many factors that can contribute to variations in the expected results. Herein, this thesis demonstrates the proof of concept of a new ultrasound imaging modality that fulfills the different clinical needs to provide monitoring for focused ultrasound induced blood-brain barrier opening treatment. The imaging modality developed during this study, called Equivalent Time Acoustic Cavitation Imaging (ETACI), makes it possible to spatiotemporally map the microbubble's stable cavitation events. As this mapping is correlated to the focused transducer pressure field intensity, we can generate qualitative pressure maps of the sonicated medium. The results obtained during this study on different phantoms *in vitro* and on a mouse during focused ultrasound induced blood-brain barrier opening treatment are convincing to demonstrate the potential of this method. This imaging modality is also potentially useful for the characterization of transducer pressure fields and for increasing contrast in ultrasound imaging.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	V
ABSTRACT	VII
TABLE DES MATIÈRES	VIII
LISTE DES FIGURES	XI
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XV
LISTE DES ANNEXES.....	XVI
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Maladies neurologiques.....	1
1.1.1 Système nerveux central.....	1
1.1.2 Ouverture de la barrière hémato-encéphalique	2
CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
2.1 Ultrasons médicaux	4
2.1.1 Imagerie médicale ultrasonore	4
2.1.2 Ultrasons thérapeutiques focalisés	10
2.1.3 Microbulle	10
2.2 Méthodes de suivi de traitement.....	12
2.3 Objectifs	18
CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE.....	20
3.1 Montage général	20
3.1.1 Transducteur.....	20
3.1.2 Montage mécanique	22

3.1.3 Modalité d'imagerie	25
3.2 Montages <i>in vitro</i>	30
3.2.1 Caractérisation avec PCD.....	30
3.2.2 Caractérisation avec hydrophone	31
3.2.3 Caractérisation en champ libre	34
3.2.4 Caractérisation en fantôme de flux.....	34
3.3 Montage in-vivo	36
CHAPITRE 4 ARTICLE 1: EQUIVALENT TIME ACTIVE CAVITATION IMAGING	42
4.1 Introduction	43
4.2 Methods.....	46
4.2.1 Equivalent Time Active Cavitation Imaging sequence	47
4.2.2 Pressure field map extraction	50
4.2.3 Transducer Setup.....	50
4.2.4 In vitro	51
4.2.5 In vivo	53
4.3 Results	54
4.3.1 In vitro	54
4.4 Discussion	61
4.5 Conclusion.....	62
4.6 Competing interests.....	63
4.7 References	63
CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE	69
5.1 In vitro	70
5.2 <i>In vivo</i>	72

CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	75
RÉFÉRENCES	76
ANNEXES	82

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Comparaison entre les capillaires périphériques et les capillaires de la BHE	2
Figure 2.1 : Illustration des étapes de l'imagerie ultrasonore.(a) Émission du front d'onde. (b) Propagation du front d'onde. (c) Réception du front d'onde	5
Figure 2.2 : Propagation d'une onde acoustique de gauche à droite dans un milieu.	6
Figure 2.3 : Axes géométriques d'une barrette linéaire de transducteurs piézoélectriques.....	8
Figure 2.4 : Conceptualisation de la résolution selon les dimensions latérale et azimutale.	9
Figure 2.5 : Exemple d'une carte de cavitation obtenue via une méthode d'imagerie de cavitation passive. Extrait de [54].....	15
Figure 2.6: Simulation du champ de pression d'un transducteur focalisé. (a) En champ libre. (b) En présence du crâne d'une souris. Extrait de [70].	18
Figure 3.1 : Caractéristiques géométriques du transducteur H-102.	21
Figure 3.2 : Schématisation des différents champs de vue des sondes testées.....	22
Figure 3.3 : Étapes de moulage pour la création d'un support adapté à la forme de la sonde.	23
Figure 3.4 : Sonde CL15-7 dans le socle en silicone.	23
Figure 3.5 : Dispositif de couplage imprimé en 3D.	24
Figure 3.6 : Vue de coupe du montage de couplage entre les deux transducteurs.....	25
Figure 3.7: Pipeline de la modalité d'imagerie.....	26
Figure 3.8 : Éléments actifs et leur apodisation respective.	28
Figure 3.9 : Organisation des acquisitions pour une séquence d'imagerie.	29
Figure 3.10 : Exemple d'émissions à angles de $\pm 7^\circ$	29
Figure 3.11 : Vue d'ensemble du montage pour la caractérisation avec un PCD.....	31
Figure 3.12 : Vue d'ensemble du montage pour la caractérisation avec un hydrophone.	32
Figure 3.13 : Dispositif de localisation de la focale imprimé en 3D.....	33

Figure 3.14 : Relation entre la pression négative maximale mesurée à la focale par rapport au voltage de sortie du générateur de fonction.	34
Figure 3.15 : Vue d'ensemble du montage pour la caractérisation avec un fantôme de flux.	35
Figure 3.16 : Vue d'ensemble du montage expérimental <i>in-vivo</i>	36
Figure 3.17 : Schéma des branchements entre les différents appareils.	37
Figure 3.18 : Démonstration de la visé laser sans vibration.	39
Figure 3.19 : Vue de l'intérieur du bassin de couplage du crâne dénudé.	40
Figure 3.20 : Veine difficilement perceptible de la queue de la souris.	40
Figure 4.1: Microbubble's volumetric oscillation under modulation wave propagation through the medium. (a) Stable cavitation resulting in cyclic volumetric expansion and compression. (b) Inertial cavitation resulting in microbubble collapse.	47
Figure 4.2 : Overview of the ETACI sampling and its effect on the received signal. (a) Sequence acquisition shifts in relation to the modulation wave. (b) Schematic of the back-scattered signal of the microbubbles and the tissue when the microbubble is sampled periodically in the same volumetric state. (c) Frequency spectrum in the slow-time of the backscattered signal. (d) Schematic of the back-scattered signal of the microbubbles and the tissue when the sequence samples the microbubbles at various states along a volumetric oscillation cycle. (e) Frequency spectrum in the slow-time where the microbubbles' signal is shifted from the clutter signal. (f) Schematic of the back-scattered signal of the microbubble and the tissue when the sequence samples the microbubble in various states along a volumetric oscillation cycle and the equivalent time relation. (g) Frequency spectrum in the slow-time where the microbubbles' signal is shifted from the clutter signal and the equivalent time relation.....	49
Figure 4.3 : Co-axial transducer setup for BBB opening treatment in mice.	51
Figure 4.4 : Mean slow-time frequency spectrum at the equivalent sampling frequency for every pixel of the field of view (FOV). (a) Spectrum profiles at different microbubble concentrations under the same HIFU modulation (0.1 MPa). Zoomed in spectrum between 0.9 MHz and 1.3 MHz. (b) Spectrum profiles at variable HIFU PNP amplitude with a constant microbubble concentration. Zoomed in spectrum between 0.9 MHz and 1.3 MHz.	55

Figure 4.5 : HIFU beam profile mapping in free field at 0.04 MPa PNP and hydrophone mapping of the same region. The red dotted line circumscribes the corresponding zoomed in area position on the overall field of view. (a) Overall field of view of the H-102 HIFU pressure field measured with the ETACI modality. (b) Zoomed in area corresponding to the same region as the hydrophone measurement. (c) 2D central plane of the hydrophone pressure map. (d) Mean negative pressure along the axial dimension. (e) Mean pixel intensity value along the axial dimension. (f) Correlation between the pixel intensity of the ETACI technique and the negative pressure measurements of the hydrophone mapping.....56

Figure 4.6 : HIFU pressure field and tissue suppression characterization. The white dotted line circumscribes the outline of Blue Phantom wall. (a) ETACI of the medium containing the free-floating microbubbles and the phantom. (b) B-mode of the same medium. (c) Pixel intensity profile in decibel along the blue dotted line crossing the focal field in.57

Figure 4.7 : Pressure field mapping over the longitudinal section of a vessel in a tissue mimicking flow phantom. (a) ETACI of the longitudinal section with gravity generated flow. (b) B-mode of the same medium. (c) Pixel intensity profile in decibel along the blue and orange dotted line situated on horizontal axis of the vessel and in the surrounding tissue respectively.58

Figure 4.8 : Compounded pressure field mapping images of continuous and burst HIFU BBB opening treatment on the right and left side of the brain respectively. Dotted red rectangle shows the zoomed in region and the red ellipse shows the theoretical focal size and position of the H102 transducer in relation to the imaging probe. (a) Full FOV of the compounded pressure field mapping of continuous FUS exposure treatment. (b) Overlay of the corresponding histology section with the zoomed in compounded pressure field mapping. The yellow line shows the normalized acoustic energy integration along the axial dimension. (c) B-mode reference of the same FOV. (d) Full FOV of the compounded pressure field mapping of continuous FUS exposure treatment. (e) Overlay of the corresponding histology section with the zoomed in compounded pressure field. The yellow line shows the normalized acoustic energy integration along the axial dimension. (f) B-mode reference of the same FOV. (g) Mean frequency spectrum profiles of the measured signal for burst and continuous treatment for mouse BBB opening. (h) Fluorescence microscopy of a representative coronal brain section stained with Evans Blue dye.....60

Figure 5.1 : Cartographie tridimensionnelle d'un champ de pression par ETACI avec une sonde 3D réalisée en champ libre.....	71
---	----

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

BHE	Barrière hémato-encéphalique
DAS	Délais et somme
DFT	Transformée de Fourier discrète
FOV	Champs de vue
FUS	Ultrasons focalisés
HIFU	Ultrasons focalisés de haute intensité
IRM	Imagerie par résonnance magnétique
PAM	Cartographie passive d'émissions acoustiques
PCD	Détecteur passif de cavitation
PRF	Fréquence de répétition des pulses
PRP	Période de répétition des pulses
RMI	Imagerie par modulation radiale

LISTE DES ANNEXES

Annexe A MONTAGE IRM COMPATIBLE IMPRIMÉ EN 3D POUR LE TRAITEMENT INTRALIRM	82
---	----

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Maladies neurologiques

Selon une estimation tirée d'enquêtes populationnelles nationales, près de 3.7 millions de canadiens vivraient avec une affection neurologique, soit près de 10% de la population canadienne [1] et l'on projetterait ce nombre à des centaines de millions de personnes à travers le monde [2]. La plupart de ces maladies affectent le système nerveux central et peuvent provoquer plusieurs symptômes chez le patient tels que la paralysie, un manque de coordination, des crises d'épilepsie et l'altération des fonctions cognitives, sensorielles et motrices. Bien que les affections neurologiques puissent survenir à tout âge, leur prévalence, soit le nombre de cas de la maladie dans une population à un moment spécifique, semble augmenter en fonction de l'âge. Par exemple, la prévalence d'affections neurologiques dans la tranche des 40-49 ans est de 40.51 par 100 000 individus et décuple à 428.48 par 100 000 individus pour la tranche de 60-69 ans [3]. Ainsi, avec un vieillissement de la population en forte croissance allant atteindre les 23% de 65 ans et plus au Canada d'ici 2031 [4], le nombre d'individus affectés par ces maladies ne cessera d'augmenter et aura par le fait même des répercussions sur le système de santé, économique, et le bien-être de la population. Les maladies neurologiques constituent donc un problème de taille pour notre société et se doivent d'être fortement prises en considérations dans le domaine de la recherche.

1.1.1 Système nerveux central

Le système nerveux central est composé de deux structures anatomiques, soit l'encéphale et la moelle épinière, et a comme principale fonction la compilation des informations qui lui sont envoyées pour par la suite coordonner et diriger le reste du corps. Le cerveau, composante principale du système nerveux central, est hautement vascularisé et est physiquement protégé par le crâne. Étant donné que le cerveau est un organe des plus importants au bon fonctionnement du corps, l'équilibre de son environnement chimique ne peut d'être précaire et doit donc être chimiquement isolé du reste du corps. Ainsi, contrairement aux réseaux vasculaires périphériques où les vaisseaux permettent un échange de substances chimiques relativement facilement avec son environnement, le réseau vasculaire du cerveau est quant à lui cloîtré du tissu cérébral par la barrière hémato-encéphalique (BHE) [5]. Cette barrière hautement spécialisée régule de façon très sélective l'échange entre les molécules présentes dans la circulation sanguine et le parenchyme

cérébral, ce qui est crucial pour y maintenir l'homéostasie [6]. La BHE est principalement constituée de jonctions serrées, ayant comme rôle de rendre étanche l'espace entre les cellules endothéliales tapissant le réseau vasculaire cérébral, et les astrocytes, régulant le milieu extracellulaire (voir Figure 1.1) [5]. Bien que la BHE soit essentielle à l'homéostasie, à la protection contre des agents pathogènes et à la survie des neurones, celle-ci cause tout un casse-tête au développement de nouveaux médicaments visant à aider aux traitements des maladies neurologiques. Ceci est dû au fait que la BHE bloque les molécules avec un poids moléculaire de 400 Daltons et plus, de traverser le réseau vasculaire cérébral vers l'espace intercellulaire [7]. Ainsi, plus de 98% des molécules neurothérapeutiques développées sont empêchées d'aller agir sur les cellules du cerveau [8].

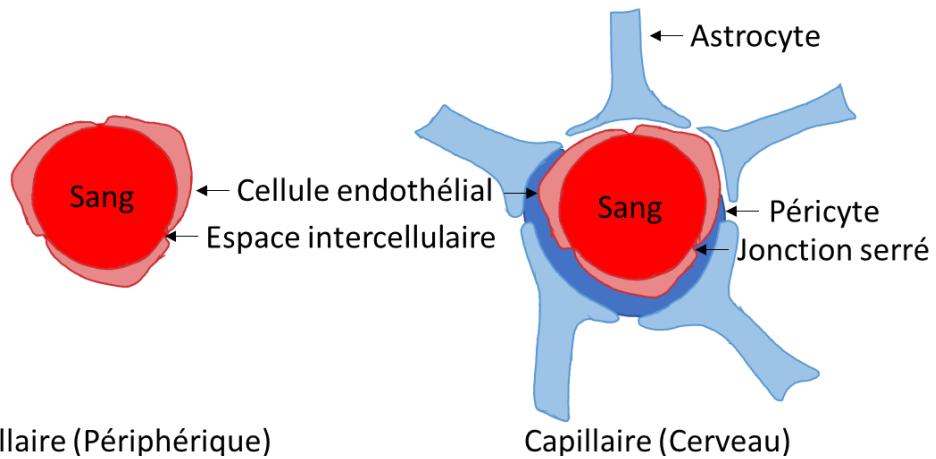


Figure 1.1 : Comparaison entre les capillaires périphériques et les capillaires de la BHE.

1.1.2 Ouverture de la barrière hémato-encéphalique

Il existe actuellement une multitude de méthodes permettant de contourner cet obstacle qu'est la BHE [9]. Parmi les trois principales méthodes, la première consiste en l'ouverture osmotique via l'injection d'une solution hypertonique par perfusion de l'artère carotidienne alimentant le cerveau [10], [11]. L'injection de cette solution provoque la vasodilatation ainsi que la déshydratation des cellules, provoquant la contraction de celles-ci et augmentant par le fait même l'espace intracellulaire entre les différentes cellules endothéliales tapissant la vascularisation du cerveau. Cet effet sur la BHE augmente la perméabilité d'un facteur 10 pour les petites molécules et est d'une durée d'une dizaine de minutes [10]. Le problème principal de cette méthode est que l'effet n'est pas ciblé à une région précise du cerveau et compromet ainsi l'intégrité de la barrière à large

échelle. Cette méthode a été prouvée effective pour la transmission de molécules neurothérapeutiques dans le parenchyme cérébral, toutefois le sujet devient ainsi vulnérable aux différents agents pathogènes et toxiques pouvant être présents dans le sang [12].

La deuxième méthode consiste en l'injection directe de l'agent médicamenteux dans le tissu du cerveau. Cette méthode de nature invasive requiert la création d'un trou dans le crâne afin de pouvoir pénétrer le cerveau avec une aiguille. Il y a évidemment plusieurs risques associés avec ce genre de chirurgie, tel que l'augmentation du risque d'infection, de dommage tissulaire et d'hémorragie [12].

Finalement, il est possible d'injecter de façon systémique un grand volume d'agent thérapeutique. Toutefois, seulement un faible pourcentage de ce volume atteindra la cible désirée. Cette méthode n'est donc pas efficace et peut entraîner des coûts élevés étant donné le prix que peuvent coûter certains de ces agents thérapeutiques. Il faut noter que ces molécules peuvent provoquer des effets secondaires sur d'autres régions que la cible voulue [13]. Ces différentes méthodes ne sont donc évidemment pas idéales dû à leur nature non ciblée, invasive et difficilement reproductible.

1.1.2.1 Ouverture de la barrière hémato-encéphalique par ultrasons focalisés

Une multitude de maladies du cerveau restent donc sous-traitées dû à la difficulté d'accéder au tissu cérébral malgré la disponibilité de certaines molécules thérapeutiques. Toutefois, il a récemment été démontré que l'ouverture de la BHE pouvait se faire de façon non invasive, localisée et temporaire grâce à l'injection de microbulles couplée à l'utilisation d'ultrasons focalisés [14], [15]. L'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés peut être réalisée sans incision et des études ont également démontré que la BHE peut reprendre sa pleine intégrité en quelques heures suite au traitement [14], [16], [17], répondant ainsi aux problématiques précédemment mis de l'avant avec les autres méthodes. Le caractère non destructif et transitoire de cette méthode nécessite une faible puissance acoustique et repose fortement sur les effets mécaniques des microbulles sous le champ acoustique. Grâce à la possibilité de focalisation des ondes ultrasonores, il est possible de diriger l'énergie acoustique dans une région circonscrite et d'ainsi provoquer une ouverture hautement localisée. Cela permet en partie de créer le relâchement des jonctions serrées entre les cellules endothéliales tapissant les capillaires [18]. Plusieurs mécanismes sont en cause pour l'ouverture de la BHE et seront explicités à la section 2.1.3.

CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE

2.1 Ultrasons médicaux

Le principe d'utiliser des ultrasons à des fins d'imagerie médicale a été mis de l'avant au milieu des années 1900. De nos jours, les ultrasons médicaux sont l'une des modalités d'imagerie les plus couramment utilisées grâce à leur nature non invasive et non ionisante. L'imagerie ultrasonore possède de très bons attributs, tels que sa portabilité, sa simplicité, ses coûts relativement faibles et son taux d'affichage pouvant atteindre le temps réel. Toutefois, certains inconvénients majeurs liés au phénomène physique peuvent limiter sa praticabilité clinique, tels que la profondeur d'imagerie qui est limitée à quelques centimètres ainsi que des difficultés à imager au travers de certaines structures biologiques telle que le crâne. Les ultrasons médicaux peuvent être utilisés à des fins d'imagerie diagnostique ou à des fins thérapeutiques.

2.1.1 Imagerie médicale ultrasonore

L'imagerie ultrasonore repose sur le principe de l'effet piézo-électrique, découvert par les frères Pierre et Jacques Curie [19] vers la fin des années 1800. L'effet piézo-électrique permet la conversion d'énergie mécanique en charge électrique et vice-versa. Ainsi, lorsqu'un courant à haute fréquence est appliqué, ces cristaux oscillent volumétriquement et produisent par le fait même des ondes mécaniques dû au déplacement du milieu en contact avec leur surface. Le principe inverse peut également être exploité lorsque des ondes mécaniques percutent la paroi d'un élément piézo-électrique afin de convertir cette énergie mécanique en charge électrique. De ce fait, l'imagerie ultrasonore peut se décliner en deux temps, soit l'émission du front d'onde et la réception de celui-ci (voir Figure 2.1). D'abord, un signal électrique est transmis à un élément piézo-électrique afin de provoquer la propagation d'une onde mécanique dans un milieu. Suite à la réverbération du front d'onde dans ce milieu, le front d'onde fera le parcours inverse et reviendra vers la sonde. Finalement, lors de la réception de ce front d'onde, l'énergie mécanique est reconvertisse en signaux électriques. Le système permettant la réalisation de cette chaîne d'étape est habituellement composé d'un ordinateur, un échographe et une sonde ultrasonore.

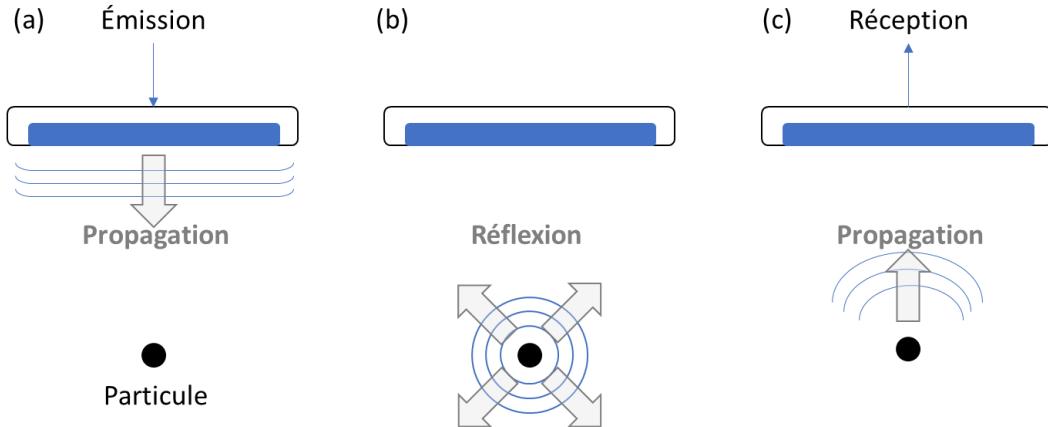


Figure 2.1 : Illustration des étapes de l'imagerie ultrasonore.(a) Émission du front d'onde. (b) Propagation du front d'onde. (c) Réception du front d'onde.

2.1.1.1 Émission

Le front d'onde généré peut être réalisé de différente façon, tel que via l'émission par onde plane ou par onde focalisée. L'émission par onde plane sera le type d'émission utilisée pour ce projet alors ce type d'émission sera mis de l'avant.

Tout d'abord, l'émission d'onde ultrasonore débute dans l'échographe qui, selon une séquence d'imagerie prédéfinie, va envoyer des pulses électriques sur chaque voie alimentant les transducteurs piézoélectriques de la sonde. Chaque élément de la sonde va donc être, dans le cas de l'onde plane, excité de façon synchrone afin de produire un front d'onde de type planaire. Toutefois, il est possible d'introduire des délais sur les différentes voies afin de produire des ondes planes angulées.

Par la suite, la propagation de l'onde ultrasonore dans le milieu se verra affectée par les différentes structures et interfaces biologiques sur son chemin, la densité et la compressibilité du milieu. En réalité, la vitesse de ce front d'onde fluctue au cours de sa progression dans un milieu non-homogène, mais l'approximation par une vitesse constante est fréquemment utilisée en imagerie médicale, soit 1540 m/s dans les tissus et 1480 m/s dans l'eau. La vitesse de propagation de l'onde acoustique v dans un milieu est définie par :

$$v = \sqrt{\frac{B}{\rho}} \quad (2.1)$$

Où B est le module de compressibilité du milieu et p sa masse volumique. La propagation du front d'onde dans le milieu induit la création de zones de haute et basse pression (voir Figure 2.2), phénomène très important pour le développement de notre modalité d'imagerie.

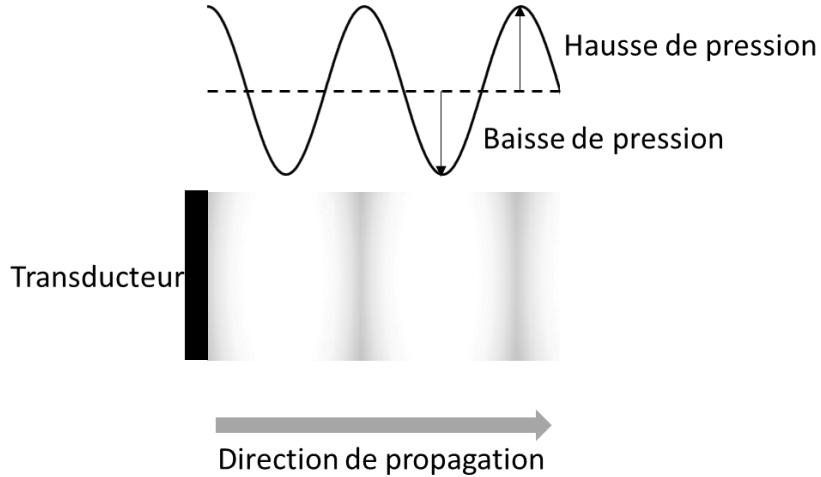


Figure 2.2 : Propagation d'une onde acoustique de gauche à droite dans un milieu. Lorsqu'un front d'onde incident se propage dans un milieu et entre en contact avec une surface, celui-ci se verra reflété en partie selon la différence d'impédance acoustique entre l'impédance acoustique Z_1 du milieu de propagation et l'impédance acoustique Z_2 du milieu au-delà de l'interface. La quantité d'énergie acoustique transmise au-delà de l'interface est définie par le coefficient de transmission T , complémentaire au coefficient de réflexion R :

$$T = 1 - R \text{ où } R = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \quad (2.2)$$

Ce type de réflexion, dite spéculaire, se produit lorsque deux milieux possèdent des impédances distinctes, tel que pour une interface sang-air, comme en présence de bulle par exemple.

L'impédance acoustique est une caractéristique intrinsèque au milieu, décrivant la résistance de ce milieu au passage de l'onde acoustique. L'impédance acoustique Z est définie en fonction de la densité du milieu p et de la vitesse de propagation v de l'onde acoustique dans ce milieu :

$$Z = p v \quad (2.3)$$

L'autre type de réflexion pouvant se produire en imagerie ultrasonore est la réflexion diffuse. Celle-ci se produit lorsque le pulse d'imagerie interagit avec des inhomogénéités de dimension inférieure à la longueur d'onde d'imagerie.

2.1.1.2 Réception

Lorsque l'onde réfléchie revient à la sonde, le transducteur joue le rôle inverse, soit « d'écouter » et de convertir l'énergie acoustique en courant électrique. Chaque élément de la sonde renvoie différents signaux électriques vers l'échographe dû à la variation temporelle de l'arrivée du front d'onde percutant chaque transducteur. Ces signaux électriques sont échantillonnés à très hautes fréquences (de l'ordre du MHz) sur chacune de ces voies puis sont enregistrés en données brutes afin d'être utilisé dans le processus de reconstruction d'image appelée le *beamforming*.

Dans le cadre de ce projet, la reconstruction d'images ultrasonores est réalisée avec un *beamformer* de type Retard et Somme (*Delay And Sum* – DAS). Le principe de cette méthode de reconstruction d'images repose sur le temps d'aller-retour du front d'onde entre la source d'émission et la réception.

Le temps d'aller-retour à partir de l'élément x de la sonde vers un point aux coordonnées (x, z) dans l'espace et de ce point jusqu'à un élément x_1 est défini par [20]:

$$\tau(x_1, x, z) = \frac{(z + \sqrt{z^2 + (x - x_1)^2})}{c} \quad (2.4)$$

où c est la vitesse du son dans le milieu. La position de chaque réflecteur peut donc être calculée selon les différents délais de réception du front d'onde mesurés entre les éléments.

2.1.1.3 Caractéristiques du système

Selon le contexte clinique, plusieurs types de sondes, aux caractéristiques physiques variables, peuvent être utilisés. Celles-ci sont toutefois généralement conçues selon les mêmes éléments de bases (voir Figure 2.3). Brièvement, les éléments piézoélectriques reposent au sein de la sonde ultrasonore et selon leurs caractéristiques géométriques, la réponse ultrasonore sera différente.

La résolution spatiale dicte quelle est la distance minimale entre deux réflecteurs avant que ceux-ci ne puissent être distingués l'un de l'autre. La résolution spatiale peut être définie selon la dimension axiale, latérale et azimutale (également appelé l'élévation).

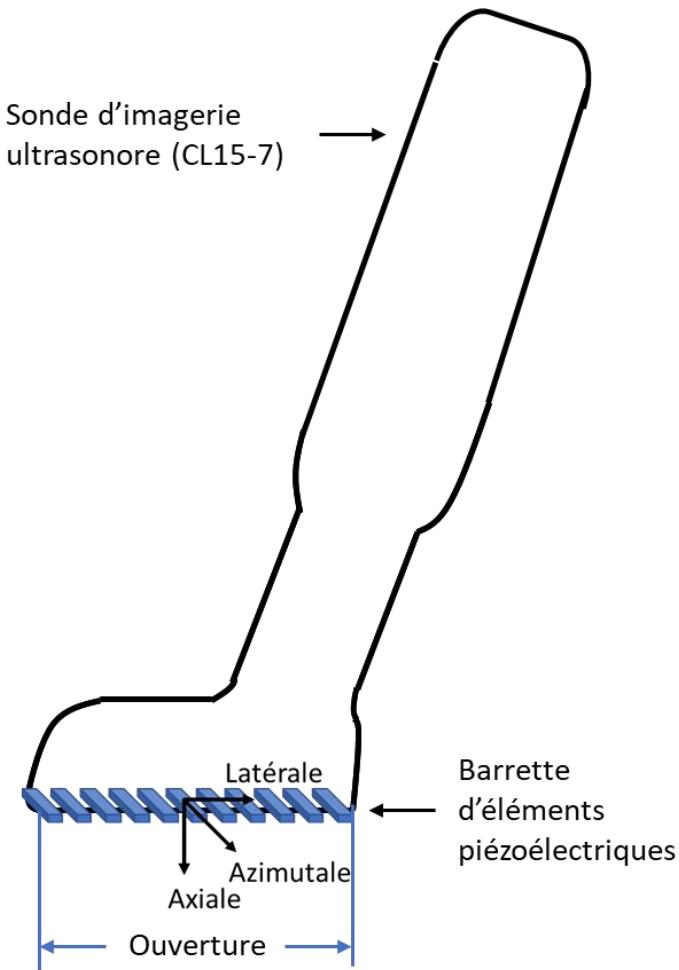


Figure 2.3 : Axes géométriques d'une barrette linéaire de transducteurs piézoélectriques.

La résolution axiale, soit la résolution dans l'axe de propagation du front d'onde, dépend en partie de la longueur du pulse d'imagerie. La longueur du pulse d'imagerie est quant à elle définie par la longueur d'onde et le nombre de cycles d'onde émis. La résolution axiale est définie par la moitié de la longueur du pulse L dans cette dimension, soit :

$$R_{axial} = \frac{L}{2} \quad (2.5)$$

Évidemment, plus la fréquence centrale de la sonde sera élevée, plus court sera un cycle, résultant en une meilleure résolution axiale. Toutefois, comme mentionnée précédemment, une fréquence ultrasonore plus élevée signifie une atténuation importante sur de plus courtes distances, c'est donc un équilibre à prendre en considération selon le besoin clinique.

Contrairement à la résolution axiale, la résolution latérale varie selon la profondeur où celle-ci est évaluée (voir Figure 2.4). La résolution latérale est donc optimale à focale de la sonde d'imagerie et se dégrade à de grandes profondeurs d'imagerie. La résolution latérale dépend également de l'ouverture de la sonde. Ainsi, plus l'ouverture du transducteur est grande, meilleure sera la résolution latérale.

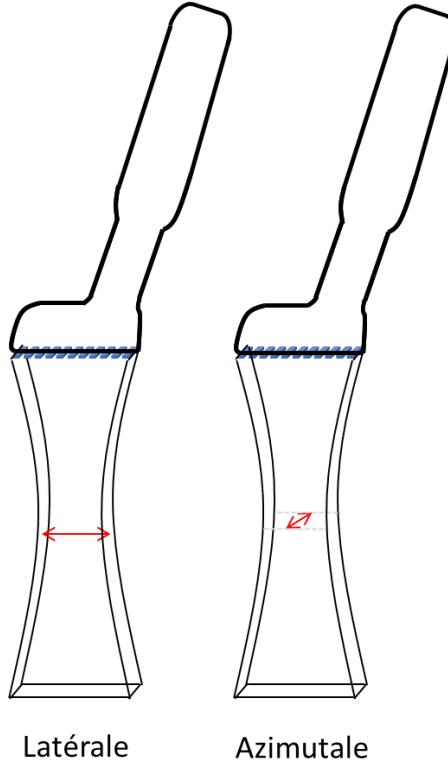


Figure 2.4 : Conceptualisation de la résolution selon les dimensions latérale et azimutale.

Le concept derrière la résolution azimutale est quant à lui sensiblement le même que pour la résolution axiale. La résolution azimutale correspond à l'épaisseur de la tranche imagée et dépend ainsi de l'élévation du faisceau. En bref, la résolution axiale, latérale et azimutale dépend donc principalement de la longueur d'onde, de la largeur du faisceau et de l'épaisseur du faisceau respectivement [21].

La résolution temporelle fait quant à elle référence à la fréquence d'imagerie, ou *frame rate*. Il est important de noter que les avancées technologiques donnant lieu à l'imagerie par ondes planes a grandement amélioré la résolution temporelle des systèmes d'imageries. L'utilisation d'onde plane permet de diminuer drastiquement le nombre de tirs requis pour la formation d'une image [22], augmentant par le fait même la cadence d'imagerie. Plusieurs facteurs peuvent influencer la

résolution temporelle, tel que la profondeur d'acquisition, augmentant le temps nécessaire pour l'aller-retour du front d'onde. La dimension temporelle est séparée en deux éléments distincts, soit le temps court (*fast-time*) et le temps long (*slow-time*). Le temps court est défini par le temps de déplacement du front d'onde au sein d'une image, soit relatif à l'échantillonnage des données brutes. Le temps long est quant à lui le temps entre les différentes images, soit relatif à la fréquence d'acquisition.

2.1.2 Ultrasons thérapeutiques focalisés

Dans le cas de transducteur focalisé, fréquemment utilisé en recherche ou en clinique à des fins thérapeutiques, la focalisation du front d'onde ultrasonore se fait habituellement grâce à la géométrie intrinsèque de la surface active du transducteur. Ce transducteur peut être composé d'un seul élément (monoélément) ou de plusieurs éléments (multiéléments). L'avantage d'un transducteur multiélément provient de la possibilité de contrôler l'axe de chacun des transducteurs individuellement, ne limitant donc pas la focale à une position dans l'espace. De plus, grâce à ce contrôle, il est possible de compenser pour les aberrations et donc refocaliser le faisceau.

La dimension de la zone focale de ce type de transducteur est régie par sa géométrie et par sa fréquence centrale [23]:

$$Longueur = 7\lambda \left(\frac{F}{D}\right)^2 \quad (2.6)$$

$$Largeur = \frac{\lambda F}{D} \quad (2.7)$$

Où D est son ouverture, F le rayon de courbure et λ la longueur d'onde, qui dépend de la fréquence centrale du transducteur F_0 et de la vitesse du son dans le milieu insonifié c et est défini par :

$$\lambda = \frac{c}{F_0} \quad (2.8)$$

2.1.3 Microbulle

La première étude rapportant l'utilisation de microbulles date de la fin des années 1960 [24] où il a été remarqué qu'à la suite de l'injection d'un agent de contraste contenant des bulles, il y avait augmentation des échos ultrasonores [25]. À cette période, les microbulles étaient généralement utilisées à des fins d'agents de contraste pour l'échographie médicale tel que l'échographie

cardiaque. De nos jours, bien que les microbulles soient encore principalement utilisées à des fins diagnostiques, leur utilisation à des fins thérapeutiques est de plus en plus courante [26]. Actuellement, les microbulles commerciales sont de l'ordre de grandeur d'un érythrocyte, soit de quelques microns, et sont injectées directement dans la circulation sanguine par voie intraveineuse. Les microbulles sont constituées d'un centre gazeux à poids moléculaire élevé [27] et sont recouvertes d'un revêtement [25] de façon à réduire leur vitesse de dissolution dans le sang.

La microbulle est un bon agent de contraste pour l'imagerie ultrasonore dû à la grande différence d'impédance acoustique entre la microbulle et le milieu dans laquelle elle se trouve, comme le sang. Elle possède également une réponse acoustique particulière aux ultrasons utilisés dans le domaine médical. La réponse acoustique des microbulles aux ultrasons dépend grandement de sa composition et des paramètres ultrasonores auxquels celle-ci est soumise. La composition de la microbulle peut influencer ses propriétés mécaniques, dont son élasticité et son amortissement, face à son exposition aux ultrasons, dictant ainsi sa fréquence de résonance. L'équation de la fréquence de résonance f_r d'une microbulle libre et sans perte d'énergie est donnée par [28]:

$$f_r = \frac{1}{2\pi R_0} \sqrt{\frac{3\gamma P}{\rho}} \quad (2.9)$$

où R_0 est le rayon initial de la microbulle, γ est l'indice adiabatique, P est la pression ambiante et ρ est densité du milieu. Tandis que l'équation régissant la fréquence de résonance f_{re} d'une microbulle avec une couche quelconque est dictée par [29]:

$$f_{re}^2 = f_r^2 + \frac{S_{rev}}{4\pi^2 m} \quad (2.10)$$

où S_{rev} est la rigidité du revêtement de la microbulles et m est la masse de la microbulle

Dans le cadre de ce projet, l'utilisation des microbulles remplit simultanément une fonction diagnostique et thérapeutique. Avec la propagation de zones de pression positive et négative dans le tissu causé par le transducteur de traitement, les microbulles *in situ* subiront des oscillations volumétriques selon la pression locale à laquelle elles se trouvent. En fonction des amplitudes de la variation de pression locale, les oscillations volumétriques peuvent prendre la forme de cavitation stable ou de cavitation inertielle. À faible amplitude de pression négative, le volume des microbulles oscille de manière stable autour de son rayon d'équilibre R_0 . Ce type d'oscillation

provoque des mécanismes potentiellement à l'origine d'une ouverture de la BHE réversible et sans dommage [30], tel que la microdiffusion dans le liquide avoisinant les microbulles [31] et des forces de cisaillement sur les cellules des vaisseaux sanguins [32]. Au-dessus d'un certain seuil de pression négative, la cavitation stable laisse place à la cavitation inertielle, se traduisant ainsi par un effondrement violent des microbulles suite à une oscillation volumétrique instable. L'implosion des microbulles produit ainsi des ondes de choc et des microjets pouvant percer le tissu cellulaire et endommager les neurones et autres cellules du cerveau [33], [34]. Le seuil de pression auquel se produit la cavitation inertielle dépend de plusieurs facteurs, tels que la taille des bulles, la température locale *in situ* et la fréquence d'excitation du dispositif d'ultrasons focalisés, rendant ainsi ce phénomène difficile à prévoir et à éviter [35].

Afin de déterminer la nature du type d'oscillation volumétrique des microbulles, il est possible d'analyser les émissions acoustiques rétrodiffusées de celles-ci. Ces émissions acoustiques rétrodiffusées peuvent être catégorisées en trois régimes distincts, soit linéaire, non-linéaire et à large bande [36]. Tout d'abord, à faible amplitude, les oscillations volumétriques sont stables dans le temps et varient linéairement en relation avec l'amplitude du champ acoustique appliqué sur celles-ci [37]. L'augmentation de l'amplitude de ce champ de pression conduit les microbulles vers des émissions acoustiques rétrodiffusées non-linéaires, telles que des harmoniques, des sous-harmoniques et des ultra-harmoniques de la fréquence d'émission du transducteur F_0 [37], [38]. Finalement, plus l'amplitude de la variation de pression augmente, plus la non-linéarité du signal devient importante jusqu'à ce que le seuil de pression mentionné précédemment soit atteint, aboutissant en une croissance instable et à un effondrement de la microbulle. Lors de cette violente implosion, l'énergie est libérée sous forme de chaleur et d'émission acoustique à large bande, augmentant ainsi le niveau de bruit du spectre d'émission [39], [40].

2.2 Méthodes de suivi de traitement

L'utilisation de l'ultrason à des fins de traitement est un sujet exploré depuis bien longtemps. Les premiers à mettre cette possibilité de l'avant sont Jong G Lynn et al. [41] en 1942 qui, suite à la fabrication d'un dispositif d'ultrasons focalisés, ont démontré la possibilité de réaliser des lésions tissulaires sur un modèle animal sans endommager les tissus avoisinants. S'en suivent plusieurs décennies d'avancées dans le domaine avant la première utilisation d'ultrasons focalisés connexe à une modalité d'imagerie, en 1993, par Hynynen et ses collègues. Ceux-ci démontrent la

faisabilité d'un suivi du traitement avec l'imagerie par résonance magnétique (IRM) [42]. Une dizaine d'années plus tard, Hynynen et *al.* démontrent pour la première fois la possibilité d'ouvrir de façon réversible et circonscrite la BHE en combinant ultrasons et microbulles [43]. À la suite de l'essor des thérapies ultrasonores, il est devenu nécessaire de développer des modalités d'imageries adaptées permettant de guider et de visualiser la progression du traitement selon l'effet prévu et la cible anatomique voulue. Bien que l'avantage principal des traitements par ultrasons focalisés, tel que l'ouverture de la BHE, soit le ciblage de tissus profonds sans affecter les tissus avoisinants, ce genre de traitement rend difficile la localisation de la focale *in situ*. De plus, comme mentionnés dans le chapitre précédent, plusieurs effets adverses peuvent altérer la focalisation, la position et l'intensité de la focale par rapport aux caractéristiques théoriques. Il est donc nécessaire de suivre le champ de pression *in situ* durant le traitement pour éviter tout effet non désiré et hors cible. Ainsi, bien que très prometteur, l'un des défis liés avec le développement de ce type de traitement est non seulement le traitement en lui-même, mais le développement de modalités d'imageries connexes.

La modalité d'imagerie accompagnant l'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés reste encore à ce jour l'imagerie par résonance magnétique. Tout d'abord utilisés par Hynynen et al. sur le modèle animal de lapin [43], ceux-ci ont démontré la possibilité de visualiser le positionnement de la focale *in situ* préalablement au traitement avec une séquence de thermométrie. Étant donné que pour l'ouverture de la BHE, l'intensité du faisceau n'engendre pas d'élévation de température, cette approche repose sur l'utilisation d'un pulse en continu et de plus haute intensité que celui pour le traitement. De cette façon, il est possible d'obtenir une augmentation locale de température et d'ainsi permettre la localisation de la focale *in situ* par thermométrie préalablement au traitement. La validation de l'ouverture de la BHE peut quant à elle être faite à postériori via l'augmentation local de l'intensité du signal sur une image IRM causé par la présence d'un agent de contraste dans le parenchyme cérébral [16], [44], [45]. Cette approche ne permet toutefois pas le suivi de faisceau ultrasonore durant la progression du traitement et ne possède aucun moyen de détecter la présence de cavitation inertielle durant le traitement. Un système constitué de détecteur passif de cavitation (PCD), permettant l'analyse en continu du spectre fréquentiel de l'émission des microbulles *in situ*, a donc été ajouté par plusieurs équipes [46], [47] afin d'adresser cette problématique. Cette écoute passive permet de déterminer, selon l'analyse du spectre, la nature de la cavitation des microbulles grâce à leurs signatures acoustiques particulières et d'ainsi prédire la possibilité de dommage

cellulaire. À la suite de cet ajout, Huang et al. ont démontré sur un modèle porcin [44] la possibilité d'ouvrir la BHE de façon sécuritaire. Le choix de la cible était fait préalablement avec une IRM, puis en combinant des images CT et des images IRM, la phase des transducteurs a été modifiée afin de compenser pour les aberrations causées par le crâne. Le suivi intraopératoire était quant à lui fait de façon passive avec deux PCD. Selon l'analyse de la valeur de l'intégration du signal reçu au cours de la procédure, le traitement pouvait être arrêté de façon prématuée afin d'empêcher l'apparition de cavitation inertielle si cette valeur dépassait un seuil prédéfini à priori. Suite à cette démonstration de suivi par l'analyse du signal d'émissions rétrodiffusées des microbulles en temps réel, des études cliniques chez l'humain pour le traitement de l'Alzheimer [48], de la sclérose amyotrophique latérale [45] ainsi que du cancer du cerveau [49] ont été réalisées. Lors de ces études, les patients se doivent de rester longuement dans l'IRM, ce qui n'est pas idéal pour les patients d'âge avancé. Comme cette démographie représente la majorité des patients qui nécessitent ce genre de traitement, une modalité d'imagerie avec un processus plus rapide, comme l'ultrason, serait plus accommodante pour ceux-ci. De plus, bien que l'utilisation de l'IRM couplée avec une analyse fréquentielle passive soit une méthode viable pour des traitements chez l'humain, son utilisation récurrente pour des tests précliniques sur des modèles animaux semble irréaliste. Lors du développement de nouvelles molécules thérapeutiques par exemple, des études précliniques se doivent d'être réalisées sur un grand nombre d'animaux. Le suivi de l'ouverture de la BHE par IRM demande donc trop de ressource pour le peu de bénéfice de suivi qu'on peut en retirer.

Afin de combler ces différents manquements, une alternative largement documentée est la cartographie par écoute passive (*Passive Acoustic Mapping* - PAM). Tout d'abord, il faut noter que le PAM est une amélioration des techniques développées en lien avec l'utilisation de PCD. Le problème majeur de l'utilisation d'un PCD est que celui-ci possède une focale fixe, ne permettant donc pas la détection des émissions hors de cette région focale et l'analyse de la distribution spatiotemporelle de ces événements [50]. Il est ainsi impossible de distinguer spatialement la position des différentes sources de cavitations, pouvant mener à une interprétation non représentative de ce qu'il se passe localement. Le PAM consiste donc généralement en un système d'acquisition et d'une sonde ultrasonore clinique utilisée en mode réception (écoute passive). L'utilisation d'une sonde en mode passive peut être conceptualisée comme une multitude de PCD positionné côte à côte, n'émettant donc aucun signal contrairement à l'utilisation habituelle d'une sonde d'imagerie. Tout d'abord dérivé d'une technique utilisée en imagerie sismique [51], le

beamforming basé sur le temps d'exposition acoustique (*time acoustic exposition*) a été adapté à l'imagerie médicale ultrasonore par Gyöngy et al. [50] afin de cartographier les événements de cavitation inertielle pour l'ablation par ultrasons focalisés (FUS) à l'aide d'une sonde linéaire en écoute passive. Cette modalité repose sur l'interférence des fronts d'onde dans le temps d'intégration selon la supposition que les événements de cavitation acoustique sont des sources ponctuelles fixes qui émettent des fronts d'ondes sphériques en direction de la sonde [52].

O'Reilly et al. [53] ont poussé le concept du PAM à l'imagerie 3D à l'aide d'un réseau de transducteur hémisphérique offrant une meilleure couverture spatial afin d'obtenir des cartes tridimensionnelles avec une résolution comparable à la thermométrie par IRM. Par la suite, en 2018, le PAM a été utilisé pour suivre l'ouverture de la BHE chez le singe (voir Figure 2.5) à l'aide d'une sonde linéaire montée sur un système de guidage spatial [54]. Arvanitis et al. [55] ont quant à eux démontré pour la première fois la possibilité de reconstruire des cartes de cavitation stable et inertielle par PAM transcrânien sur un singe avec une résolution de l'ordre de plusieurs millimètres. Pour arriver à ces résultats en transcrânien, ceux-ci ont utilisé des vitesses du son variable selon la

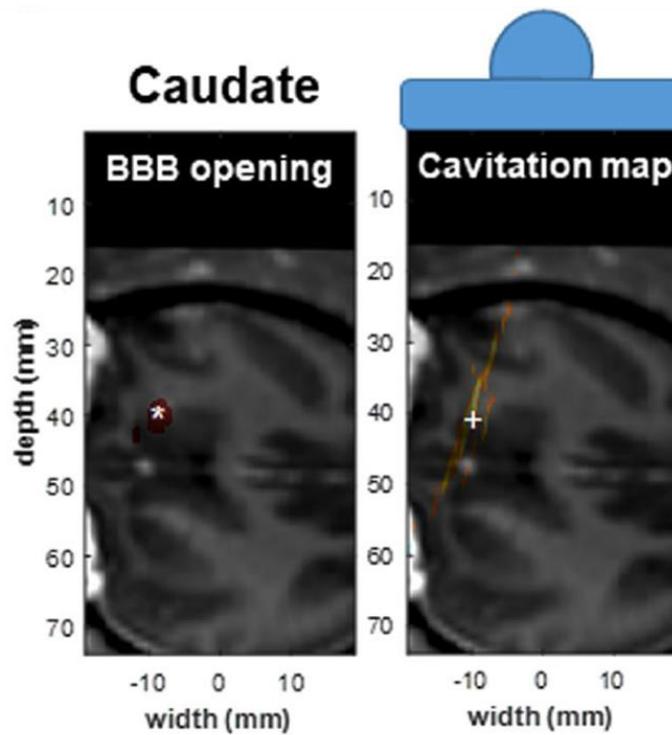


Figure 2.5 : Exemple d'une carte de cavitation obtenue via une méthode d'imagerie de cavitation passive. Extrait de [54].

trajectoire du front d'onde calculé à l'aide de l'IRM et de tomodensitométrie.

Afin d'augmenter la résolution axiale de l'imagerie passive, Xia et al. [56] ont proposé une méthode pour conserver le temps de parcours du front d'onde en synchronisant l'émission d'un pulse de thérapie et le début de l'écoute passive. De cette façon, le pulse de thérapie agit de façon similaire à un pulse d'imagerie et permet donc de converser une référence temporelle pour le temps d'aller-retour du front d'onde et d'ainsi localiser spatiotemporellement les événements de cavitation. Les images peuvent ensuite être reconstruites à l'aide d'algorithme de reconstruction d'image du type DAS de façon similaire aux images Bmode. Cette méthode a ensuite été appliquée au suivi des événements de cavitation lors de l'ouverture de la BHE [37] et à la caractérisation de champs de pression de séquence ultrasonore [57]. Une limitation majeure de cette technique est que le pulse d'imagerie se doit d'être très court dû à la relation entre la résolution axiale et la longueur du pulse. Il a été déterminé qu'un cycle de fonctionnement (*duty cycle*) de 1% pour une rafale de 10 ms est optimale pour l'ouverture de la BHE [58], soit un train de pulse de FUS de quelques milliers de cycles, ce qui est très loin des paramètres de FUS utilisé pour cette méthode d'imagerie nécessitant de courts pulses. Étant donné que la majorité des événements de cavitation se produit selon l'axe du transducteur focalisé, la résolution axiale est particulièrement importante dans le cadre de l'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés. De ce fait, l'utilisation de cette méthode de PAM constraint grandement les paramètres de fonctionnement de l'ultrason thérapeutique. Plus récemment, Nguyen et al. [59] ont remédié à ce problème en ajoutant une acquisition passive d'un pulse d'ultrasons focalisés de courte durée effectuée suite au plus long pulse thérapeutique. De cette façon, cette équipe a été en mesure d'observer l'allure du champ de pression du faisceau thérapeutique, mais selon l'intensité du pulse court et non l'état du champ de pression suite au véritable pulse de traitement.

Une branche du PAM se concentre particulièrement sur les émissions non linéaires des microbulles. Ce concept provient du domaine de l'imagerie par ultrasons active qui exploite la réponse non linéaire des microbulles tel que les émissions subharmoniques [60] et harmoniques [61], permettant d'augmenter le rapport du signal de l'agent de contraste par rapport aux tissus. L'imagerie subharmonique est particulièrement intéressante, car contrairement aux méthodes harmoniques, le signal aux fréquences subharmoniques ne peut provenir que de la réponse non linéaire des microbulles, permettant ainsi d'isoler le signal des microbulles du signal tissulaire. Ces réponses acoustiques se produisent habituellement lorsque la microbulle est insonifiée à sa fréquence de résonance. De ce fait, une limitation majeure de ces modalités est que la fréquence centrale de la

sonde d'imagerie est fixée par rapport à la bande de fréquences de la réponse attendue, soit de quelques MHz dans le cas de l'imagerie PAM subharmonique [62], limitant par le fait même la résolution axiale et son potentiel clinique. En 2018, Jones et al. [63] ont démontré la possibilité de faire un suivi tridimensionnel de l'ouverture de la BHE chez des lapins en exploitant la réponse subharmonique des microbulles avec un réseau hémisphérique de 256 transducteurs. Par contre, comme mentionnée précédemment, l'excitation des microbulles à leur fréquence de résonnance augmente le risque de cavitation inertielle.

Il faut également noter que la complexité du calcul pour la reconstruction d'image passive est plus importante que pour l'imagerie active [64]. Cette complexité limite l'intégration du PAM à des fins de temps réel, c'est pourquoi certaines modalités de PAM plus récente telle que celle développée par Kim et al. [64] tentent de résoudre ce problème. Cette plus récente modalité de PAM permet par exemple de réduire la complexité de calculs en filtrant préalablement le signal afin de ne garder que les composantes fréquentielles d'intérêts, accélérant donc le post-traitement des données.

Plusieurs modalités d'imagerie ultrasonore utilisée à des fins d'augmentation de contraste entre les microbulles et le tissu possèdent des similarités avec la modalité développée pour ce projet. Une de celles-ci est l'imagerie par modulation radiale (*radial modulation imaging* - RMI), initialement développée par Hansen [65] au début des années 2000. Le RMI utilise une onde de modulation basse fréquence combinée avec un pulse d'imagerie haute fréquence afin d'augmenter la réponse des microbulles par rapport aux tissus [66], [67]. Le principe repose sur la variation du signal des microbulles au pulse d'imagerie haute fréquence causé par l'oscillation du diamètre de la microbulle en réponse à la propagation du front d'onde basse pression. Afin d'avoir la plus grande variation de signal de la microbulle, celles-ci doivent être interrogées par le pulse d'imagerie aux extrêmes de son oscillation radiale, ce qui nécessite un timing très précis et ardu du pulse d'imagerie par rapport à l'onde de modulation. La soustraction du signal reçu lors de ces deux instants permet ainsi d'isoler le signal des microbulles car le signal tissulaire est constant à ces deux instants. Afin de répondre au problème de timing, Muleki-Seya et al. [68] ont adapté le concept pour interroger la bulle à plus de trois instants au long de son cycle d'oscillation radiale. Le signal est ensuite isolé selon le temps long via l'utilisation de plusieurs filtres fréquentiels. Dans cette étude, la fréquence de l'onde de modulation est choisie afin de faire en sorte qu'à chaque émission d'un pulse d'imagerie, celui-ci sera décalé par rapport à celui précédent. Le problème inhérent de cette technique est que pour obtenir cet échantillonnage décalé par rapport à l'onde de

modulation, la fréquence de l'onde de modulation et la PRF se doivent d'être fixées à une fréquence bien précise.

La simulation peut également être un outil intéressant afin de prédire la géométrie de la focale sous l'effet des aberrations telles que le crâne. Toutefois, ce genre d'outil est multimodal et requiert donc l'information d'imagerie CT, IRM et ultrasonore [69], ce qui n'allège pas le suivi de traitement par ultrasons focalisés et ne permet pas le suivi en temps réel. De plus, bien que la simulation prenne en compte la géométrie du crâne et la densité spécifique au patient, celle-ci ne tient pas en compte la densité de la vascularisation cérébrale de l'individu ainsi que l'apport sanguin et la concentration spatiale de microbulles au fur et à mesure que le traitement progresse.

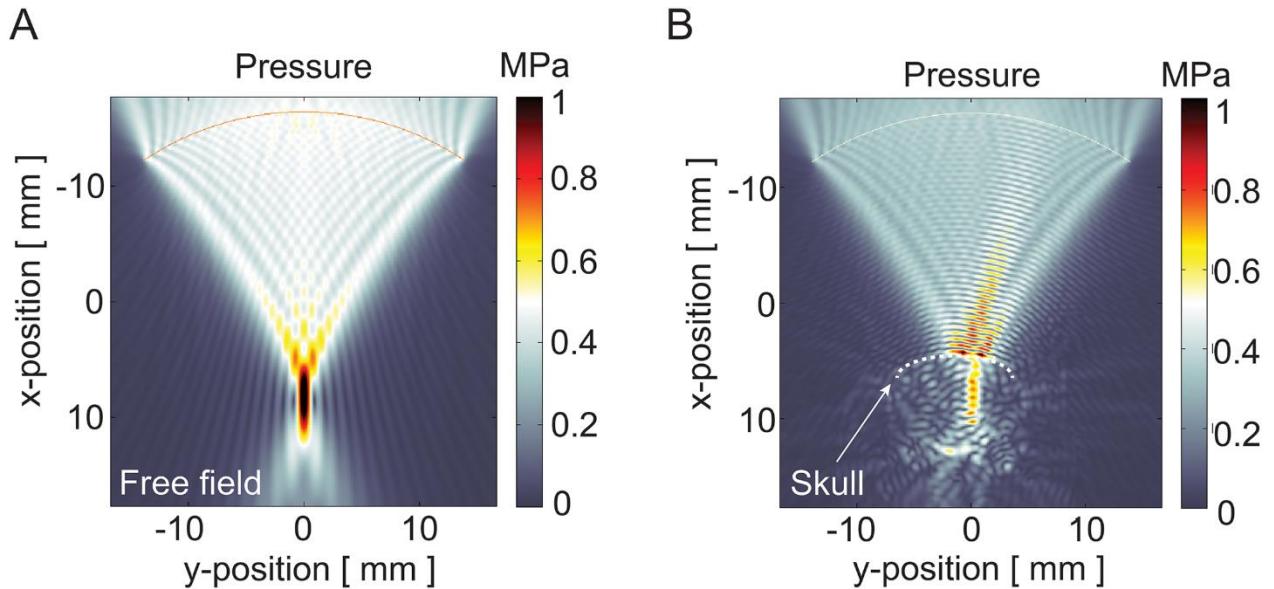


Figure 2.6: Simulation du champ de pression d'un transducteur focalisé. (a) En champ libre. (b) En présence du crâne d'une souris. Extrait de [70].

Ainsi, bien que plusieurs modalités d'imageries tentent de pallier les différents manquements relevés dans cette section, aucune méthode n'est actuellement idéale pour le suivi de traitement de l'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés.

2.3 Objectifs

L'objectif général de ce projet de maîtrise est la mise sur pied d'une preuve de concept pour le développement d'une nouvelle modalité d'imagerie permettant le suivi du champ de pression d'un transducteur de traitement lors de l'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés. Étant donné la

nature exploratoire de ce projet, plusieurs sous-objectifs distincts ont été définis afin de valider le potentiel de cette modalité au cours de son développement.

1. Réaliser une preuve de concept d'une nouvelle modalité d'imagerie ultrasonore active permettant de guider le traitement de l'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés.

- Développer la séquence d'imagerie et l'algorithme de traitement d'image.
- Démontrer la faisabilité de faire la cartographie du champ de pression d'un transducteur focalisé *in vitro*.

Cet objectif comprend la conception et la fabrication des différents bancs de tests expérimentaux pour caractériser la modalité d'imagerie et valider la preuve de concept.

- Démontrer la faisabilité de faire la cartographie du champ de pression d'un transducteur focalisé *in vivo*.

2. Concevoir un système compact permettant l'intégration de cette modalité d'imagerie en contexte clinique sur de petits animaux.

3. Provoquer l'ouverture de la BHE de façon non invasive et sans dommage au tissu cérébral sur un modèle animal de souris.

Ce projet a été réalisé en étroite collaboration avec le *Cone Laboratory* de l'Institut Neurologique de Montréal, supervisé par le Dr. Abbas Sadikot. Le troisième sous-objectif, concernant l'ouverture de la BHE, est spécialement important pour nos collaborateurs de ce laboratoire étant donné que le Dr. Gerardo Ramos travaille actuellement sur le développement de nouveaux traitements contre la maladie de Huntingdon, nécessitant cette ouverture temporaire pour tester différentes nouvelles molécules. Une partie de ce projet était donc, en se basant sur la littérature, la réalisation de l'ouverture de la BHE selon nos besoins, équipements et paramètres spécifiques, ce qui s'est avéré être beaucoup plus ardu que prévu.

CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE

3.1 Montage général

Étant donné le caractère exploratoire de ce projet, une partie très importante et chronophage de celui-ci était la conception et la fabrication des différents bancs de tests et montages expérimentaux nécessaire à la caractérisation de la méthode de façon à répondre aux différents objectifs. Ce chapitre abordera donc les différents aspects spécifiques à ce projet et comment ceux-ci ont-ils été conçus.

3.1.1 Transducteur

3.1.1.1 Transducteur de modulation

Le transducteur d'ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU) utilisée pour ce projet est le H-102-026 (Sonic Concept, US), dont le laboratoire d'Ultrasons Provost avait déjà en sa possession. Le transducteur H-102 (voir Figure 3.1) possède une focale de 1.37 mm de diamètre et 10.21 mm de longueur et est située à 63.2 mm de la surface active du transducteur. La fréquence centrale de ce transducteur est de 1.1 MHz, mais afin de simplifier la conceptualisation de la méthode, le HIFU a été utilisé à une fréquence de 1 MHz, diminuant son efficacité de conversion de puissance à environ 85%. Le transducteur focalisé est muni d'un cône de couplage en acrylique permettant une circulation d'eau via deux connecteurs afin de faire un pont acoustique entre le transducteur et le milieu insonifié. Bien que certains groupes réalisent l'insonification de petits animaux par le dessous en positionnant l'animal sur le dos (décubitus dorsal) [12], ce type de montage complexifie grandement l'ajout d'une sonde d'imagerie et d'un système de positionnement à trois degrés de liberté pouvant déplacer la focale au sein du cerveau. Comme un des objectifs était la conception d'un système compact permettant une intégration simple vers les tests *in vivo*, nous avons opté pour le développement d'un type de montage positionnant le transducteur avec son axe à la verticale pointant vers le bas. Pour positionner la sonde, le montage prend avantage de l'ouverture circulaire de 20 mm situés dans la partie active du transducteur afin de laisser passer le front d'onde de l'imagerie.

Ce transducteur n'était toutefois pas optimal pour ce projet dû à sa petite ouverture de 20 mm de diamètre dans la paroi active du transducteur ainsi qu'à sa focale trop allongée par rapport à l'objectif clinique de ce projet. La taille de l'ouverture limitait grandement l'insertion de sonde d'imagerie, ce qui complexifiait par le fait même le montage co-axial entre la sonde d'imagerie et le transducteur de modulation.

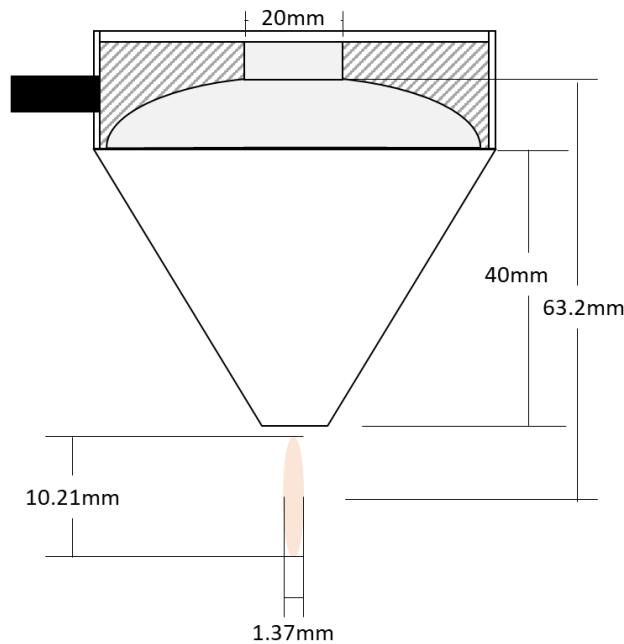


Figure 3.1 : Caractéristiques géométriques du transducteur H-102.

3.1.1.2 Transducteur d'imagerie

Comme cette étude ne reposait pas sur les bases d'un projet déjà entamé, les requis au niveau de la sonde d'imagerie n'étaient pas préalablement établis. Toutefois, comme mentionné, la sonde d'imagerie se devait d'être positionnée de façon co-axiale et superposée avec le HIFU, c'est pourquoi nous avons d'abord opté pour une sonde prostatique ATL C9-5 (Philips Medical Systems, ÉUA) dû à sa forme allongée et à son diamètre de moins de 20 mm. Cette sonde pouvait ainsi facilement être insérée dans l'ouverture du HIFU de façon à avoir un alignement co-axial, de sorte à plonger les capteurs de la sonde directement dans l'eau du cône de couplage. Toutefois, suite à l'analyse de résultats préliminaire, il a été déterminé que la résolution axiale de la sonde n'était pas suffisante. De plus, dû à sa géométrie de type curvilinéaire, son émission faisait face aux parois du cône (voir Figure 3.2), provoquant des réflexions internes, dégradant ainsi la qualité des images.

La sonde choisie se devait donc d'avoir une fréquence centrale suffisamment élevée pour obtenir une bonne résolution axiale, et ce, tout en permettant l'imagerie intracrânienne à une distance relativement élevée due au montage superposé. La sonde CL15-7 (ATL, EUA), avec une fréquence centrale de 8.92 MHz, a donc été choisie pour ce projet. Toutefois, ayant une largeur d'environ 37 mm, celle-ci ne pouvait pas être insérée dans l'ouverture du HIFU et se devait donc d'être superposée au boîtier du HIFU.

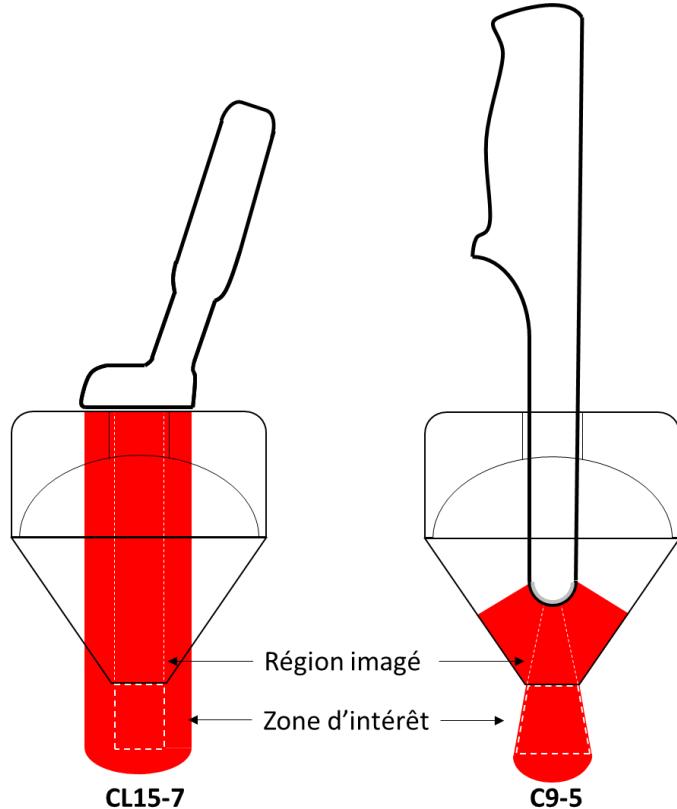


Figure 3.2 : Schématisation des différents champs de vue des sondes testées.

3.1.2 Montage mécanique

Dû aux contraintes liées au montage compact et superposé nécessitant un alignement co-axial entre la sonde d'imagerie et le HIFU, il était primordial de fabriquer un montage robuste, précis, amovible et reproductible. Étant donné la forme non conventionnelle de la sonde CL15-7, son couplage mécanique avec le HIFU était d'autant plus complexe. Plusieurs méthodes de fixation ont été testées dû à l'aspect crucial de cette étape au succès du projet. La géométrie de la sonde a d'abord été reconstruite tridimensionnellement afin de concevoir un support imprimé en 3D. Malgré l'utilisation d'un scanner 3D (EinScanPro Shinning 3D, CHN) pour reconstruire

précisément sa géométrie, cette solution a été rejetée dû au mauvais appareillage entre la sonde et le support imprimé en 3D. La conception d'un moule flexible pouvant enrober précisément la sonde pour avoir un ajustement robuste et précis a par la suite été envisagée. Ce socle flexible (voir Figure 3.3 et 3.4) fait de silicone (Smooth-On, USA) a été le choix retenu, car celui-ci répondait à tous les requis. Une fois le socle fabriqué, celui-ci peut ensuite être inséré dans un support 3D rigide (voir Figure 3.5) qui quant à lui, permet le positionnement relatif de la sonde par rapport au HIFU.

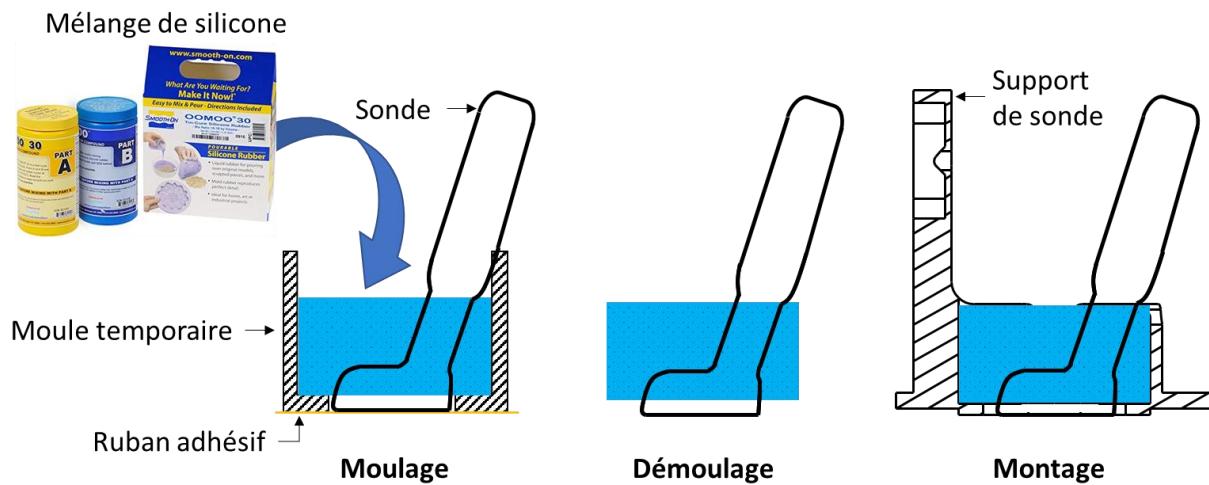


Figure 3.3 : Étapes de moulage pour la création d'un support adapté à la forme de la sonde.



Figure 3.4 : Sonde CL15-7 dans le socle en silicone.

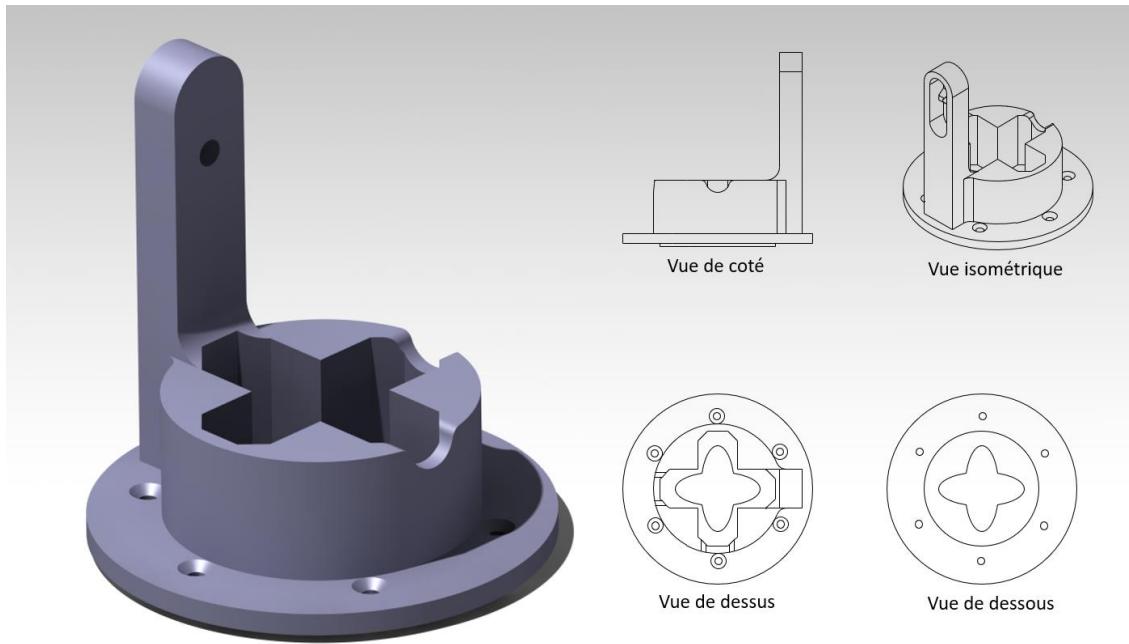


Figure 3.5 : Dispositif de couplage imprimé en 3D.

Un élément particulièrement crucial au fonctionnement du montage co-axial superposé est la submersion de la sonde d'imagerie (voir Figure 3.6) afin d'avoir un couplage acoustique avec le milieu insonifié. Le support rigide a donc été conçu afin de permettre à l'eau dégazée du cône de couplage de submerger la sonde, et ce, malgré son positionnement surélevé par rapport au niveau d'eau maximale du HIFU. Pour se faire, le support rigide possède une extrusion de l'épaisseur du rebord du cône de couplage afin de coincer un joint torique lors de l'assemblage du support et du HIFU, créant ainsi en un joint étanche. Cette imperméabilisation est cruciale pour permettre à l'eau de refouler par l'ouverture du HIFU et de remplir le réservoir du support lors de l'ajout d'eau via le système de dégazage WDS-105+ (Sonic Concept, ÉU). De plus, il est très important que le montage soit étanche lors de son utilisation *in vivo* étant donné que toute fuite d'eau sur l'animal résulte en une chute de sa température corporelle. La conception du système permet ainsi un ajustement facile du niveau d'eau : pour la diminution du niveau lors de l'insertion du système de guidage laser puis une augmentation du niveau lors de l'insertion du socle flexible contenant la sonde d'imagerie.

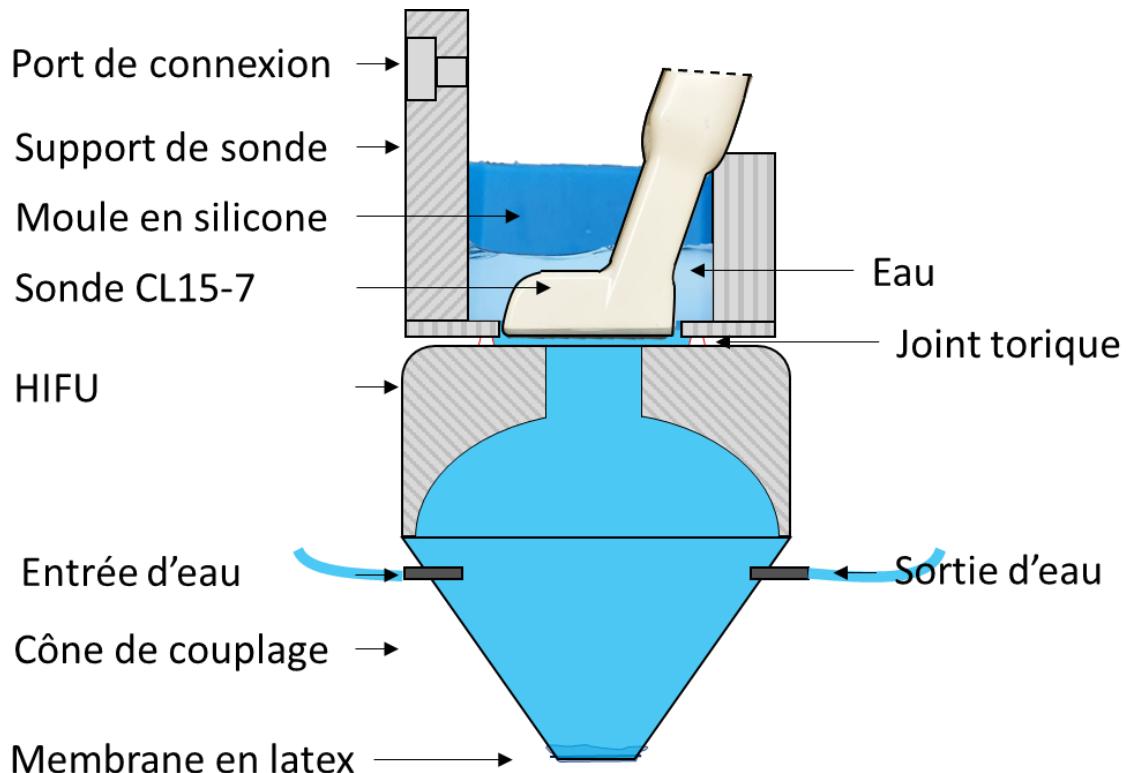


Figure 3.6 : Vue de coupe du montage de couplage entre les deux transducteurs.

Un simple système de guidage laser a été développé afin de permettre un positionnement rapide et précis entre le montage de transducteurs et le crâne de l'animal, évitant par le fait même la méthode conventionnelle de positionnement via le calcul des coordonnées stéréotaxiques. Ce système est constitué d'une diode soudée en série avec une batterie et un interrupteur. Un support imprimé en 3D pouvant être coulissé dans le support rigide permet le positionnement coaxial de la diode avec le HIFU. Le support rigide permet également deux orientations de positionnement perpendiculaires de la sonde, soit pour l'imagerie selon le plan sagittal ou coronal.

3.1.3 Modalité d'imagerie

Cette section-ci abordera donc le résonnement derrière certains éléments particuliers de la séquence d'imagerie développé pour ce projet.

D'abord, la figure 3.7 présente la vue d'ensemble du pipeline de la méthode. La méthode débute par l'acquisition d'images ultrasonores à l'aide de notre séquence d'imagerie ultrasonore active personnalisée, et ce, simultanément au traitement par FUS. Les données brutes sont enregistrées pour ensuite être traitées hors ligne et un algorithme de reconstruction d'image de type DAS, développé dans notre laboratoire, est utilisé pour reconstruire les images à partir de ces données. Une fois les images reconstruites, une analyse fréquentielle est effectuée sur chaque pixel de l'image dans la dimension du temps long, soit entre les images d'un même buffer. Sachant la fréquence d'intérêt à isoler, le coefficient de Fourier correspondant à cette fréquence est utilisé pour créer une cartographie de l'intensité de l'oscillation du signal de la microbulle. Une accumulation des cartes obtenues avec chaque buffer permet l'obtention d'une carte détaillée du champ de pression basse fréquence.

La modalité d'imagerie que nous avons développée est basée sur l'interaction entre le pulse d'imagerie haute fréquence et les microbulles sous l'effet du champ de pression d'un transducteur thérapeutique basse fréquence. Comme exploité par le Radial Modulation Imaging [67], [68] à des fins d'augmentation de contraste entre les microbulles et le tissu, l'intensité du signal rétrodiffusé de la microbulle varie selon le volume de la microbulle au moment où celle-ci est interrogée par le pulse d'imagerie. Ainsi, une même bulle, sondé à deux instants de son cycle d'oscillation par un même pulse d'imagerie, résultera en deux signaux rétrodiffusés différents. L'amplitude du champ de pression fera donc varier l'amplitude de l'oscillation radiale des microbulles, ce qui fera à son tour varier l'amplitude du signal rétrodiffusé lors de l'imagerie ultrasonore. Le but de cette méthode est donc d'échantillonner cette variation de signal dans le temps, soit d'une image ultrasonore à l'autre, et d'isoler ce signal afin de cartographier indirectement l'intensité du champ de pression

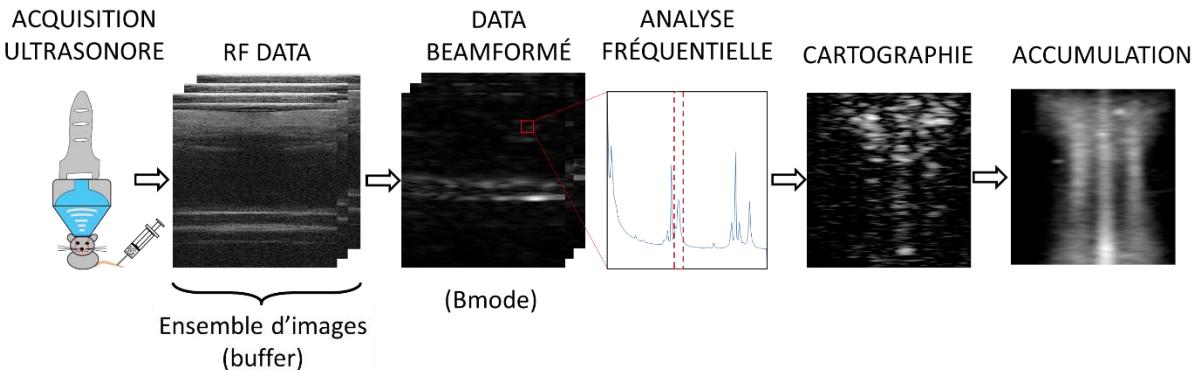


Figure 3.7: Pipeline de la modalité d'imagerie.

auquel la microbulle est soumise. Il est aussi important de noter que le signal en provenance du tissu va quant à lui rester relativement constant dans le temps.

Le défi lié à cet échantillonnage est que, malgré le fait que l'imagerie ultrarapide par onde plane soit une avancée majeure en terme de cadence d'imagerie, le phénomène d'intérêt à échantillonner se produit dans l'ordre des MHz, comparativement à notre cadence d'imagerie de l'ordre du kHz. De plus, il est physiquement impossible d'échantillonner aussi rapidement dû au temps de parcours nécessaire à l'onde ultrasonore pour faire l'aller-retour dans le milieu. Pour pallier ces limites, nous avons développé une séquence d'imagerie nommée Equivalent Time Active Cavitation Imaging basée sur le principe du Equivalent Time Sampling afin de contourner cette limitation. Ainsi, nous sommes en mesure d'avoir une fréquence d'échantillonnage équivalente de l'ordre des MHz. Les résultats présentés dans l'article scientifique ont été réalisés avec une fréquence d'échantillonnage équivalente de 5 MHz, soit 5 échantillons par cycle de modulation.

Nous avons émis l'hypothèse que les microbulles sont immobiles lors de l'acquisition et qu'en présence de cavitation stable, l'oscillation de la microbulle devrait être périodique dans le temps. Le mouvement des microbulles pourrait provoquer des effets de type décalage Doppler, résultant en une dégradation de la résolution. De plus, plusieurs autres simplifications ont été faites lors de cette preuve de concept, de façon à ne pas prendre en considération la propagation non linéaire [71] du pulse d'imagerie haute fréquence causé par le pulse de modulation basse fréquence ainsi que la phase de l'oscillation des microbulles de taille variable [72]. L'explication du concept général de la séquence ultrasonore pour cette modalité d'imagerie est décrite dans la section méthodologie du papier à la section 4.2.

3.1.3.1 Éléments actifs

Comme la barrette de transducteurs est spatialement plus large (selon l'axe latéral) que l'ouverture dans le transducteur de modulation, les éléments piézoélectriques faisant face à la surface supérieure du boîtier du HIFU ont été désactivés. Les 20 premiers et derniers éléments sont donc inactifs et les 88 du centre ont été apodisés selon une fenêtre de Kaiser afin de diminuer l'effet des lobes latéraux (voir Figure 3.8). Toutefois, la diminution du nombre d'éléments actifs cause une dégradation de la résolution latérale due à la diminution de l'ouverture de la sonde. Cette diminution de résolution s'ajoute à la diminution de résolution provoquée par la profondeur d'imagerie plus élevée qu'à l'ordinaire.

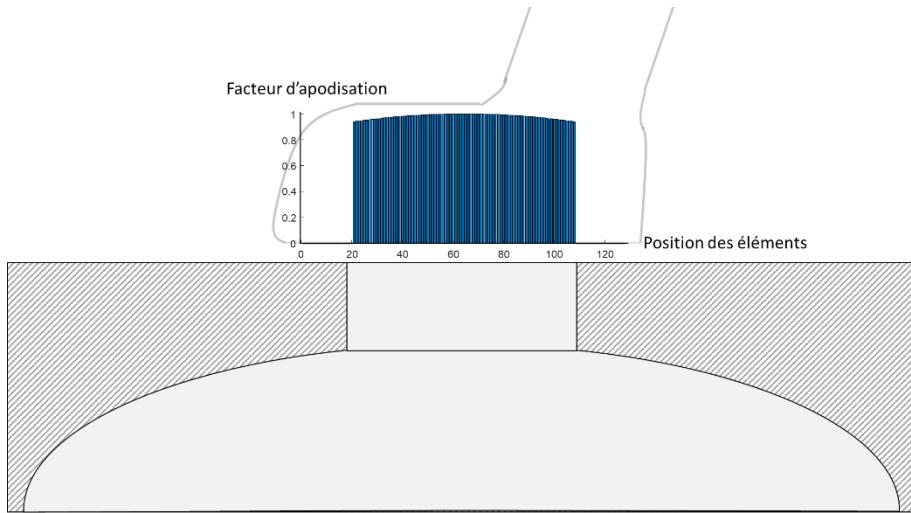


Figure 3.8 : Éléments actifs et leur apodisation respective.

3.1.3.2 Groupe de tirs consécutifs

Il est important de comprendre qu'avec l'imagerie ultrasonore, les limitations physiques font qu'il est impossible d'observer un phénomène se produisant à des fréquences dans l'ordre du MHz (dans la dimension du temps lent). Ainsi, les délais ajoutés sont au cœur du concept de cette modalité d'imagerie afin d'arriver à percevoir des phénomènes à une fréquence plus élevée que cette limite. La façon dont ceux-ci sont calculés et implémentés est abordée plus en détail dans la section 4.2.1. Le délai maximal supporté par la structure Tx.Delay est de $45.5 \mu s$ et permet donc seulement 227 tirs consécutifs (en ajoutant $0.2 \mu s$ par tirs par exemple). Ainsi, l'utilisation de tirs consécutifs non seulement limite le nombre d'acquisitions par ensemble à 227, mais ralentit la séquence d'imagerie en créant une addition de ces délais au cours de la séquence d'imagerie. De plus, la limitation du nombre d'acquisitions par ensemble limite la résolution fréquentielle de la transformée de Fourier discrète utilisée dans l'algorithme de traitement d'image. Donc, en raison de cette limitation technique de l'échographe et pour limiter l'accumulation des délais de transmission, les acquisitions d'un ensemble ont été sous-divisées. Ainsi, l'ensemble est sous-divisé en groupe d'acquisitions consécutives égales au nombre de tirs requis pour compléter un cycle d'oscillation (variable k utilisée dans l'équation 4.1). Une fois un cycle d'acquisitions complété, le délai ajouté retourne à Δt comme on peut le voir sur la Figure 4.2A, où suite à la cinquième acquisition, le temps entre

deux acquisitions est de $PRP + \Delta t$ et non $PRP + 6\Delta t$. La Figure 3.9 permet de voir la structure des acquisitions d'une séquence d'imagerie.

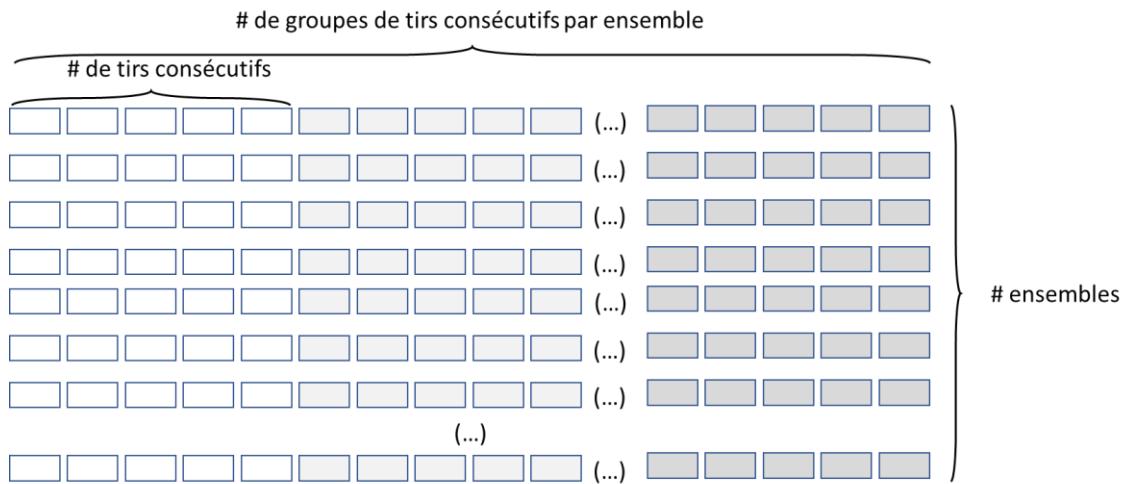


Figure 3.9 : Organisation des acquisitions pour une séquence d'imagerie.

3.1.3.3 Angles

Habituellement, en imagerie par onde plane, plusieurs émissions d'ondes planes à angles variables peuvent être additionnées de façon cohérente afin d'en améliorer le contraste et la qualité de l'image résultante [20]. Toutefois, dû au montage coaxial, la marge de manœuvre latérale est très

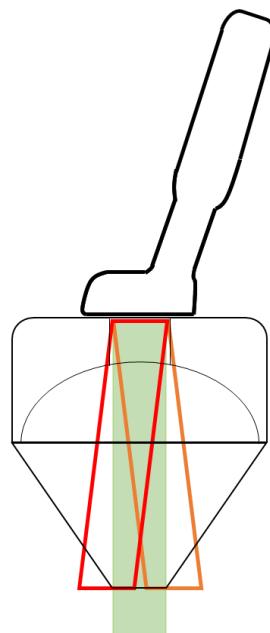


Figure 3.10 : Exemple d'émissions à angles de $\pm 7^\circ$.

étroite et ne permet pas l'émission à angle, sans quoi la sonde émettrait le front d'onde dans le col du HIFU comme démontré par les profils de faisceaux orange et rouge de la Figure 3.10. Il est donc impossible de faire ce type d'émission avec ce montage expérimental.

3.2 Montages *in vitro*

3.2.1 Caractérisation avec PCD

L'état de l'art pour caractériser le contenu fréquentiel de l'émission acoustique des microbulles se fait généralement à l'aide d'un PCD. Ainsi, afin de valider la fréquence d'émission du HIFU et la réponse des microbulles à celui-ci, une analyse du contenu fréquentiel de la réponse acoustique rétrodiffusée des microbulles a été réalisée à l'aide d'un PCD.

Pour ce faire, un PCD (Y-107, Sonic Concept, ÉU) avec une bande de fréquence opérationnelle de 10kHz – 16MHz a d'abord été inséré dans l'ouverture circulaire du HIFU. À la suite de l'analyse de ces données, il a été remarqué que le signal réfléchi du 1 MHz dans la cuve et par la membrane d'étanchéité du cône de couplage était trop intense pour nous permettre d'avoir une analyse représentative du véritable contenu fréquentiel. Ainsi, un système de stabilisateur de tissu pour chirurgie cardiaque (Octopus, Medtronic) a été utilisé afin de positionner le PCD hors du HIFU. La focale du PCD a donc été positionnée de façon perpendiculaire (voir Figure 3.11) à la focale du HIFU afin de capter davantage de signaux acoustiques rétrodiffusés en provenance des microbulles et d'ainsi éviter le retour direct du signal du HIFU vers le PCD.

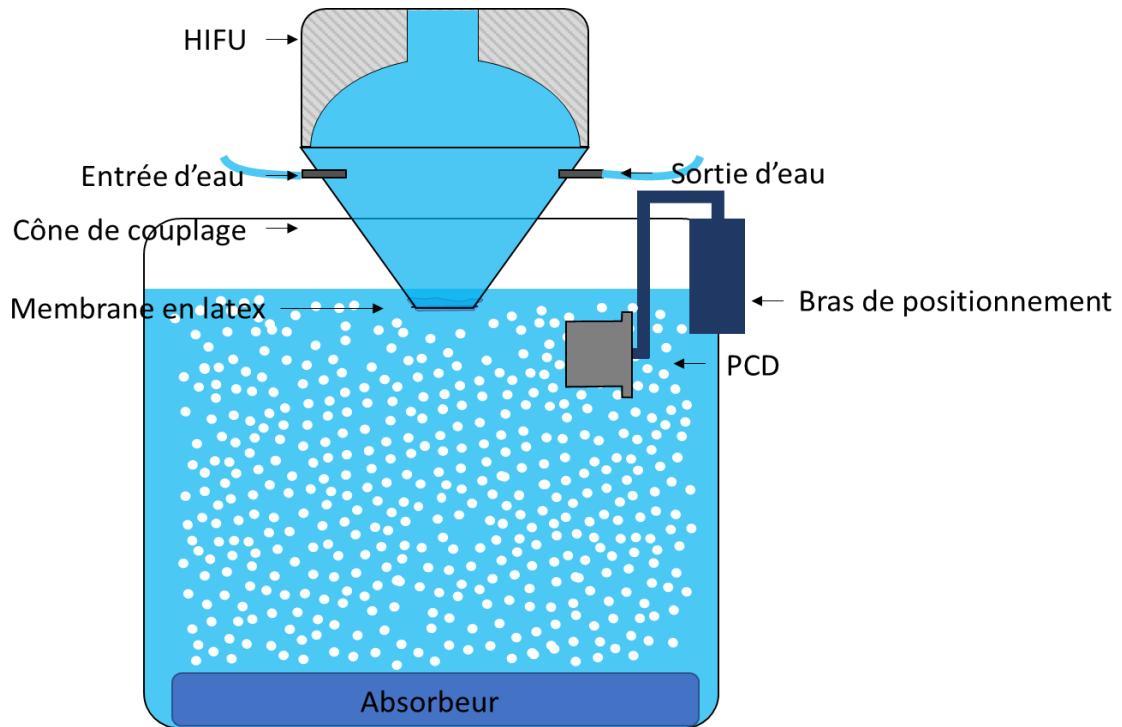


Figure 3.11 : Vue d'ensemble du montage pour la caractérisation avec un PCD.

3.2.2 Caractérisation avec hydrophone

Afin de connaître la pression négative maximale (*peak negative pressure* - PNP) émise par le transducteur focalisé en fonction de son voltage d'entrée, un montage selon l'état de l'art a été construit en collaboration avec Samuel Bélanger, étudiant en projet UPIR (Unité de Participation et d'Initiation à la Recherche) lors de cette maîtrise. Pour quantifier le champ de pression émis par un transducteur, un hydrophone est utilisé afin de convertir la pression reçue en signaux électriques. L'intensité de ce signal peut par la suite être convertie en pression, mesurée en un point spatial, selon le facteur de conversion de l'hydrophone (Y-104, Sonic Concepts, USA) et du montage. Afin de faire cette conversion, le champ de pression doit être cartographié à différents voltages pour permettre de retrouver la régression linéaire rattachant le voltage d'entrée du HIFU à la pression en sortie correspondante. Afin d'accélérer le processus, la cartographie du champ de pression a été réalisée en 2D sur le plan central de la focale. Le transducteur ultrasonore focalisé de haute intensité H-102 a été installé sur un système de positionnement tridimensionnel (voir Figure 3.12) composé de trois moteurs linéaires (X-LSM200A-E03, Zaber, CA). Le transducteur a par la suite été immergé dans un bassin d'eau ($L = 75,5$ cm, $H = 37$ cm, $W = 64,5$ cm) dégazé $[O_2 \approx 5 \text{ mg/L}, T \approx$

22 C]. L'ajout d'un indicateur de la position de la focale (voir Figure 3.13) est temporairement inséré dans l'ouverture du H-102 afin d'accélérer le positionnement du HIFU par rapport à l'hydrophone (gain d'un facteur ~ 20 comparativement à notre méthode de départ).

L'acquisition du signal de sortie de l'hydrophone est effectuée à l'aide d'une carte d'acquisition (Picoscope 5242D, Pico Technology, R-U) à une fréquence d'échantillonnage de 8.93 MHz sur un pulse HIFU de 100 cycles. Sur ces 100 cycles, les 60 cycles centraux ont été utilisés et post-traités pour quantifier la valeur de tension négative minimale moyenne du pixel. Après chaque acquisition de 100 cycles, le HIFU est déplacé dans l'espace par incrément de 0,4 mm en X et 1,0 mm en Z. L'acquisition d'un plan de 60 mm^2 , soit 6 mm x 10 mm prends une dizaine de minutes.

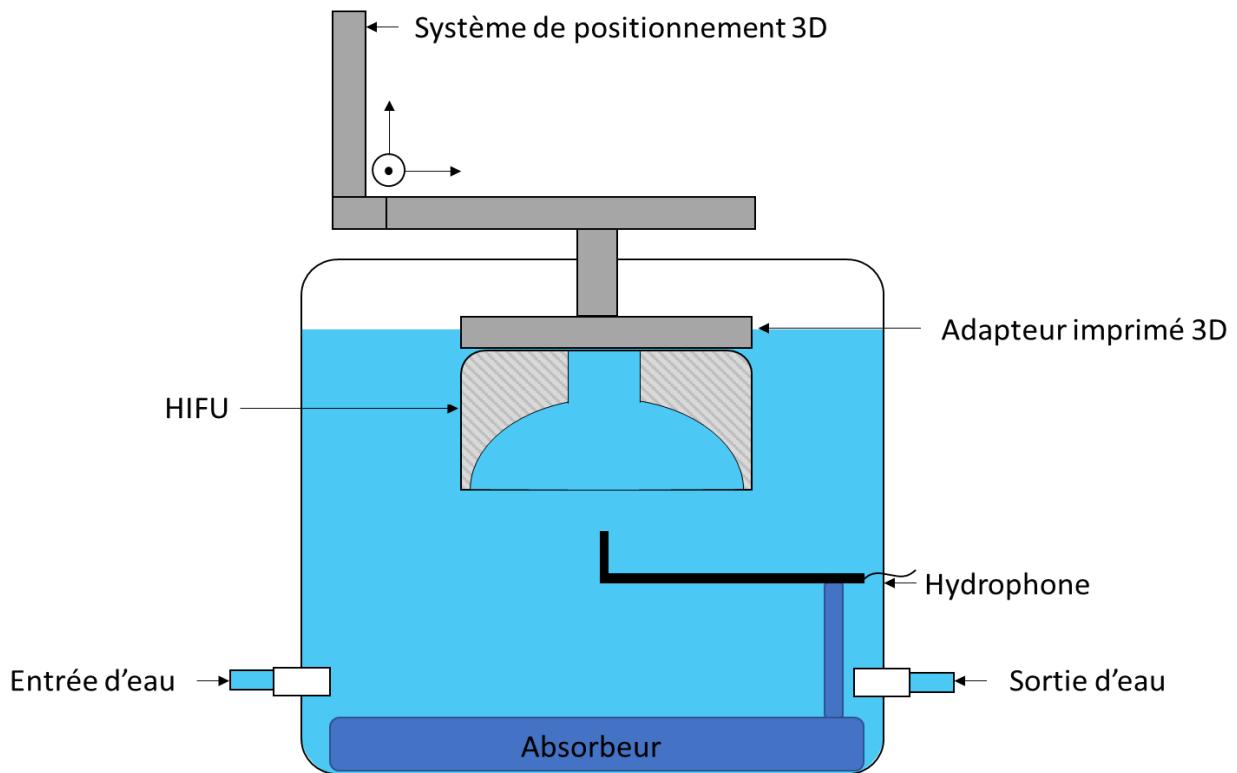


Figure 3.12 : Vue d'ensemble du montage pour la caractérisation avec un hydrophone.

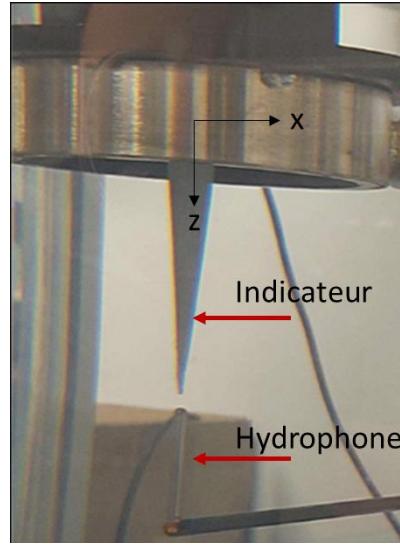


Figure 3.13 : Dispositif de localisation de la focale imprimé en 3D.

La conversion de ce voltage minimal en pression négative nécessite la connaissance de la capacitance du circuit et du facteur de conversion Voltage/Pression K_{EOC} du HIFU à 1 MHz, fournit dans le *Certificate of Analysis* du fabricant. Ici, le facteur de conversion Voltage/Pression $K_{TERMINAL}$ est défini par :

$$K_{TERMINAL} = K_{EOC} \frac{C_{HYDROPHONE}}{C_{TOTAL}} = 12.6868 \text{ [V/ KPa]} \quad (3.1)$$

Où $C_{HYDROPHONE}$ est la capacitance de l'hydrophone et C_{TOTAL} est la capacitance de la ligne d'acquisition comprenant l'hydrophone et le PicoScope. Ce facteur a été ensuite appliqué aux valeurs de tension minimale mesurée dans chaque pixel afin de convertir celles-ci en pressions négatives. De multiples cartes avec des tensions d'entrée variables ont été faites afin de trouver le modèle de régression linéaire (voir Figure 3.14) entre la tension crête à crête de sortie du générateur de fonction (avec un gain de 40 dB) et la pression négative maximale. Cette régression permet de trouver le facteur régissant la relation entre la pression à la focal P_f et le voltage crête à crête de sortie du générateur de fonction (V_{pp}), soit :

$$P_f = 0.77 * (V_{pp}) \quad (3.2)$$

Où la pression est en MPa et le voltage en V. La cartographie par hydrophone a non seulement permis de connaître le voltage d'entrée nécessaire pour obtenir une pression de sortie spécifique

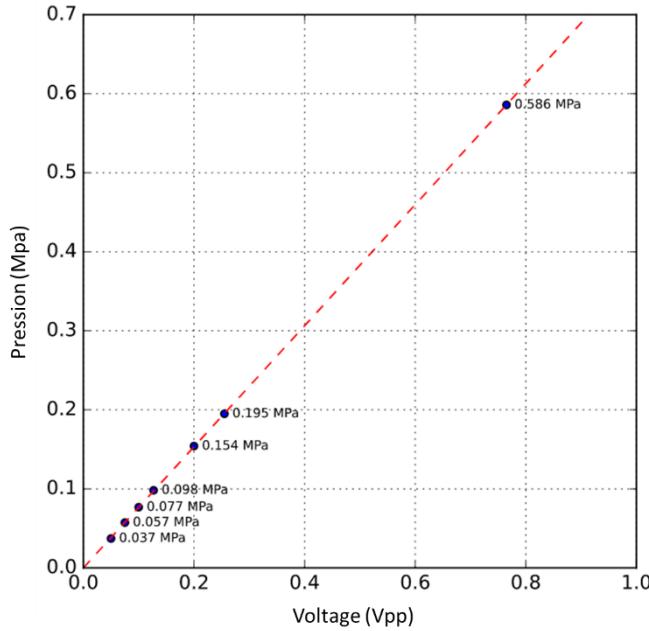


Figure 3.14 : Relation entre la pression négative maximale mesurée à la focale par rapport au voltage de sortie du générateur de fonction.

(ce qui est indispensable pour le *in vivo*) mais a également servi à comparer la cartographie de notre modalité d'imagerie avec l'état de l'art dans de mêmes conditions (section 4.3.1.1).

3.2.3 Caractérisation en champ libre

Cette caractérisation permet d'évaluer les phénomènes causés par notre système et son interaction avec les microbulles. Le montage réalisé pour la caractérisation du champ de pression en champs libres est expliqué dans la section 4.2.4.1.

3.2.4 Caractérisation en fantôme de flux

Plusieurs types de fantômes ont été testés durant le développement de la méthode afin de produire une circulation de microbulles la plus réaliste possible. D'abord, un simple tuyau en serpentin submergé et traversant la zone d'intérêt a été testé. Suite à l'observation d'une dégradation majeure du signal des microbulles au sein du vaisseau, nous avons opté pour un fantôme sans parois. Un fantôme avec des vaisseaux sans parois en alcool polyvinyle a donc été réalisé afin d'adresser les lacunes du fantôme précédent. Toutefois, ce type de fantôme se doit d'être gardé submergé dans du diméthylsulfoxyde, sans quoi celui-ci durcit et devient opaque. Dû à l'ajout des contraintes de manipulation et des difficultés avec sa fabrication causé par la création de bulles et un

rétrécissement lors de sa solidification, ce type de fantôme a été mis de côté. La création d'un fantôme de type micro fluidique en polydiméthylsiloxane a également été explorée. Pour se faire, un moule de circuit fluidique a été réalisé sur Catia v5 (Dassault, FR), puis imprimé avec une imprimante résine haute résolution (Pico, Asiga, AU). Ce fantôme a été élaboré avec l'aide de Elena Refet, étudiante au doctorat dans le laboratoire de Pr. Thomas Gervais. Malheureusement, dû aux circonstances particulières de cette année, le plan ne s'est pas concrétisé, mais la première version semblait toutefois prometteuse. Pris de court, un fantôme imitant la réponse tissulaire à l'imagerie ultrasonore (HM 2.0, Humimic Medical, ÉUA) a été testée. Un vaisseau de 5 mm de diamètre a donc été créé dans le fantôme à la profondeur nécessaire pour avoir une circulation de fluide dans la zone d'intérêt de l'imagerie (voir Figure 3.15). La méthodologie pour les tests d'imageries est décrite à la section 4.2.4.3.

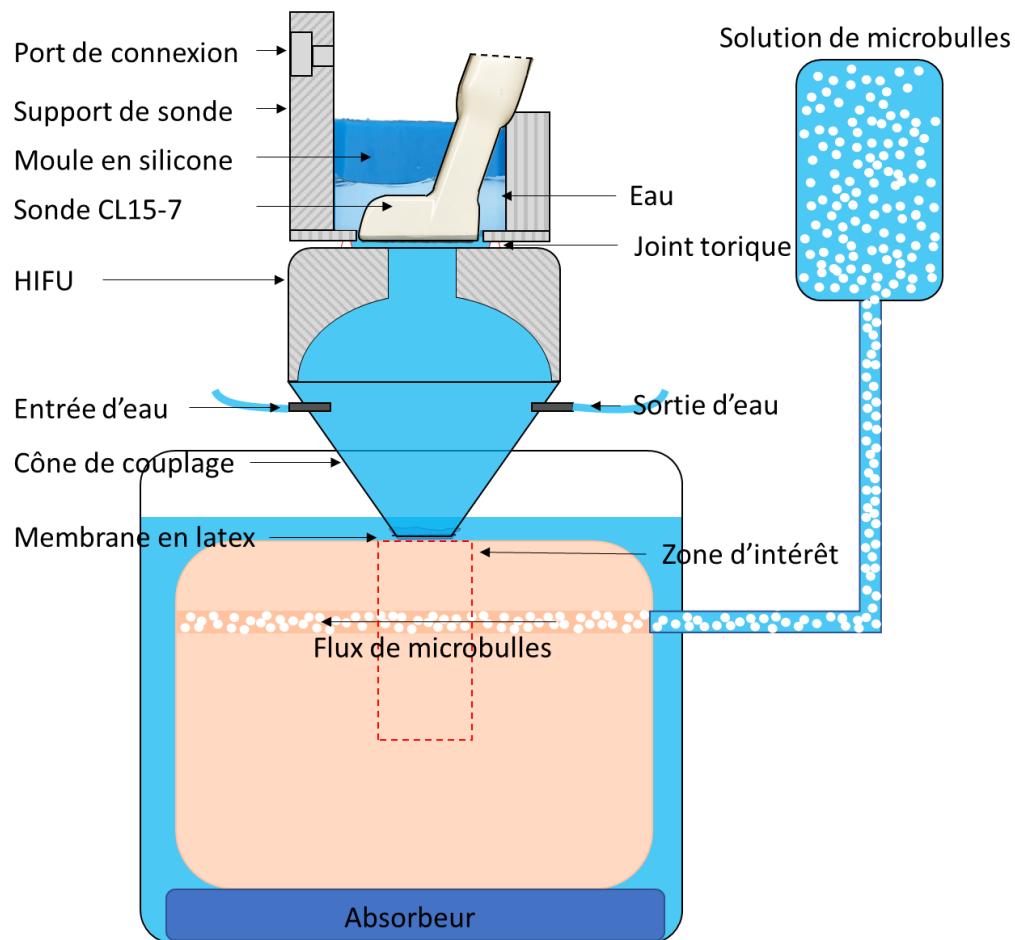


Figure 3.15 : Vue d'ensemble du montage pour la caractérisation avec un fantôme de flux.

3.3 Montage in-vivo

Un des objectifs principaux de ce projet était de permettre l'ouverture de la BHE sur un modèle animal. En collaboration avec le Dr. Gerardo Ramos, candidat au doctorat sous la supervision de Dr. Abbas Sadikot, un protocole a été développé afin d'accomplir cet objectif. Basé sur la littérature, le protocole a été adapté selon nos équipements ainsi que nos besoins et conditions spécifiques. Étant donné qu'une multitude de facteurs peuvent influencer le résultat du traitement et donc de l'ouverture de la BHE, la façon dont le montage (voir Figure 3.16) et la procédure ont été conçus permettent de standardiser nos expérimentations *in vivo* et ainsi réduire la divergence entre les résultats.

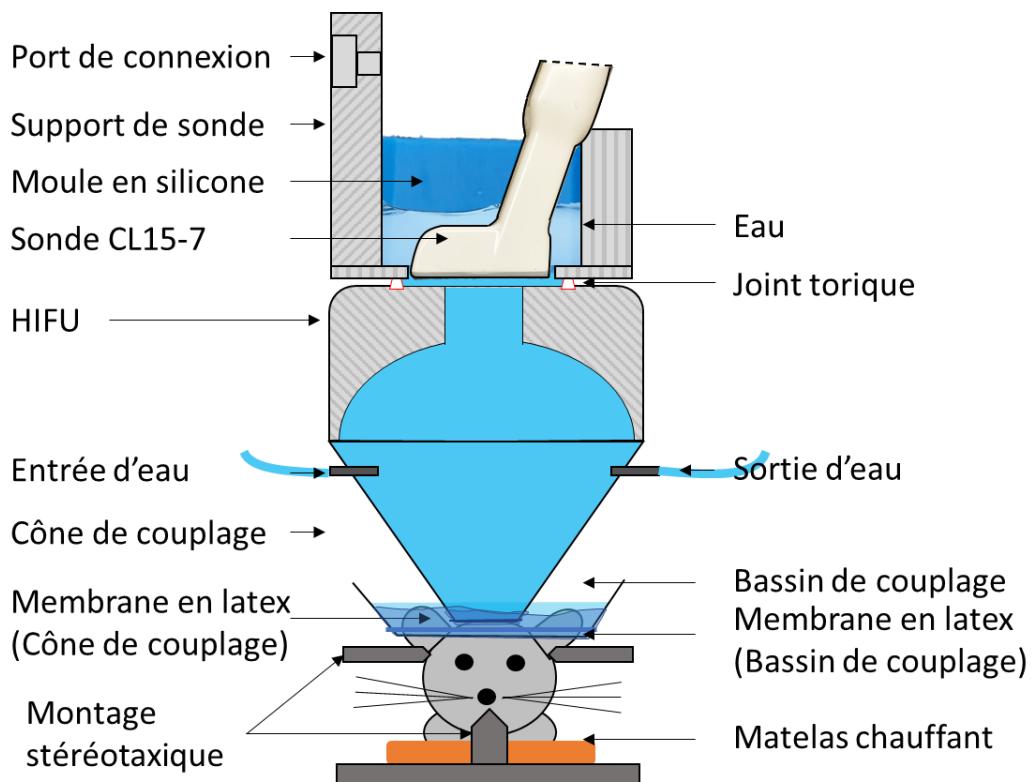


Figure 3.16 : Vue d'ensemble du montage expérimental *in-vivo*.

3.3.1.1 Protocole

Comme ces manipulations requièrent un grand nombre d'équipements et un séquençage particulier et précis, ce protocole maximise le temps disponible pour le traitement dans la fenêtre d'anesthésie profonde de l'animal.

1. Préparation de l'équipement

- Installer le HIFU sur le support imprimé en 3D permettant la fixation sur le montage stéréotaxique et écraser le joint torique en sa position respective.
- Brancher tous les appareils selon le schéma de la Figure 3.17.
- Fixer à l'aide d'un joint élastique une nouvelle membrane à l'embout du cône de couplage ainsi que sur le bassin de rétention d'eau.
- Remplir le réservoir du système de dégazage avec de l'eau déminéralisée puis faire fonctionner le dégazeur pendant 60 minutes avant le début de la sonication. S'assurer que la température du système soit de 21°C ainsi que la pression du système entre 25-30 mmHg. Mettre la vitesse de la pompe du dégazeur à 2/10 sans quoi il y a introduction de turbulence à la sortie du système, provoquant la création de bulles dans le cône de couplage.
- Entrer les paramètres de fréquence, amplitude et *duty cycle* dans le générateur de fonction.

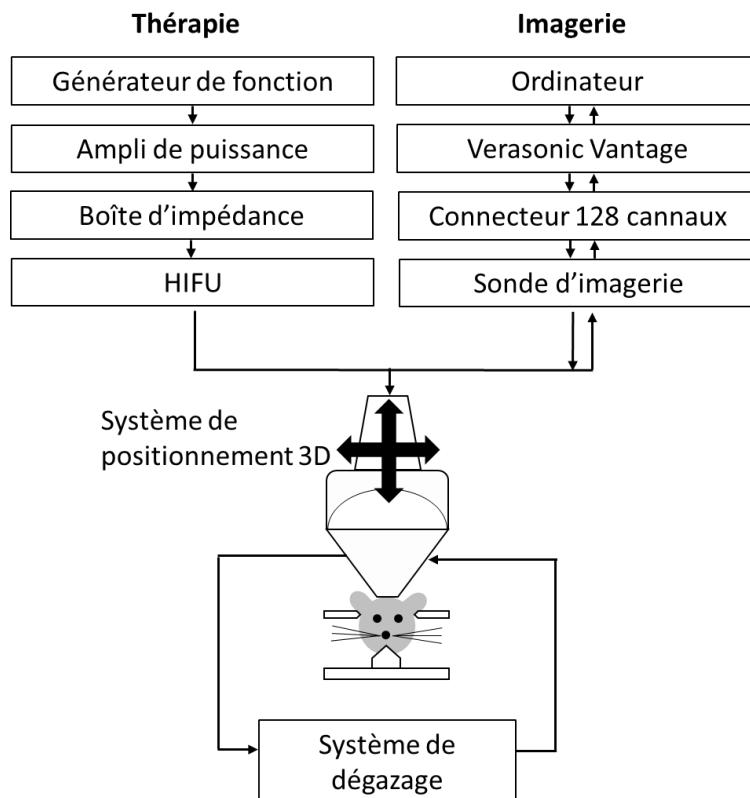


Figure 3.17 : Schéma des branchements entre les différents appareils.

- Mettre le gain de l'amplificateur de puissance à 40 dB.
- Préparer la solution de microbulles et d'agents d'immunocoloration. Mettre la solution de microbulles sur la glace.

2. Anesthésie de l'animal

- Anesthésier l'animal avec un mélange de kétamine, xylazine et acepromazine selon une dose de 100mg/kg, 10mg/kg et 3mg/kg respectivement.
- Vérifier les réflexes de l'animal et son état d'anesthésie (classification de Guedel) avant de poursuivre la procédure.
- Au besoin, hydrater l'animal par injection péritonéale d'une solution saline à 0.9%.

3. Préparation de l'animal pour la sonication

- Installer l'animal en position ventrale sur le système de fixation stéréotaxique et placer un matelas chauffant sous l'animal afin de garder une température corporelle à 37°C. Un thermomètre rectal doit être inséré dans le rectum de l'animal pour monitorer sa température lors du traitement. S'assurer que le cou de l'animal soit en bonne position sans quoi celui-ci pourrait avoir des difficultés à respirer adéquatement.
- Déposer de la pommade ophtalmique dans les yeux de l'animal.
- Dénuder grossièrement le crâne de l'animal avec un rasoir électrique.
- Enlever les poils restant à l'aide de crème épilatoire (Nair, Church & Dwight, ÉUA).

4. Préparer la localisation du traitement

- Réduire le niveau d'eau du montage de transducteurs jusqu'au seuil du col du HIFU afin de ne pas submerger la diode lors de son insertion.
- Introduire le système de guidage laser dans l'ouverture du support du HIFU afin de visualiser l'axe de la focale sur le crâne de l'animal.
- Éteindre le dégazeur temporairement afin de réduire les turbulences à la surface de l'eau et d'ainsi améliorer la visée (Figure 3.18).

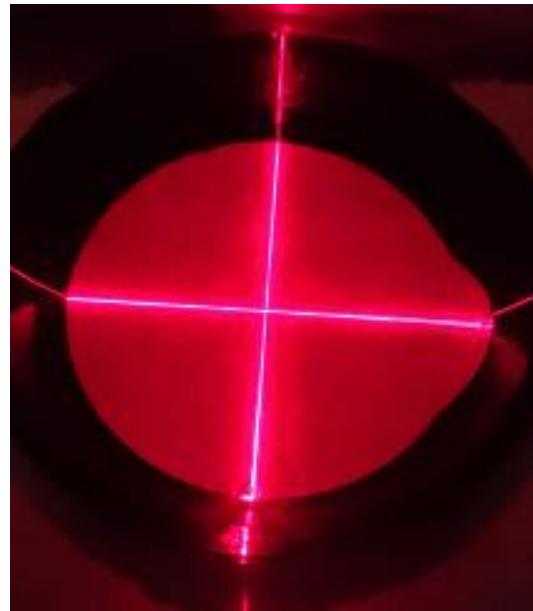


Figure 3.18 : Démonstration de la visé laser sans vibration.

- Se positionner à l'endroit désiré selon les sutures visibles sur le crâne de l'animal en ajustant la position dans le plan horizontal avec le système de positionnement micrométrique (Model 940, Kopf instruments, EUA).
- Retirer le système de guidage laser et rétablir le niveau d'eau.
- Réactiver le dégazeur.

5. Couplage HIFU – Crâne

- Éponger le crâne de l'animal avec de l'eau tiède puis y déposer une goutte de gel acoustique.
- Déposer le bassin de rétention sur les trois points de support (barres d'oreilles et barre buccale), enligner le bassin de rétention sur le crâne (voir Figure 3.19) de l'animal puis le remplir d'eau via le circuit du dégazeur.
- Descendre le HIFU en position de traitement selon l'axe dorsal/ventral.



Figure 3.19 : Vue de l'intérieur du bassin de couplage du crâne dénudé.

6. Injection des microbulles et des agents pour l'immunocoloration

- Réchauffer préalablement la queue de l'animal pour dilater la veine afin de faciliter la localisation de celle-ci pour l'injection (voir Figure 3.20).
- Frotter la queue avec un coton d'alcool puis injecter la solution dans la veine avec une seringue de calibre 30G.
- Attendre 10 secondes après l'injection des microbulles et débuter la sonication.

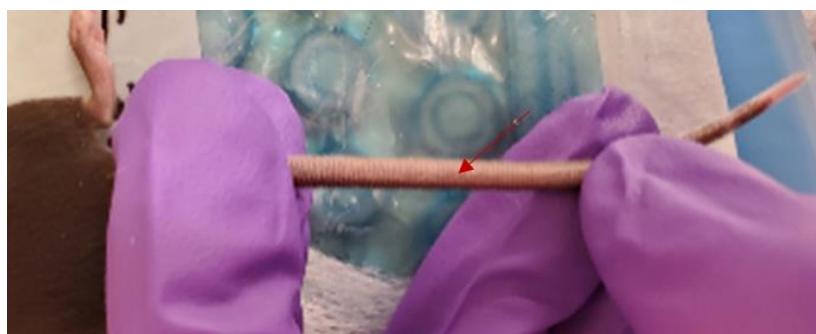


Figure 3.20 : Veine difficilement perceptible de la queue de la souris.

7. Sonication

- Éteindre le dégazeur préalablement à l'insonification et s'assurer que le volume d'eau submerge entièrement le HIFU et la sonde d'imagerie.
- Vérifier la présence de bulles sur la surface active du transducteur via le cône transparent.

- Activer le générateur de fonction et mettre l'amplificateur de puissance à *ONLINE* pour la durée du traitement. Activer la séquence d'imagerie de façon simultanée.
- Désactiver le générateur de fonction et mettre l'amplificateur de puissance en *STAND BY* une fois le traitement écoulé.

8. Réveil et rétablissement

- Mettre l'animal sous une lampe chauffante et lui permettre de se réveiller progressivement.

Une modification importante apportée au cours de ce projet est la façon dont le couplage acoustique entre le HIFU et le crâne de la souris est fait. Au départ, ce couplage acoustique était réalisé avec une interface de gel ultrasonore. Toutefois, au fur et à mesure que la manipulation progresse dans le temps, le gel se réchauffe et se liquéfie, créant par le fait même des interfaces d'air entre le cône et le gel. Ainsi, afin d'avoir un couplage acoustique optimal, un bassin de rétention d'eau imprimé en 3D a été conçu de façon à reposer sur le crâne de l'animal, et ce, sans rajouter de poids sur celui-ci et sans limiter le positionnement du cône de couplage. La tension de la membrane et le poids de l'eau font en sorte que la membrane épouse parfaitement la surface du crâne.

CHAPITRE 4 ARTICLE 1: EQUIVALENT TIME ACTIVE CAVITATION IMAGING

Simon Blais¹, Jonathan Porée¹, Gerardo Ramos², Samuel Desmarais¹, Vincent Perrot¹, Abbas Sadikot², Jean Provost^{1,3}

¹ Engineering Physics Department, Polytechnique Montréal, Canada

² Montreal Neurological Institute, McGill University, Montréal, Canada

³ Montreal Heart Institute, Montréal, Canada

submitted: Physics in Medicine and Biology, 12/12/20

Rationale: Despite development of a large number of neurologically active drugs, brain diseases are difficult to treat due to the inability of many drugs to penetrate the blood-brain barrier. High intensity focused ultrasound blood-brain barrier opening in a site-specific manner could significantly expand the spectrum of available drug treatments. However, without monitoring, brain damage and off target effects can occur during these treatments. While some methods can monitor inertial cavitation, temperature increase, or passively monitor cavitation events, to the best of our knowledge none of them can actively and spatiotemporally map the high intensity focused ultrasound pressure field during treatment.

Methods: Here we detail the development of a novel ultrasound imaging modality called Equivalent Time Active Cavitation Imaging capable of characterizing the high intensity focused ultrasound pressure field through stable cavitation events across the field of view with an ultrafast active imaging setup. This work introduces 1) a novel plane wave sequence whose transmit delays increase linearly with transmit events enabling the sampling of high frequency cavitation events, and 2) an algorithm allowing the filtration of the microbubble signal for pressure field mapping. The pressure measurements with our modality were first carried out *in vitro* for hydrophone comparison and then *in vivo* during blood-brain barrier opening treatment in mice.

Results: This study demonstrates the ability of our modality to spatiotemporally characterize a modulation pressure field with an active imaging setup. The resulting pressure field mapping reveals good correlation with hydrophone measurements. Further proof is provided experimentally *in vivo* with promising results.

Conclusion: This proof of concept establishes the first steps towards a novel ultrasound modality for monitoring focused ultrasound blood brain barrier opening, allowing new possibilities for a safe and precise monitoring method.

BBB: Blood-brain barrier; ETACI: Equivalent Time Active Cavitation Imaging; FUS: Focused ultrasound; HIFU: High intensity focused ultrasound; PAM: Passive acoustic monitoring; PNP: Peak negative pressure; MRgFUS: Magnetic resonance imaging guided focused ultrasound

Keywords: blood-brain barrier opening, ultrafast ultrasound imaging, pressure mapping, cavitation, monitoring.

4.1 Introduction

With the aging population, brain diseases are on the rise and are now a serious public health concern that needs to be addressed [1]. Brain diseases, such as neurological disorders or mass lesions, remain under-treated since most newly developed pharmaceutical agents that are active in vitro cannot access the brain due to the presence of the blood-brain barrier [2]. The BBB is a more selective filter [3] than the vasculature found in the rest of the body mainly due to the tight junctions between endothelial cells constituting the cerebral capillaries [4], [5]. Thereby, the BBB hinders more than 98% of neurotherapeutic drugs from acting on neurons and glia [6], [7]. Several approaches can currently overcome this barrier to reach the parenchyma, such as trans-arterial infusion of hyperosmolar agents [8], [9] and direct drug injection into brain tissue [10]. However, these methods to bypass the BBB are not optimal since they are either invasive or non-spatiotemporally specific [11] and can lead to adverse effects [12], [13]. More recently, a transient, localized and non-invasive way of opening the BBB was made possible by combining microbubbles and High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) [13]–[15]. This procedure overcomes the drawbacks of other techniques by utilizing the mechanical effect of microbubbles under ultrasound oscillations to promote anatomically precise opening in disease relevant regions [16], [17]. The non-destructive nature of this method requires very low acoustic power and thus relies heavily on the microbubble's mechanical effect to achieve the transient opening [18].

Microbubbles are clinically approved contrast agents used routinely in ultrasound imaging to improve the detection of the vasculature [19]. The ease with which microbubbles are detected using ultrasound imaging comes from multiple phenomena including the impedance mismatch between

the microbubbles and the surrounding environment, which generate strong backscattering of the incident imaging wave. Under the right ultrasound modulation condition, mechanical effects can be evoked to unsettle the integrity of the BBB by loosening tight junction complexes temporarily [15] while avoiding tissue damage. With the creation of low- and high-pressure zones in the tissue caused by the propagation of the HIFU pressure field in the medium, *in situ* microbubbles will undergo volumetric oscillations. Depending on the amplitude of the local pressure variation, the radial oscillations can take the form of stable or inertial cavitation. At low peak negative pressure (PNP), the volumetric oscillations of the microbubbles are stable around their equilibrium radius at rest, leading to apparent damage-free, reversible BBB disruption [17], [20], [21]. On the other hand, at higher PNP, stable cavitation gives way to inertial cavitation, which is the result of unstable radial oscillations. Above a certain pressure threshold, the unstable oscillations result in a violent collapse of the microbubbles, damaging the vasculature and brain tissue [22], [23]. One way to distinguish the two types of cavitation is by their backscattered acoustic emissions under ultrasound modulation [24]. Stable volumetric oscillations of the microbubbles lead to strong backscattered linear and nonlinear acoustic emissions, such as harmonics, sub-harmonics, and ultra-harmonics of the transmit HIFU central frequency [25], [26]. As the pressure amplitude increases, the non-linearity of the signal becomes more important until the previously mentioned pressure threshold is reached, leading to unstable growth and collapse. Upon collapsing, energy is released as heat and broadband acoustic emissions [27], [28]. The pressure threshold at which inertial cavitation occurs depends on multiple factors, such as bubble size, local *in situ* temperature, and the excitation frequency [29]. Given that the main objective of treatment for major brain diseases is to open the BBB in a controlled, damage-free manner, inertial cavitation must be avoided.

HIFU-induced BBB opening is arduous and would ideally require real-time spatiotemporal monitoring to ensure that the treatment location and the pressure distribution is as planned. Furthermore, multiple bioeffects take place *in vivo* that can shift the HIFU focal zone from the planned target. Thermal lensing, tissue motion, and beam distortion can displace the focal field relative to the theoretical ultrasound focal field [30]–[33]. While the effect is negligible in small animal models such as mice, they become more pronounced in larger species [34], [35]. For these reasons, spatiotemporal HIFU pressure field mapping is mandatory for safe and effective BBB opening in clinical contexts. The current gold standards that are clinically in use for focused ultrasound (FUS) treatment monitoring include either MRI-based or ultrasound-based methods

[36]. The first consists of Magnetic Resonance Imaging (MRI) thermometry measurements [26] that can map temperature variation of around 0.3°C [37] to localize the FUS focal point at a millimeter spatial resolution [38] with a temporal resolution in the order of a second [37]. However, there are still several issues with MRI guided FUS (MRgFUS), as it can't monitor acoustic emissions, lacks portability and requires MRI compatible transducers. Moreover, BBB opening does not necessarily involve temperature increases and requires tight monitoring of acoustic emissions, thus making MRI monitoring ineffective for this purpose. One approach to localizing the focal zone of *in situ* during MRgFUS BBB opening is to first induce a minor increase in temperature to visualize its position with thermometry moments before starting the procedure [13] at the lower PNP amplitude for BBB opening. However, this approach lacks real-time feedback once the procedure is started and is susceptible to misalignment due to tissue motion or other beam distortion problems as the treatment progresses. Also, it is important to keep in mind that the majority of the patients evaluated for FUS treatments are elderly, and lengthy MRgFUS procedures that can extend over more than 3h limit tolerability [39], [40]. Post BBB opening assessment can also be done to reduce the time in the MRI, but this approach also lacks the real time monitoring aspect. To address the issue of cavitation, a passive cavitation detector (PCD) is regularly added to the system in order to monitor acoustic emission of the cavitating bubble during FUS procedures.

The latter gold standard is used to visualize inertial cavitation events that create hyperechogenic regions in the tissue with FUS procedures in the order of multiple MPa [41], which is well above the BBB opening pressure range and thus not suitable for this application. Recently, a multitude of ultrasound monitoring techniques have been developed, including passive acoustic monitoring (PAM) based methods. PAM techniques use the FUS transducer as the emitter while a receiver array passively records the backscattered signal. PAM techniques are extensively characterized, and are an improvement compared to conventional PCD monitoring, which has a poor spatiotemporal resolution as it can only detect cavitation events from a fixed volume and can lead to misinterpretation since signals from acoustic events can interfere with each other [42]. Spatial resolution can be increased with the use of linear arrays and passive beamforming methods [36], [43] but given that no imaging pulse is emitted, the axial resolution is suboptimal.

Simulation is also a powerful tool to help visualize the FUS pressure field. However, simulation remains unreliable for *in vivo* treatment prediction as the FUS BBB opening is based on the interaction between the FUS pressure field, the tissues and the microbubbles. Simulation methods

therefore often lack information of important biological characteristics including brain tissue properties, blood flow and spatial microbubble concentration [44]. Furthermore, accurate simulation requires pre-op imaging such as CT in order to extract the geometry and the density of the patient's skull [40] to reproduce the aberrations, thus adding extra steps to the procedure.

Despite the important attempts in addressing the drawbacks such as spatial and temporal resolution, pressure range and real-time monitoring, none to our knowledge can spatiotemporally monitor the FUS pressure field by actively mapping stable cavitation events. Given the importance of achieving reliable and controlled BBB opening, and the limitations of current approaches, there is a pressing need for a low-cost, high resolution spatiotemporal pressure field mapping solution.

Over the last few years, ultrasound imaging has made major improvements with the advent of ultrafast programmable ultrasound scanners. High-speed ultrasound acquisition and accumulation of large data sets have allowed the development of new imaging modalities, making it possible to image inaccessible structures with other non-invasive imaging modalities [45]. Here we combine these new approaches, to present a proof of concept of a novel ultrasound imaging modality, Equivalent Time Active Cavitation Imaging (ETACI), that can monitor the FUS pressure field by utilizing an active imaging setup and the radial oscillation of microbubbles under sonication.

4.2 Methods

To map the pressure field of the HIFU transducer, we developed a modality where we can isolate backscattered signals of stable cavitating microbubbles from the rest of the tissue using an active imaging setup. As the microbubble is submitted to pressure waves propagating through the medium, it will undergo cavitation. High- and low-pressure zones will induce a volumetric oscillation of the microbubble, which will affect its backscattered signal when hit by an imaging pulse [46]. When the microbubble is in a rarefaction zone, the diameter of the bubble will be larger than at its equilibrium state, and conversely for when the bubble is in a compression zone (Figure 4.1). When the microbubble is smaller than its equilibrium state, the backscattered signal will be higher than when the volume is above the equilibrium state [47]. The reflected signal will thus depend on the volumetric oscillation state of the microbubbles which in turn is related to the local pressure field intensity. Due to this phenomenon, the microbubbles will therefore serve as pressure sensors throughout the medium and will indicate whether, at a given location, the medium is

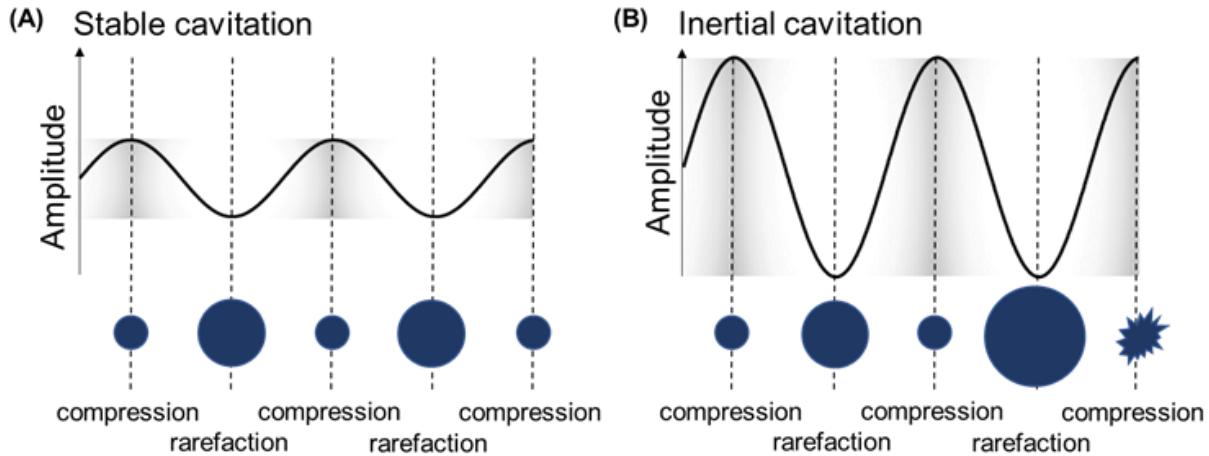


Figure 4.1: Microbubble's volumetric oscillation under modulation wave propagation through the medium. (a) Stable cavitation resulting in cyclic volumetric expansion and compression. (b) Inertial cavitation resulting in microbubble collapse.

subjected to the pressure field of treatment. Knowing that the backscattered signal of the tissue over time should stay constant [47], we can thus differentiate the microbubble from the tissue by the variability of the signal in the slow time dimension. To reliably measure the treatment pressure output, it is critical to image simultaneously with FUS treatment as oscillation damping will affect any delayed measurements [48]. Plane wave emission was used for this modality because, unlike focused imaging, the additional pressure modulation induced by the imaging probe avoids the risk of microbubble disruption. It was also used for coherent temporal mapping across the whole field of view as biological effects occur. Ultrafast plane wave imaging also increases the number of images that can be acquired in a defined time frame, making this method suitable for real-time monitoring.

4.2.1 Equivalent Time Active Cavitation Imaging sequence

As we are limited by the round-trip time needed for the signal to be emitted and received from the medium, it is not possible to actively sample the microbubble oscillation at frequencies that are high enough to respect the Nyquist criterion. In order to bypass these limitations, ETACI is based on the use of a time delay in the emission of the imaging pulse equivalent to a fraction of the period of the modulation wave (Figure 4.2). By doing so, we interrogate the medium at different equally spaced time frames relative to the modulation wave period (Figure 4.2A). We assumed that the oscillation of the stable cavitating microbubble should be periodic in time and therefore, should be

equivalent when spaced by an integer of modulation cycles. The transmit delay is calculated by the number of wavelengths of the imaging probe central period (1/Imaging central frequency) and is determined beforehand. A custom DAS beamformer was adapted to correct for the added delay of the imaging pulse in order to register the images spatially onto the same grid.

For this feasibility study, the treatment transducer was a single element high intensity focused ultrasound transducer (HIFU H-102, Sonic Concepts, WA) driven at 1 MHz. The number of sampled microbubble oscillation states over a full HIFU period PHIFU is defined by the integer k . The number of full HIFU periods n between every acquisition dictates the imaging frequency (1/PRP).

$$\Delta_t = \frac{P_{HIFU}}{k} \quad (4.1)$$

$$PRP = n * P_{HIFU} \quad (4.2)$$

When the time between two acquisitions is an integer number of HIFU periods, the microbubbles are sampled at the same volumetric state, which translates to a constant backscattered signal along the slow time dimension (Figure 4.2B-C). The microbubble signal is thus clustered with the tissue signal around the null frequency. As we introduced the time shift in between acquisitions, we sample the microbubbles in a series of modulated states, which creates a periodic oscillation in the back-scattered signal of the imaging pulse along the slow time (Figure 4.2D). This signal intensity oscillation along the slow time domain translates to a shift in the frequency domain (Figure 4.2E), making the microbubble signal stand out of the clutter signal. Thus, by varying the induced time shift in the imaging sequence, it is possible to modify the frequency spectrum of the back-scattered emission in slow time to isolate the signal of interest in a controlled manner. We assume that unless inertial cavitation or the absence of microbubbles occurs over time, the volumetric oscillation signal should be periodic along the slow time. It is thus possible to subtract the PRP time in between acquisitions as it is an integer number of HIFU periods and thus obtain an equivalent sampling period of Δt instead of $PRP + \Delta t$ (Figure 4.2F-G). By doing so, we were able to artificially sample high frequency events in the slow-time dimension higher than the possible limit of ultrafast ultrasound imaging. This type of processing has some similarities with SURF imaging [47], uRMI [49] and Equivalent-Time Sampling, which is a sampling method implemented in digital

oscilloscope. The results presented in this paper were acquired with $k = 5$ and an imaging period of $500 \mu\text{s}$.

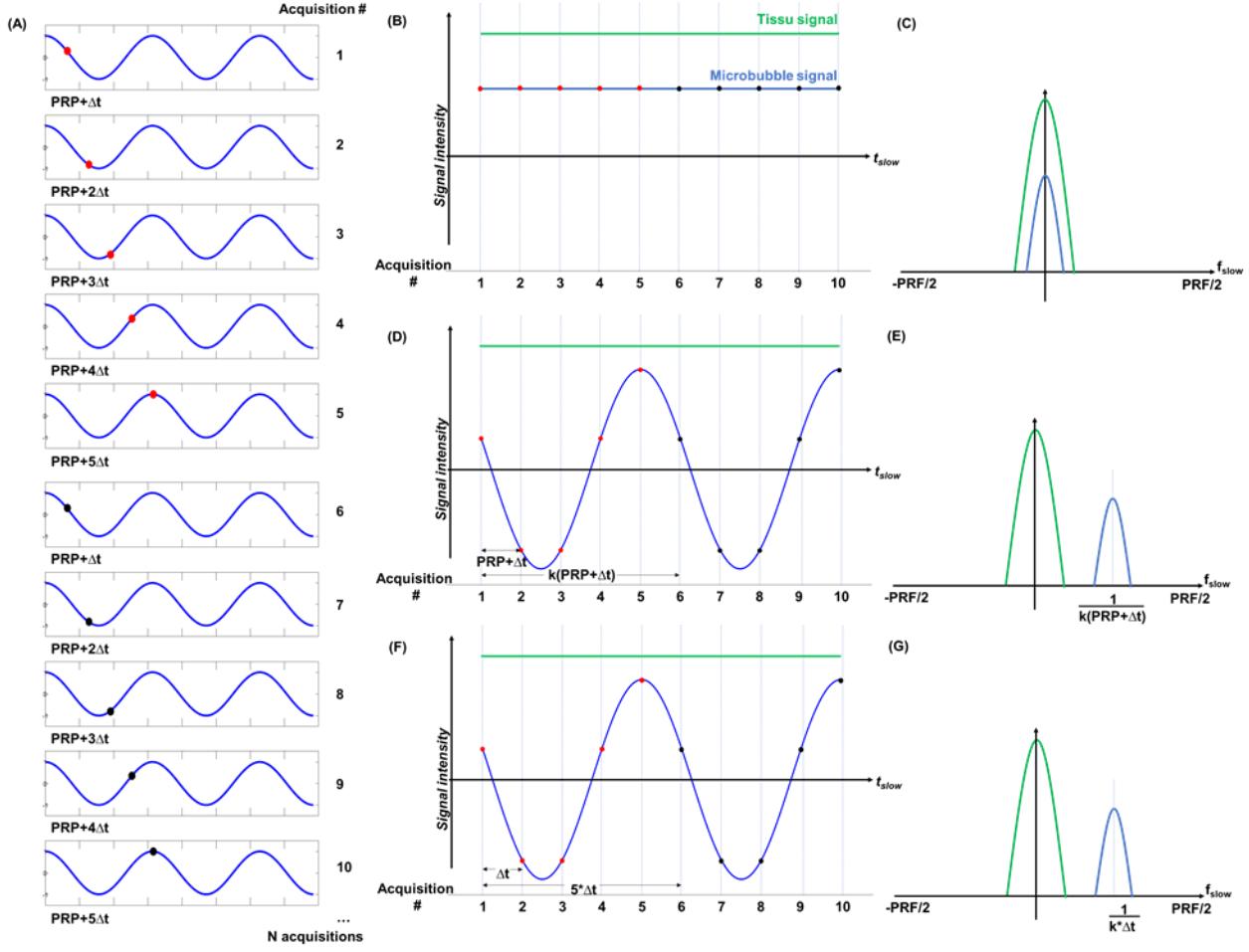


Figure 4.2 : Overview of the ETACI sampling and its effect on the received signal. (a) Sequence acquisition shifts in relation to the modulation wave. (b) Schematic of the back-scattered signal of the microbubbles and the tissue when the microbubble is sampled periodically in the same volumetric state. (c) Frequency spectrum in the slow-time of the backscattered signal. (d) Schematic of the back-scattered signal of the microbubbles and the tissue when the sequence samples the microbubbles at various states along a volumetric oscillation cycle. (e) Frequency spectrum in the slow-time where the microbubbles' signal is shifted from the clutter signal. (f) Schematic of the back-scattered signal of the microbubble and the tissue when the sequence samples the microbubble in various states along a volumetric oscillation cycle and the equivalent time relation. (g) Frequency spectrum in the slow-time where the microbubbles' signal is shifted from the clutter signal and the equivalent time relation.

4.2.2 Pressure field map extraction

A Fourier analysis is performed for all corresponding pixels of the reconstructed images along the slow-time. Depending on the frequency of interest, the corresponding Fourier coefficient can be selected, resulting in an intensity map. The magnitude of the Fourier coefficients in each pixel characterizes the amplitude of the sinusoidal signal at the selected frequency in the backscattered signal and this value can then be translated and interpreted in pressure intensity, thus characterizing the pressure field intensity across the field of view. In this study, we used up to 250 ensembles of 250 frames to generate compounded pressure intensity maps. The simplicity of this method facilitates the implementation for real-time monitoring and can be tailored to different modulation frequencies and imaging probes.

4.2.3 Transducer Setup

For this study, a dual transducer setup was designed to allow in vitro testing as well as in vivo testing with a view to eventual clinical translation (Figure 4.3). A custom, 3D-printed setup was fabricated in order to mount a CL15-7 ultrasound probe (ATL, WA) concentrically to the central opening of the HIFU transducer (H-102, Sonic Concepts, WA). The central frequency of the chosen transducers was 8.9 MHz and 1.1 MHz for the imaging probe and H-102 respectively. The 3D printed setup also served as an attachment point between the 3D positioning system and the dual transducer montage. To facilitate the fitting and positioning of the irregularly shaped CL15-7, the probe was cast in silicone (Mold-Star 30, Smooth-on, PA) and then fit in the 3D printed holder. A rubber ring was compressed in between the holder and the casing of the H-102 to allow the water to rise out of the coupling cone and submerge the imaging probe. As the imaging probe measures 36.5 mm and the opening of the H-102 measures 20 mm, we were limited to an aperture composed of 88 out of the 128 elements to transmit and receive information from the imaging probe. When in a coaxial position on top of the modulation transducer, the imaging array was sitting at around 72 mm from the exit plane of the coupling cone. The bottom opening of the coupling cone was sealed off with a latex membrane (Durex, USA) and a rubber O-ring. The water was circulating in the coupling cone in between acquisitions using a water degassing system (WDS-105+, Sonic Concepts, WA). The ultrasound probe was connected to a 256-channel Vantage ultrasound system (Verasonics, WA). The HIFU input was connected through a matching impedance box (Sonic Concepts, WA) that was fed with a 1 MHz sinusoidal output from the function generator (32220A,

Agilent, USA) that had been amplified by a power amplifier (BBS0D3FOQ, Empower RF System, CA) at 40 dB.

3D system positionning system connexion point

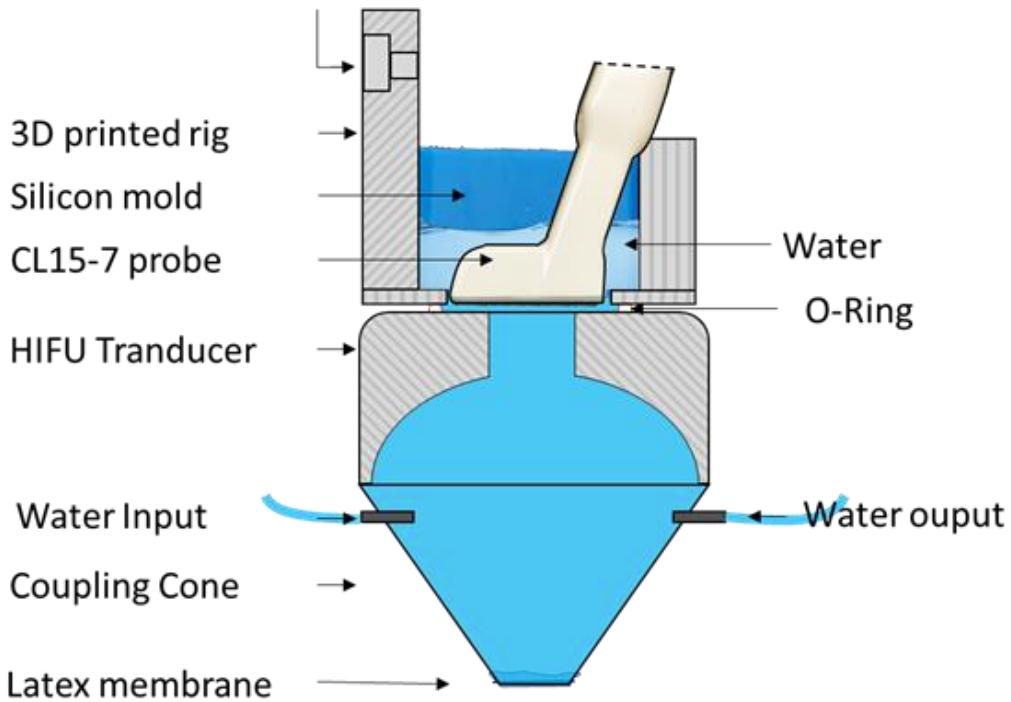


Figure 4.3 : Co-axial transducer setup for BBB opening treatment in mice.

4.2.4 In vitro

4.2.4.1 Free field characterization

The transducer montage was submerged halfway in a degassed [$O_2 \approx 5 \text{ mg/L}$, $T \approx 22 \text{ }^\circ\text{C}$] 12 Liters water tank containing 2.4×10^7 Definity microbubbles (Lantheus Medical Imaging, USA) aiming at an ultrasound absorber laying at the bottom of the water tank. Continuous focused ultrasound exposure was applied for 120 seconds while imaging simultaneously with ETACI. The CL15-7 was operated in transmit/receive mode and for each acquisition, 50 repetitions of 5 consecutives delay-induced frames were acquired, for a total of 250 frames. The frames were accumulated into an ensemble, then transferred and saved to a solid-state drive for offline processing. This was repeated for a total of 250 ensembles and all the received data were post-processed offline on MATLAB (MathWorks, USA). The resolution of the beamformed images were $\lambda/4$ in both axial

and lateral directions. The objective of this experiment was to have a clear unobstructed view of the pressure field in order to compare it to direct measurement using a hydrophone. Also, to characterize the effect of microbubble concentration and pressure on the signal amplitude, we first compared the signal spectrum of microbubble oscillation under the same pressure modulation, but with different microbubble concentrations. Next, varying pressure amplitudes were applied with a constant microbubble concentration. Since microbubbles decay in few minutes [50], we ensured a constant microbubble concentration between each test by flushing the water tub, refilling and degassing, prior to reinjecting microbubbles in the tub for sonication.

4.2.4.2 Hydrophone mapping

Hydrophone mapping has been performed using the same conditions as the free field imaging. spatial pressure mapping was achieved with three motorized linear stages (X-LSM200A-E03, Zaber, CA) and a hydrophone (Y-104, Sonic Concepts, WA) in a 160 L custom water tank. The HIFU was targeted at the hydrophone for a 100 cycles burst and the output signal from the hydrophone was acquired with a data acquisition card (Picoscope 5242D, Pico Technology, UK) at a sampling rate of 8.93 MHz. After each measurement, the HIFU was moved in space in order to characterize the full pressure field of the center plane of the focal zone. The 60 middle cycles acquired by the acquisition card were then used to quantify the minimal voltage at each pixel. That voltage was then converted to the negative pressure using a calibration factor of 12 V/kPa. The maximal negative value at the focal zone was used to define the PNP. All the different communication protocols to interact with the different subsystems were implemented in Python.

4.2.4.3 Static phantom characterization

In order to characterize the capability of tissue suppression of this method, in vitro testing with a tissue mimicking phantom (Blue Phantom, CAE Healthcare) and contrast agent was performed. The transducer setup was submerged in a degassed 4 L water tub [$O_2 \approx 5 \text{ mg/L}$, $T \approx 22 \text{ }^\circ\text{C}$] containing 1.2×10^8 free-floating Definity microbubbles and the phantom was placed in a manner that would avoid overlap between the phantom and the theoretical focal zone. Continuous focused ultrasound exposure of 0.025 MPa PNP was applied while imaging with our custom plane sequence for 250 ensembles.

4.2.4.4 Flow phantom characterization

A flow phantom setup was assembled to characterize the capability of mapping the pressure field in a vessel and the effect of fast-moving microbubbles. In vitro testing with a tissue mimicking flow phantom (HM 2.0, Humimic Medical, USA) and 2.4×10^7 Definity microbubbles diluted in 100 mL was performed with gravity generated flow. A ~5 mm vessel was created in the phantom just under the surface so it would go through the imaging region and across the focal region. The phantom was submerged in water and placed above an absorber in order to reduce reverberation. The transducer was in direct contact with the flow phantom and a layer of ultrasound coupling gel was laid in-between the two interfaces for better ultrasound coupling. The 1 MHz FUS output was set to 0.025 MPa PNP and the acquisition lasted for 250 ensembles.

4.2.5 In vivo

This study was done under a protocol approved by the McGill University Animal Care Committee. One female wild type mouse (C57BL/6J, Jackson Laboratories) underwent FUS treatment for BBB opening. The treatment lasted for 120 seconds and was aimed at the right or left striatum consecutively, using either continuous or burst sonication respectively. The animal was prepared beforehand, and the scalp fur was shaved and denuded with depilatory cream. The transducer pressure output was set to 0.40 MPa PNP for either side and a duty cycle of 20% over a 50 ms period was used for the burst treatment. The targeting of the striatum was laser guided on the scalp with a 3D positioning system. Around 10 seconds prior to sonication, a cocktail containing 25 μ L of microbubbles (1.2×10^8 Definity microbubbles in 0.98 mL of saline) and Evan's Blue (1% Evan's Blue in PBS at 7.4 pH at 2 μ l/g of mouse body weight) was injected into the tail vein. For ultrasound imaging, 150 ensembles of 250 images each were acquired simultaneously during the treatment, with a 2000-Hz pulse repetition frequency. A 5-minute pause was applied between the two sonication's in order to let the microbubbles fully decay and a second bolus injection was then administered through the tail vein. A small number of ensembles containing mostly white noise, probably caused by electromagnetic interference from the other devices in the in vivo experimental set-up were removed for the creation of the compounded ETACI maps.

Freeze-mount fixed brain sections (40 microns thick) were tiled under a fluorescent microscope. The spatial registration overlay between a coronal brain tissue section and the ETACI pressure field mapping was generated using B-mode images (Figure 4.9C-F) and stereotactic coordinates.

4.3 Results

4.3.1 In vitro

4.3.1.1 Free field mapping and hydrophone correlation

ETACI is intended to show the intensity of the pressure field through the intensity of pixels visualized in the resulting filtered image. However, as the microbubble concentration increases, the pixel intensity also increases under the same modulation conditions. As shown in Figure 4.4A, the microbubble concentration influences the amplitude of the signal around the frequency of interest. This condition makes the following tests harder to accomplish because of the inherent effect of the microbubble concentration on the results, which needs to be precisely standardized in between testing conditions in order to see the pressure/intensity relation without a microbubble concentration bias. Figure 4.4B shows that ETACI is sensitive to changes in the intensity of the modulation wave PNP. As intended, we observe a relationship between the amplitude of the microbubble oscillation through the value of the Fourier coefficient and the HIFU pressure output at the frequency of interest. The characterization in free field allows us to find the frequency of interest of cavitating microbubble and to determine the response of the modality when no modulation wave is sent through the medium. As Figure 4.4B shows, the spike around the 1-MHz band is constant regardless of the modulation intensity, indicating that the microbubble oscillation frequency does not correspond to the expected frequency of 1 MHz [48], which is HIFU driving frequency. The volumetric oscillation frequency of the microbubbles corresponds to a signal around the 1.12 MHz band, and the intensity of the corresponding signal depends on the modulation transducer PNP output. For all the following results, the frequency band of interest is chosen to be between 1.11 MHz to 1.12 MHz.

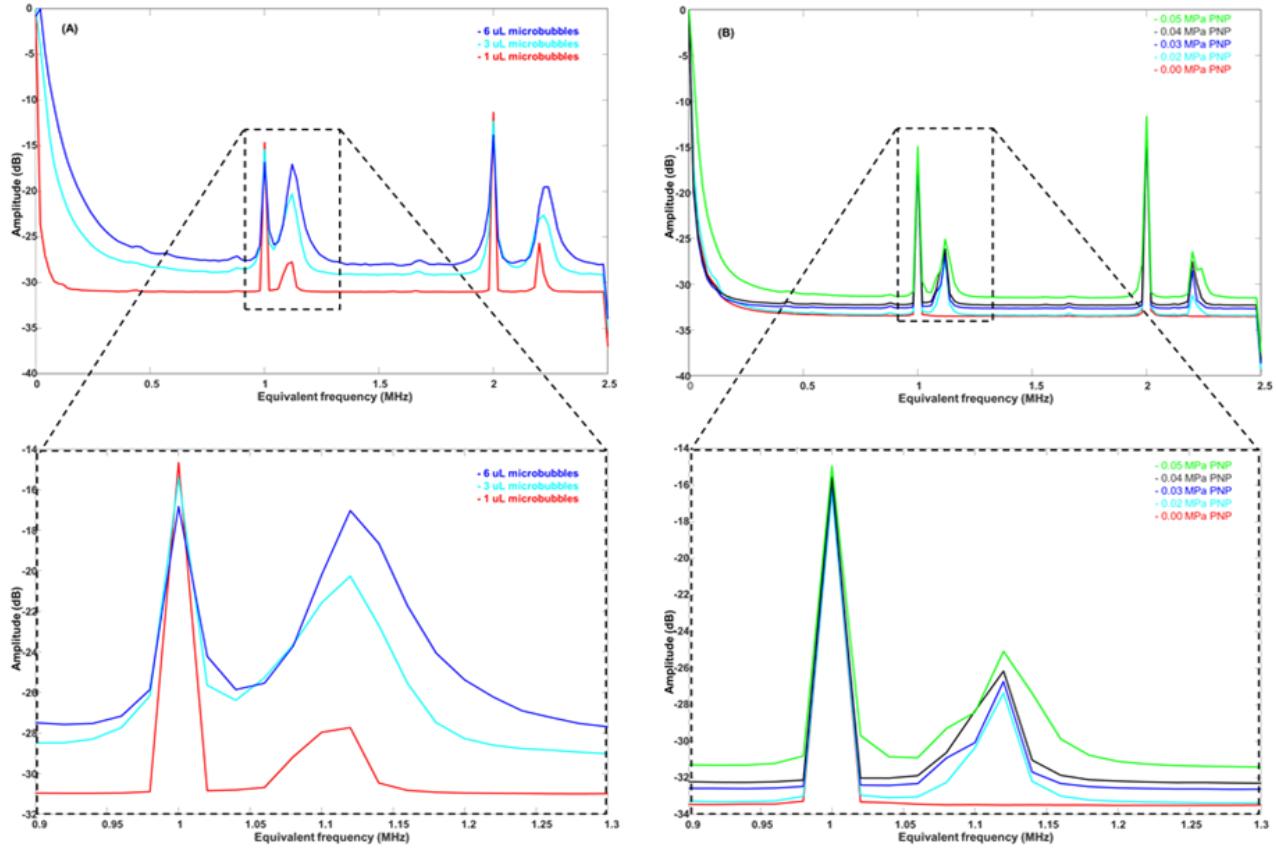


Figure 4.4 : Mean slow-time frequency spectrum at the equivalent sampling frequency for every pixel of the field of view (FOV). (a) Spectrum profiles at different microbubble concentrations under the same HIFU modulation (0.1 MPa). Zoomed in spectrum between 0.9 MHz and 1.3 MHz. (b) Spectrum profiles at variable HIFU PNP amplitude with a constant microbubble concentration. Zoomed in spectrum between 0.9 MHz and 1.3 MHz.

To evaluate the validity of the pressure mapping using our method, we compared the resulting compounded map to the pressure mapping obtained using hydrophone measurements performed in the mid plane of the focal field. Figure 4.5A shows the overall FOV starting at 77 mm from the imaging probe with the hourglass-like shaped pressure field. Figure 4.5D-E shows the close resemblance in-between the mean profiles measurements of the two mapping techniques (Figure 4.5B-C) along the HIFU axial direction. Both these profiles show similar dips around the central peak as expected for a FUS focal pressure profile. The dependency obtained between the corresponding pixel intensity value of ETACI and the measured pixel negative pressure shown in Figure 4.5E gives a linear correlation with an R-square of 0.7906. In order to have the same number

of data points between the two datasets, the ETACI image was down sampled to the size of the hydrophone map.

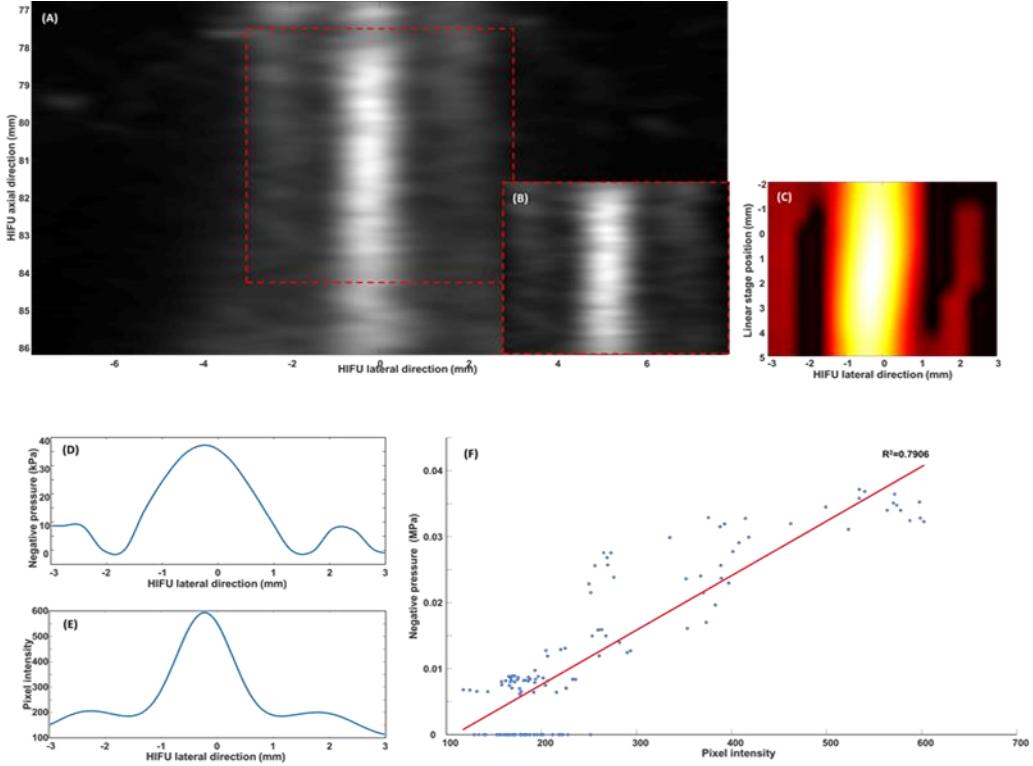


Figure 4.5 : HIFU beam profile mapping in free field at 0.04 MPa PNP and hydrophone mapping of the same region. The red dotted line circumscribes the corresponding zoomed in area position on the overall field of view. (a) Overall field of view of the H-102 HIFU pressure field measured with the ETACI modality. (b) Zoomed in area corresponding to the same region as the hydrophone measurement. (c) 2D central plane of the hydrophone pressure map. (d) Mean negative pressure along the axial dimension. (e) Mean pixel intensity value along the axial dimension. (f) Correlation between the pixel intensity of the ETACI technique and the negative pressure measurements of the hydrophone mapping.

4.3.1.2 Static phantom characterization

To assess the capability to isolate the microbubble cavitation signal from a soft-tissue-like medium, a tissue-mimicking phantom was placed on the left side of the field of view. Figure 4.6A-B attests to our method's capability to allow tissue suppression and enhance the microbubble signal compared to a regular B-mode image of the same field of view. The phantom and the coupling cone artefact signals are mostly filtered out, resulting in only the pressure field mapping. The focal

region of the pressure field seen in Figure 4.6A appears to have a focal dimension corresponding with the theoretical focal size (focal length 10.21 mm x focal width 1.37 mm at F0). The intensity profile (Figure 4.6C) along the blue dotted line shows the lack of signal on the left side of the image where the phantom was standing, causing the absence of microbubble and thus a cavitation signal. This demonstrates that without microbubbles acting as local pressure sensors, the pressure field cannot be characterized in those regions.

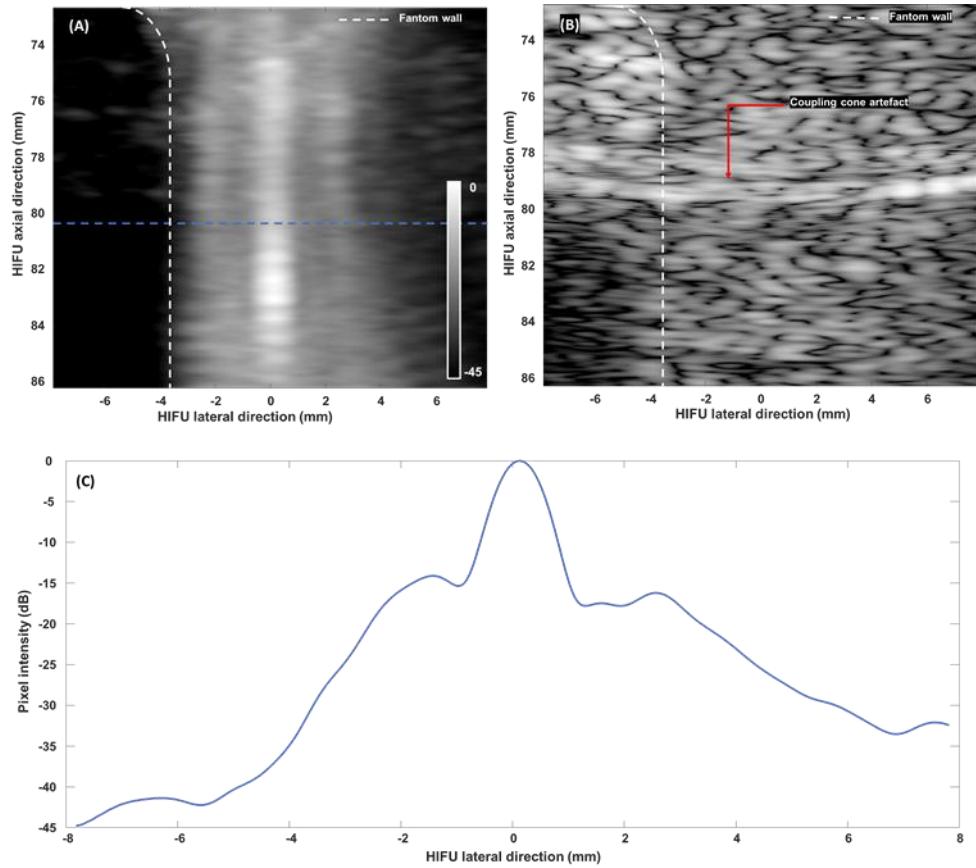


Figure 4.6 : HIFU pressure field and tissue suppression characterization. The white dotted line circumscribes the outline of Blue Phantom wall. (a) ETACI of the medium containing the free-floating microbubbles and the phantom. (b) B-mode of the same medium. (c) Pixel intensity profile in decibel along the blue dotted line crossing the focal field in.

4.3.1.3 Flow phantom characterization

We evaluated the effect of gravity-generated flow on the ETACI modality. In order to have a better view of the pressure field inside the vessel, the imaging was performed along a longitudinal cut of a ~5 mm diameter vessel. As shown on Figure 4.7A, the compounded ETACI pressure map characterizes the pressure field inside the vessel as microbubbles flow through it. Most of the signal is limited to the inside of the vessel and has the expected focal profile similar to the one in the free field (Figure 4.7C). The presence of speckle-like signals outside of the vessel can be explained by the presence of small gas pockets in the phantom medium.

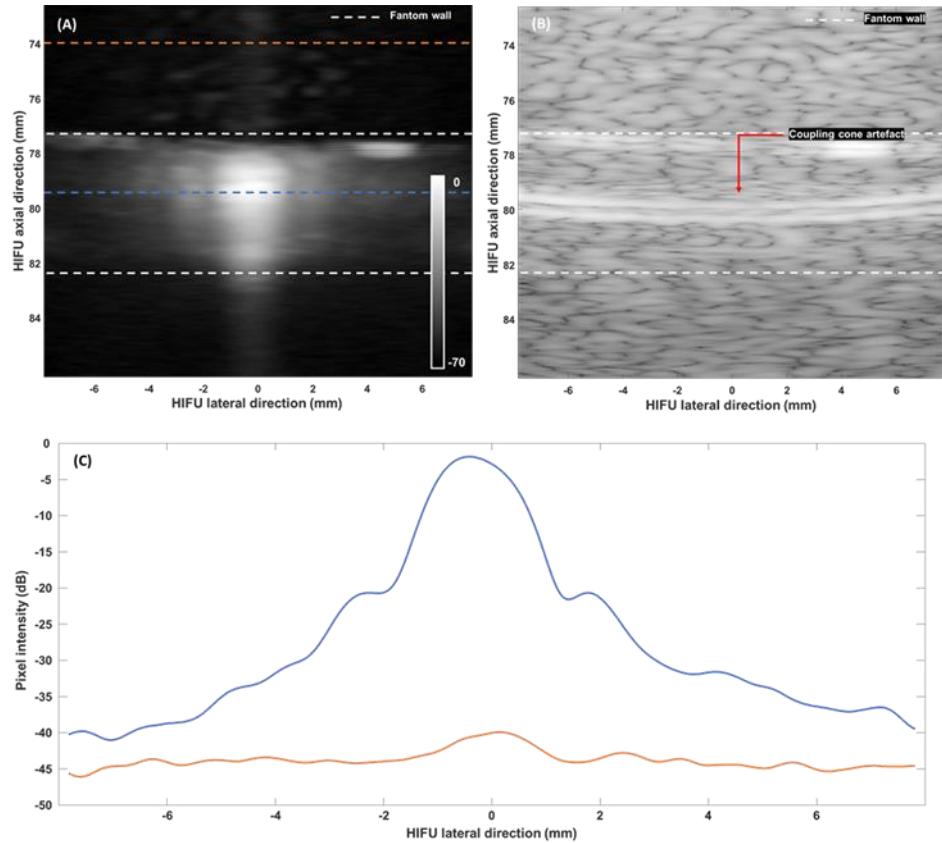


Figure 4.7 : Pressure field mapping over the longitudinal section of a vessel in a tissue mimicking flow phantom. (a) ETACI of the longitudinal section with gravity generated flow. (b) B-mode of the same medium. (c) Pixel intensity profile in decibel along the blue and orange dotted line situated on horizontal axis of the vessel and in the surrounding tissue respectively.

4.3.1.4 In vivo experiments

Figure 4.8 shows the initial proof of concept of the ETACI modality in vivo in the brain of an anesthetized mouse without craniotomy. Higher intensity regions in ETACI maps were observed to be overlapping with the corresponding BBB opened region as shown by autofluorescence of Evan's blue that had been injected in the tail vein simultaneously to microbubbles. However, ETACI signals were not detected for deeper structures in the burst treatment. The normalized integrated acoustic energy shown in Figure 4.8B-E as yellow profiles indicates that the theoretical focal area might not be where the amount of acoustic energy is the highest, demonstrating the importance of this kind of imaging modality. This variation may be caused by beam deformation due to the skull, standing waves, and potentially, other biological effects.

Further analysis of the average frequency spectrum profiles in the region of interest across all ensembles of a dataset shown in Figure 4.8G reveal an increase of base signal level between the burst treatment and the continuous one, as well as presence of different frequency spikes compared to in vitro testing done at lower PNP. Ultra and sub-harmonic signals were present in the continuous treatment profile as well as an increase in the base signal. Accordingly, BBB opening has been confirmed on both sides by imaging of Evan's blue fluorescence (excitation at 620 nm, emission at 680 nm) while evidence for brain damage is provided the presence of erythrocyte extravasation at the right cerebral hemisphere, which received a 0.40 MPa PNP continuous FUS treatment.

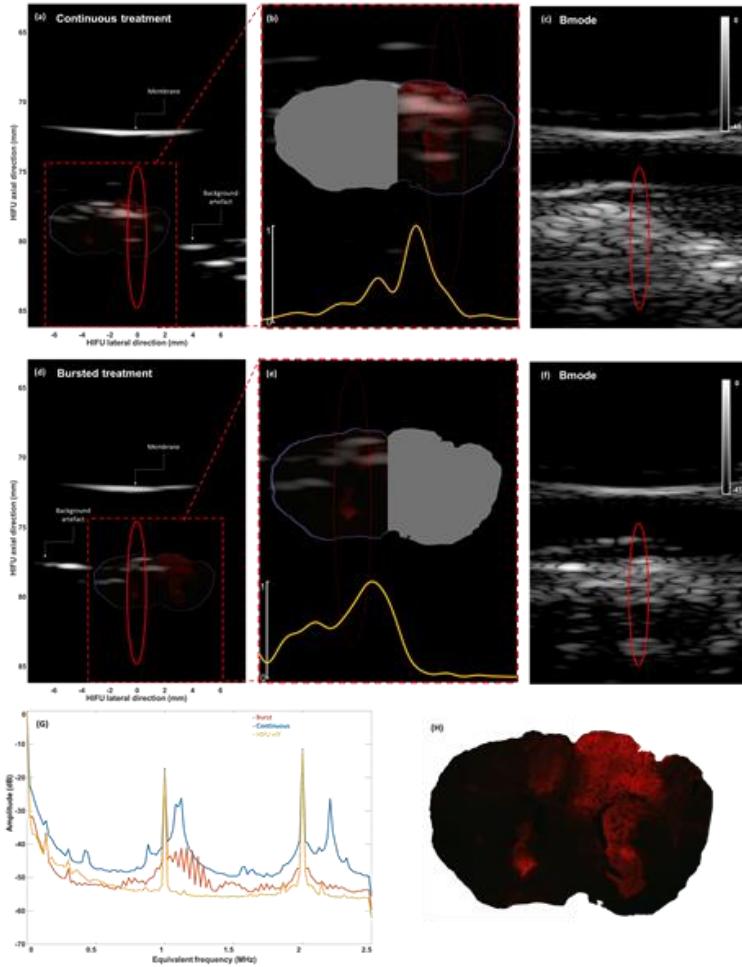


Figure 4.8 : Compounded pressure field mapping images of continuous and burst HIFU BBB opening treatment on the right and left side of the brain respectively. Dotted red rectangle shows the zoomed in region and the red ellipse shows the theoretical focal size and position of the H102 transducer in relation to the imaging probe. (a) Full FOV of the compounded pressure field mapping of continuous FUS exposure treatment. (b) Overlay of the corresponding histology section with the zoomed in compounded pressure field mapping. The yellow lone shows the normalized acoustic energy integration along the axial dimension. (c) B-mode reference of the same FOV. (d) Full FOV of the compounded pressure field mapping of continuous FUS exposure treatment. (e) Overlay of the corresponding histology section with the zoomed in compounded pressure field. The yellow lone shows the normalized acoustic energy integration along the axial dimension. (f) B-mode reference of the same FOV. (g) Mean frequency spectrum profiles of the measured signal for burst and continuous treatment for mouse BBB opening. (h) Fluorescence microscopy of a representative coronal brain section stained with Evans Blue dye.

4.4 Discussion

In this study, we have introduced a novel imaging sequence termed ETACI for the active mapping of cavitation events. By delaying plane wave emissions with a predetermined fraction of the HIFU period, we have shown the feasibility of mapping the pressure field (Figure 4.5), both using a static tissue phantom (Figure 4.6) and a flow phantom (Figure 4.7). We also show promising *in vivo* results, demonstrating the initial feasibility of ETACI in the context of BBB opening monitoring. *In vivo* ETACI maps suggest that the method could be used to detect the position of the HIFU beam (Figure 4.8) and also signal the possible inertial cavitation events correlated with damage (Figure 4.8).

The frequency spectra obtained from ETACI display two prominent peaks, one at the driving frequency and the other at 1.12 MHz. The first peak was found to be associated with interpolation errors in the beamforming algorithm and could be further reduced by increasing the sampling frequency. The fact that the microbubble cavitation signal was shifted to 1.12 MHz instead of the driving frequency was unexpected. We advance the hypothesis that this could be caused by the interaction of the imaging pulse on the already oscillating microbubble, which could affect its measured oscillation period [46]. A similar phenomenon has also been raised by Muleki et al [49], which they called a split spike.

The pressure maps obtained in the free field showed a good correlation between pixel intensity and quantitative pressure measurements. These results indicate that ETACI could potentially be used as a rapid approach to transducer characterization since a single acquisition of a few seconds after mixing microbubbles in a water tank can be used to map entire fields of view. ETACI could also readily be generalized to 3D imaging by using 2-D matrix arrays. Additionally, pressure maps could be generated in presence of a static tissue phantom and in presence of flow, indicating that the approach may also be applied in contexts where it is not possible to perform hydrophone measurements. Finally, the tissue filtering capabilities of ETACI could also be used in the context of contrast-enhanced ultrasound imaging.

Active pressure field mapping has been shown possible *in vivo* during continuous and burst HIFU-induced BBB opening. While approximate relationships between the focal and BBB opening regions were observed, the spatial resolution that was obtained was largely degraded when compared against phantom experiments. Frequency spectra (Figure 4.8A) also appear to show that

we can detect inertial cavitation during continuous treatment via a higher broad-band signal compared to burst treatment where no noticeable erythrocyte extravasation was observed.

It is important to note that the setup used in this study presented for proof of principle, may be optimized. For instance, the imaging probe is more than 75 mm away from the region of interest and 88 elements are used instead of the full 128 element array, thus greatly reducing the resolution, especially in the elevational (azimuthal) direction. This limitation can have a dramatic effect on imaging quality, especially *in vivo*. The next steps toward optimization would include an imaging transducer that would be lowered into a larger diameter FUS transducer allowing the imaging probe to be closer to the region of interest and increasing the resolution. Moreover, as the two focal planes are coincident, *in vitro* pressure field assessment is possible. However, as we progress to *in vivo* applications, and biological effects must be taken in account, the focal area can shift out of the imaging plane. In order to resolve this issue, 3D imaging based on a 2-D matrix-array probe could be used with the same algorithm. An offset in the coplanarity between the two transducers at the setup point can result in a significant rotational offset between the two planes at the focal level. Finally, the sequence used *in vivo* for burst treatment was not synchronized to the bursts themselves. Triggering the imaging on FUS burst train output could improve the slow time signal reconstruction and optimize the data acquisition.

Finally, ETACI could bring several benefits in comparison to other methods. For example, as this method relies on the fundamental resonance frequency, the possible signal gain is better than using nonlinear response, as more energy is included in the fundamental frequency band compared to nonlinear frequency bands. Nonlinear response also increases the risk of the microbubble rupture. Furthermore, ETACI doesn't require frequency locking and could also be used with different transducer assortments. This novel modality therefore allows for different imaging probe frequencies and combinations, which can vary depending on the experimental or clinical application.

4.5 Conclusion

We have shown the feasibility of monitoring a modulation pressure field with an active imaging setup with plane wave imaging through microbubbles cavitational events using ETACI. This method addresses some of the limitations of existing methods for monitoring responses during

HIFU applications and could significantly improve the ability to visualize targets for effective blood brain barrier opening.

4.6 Competing interests

A provisional patent has been made in relation with the ultrasound imaging modality developed in this study.

We acknowledge the support of TransMedTech, IVADO, CIHR, NSERC and the CFI.

4.7 References

- [1] V. L. Feigin et al., “Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016,” *The Lancet Neurology*, vol. 18, no. 5, pp. 459–480, May 2019, doi: 10.1016/S1474-4422(18)30499-X.
- [2] N. J. Abbott and I. A. Romero, “Transporting therapeutics across the blood-brain barrier,” *Mol Med Today*, vol. 2, no. 3, pp. 106–113, Mar. 1996, doi: 10.1016/1357-4310(96)88720-x.
- [3] S. Ohtsuki, “New Aspects of the Blood–Brain Barrier Transporters; Its Physiological Roles in the Central Nervous System,” *Biological & pharmaceutical bulletin*, vol. 27, pp. 1489–96, Nov. 2004, doi: 10.1248/bpb.27.1489.
- [4] U. Kniesel and H. Wolburg, “Tight Junctions of the Blood–Brain Barrier,” *Cell Mol Neurobiol*, vol. 20, no. 1, pp. 57–76, Feb. 2000, doi: 10.1023/A:1006995910836.
- [5] W. M. Pardridge, “Molecular biology of the blood-brain barrier,” *Mol Biotechnol*, vol. 30, no. 1, pp. 57–69, May 2005, doi: 10.1385/MB:30:1:057.
- [6] W. M. Pardridge, “The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development,” *NeuroRx*, vol. 2, no. 1, pp. 3–14, Jan. 2005, doi: 10.1602/neurorx.2.1.3.
- [7] 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.
- [8] R. A. Kroll and E. A. Neuwelt, “Outwitting the blood-brain barrier for therapeutic purposes: osmotic opening and other means,” *Neurosurgery*, vol. 42, no. 5, pp. 1083–1099; discussion 1099–1100, May 1998, doi: 10.1097/00006123-199805000-00082.

- [9] N. D. Doolittle et al., “Safety and efficacy of a multicenter study using intraarterial chemotherapy in conjunction with osmotic opening of the blood-brain barrier for the treatment of patients with malignant brain tumors,” *Cancer*, vol. 88, no. 3, pp. 637–647, Feb. 2000, doi: 10.1002/(sici)1097-0142(20000201)88:3.
- [10] R. H. Bobo, D. W. Laske, A. Akbasak, P. F. Morrison, R. L. Dedrick, and E. H. Oldfield, “Convection-enhanced delivery of macromolecules in the brain,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 91, no. 6, pp. 2076–2080, Mar. 1994, doi: 10.1073/pnas.91.6.2076.
- [11] S. Joshi et al., “Inconsistent blood brain barrier disruption by intraarterial mannitol in rabbits: implications for chemotherapy,” *J Neurooncol*, vol. 104, no. 1, pp. 11–19, Aug. 2011, doi: 10.1007/s11060-010-0466-4.
- [12] X. Nassif, S. Bourdoulous, E. Eugène, and P.-O. Couraud, “How do extracellular pathogens cross the blood–brain barrier?,” *Trends in Microbiology*, vol. 10, no. 5, pp. 227–232, May 2002, doi: 10.1016/S0966-842X(02)02349-1.
- [13] K. Hynynen, N. McDannold, N. Vakhodtseva, 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.
- [14] K. Hynynen, N. McDannold, N. A. Sheikov, F. A. Jolesz, and N. Vakhodtseva, “Local and reversible blood–brain barrier disruption by noninvasive focused ultrasound at frequencies suitable for trans-skull sonifications,” *NeuroImage*, vol. 24, no. 1, pp. 12–20, Jan. 2005, doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.06.046.
- [15] N. Sheikov, N. McDannold, S. Sharma, and K. Hynynen, “Effect of focused ultrasound applied with an ultrasound contrast agent on the tight junctional integrity of the brain microvascular endothelium,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 34, no. 7, pp. 1093–1104, Jul. 2008, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2007.12.015.
- [16] G. Samiotaki and E. E. Konofagou, “Dependence of the Reversibility of Focused-Ultrasound-Induced Blood–Brain Barrier Opening on Pressure and Pulse Length In Vivo,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 60, no. 11, pp. 2257–2265, Nov. 2013, doi: 10.1109/TUFFC.2013.6644731.

- [17] N. McDannold, N. Vykhotseva, and K. Hynynen, “Targeted disruption of the blood–brain barrier with focused ultrasound: association with cavitation activity,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 51, no. 4, pp. 793–807, Jan. 2006, doi: 10.1088/0031-9155/51/4/003.
- [18] Y.-S. Tung, F. Vlachos, J. A. Feshitan, M. A. Borden, and E. E. Konofagou, “The mechanism of interaction between focused ultrasound and microbubbles in blood-brain barrier opening in mice,” *J Acoust Soc Am*, vol. 130, no. 5, pp. 3059–3067, Nov. 2011, doi: 10.1121/1.3646905.
- [19] M. J. K. Blomley, J. C. Cooke, E. C. Unger, M. J. Monaghan, and D. O. Cosgrove, “Microbubble contrast agents: a new era in ultrasound,” *BMJ*, vol. 322, no. 7296, pp. 1222–1225, May 2001.
- [20] P. THO, R. MANASSEH, and A. Ooi, “Cavitation microstreaming patterns in single and multiple bubble systems,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 576, pp. 191–233, Apr. 2007, doi: 10.1017/S0022112006004393.
- [21] P. Marmottant and S. Hilgenfeldt, “Controlled vesicle deformation and lysis by single oscillating bubbles,” *Nature*, vol. 423, no. 6936, Art. no. 6936, May 2003, doi: 10.1038/nature01613.
- [22] H. Chen, W. Kreider, A. A. Brayman, M. R. Bailey, and T. J. Matula, “Blood Vessel Deformations on Microsecond Time Scales by Ultrasonic Cavitation,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 106, no. 3, p. 034301, Jan. 2011, doi: 10.1103/PhysRevLett.106.034301.
- [23] N. Ioritani et al., “Renal tissue damage induced by focused shock waves,” *AIP Conference Proceedings*, vol. 208, no. 1, pp. 185–190, Jul. 1990, doi: 10.1063/1.39438.
- [24] Y. Lin et al., “Effect of acoustic parameters on the cavitation behavior of SonoVue microbubbles induced by pulsed ultrasound,” *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 35, pp. 176–184, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.09.016.
- [25] S. Zhang et al., “Dynamic changes of integrated backscatter, attenuation coefficient and bubble activities during high-intensity focused ultrasound (HIFU) treatment,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 35, no. 11, pp. 1828–1844, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.05.003.

- [26] 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, 15 2018, doi: 10.1088/1361-6560/aab05c.
- [27] A. F. Prokop, A. Soltani, and R. A. Roy, “Cavitational mechanisms in ultrasound-accelerated fibrinolysis,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 33, no. 6, pp. 924–933, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2006.11.022.
- [28] V. I. Ilyichev, V. L. Koretz, and N. P. Melnikov, “Spectral characteristics of acoustic cavitation,” *Ultrasonics*, vol. 27, no. 6, pp. 357–361, Nov. 1989, doi: 10.1016/0041-624X(89)90034-6.
- [29] C. C. Coussios, C. H. Farny, G. Ter Haar, and R. A. Roy, “Role of acoustic cavitation in the delivery and monitoring of cancer treatment by high-intensity focused ultrasound (HIFU),” *International Journal of Hyperthermia*, vol. 23, no. 2, pp. 105–120, Jan. 2007, doi: 10.1080/02656730701194131.
- [30] C. Simon, P. VanBaren, and E. S. Ebbini, “Two-dimensional temperature estimation using diagnostic ultrasound,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 45, no. 4, pp. 1088–1099, Jul. 1998, doi: 10.1109/58.710592.
- [31] T. N. Nguyen, M. N. Do, and M. L. Oelze, “Visualization of the Intensity Field of a Focused Ultrasound Source In Situ,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 38, pp. 124–133, 2019, doi: 10.1109/TMI.2018.2857481.
- [32] G. Pinton, J.-F. Aubry, E. Bossy, M. Muller, M. Pernot, and M. Tanter, “Attenuation, scattering, and absorption of ultrasound in the skull bone,” *Medical Physics*, vol. 39, no. 1, pp. 299–307, 2012, doi: 10.1118/1.3668316.
- [33] F. J. Fry, “Transkull transmission of an intense focused ultrasonic beam,” *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 3, no. 2, pp. 179–184, Jan. 1977, doi: 10.1016/0301-5629(77)90069-2.
- [34] M. A. O'Reilly, A. Muller, and K. Hynynen, “Ultrasound insertion loss of rat parietal bone appears to be proportional to animal mass at submegahertz frequencies,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 37, no. 11, pp. 1930–1937, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2011.08.001.
- [35] M. Gerstenmayer, B. Fellah, R. Magnin, E. Selingue, and B. Larrat, “Acoustic Transmission Factor through the Rat Skull as a Function of Body Mass, Frequency and Position,”

Ultrasound Med Biol, vol. 44, no. 11, pp. 2336–2344, 2018, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.06.005.

[36] M. Gyongy and C.-C. Coussios, “Passive Spatial Mapping of Inertial Cavitation During HIFU Exposure,” IEEE Trans. Biomed. Eng., vol. 57, no. 1, pp. 48–56, Jan. 2010, doi: 10.1109/TBME.2009.2026907.

[37] M. Marx, P. Ghanouni, and K. Butts Pauly, “Specialized volumetric thermometry for improved guidance of MRgFUS in brain,” Magn Reson Med, vol. 78, no. 2, pp. 508–517, 2017, doi: 10.1002/mrm.26385.

[38] K. R. Gorny, N. J. Hangiandreou, G. K. Hesley, B. S. Gostout, K. P. McGee, and J. P. Felmlee, “MR guided focused ultrasound: technical acceptance measures for a clinical system,” Phys. Med. Biol., vol. 51, no. 12, pp. 3155–3173, Jun. 2006, doi: 10.1088/0031-9155/51/12/011.

[39] Y.-S. Tung, F. Vlachos, J. J. Choi, T. Deffieux, K. Selert, and E. E. Konofagou, “In vivo transcranial cavitation threshold detection during ultrasound-induced blood-brain barrier opening in mice,” Phys Med Biol, vol. 55, no. 20, pp. 6141–6155, Oct. 2010, doi: 10.1088/0031-9155/55/20/007.

[40] 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, pp. 1–11, May 2018, doi: 10.1038/s41598-018-25904-9.

[41] Z. Xu, Z. Fan, T. L. Hall, F. Winterroth, J. B. Fowlkes, and C. A. Cain, “Size Measurement of Tissue Debris Particles Generated from Pulsed Ultrasound Cavitation Therapy – Histotripsy,” Ultrasound Med Biol, vol. 35, no. 2, pp. 245–255, Feb. 2009, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2008.09.002.

[42] J. H. Song, K. Johansen, and P. Prentice, “Covert cavitation: Spectral peak suppression in the acoustic emissions from spatially configured nucleations,” The Journal of the Acoustical Society of America, vol. 141, no. 3, pp. EL216–EL221, Mar. 2017, doi: 10.1121/1.4977236.

[43] K. J. Haworth, K. B. Bader, K. T. Rich, C. K. Holland, and T. D. Mast, “Quantitative Frequency-Domain Passive Cavitation Imaging,” IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, vol. 64, no. 1, pp. 177–191, Jan. 2017, doi: 10.1109/TUFFC.2016.2620492.

- [44] A. Llera, T. Wolfers, P. Mulders, and C. F. Beckmann, “Inter-individual differences in human brain structure and morphology link to variation in demographics and behavior,” *eLife*, vol. 8, p. e44443, Jul. 2019, doi: 10.7554/eLife.44443.
- [45] M. Tanter and M. Fink, “Ultrafast imaging in biomedical ultrasound,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 61, no. 1, pp. 102–119, Jan. 2014, doi: 10.1109/TUFFC.2014.2882.
- [46] E. Chérin et al., “Radial Modulation Imaging of Microbubble Contrast Agents at High Frequency,” *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 34, no. 6, pp. 949–962, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2007.11.017.
- [47] R. Hansen and B. A. J. Angelsen, “SURF imaging for contrast agent detection,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 56, no. 2, pp. 280–290, Feb. 2009, doi: 10.1109/TUFFC.2009.1037.
- [48] N. de Jong, A. Bouakaz, and P. Frinking, “Basic acoustic properties of microbubbles,” *Echocardiography*, vol. 19, no. 3, pp. 229–240, Apr. 2002, doi: 10.1046/j.1540-8175.2002.00229.x.
- [49] P. Muleki-Seya, K. Xu, M. Tanter, and O. Couture, “Ultrafast radial modulation imaging,” *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.,* pp. 1–1, 2019, doi: 10.1109/TUFFC.2019.2949046.
- [50] J. Park et al., “Synthesis of Laboratory Ultrasound Contrast Agents,” *Molecules*, vol. 18, no. 10, pp. 13078–13095, Oct. 2013, doi: 10.3390/molecules181013078.

CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE

Suite aux progrès réalisés lors de cette maîtrise, il est important de faire un retour sur les objectifs afin de mettre en lumière les réussites et les questionnements qui sont toujours en suspens.

L'objectif principal de ce projet était de réaliser une preuve de concept d'une nouvelle modalité d'imagerie ultrasonore permettant la visualisation du champ de pression *in situ* simultanément à l'insonification du milieu via un second transducteur thérapeutique pour l'ouverture de la BHE. Pour ce faire, nous avons d'abord développé le concept de la modalité d'imagerie visant à tirer profit de la variation du signal rétrodiffusé d'un pulse d'imagerie causé par l'oscillation volumétrique des microbulles lors de leur modulation avec un transducteur de thérapie. Bien que la méthode développée démontre la capacité de cartographier les champs de pression, plusieurs optimisations peuvent être apportées suite à l'analyse des résultats obtenus.

Plusieurs méthodes ont été testées visant à contrôler précisément la PRP afin de décaler temporellement le pulse d'imagerie par rapport à la propagation de l'onde de modulation. Malgré le fait que les délais ajoutés via l'astuce du délai d'émission (habituellement utilisé pour faire des ondes planes à angles) est la seule méthode qui a été prouvée fonctionnelle lors de cette étude, celle-ci semble causer des problèmes au niveau du beamforming. Selon l'analyse des résultats, nous émettons l'hypothèse que la cause de l'artefact présent dans le spectre fréquentiel à 1 MHz serait liée à l'interpolation faite dans l'algorithme de reconstruction d'image pour recaler les acquisitions (temporellement décalées) sur une même grille. Lors de cette étude, des efforts ont été mis afin d'en réduire l'amplitude due à notre incapacité de la retirer. Il serait donc intéressant d'étudier la possibilité d'utiliser un appareil autonome possédant une horloge suffisamment rapide, telle qu'un générateur de fonction, afin de déclencher les acquisitions de l'échographe de façon externe. Ce type d'activation permettrait de contourner l'utilisation des délais d'émissions, éliminant par le fait même la source de l'artefact. La présence du signal d'intérêt à une fréquence de 1.12 MHz pourrait quant à elle provenir du fait que lorsqu'une bulle est sous l'effet d'une modulation basse pression et que celle-ci est interrogée par un pulse haute fréquence, la fréquence d'oscillation de la bulle peut varier entre son état dilaté et contracté, comme décrit par Hansen [73]. De ce fait, la fréquence du signal mesuré n'est possiblement pas à la fréquence du transducteur de modulation, tel qu'anticipé. Toutefois, le fait que ce signal est absent lorsqu'aucune modulation n'est appliquée et que ce signal augmente selon l'intensité du champ de pression confirme que c'est

bel et bien le signal d'intérêt. Bien que l'analyse du spectre fréquentiel réalisé avec les mesures du PCD nous a permis de confirmer la fréquence d'émission du transducteur de traitement via la réponse des microbulles, nous sommes dans l'impossibilité de confirmer l'interaction entre le pulse d'imagerie et la microbulle avec ces mesures. Ce problème provient du fait que l'évènement d'interaction ne se produit seulement qu'une fois à chaque 500 cycles de HIFU.

Lors de cette étude, les paramètres de la séquence d'imagerie, tels que le nombre d'acquisitions par ensemble et le nombre de tirs par cycle, ont été choisis de façon semi-arbitraire. Étant donné qu'une transformée de Fourier discrète (DFT) est utilisée pour analyser les composantes fréquentielles dans le temps lent, le nombre d'acquisitions par ensemble influence la résolution de la DFT. Sachant préalablement la bande fréquentielle d'intérêt, il serait possible d'optimiser le nombre d'acquisitions afin d'augmenter la cadence d'imagerie de la méthode en vue d'une transition vers l'imagerie en temps réel. Il serait intéressant de faire une analyse approfondie de l'impact de chacun de ces paramètres sur la cartographie du champ de pression résultante.

5.1 In vitro

La caractérisation du champ de pression *in vitro* a permis de démontrer la capacité de la méthode à mesurer l'intensité du champ de pression d'un faisceau de modulation dans différents scénarios. Lors de cette étude, nous avons démontré une corrélation de 0.79 entre la cartographie du champ de pression ultrasonore mesuré avec ETACI et celle mesurée avec l'étalon-or. Il faut garder en tête qu'il est toutefois plausible que les deux plans utilisés pour cette comparaison ne soient pas exactement coïncidents l'un par rapport à l'autre, réduisant ainsi la corrélation. De ce fait, une comparaison entre la cartographie du champ de pression via notre méthode et une sonde 3D (voir Figure 5.1) et la cartographie tridimensionnelle par hydrophone permettrait d'obtenir une corrélation plus représentative de la réalité et d'éliminer l'impact d'un mauvais alignement. De plus, le montage mécanique du transducteur pour la caractérisation par hydrophone engendre un couple de rotation par rapport à la base des actuateurs linéaires. De ce fait, plus le transducteur est éloigné par rapport à la base, plus celui-ci pivote vers l'intérieur. Les voxels de la cartographie ne sont donc pas isotropes, ce qui en théorie devrait réduire la corrélation entre les deux types de mesures. Il serait donc important de solidifier le montage avant de poursuivre avec la cartographie tridimensionnelle par hydrophone. Plusieurs modifications pourraient ainsi être apportées aux montages afin d'améliorer les résultats *in vitro*.

Les tests comportant des microbulles ont été particulièrement difficiles à accomplir dû à la grande influence que peut avoir la population de microbulles sur la variabilité des résultats. L'impact du manque de cohérence entre les tests a obligé la reprise des expérimentations sous des conditions plus strictes telle qu'une remise à neuf des conditions expérimentales du milieu entre chaque acquisition. La dégradation rapide de la population de microbulles dans l'eau a été observée et confirmée par la littérature [74]. De plus, comme les microbulles provenaient de fioles usagées de l'Institut de Cardiologie de Montréal, nous n'avions pas de traçabilité sur les conditions dans lesquelles celles-ci étaient conservées avant leur réception, influençant ainsi l'homogénéité des populations de bulles entre les différentes fioles. De plus, afin d'avoir une meilleure comparaison avec la réalité et d'ultimement pouvoir avoir une méthode quantitative, il serait intéressant d'utiliser un liquide avec des propriétés similaires au sang lors de la caractérisation *in vitro*, étant donné que la viscosité du milieu impacte la réponse oscillatoire des microbulles.

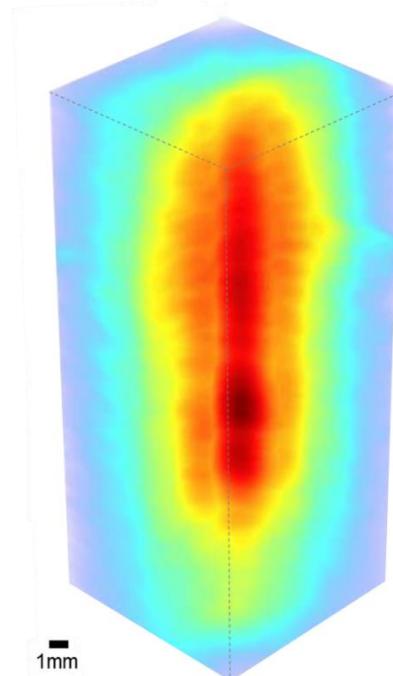


Figure 5.1 : Cartographie tridimensionnelle d'un champ de pression par ETACI avec une sonde 3D réalisée en champ libre.

5.2 *In vivo*

La caractérisation du champ de pression *in vivo* a permis d'obtenir des résultats préliminaires satisfaisants démontrant la faisabilité d'ETACI *in vivo*. Ces résultats démontrent la capacité de la méthode à cartographier le champ de pression malgré la présence de structures tels que le crâne, le tissu et le bruit. Toutefois, le choix des transducteurs a engendré un montage sous-optimal pour ce type d'application, ce qui a provoqué une dégradation importante de la résolution, compliquant l'obtention d'images de qualité.

De plus, l'observation d'artéfacts ressemblant à ceux de type queue de comète (*comet trail*) dans les expérimentations *in vivo* pourrait démontrer un couplage acoustique défaillant entre le cône de couplage et le crâne de la souris. Cela pourrait être causé par la superficie importante du plan de sortie du cône qui, en partie, ne faisait pas face au crâne, provoquant ainsi d'importantes réverbérations due à l'interface eau-air. Il serait donc intéressant de valider cette méthode sur des spécimens ayant un cerveau plus volumineux afin de s'assurer que l'entièreté du champ soit dirigée dans la matière. De plus, comme l'élévation de la sonde est sous-optimale à cette profondeur, il se peut que la présence d'objet métallique hors plans, tel que les barres d'oreilles, provoque également ce genre d'artéfact. Lors des tests *in vivo*, nous avons observé la présence de vibrations causées par des équipements présents dans la salle de chirurgie. Comme la sonde se trouve loin de la zone d'intérêt, de faibles vibrations au niveau du support de la sonde résulte en un déplacement plus important au niveau de la zone d'intérêt. La dégradation de la qualité des acquisitions due à ces vibrations pourrait être limitée par l'utilisation d'une table optique. Finalement, suite à l'analyse du profil fréquentiel, notre modalité semble pouvoir détecter la présence d'émissions non-linéaire et à large bande lorsque nous émettons à plus haut voltage avec le transducteur FUS. Il serait intéressant de confirmer cette hypothèse en mesurant simultanément le milieu avec un PCD, de façon à comparer les spectres fréquentiels mesurés. De cette façon, il serait possible d'évaluer la possibilité de cartographie d'événements de cavitation non-linéaire et de cavitation inertielle via notre méthode.

Comme la présence d'aberrations et d'effets biologiques peut causer la focale à se déformer spatialement, il est fort probable que celle-ci se retrouve hors du plan d'imagerie. Ainsi, il serait fortement recommandé de poursuivre les travaux futurs avec une sonde 3D afin de permettre la visualisation de la focale malgré un décalage spatial. Afin de mieux interpréter la cartographie du

champ sur les structures anatomiques, l'utilisation de cette modalité jumelée à la super localisation [75] pourrait offrir une carte de la vascularisation [76] dépendante du champ de pression. La présence de cavitation stable dans certains vaisseaux pourrait ainsi offrir une carte super détaillée de ceux ayant potentiellement subi une ouverture de la BHE. Une autre alternative pourrait de simplement superposer une image Bmode réalisée avec plusieurs angles sur la cartographie du champ de pression, permettant ainsi de mieux localiser l'ouverture par rapport aux structures cérébrales. Toutefois, pour se faire, un changement de montage est nécessaire afin d'augmenter la résolution et de permettre l'utilisation d'ondes planes à angles.

La conception d'un système compact permettant l'intégration de cette modalité utilisant deux transducteurs en contexte clinique a été démontrée par la facilité d'utiliser ce montage *in vivo*. Toutefois, comme brièvement mentionnées dans le corps du mémoire, plusieurs améliorations pourraient être apportées à l'équipement afin d'améliorer la qualité de l'imagerie résultante et donc de son efficacité *in vivo*. Tout d'abord, un transducteur de modulation avec une ouverture permettant l'insertion de sonde de dimension couramment utilisée au laboratoire, tel que la sonde 3D, permettrait d'améliorer la qualité des images en plus de permettre l'imagerie par ondes planes angulées. De ce fait, un transducteur avec une ouverture personnalisée a été commandé pour la suite du projet. Ce transducteur possède également un plus petit rayon de courbure, rapprochant la focale du plan d'émission du transducteur, réduisant ainsi la profondeur d'acquisition de la sonde d'imagerie. Celui-ci est également plus adapté pour le contexte clinique dû à sa focale plus étroite, ce qui permet de mieux cibler les structures d'intérêt tel que le striatum.

Comme l'ouverture de la BHE se fait habituellement en train de pulse avec un faible tôt de fonctionnement (*duty cycle*), il serait avantageux de modifier la séquence d'imagerie pour acquérir exclusivement lorsque le transducteur de traitement insonifie le milieu. De ce fait, seules les acquisitions contenant le signal d'intérêt seront sauvegardées, permettant de la sorte une réduction de la quantité d'acquisitions inutiles et une augmentation de la cohérence temporelle des états de modulations.

Dû aux circonstances particulières liées avec la COVID-19, plusieurs expérimentations sont restées en suspens. De ce fait, les comparaisons faites entre les tests *in vitro* et *in vivo* n'ont pas été réalisées aux mêmes pressions. Il aurait été intéressant d'analyser ces résultats sous l'effet de pression comparable.

Finalement, le dernier objectif de ce projet était de réaliser l'ouverture de la BHE de façon non invasive, reproductible et sans dommage sur un modèle animal de souris. Suite au développement et à l'application de notre protocole, mon collègue Gerardo Ramos et moi-même, sommes maintenant en mesure de réaliser l'ouverture de la BHE avec un taux de succès approximant les 90%, ce que nous étions incapables de réaliser au début.

CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Au terme de ce projet, il a été conclu que cette modalité d'imagerie permet l'obtention de la cartographie active du champ de pression d'un transducteur focalisé utilisé lors de traitement pour l'ouverture de la BHE. Ce travail est d'importance pour le domaine de la médecine thérapeutique par ultrasons focalisés, car il pourrait conduire à un traitement plus sécuritaire et plus précis. Cette nouvelle méthode d'imagerie peut facilement être utilisée sur des animaux lors de tests précliniques et pourrait de ce fait faciliter le développement de nouvelles molécules thérapeutiques. De plus, malgré la complexité de ce genre de traitement, l'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés a été démontrée avec succès conjointement à l'utilisation d'ETACI lors de cette étude.

Suite à l'observation du signal des microbulles à des fréquences plutôt inattendues, il serait également indispensable de travailler sur le développement d'un simulateur permettant de mieux cerner l'interaction des différents phénomènes physiques présents. De ce fait, une étude plus approfondie de certains aspects comme l'interaction entre le pulse d'imagerie et les microbulles en cavitation stable ainsi que la propagation non linéaire du pulse d'imagerie pourrait permettre de mieux comprendre certains phénomènes encore nébuleux.

Dans le cadre de ce travail, plusieurs modifications ont été suggérées afin d'améliorer la méthode et sa caractérisation. Plus particulièrement, il est indispensable à la continuité de ce projet de concevoir un nouveau prototype constitué d'une sonde 3D et d'un transducteur focalisé de plus faible rayon. Pour améliorer la caractérisation de ce nouveau montage, il serait nécessaire d'effectuer les tests dans des conditions mieux contrôlées et avec une population de microbulles invariable.

Cette modalité d'imagerie ultrasonore pourrait également se voir utile dans d'autres circonstances, tel que dans des contextes où il est impossible de faire des mesures avec un hydrophone. De plus, la capacité d'ETACI à filtrer le signal tissulaire pourrait permettre son utilisation conjointe à un transducteur de modulation non focalisé afin de produire des images ultrasonores à contraste amélioré.

RÉFÉRENCES

- [1] A. de la santé publique du Canada, “Établir les connexions : Mieux comprendre les affections neurologiques au Canada,” *Gouvernement du Canada*, Sep. 11, 2014. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/rapports-publications/etablir-connexions-mieux-comprendre-affections-neurologiques.html> (accessed Nov. 21, 2020).
- [2] V. L. Feigin *et al.*, “Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016,” *The Lancet Neurology*, vol. 18, no. 5, pp. 459–480, May 2019, doi: 10.1016/S1474-4422(18)30499-X.
- [3] T. Pringsheim, K. Fiest, and N. Jette, “The international incidence and prevalence of neurologic conditions,” *Neurology*, vol. 83, no. 18, pp. 1661–1664, Oct. 2014, doi: 10.1212/WNL.0000000000000929.
- [4] S. C. Gouvernement du Canada, *Modèles de santé*. 2010.
- [5] 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.
- [6] S. Gupta, S. Dhanda, and R. Sandhir, “2 - Anatomy and physiology of blood-brain barrier,” in *Brain Targeted Drug Delivery System*, H. Gao and X. Gao, Eds. Academic Press, 2019, pp. 7–31.
- [7] R. M. da C. e Souza, I. C. S. da Silva, A. B. T. Delgado, P. H. V. da Silva, and V. R. X. Costa, “Focused ultrasound and Alzheimer’s disease A systematic review,” *Dement Neuropsychol*, vol. 12, no. 4, pp. 353–359, 2018, doi: 10.1590/1980-57642018dn12-040003.
- [8] W. M. Pardridge, “The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development,” *NeuroRx*, vol. 2, no. 1, pp. 3–14, Jan. 2005, doi: 10.1602/neurorx.2.1.3.
- [9] X. Dong, “Current Strategies for Brain Drug Delivery,” *Theranostics*, vol. 8, no. 6, pp. 1481–1493, Feb. 2018, doi: 10.7150/thno.21254.
- [10] S. I. Rapoport, “Osmotic Opening of the Blood–Brain Barrier: Principles, Mechanism, and Therapeutic Applications,” *Cell Mol Neurobiol*, vol. 20, no. 2, pp. 217–230, Apr. 2000, doi: 10.1023/A:1007049806660.
- [11] R. A. Kroll and E. A. Neuwelt, “Outwitting the blood-brain barrier for therapeutic purposes: osmotic opening and other means,” *Neurosurgery*, vol. 42, no. 5, pp. 1083–1099; discussion 1099–1100, May 1998, doi: 10.1097/00006123-199805000-00082.
- [12] A. Burgess, K. Shah, O. Hough, and K. Hynynen, “Focused ultrasound-mediated drug delivery through the blood-brain barrier,” *Expert Rev Neurother*, vol. 15, no. 5, pp. 477–491, May 2015, doi: 10.1586/14737175.2015.1028369.
- [13] J. T. Duskey *et al.*, “Current Strategies for the Delivery of Therapeutic Proteins and Enzymes to Treat Brain Disorders,” *Int. Rev. Neurobiol.*, vol. 137, pp. 1–28, 2017, doi: 10.1016/bs.irn.2017.08.006.
- [14] 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.

- [15] K. Hynynen, N. McDannold, N. Vakhodtseva, and F. A. Jolesz, “Non-invasive opening of BBB by focused ultrasound,” in *Brain Edema XII*, Vienna, 2003, pp. 555–558, doi: 10.1007/978-3-7091-0651-8_113.
- [16] K. Hynynen, N. McDannold, N. A. Sheikov, F. A. Jolesz, and N. Vakhodtseva, “Local and reversible blood–brain barrier disruption by noninvasive focused ultrasound at frequencies suitable for trans-skull sonifications,” *NeuroImage*, vol. 24, no. 1, pp. 12–20, Jan. 2005, doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.06.046.
- [17] G. Samiotaki and E. E. Konofagou, “Dependence of the Reversibility of Focused-Ultrasound-Induced Blood–Brain Barrier Opening on Pressure and Pulse Length In Vivo,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 60, no. 11, pp. 2257–2265, Nov. 2013, doi: 10.1109/TUFFC.2013.6644731.
- [18] K.-T. Chen, K.-C. Wei, and H.-L. Liu, “Theranostic Strategy of Focused Ultrasound Induced Blood-Brain Barrier Opening for CNS Disease Treatment,” *Front. Pharmacol.*, vol. 10, 2019, doi: 10.3389/fphar.2019.00086.
- [19] W. P. Mason, “Piezoelectricity, its history and applications,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 70, no. 6, pp. 1561–1566, Dec. 1981, doi: 10.1121/1.387221.
- [20] 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 transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 56, pp. 489–506, Apr. 2009, doi: 10.1109/TUFFC.2009.1067.
- [21] A. Ng and J. Swanevelder, “Resolution in ultrasound imaging,” *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, vol. 11, no. 5, pp. 186–192, Oct. 2011, doi: 10.1093/bjaceaccp/mkr030.
- [22] L. Sandrin, S. Catheline, M. Tanter, X. Hennequin, and M. Fink, “Time-Resolved Pulsed Elastography with Ultrafast Ultrasonic Imaging:,” *Ultrasonic Imaging*, Aug. 2016, doi: 10.1177/016173469902100402.
- [23] Y. Younan, J.-F. Aubry, and T. Mickael, “Non-invasive therapy of brain disorders with focused ultrasound: From animal experiments to clinical transfer,” phdthesis, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2014.
- [24] R. Gramiak and P. M. Shah, “Echocardiography of the Aortic Root,” *Investigative Radiology*, vol. 3, no. 5, pp. 356–366, Oct. 1968.
- [25] S. Sirsi and M. Borden, “Microbubble Compositions, Properties and Biomedical Applications,” *Bubble Sci Eng Technol*, vol. 1, no. 1–2, pp. 3–17, Nov. 2009, doi: 10.1179/175889709X446507.
- [26] M. J. K. Blomley, J. C. Cooke, E. C. Unger, M. J. Monaghan, and D. O. Cosgrove, “Microbubble contrast agents: a new era in ultrasound,” *BMJ*, vol. 322, no. 7296, pp. 1222–1225, May 2001.
- [27] M. Schneider, “Characteristics of SonoVue™,” *Echocardiography*, vol. 16, no. s1, pp. 743–746, 1999, doi: 10.1111/j.1540-8175.1999.tb00144.x.

- [28] N. de Jong, M. Emmer, A. van Wamel, and M. Versluis, “Ultrasonic characterization of ultrasound contrast agents,” *Med Biol Eng Comput*, vol. 47, no. 8, pp. 861–873, Aug. 2009, doi: 10.1007/s11517-009-0497-1.
- [29] N. de Jong, A. Bouakaz, and P. Frinking, “Basic acoustic properties of microbubbles,” *Echocardiography*, vol. 19, no. 3, pp. 229–240, Apr. 2002, doi: 10.1046/j.1540-8175.2002.00229.x.
- [30] N. McDannold, N. Vakhodtseva, and K. Hynynen, “Targeted disruption of the blood–brain barrier with focused ultrasound: association with cavitation activity,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 51, no. 4, pp. 793–807, Jan. 2006, doi: 10.1088/0031-9155/51/4/003.
- [31] P. THO, R. MANASSEH, and A. Ooi, “Cavitation microstreaming patterns in single and multiple bubble systems,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 576, pp. 191–233, Apr. 2007, doi: 10.1017/S0022112006004393.
- [32] P. Marmottant and S. Hilgenfeldt, “Controlled vesicle deformation and lysis by single oscillating bubbles,” *Nature*, vol. 423, no. 6936, Art. no. 6936, May 2003, doi: 10.1038/nature01613.
- [33] H. Chen, W. Kreider, A. A. Brayman, M. R. Bailey, and T. J. Matula, “Blood Vessel Deformations on Microsecond Time Scales by Ultrasonic Cavitation,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 106, no. 3, p. 034301, Jan. 2011, doi: 10.1103/PhysRevLett.106.034301.
- [34] N. Ioritani *et al.*, “Renal tissue damage induced by focused shock waves,” *AIP Conference Proceedings*, vol. 208, no. 1, pp. 185–190, Jul. 1990, doi: 10.1063/1.39438.
- [35] C. C. Coussios, C. H. Farny, G. Ter Haar, and R. A. Roy, “Role of acoustic cavitation in the delivery and monitoring of cancer treatment by high-intensity focused ultrasound (HIFU),” *International Journal of Hyperthermia*, vol. 23, no. 2, pp. 105–120, Jan. 2007, doi: 10.1080/02656730701194131.
- [36] Y. Lin *et al.*, “Effect of acoustic parameters on the cavitation behavior of SonoVue microbubbles induced by pulsed ultrasound,” *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 35, pp. 176–184, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.09.016.
- [37] 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, 15 2018, doi: 10.1088/1361-6560/aab05c.
- [38] S. Zhang *et al.*, “Dynamic changes of integrated backscatter, attenuation coefficient and bubble activities during high-intensity focused ultrasound (HIFU) treatment,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 35, no. 11, pp. 1828–1844, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.05.003.
- [39] A. F. Prokop, A. Soltani, and R. A. Roy, “Cavitational mechanisms in ultrasound-accelerated fibrinolysis,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 33, no. 6, pp. 924–933, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2006.11.022.
- [40] V. I. Ilyichev, V. L. Koretz, and N. P. Melnikov, “Spectral characteristics of acoustic cavitation,” *Ultrasonics*, vol. 27, no. 6, pp. 357–361, Nov. 1989, doi: 10.1016/0041-624X(89)90034-6.

- [41] J. G. Lynn, R. L. Zwemer, A. J. Chick, and A. E. Miller, “A NEW METHOD FOR THE GENERATION AND USE OF FOCUSED ULTRASOUND IN EXPERIMENTAL BIOLOGY,” *J Gen Physiol*, vol. 26, no. 2, pp. 179–193, Nov. 1942, doi: 10.1085/jgp.26.2.179.
- [42] K. Hynynen, A. Darkazanli, E. Unger, and J. F. Schenck, “MRI-guided noninvasive ultrasound surgery,” *Medical Physics*, vol. 20, no. 1, pp. 107–115, 1993, doi: 10.1118/1.597093.
- [43] K. Hynynen, N. McDannold, N. Vakhodtseva, and F. A. Jolesz, “Noninvasive MR Imaging-guided Focal Opening of the Blood-Brain Barrier in Rabbits1,” *Radiology*, Sep. 2001, doi: 10.1148/radiol.2202001804.
- [44] Y. Huang, R. Alkins, M. L. Schwartz, and K. Hynynen, “Opening the Blood-Brain Barrier with MR Imaging-guided Focused Ultrasound: Preclinical Testing on a Trans-Human Skull Porcine Model,” *Radiology*, vol. 282, no. 1, pp. 123–130, Jan. 2017, doi: 10.1148/radiol.2016152154.
- [45] A. Abrahao *et al.*, “First-in-human trial of blood–brain barrier opening in amyotrophic lateral sclerosis using MR-guided focused ultrasound,” *Nature Communications*, vol. 10, no. 1, Art. no. 1, Sep. 2019, doi: 10.1038/s41467-019-12426-9.
- [46] 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, févr 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0084310.
- [47] 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.
- [48] 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, 25 2018, doi: 10.1038/s41467-018-04529-6.
- [49] T. Mainprize *et al.*, “Blood-Brain Barrier Opening in Primary Brain Tumors with Non-invasive MR-Guided Focused Ultrasound: A Clinical Safety and Feasibility Study,” *Scientific Reports*, vol. 9, no. 1, Art. no. 1, Jan. 2019, doi: 10.1038/s41598-018-36340-0.
- [50] M. Gyongy and C.-C. Coussios, “Passive Spatial Mapping of Inertial Cavitation During HIFU Exposure,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 1, pp. 48–56, Jan. 2010, doi: 10.1109/TBME.2009.2026907.
- [51] S. J. Norton and I. J. Won, “Time exposure acoustics,” *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, vol. 38, no. 3, pp. 1337–1343, May 2000, doi: 10.1109/36.843027.
- [52] M. Gyongy, M. Arora, J. A. Noble, and C. C. Coussios, “Use of passive arrays for characterization and mapping of cavitation activity during HIFU exposure,” in *2008 IEEE Ultrasonics Symposium*, Nov. 2008, pp. 871–874, doi: 10.1109/ULTSYM.2008.0210.
- [53] M. A. O'Reilly, R. M. Jones, and K. Hynynen, “Three-Dimensional Transcranial Ultrasound Imaging of Microbubble Clouds Using a Sparse Hemispherical Array,” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 61, no. 4, pp. 1285–1294, Apr. 2014, doi: 10.1109/TBME.2014.2300838.

- [54] 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, pp. 1–11, May 2018, doi: 10.1038/s41598-018-25904-9.
- [55] 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, pp. 4749–4761, Jul. 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/14/4749.
- [56] J. Xia, P.-H. Tsui, and H.-L. Liu, “Low-Pressure Burst-Mode Focused Ultrasound Wave Reconstruction and Mapping for Blood-Brain Barrier Opening: A Preclinical Examination,” *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, pp. 1–11, Jun. 2016, doi: 10.1038/srep27939.
- [57] M. T. Burgess and E. E. Konofagou, “Fast qualitative two-dimensional mapping of ultrasound fields with acoustic cavitation-enhanced ultrasound imaging,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 146, no. 2, pp. EL158–EL164, Aug. 2019, doi: 10.1121/1.5122194.
- [58] Z. Noroozian *et al.*, “MRI-Guided Focused Ultrasound for Targeted Delivery of rAAV to the Brain,” *Methods Mol Biol*, vol. 1950, pp. 177–197, 2019, doi: 10.1007/978-1-4939-9139-6_10.
- [59] T. N. Nguyen, M. N. Do, and M. L. Oelze, “Visualization of the Intensity Field of a Focused Ultrasound Source In Situ,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 38, pp. 124–133, 2019, doi: 10.1109/TMI.2018.2857481.
- [60] F. Forsberg, W. T. Shi, and B. B. Goldberg, “Subharmonic imaging of contrast agents,” *Ultrasonics*, vol. 38, no. 1–8, pp. 93–98, Mar. 2000, doi: 10.1016/s0041-624x(99)00148-1.
- [61] F. S. Villanueva and S. Kaul, “Assessment of myocardial perfusion in coronary artery disease using myocardial contrast echocardiography,” *Coron Artery Dis*, vol. 6, no. 1, pp. 18–28, Jan. 1995, doi: 10.1097/00019501-199501000-00004.
- [62] F. Vignon *et al.*, “Microbubble cavitation imaging,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 60, no. 4, pp. 661–670, Apr. 2013, doi: 10.1109/TUFFC.2013.2615.
- [63] R. M. Jones, L. Deng, K. Leung, D. McMahon, M. A. O'Reilly, and K. Hynynen, “Three-dimensional transcranial microbubble imaging for guiding volumetric ultrasound-mediated blood-brain barrier opening,” *Theranostics*, vol. 8, no. 11, pp. 2909–2926, 2018, doi: 10.7150/thno.24911.
- [64] P. Kim, J. H. Song, and T.-K. Song, “A new frequency domain passive acoustic mapping method using passive Hilbert beamforming to reduce the computational complexity of fast Fourier transform,” *Ultrasonics*, vol. 102, p. 106030, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.ultras.2019.106030.
- [65] R. Hansen, “New techniques for detection of ultrasound contrast agents,” PhD, Department of Engineering Cybernetics, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway, 2004.
- [66] A. Bouakaz and N. de Jong, “New contrast imaging method using double frequency exposure,” in *IEEE Ultrasonics Symposium, 2004*, Montreal, Canada, 2004, vol. 1, pp. 339–342, doi: 10.1109/ULTSYM.2004.1417734.

- [67] E. Chérin *et al.*, “Radial Modulation Imaging of Microbubble Contrast Agents at High Frequency,” *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 34, no. 6, pp. 949–962, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2007.11.017.
- [68] P. Muleki-Seya, K. Xu, M. Tanter, and O. Couture, “Ultrafast radial modulation imaging,” *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.*, pp. 1–1, 2019, doi: 10.1109/TUFFC.2019.2949046.
- [69] C. D. Arvanitis, G. T. Clement, and N. McDannold, “Transcranial Assessment and Visualization of Acoustic Cavitation: Modeling and Experimental Validation,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 34, no. 6, pp. 1270–1281, Jun. 2015, doi: 10.1109/TMI.2014.2383835.
- [70] D. Hersh *et al.*, “MR-guided transcranial focused ultrasound safely enhances interstitial dispersion of large polymeric nanoparticles in the living brain,” *PLOS ONE*, vol. 13, p. e0192240, Feb. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0192240.
- [71] R. Hansen, S.-E. Måsøy, T. A. Tangen, and B. A. Angelsen, “Nonlinear propagation delay and pulse distortion resulting from dual frequency band transmit pulse complexes,” *J Acoust Soc Am*, vol. 129, no. 2, pp. 1117–1127, Feb. 2011, doi: 10.1121/1.3518753.
- [72] F. T. H. Yu, F. S. Villanueva, and X. Chen, “Radial modulation contrast imaging using a 20-MHz single-element intravascular ultrasound catheter,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 61, no. 5, pp. 779–791, May 2014, doi: 10.1109/TUFFC.2014.6805692.
- [73] R. Hansen and B. A. J. Angelsen, “SURF imaging for contrast agent detection,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 56, no. 2, pp. 280–290, Feb. 2009, doi: 10.1109/TUFFC.2009.1037.
- [74] J. Park *et al.*, “Synthesis of Laboratory Ultrasound Contrast Agents,” *Molecules*, vol. 18, no. 10, pp. 13078–13095, Oct. 2013, doi: 10.3390/molecules181013078.
- [75] O. Couture, B. Besson, G. Montaldo, M. Fink, and M. Tanter, “Microbubble ultrasound super-localization imaging (MUSLI),” in *2011 IEEE International Ultrasonics Symposium*, Oct. 2011, pp. 1285–1287, doi: 10.1109/ULTSYM.2011.6293576.
- [76] C. Bourquin, J. Porée, F. Lesage, and J. Provost, “In vivo pulsatility measurement of cerebral microcirculation using Dynamic Ultrasound Localization Microscopy,” *Submitted for publication*.

ANNEXE A MONTAGE IRM COMPATIBLE IMPRIMÉ EN 3D POUR LE TRAITEMENT INTRA IRM

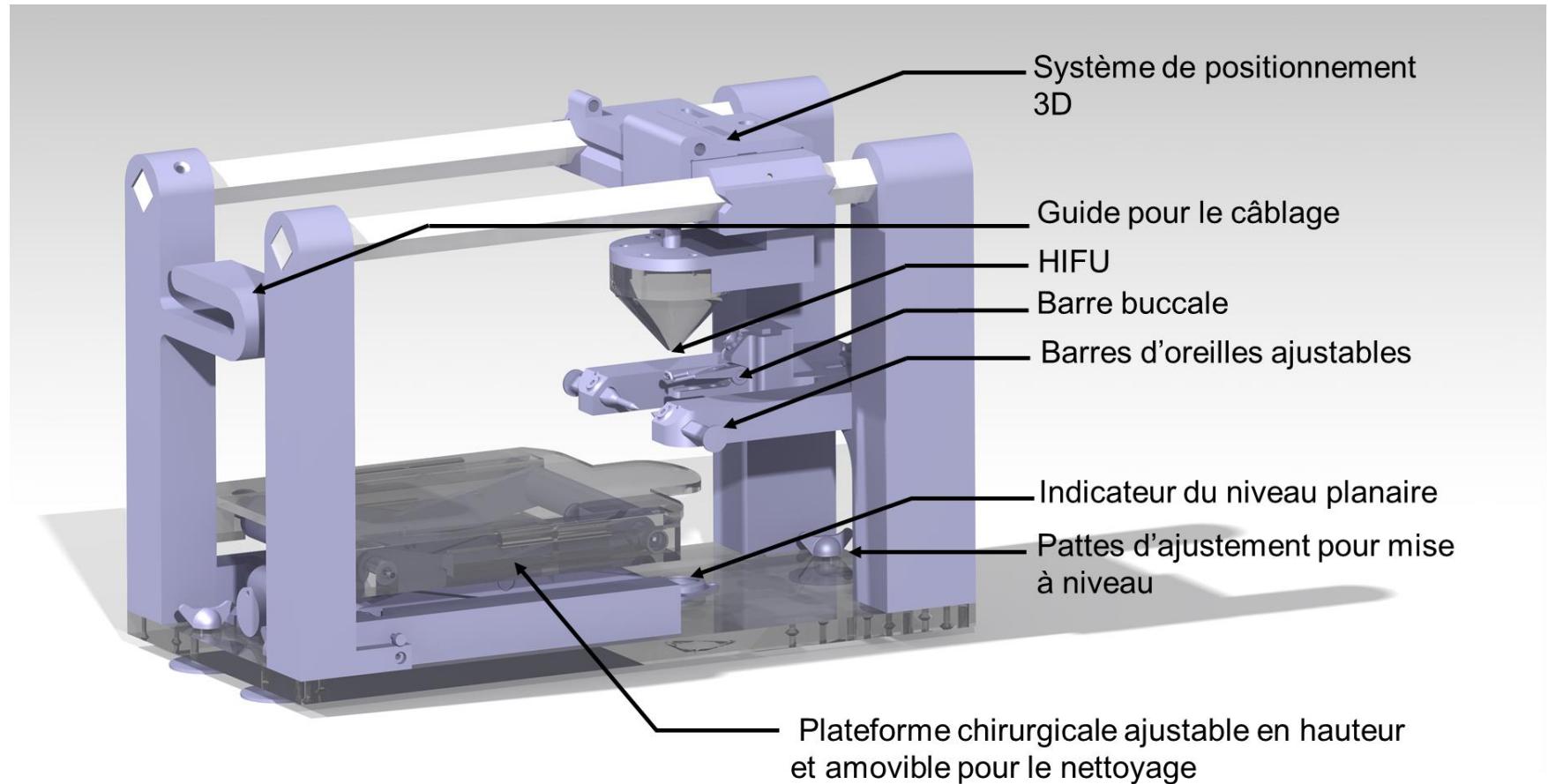


Figure : Rendu 3D sur Catia d'un montage imprimé en 3D ajustable pour l'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés intra IRM. Ce montage peut être inséré dans le centre (*bore*) d'un IRM 7T.