

Contrôle intelligent de la cavitation des microbulles à travers le crâne pour l'optimisation des thérapies ultrasonores

*Smart control of microbubble cavitation through the skull for the
optimization of ultrasound therapy*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 575, electrical, optical, bio : physics and engineering (EOBE)
Spécialité de doctorat : Imagerie et Physique Médicale
Graduate School : Sciences de l'ingénierie et des systèmes
Réfèrent : Faculté des sciences d'Orsay

Thèse préparée dans l'unité de recherche **BAOBAB** (Université Paris-Saclay, CEA, CNRS), France, sous la direction de **Sébastien MÉRIAUX**, Directeur de recherche, la co-direction de **Jonathan VAPPOU**, Chargé de recherche, le co-encadrement de **Anthony NOVELL**, chercheur au CNRS, et le co-encadrement de **Florent NAGEOTTE**, maître de conférence à l'université de Strasbourg, **Benoît LARRAT**, ingénieur-chercheur au CEA

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 19 décembre 2023, par

Paul MONDOU

Composition du jury

Membres du jury avec voix délibérative

Jean-Luc GENNISSON Directeur de recherche, Université Paris-Saclay	Président
Rares SALOMIR Professeur des universités - praticien hospitalier, Université de Genève	Rapporteur & Examineur
François VARRAY Maître de conférences (HDR), Université Claude Bernard Lyon 1	Rapporteur & Examineur
Claude INSERRA Maître de conférences, INSERM, Université Claude Bernard Lyon 1	Examineur

Remerciements

Je souhaite remercier un grand nombre de personnes grâce à qui ce travail de doctorat a pu être possible.

Je souhaiterais tout d'abord à remercier le jury qui s'est déplacé pour évaluer ce travail de thèse. Je souhaite également remercier les rapporteurs pour leur lecture détaillée du manuscrit, avec de nombreuses corrections permettant de parfaire le présent ouvrage. Merci également pour les échanges enrichissants que nous avons pu avoir durant ma soutenance.

Je souhaiterais ensuite remercier l'ensemble de mes encadrants pour leur présence durant ma thèse et leurs conseils sur l'ensemble du travail que j'ai pu fournir.

Merci Benoît pour ce stage qui s'est ensuite étendu en thèse. Tu as pu m'apprendre le fonctionnement du laboratoire, me guider au travers des différentes expériences et me présenter l'ensemble des partenaires et encadrants avec qui j'ai travaillé. Merci pour ces discussions (qui duraient souvent plus longtemps que prévu), et pour les réponses à toutes mes interrogations diverses et variées.

Merci Anthony pour l'apport immense que ce soit scientifiquement pour des protocoles, pour la physique des microbulles, des ultrasons ainsi que pour les nombreuses relectures (vraiment très) attentives. Tu as su me rappeler le besoin de rigueur et la démarche scientifique quand je les oubliais.

Merci Sébastien pour avoir pris le rôle de directeur sur un sujet qui n'était pas de ton domaine, et pour toute la partie administrative qui t'as été incombée. Merci également pour la motivation que tu as su transmettre.

Merci à Jonathan pour m'avoir encadré depuis Strasbourg. Malgré la distance, j'ai pu bénéficier de ton expertise et de tes conseils. J'ai aussi été très bien accueilli lors de mes différents passages à Strasbourg.

Merci à Florent pour son temps malgré la distance entre mon sujet de thèse et son domaine de recherche. Tu as su apporter l'œil non expert (de l'acoustique) permettant de recentrer le débat ou mieux introduire certaines notions.

Merci à Erwan, Marion et Maxime pour votre aide lors des différentes expériences *in vivo*, vous m'avez permis de passer de bons moments pendant ces expériences.

Merci à l'ensemble des membres permanents de l'équipe de CIEL pour votre présence pendant ma thèse, que ce soit en manip, en réunion ou en pause, merci Davide, Françoise, Luisa, Fawzi, Mélissa. Merci à l'équipe de MIRCen qui nous a accueillis régulièrement, merci également à l'équipe d'ICUBE que j'ai pu croiser quelques fois et dont l'accueil a toujours été chaleureux.

Je veux aussi remercier les non-permanents du laboratoire. Vous avez permis de rendre le travail beaucoup plus agréable grâce aux discussions et à l'esprit d'équipe que nous avons.

Merci à Pauline de m'avoir transmis son précieux savoir, ainsi que de m'avoir accompagné durant mon stage et ma première année de thèse.

Corentin tu as su rendre une bonne moitié de mes résultats possibles grâce à ton travail. Tu as su me transmettre tes connaissances en FPGA (je fais maintenant partie de ce club très privé) efficacement et tu as su toujours être disponible même quand tu étais à Biomaps.

Solène, tu as été ma coach de grimpe pendant que j'étais ton coach de survie au labo. Heureusement que tu étais là pour t'empiffrer de sucreries avec moi.

Thaddée, on est arrivé ensemble et reparti ensemble, même si on ne comprenait pas vraiment ce sur quoi l'autre bossait, tu as su m'épauler dans les galères d'Adum, d'ED et de soumission.

Merci à Gaëlle sans accent, tu as su t'intégrer dans notre team de manip efficacement et très agréablement.

Merci à Marina pour ces 6 mois de discussions en anglais dans la navette, j'ai vraiment progressé grâce à toi et tu as su devenir une véritable amie.

Dans la catégorie des collègues qui deviennent amis, je souhaiterai également nommer Clémentine. Tu as su me sortir la tête de la bulle de travail que je pouvais me créer pour des moments de complicité agréables.

Enfin bonne chance aux 2 derniers forçats de l'équipe, Camélia et Romain, vous commencez juste mais vous allez dans la bonne direction. J'ai pu passer de très bons moments pendant cette fin de thèse grâce à vous.

Je ne peux oublier de remercier ceux que j'ai aperçus plus brièvement, Marianne, Laura, Quentin, Camille, Flavie, Koven, Mélanie, El Arbi, Ricardo, Clément. Vous avez constitués de précieux alliés pour les pauses café ou les repas à la cantine.

Merci et bravo à Célestine, tu as su être un binôme efficace au début de ma thèse et ces moments ont été bien agréables. Tu es enfin docteur comme moi, on a survécu à l'encadrement de Benoît, on ne craint plus rien maintenant. Merci à Corentin d'avoir peuplé cet open-space (plutôt assez vide) et d'avoir permis ces conversations quotidiennes. Merci à Aurélien d'être passé en stage à Neurospin et d'avoir soufflé la corne de brume pour ma thèse, Jonathan t'en remercie. Merci à Elias d'avoir su nous épauler pour les manips et d'avoir su être très multi-talents dans ces expériences et merci pour les échanges très faciles que l'on peut avoir avec toi. Merci à Ounay pour tous les échanges que nous avons pu avoir, j'ai pu te transmettre un peu de mon expérience sur les signaux PCD, bonne chance pour ta dernière année de thèse sur ce sujet proche et en même temps très différent du mien.

Merci à tous mes amis qui ont permis de déconnecter et rigoler pendant ces 3 années.

Merci à Forca et Louis pour les verres et les Gladines improvisés, en théorie je devrais me rapprocher géographiquement pour faciliter tout cela dans le futur. J'ai hâte de vous voir à vos soutenances, on va bien rigoler. Merci Astrid pour les lectures et les bonbons!

Merci à tous les Jacuzz qui m'ont permis de rigoler, grimper, skier et clubber pendant mes premières années de parisien.

Merci à Coco, Poubeau, Ralph, Taxi, Lulu, Tixadou, Charo, Rouchon, Marilou, Clodo, Briera, Faria, Gab, Doudou, Baluche, Louis, Casa et Pillon, on ne se voit presque qu'une fois par an mais c'est toujours un excellent moment.

Merci à Nico, Paul, Jacques, Benjamin, Owain, je ne vous ai pas souvent vu pendant ma thèse, mais votre amitié qui remonte à bien longtemps est importante pour moi.

Merci à ma famille pour les moments que l'on a pu passer ensemble même si j'étais peu présent à Bordeaux. Merci à ceux qui sont montés pour ma soutenance, j'ai été très heureux de vous présenter ce que j'ai pu faire durant ces 3 années de thèse. Merci aux cousins pour les bons (mais rares) moments passés ensembles durant l'été.

Merci à Marianne pour avoir été à mes côtés pendant ces 3 années de thèse. Tu as su être toujours là dans les rares moments où ça n'allait pas. Tu étais également une des rares personnes à savoir pendant ma thèse ce que je faisais et ça a toujours été très agréable de pouvoir discuter de mes nouveaux "problèmes" sans devoir commencer par 15 minutes d'introduction. Tu as également su me supporter quand je continuais de travailler bien en dehors des heures et jours de bureau, je te promets que j'éviterai (de mon mieux) de refaire ça dans mes prochains emplois. Merci pour ta tendresse et tes attentions.

Table des matières

Remerciements	i
Table des matières	iii
Table des figures	vii
Table des tableaux	xi
Table des symboles et abréviations	xiii
1 Contexte et problématique	1
1.1 Généralités sur la barrière hémato-encéphalique et son implication dans le traitement des pathologies cérébrales	2
1.1.1 Aspects fonctionnels et structuraux de la barrière hémato-encéphalique	2
1.1.2 Les pathologies cérébrales et le blocage thérapeutique de la BHE	4
1.1.3 Techniques de délivrance médicamenteuse dans le cerveau	4
1.2 Les ultrasons thérapeutiques et la BHE	6
1.2.1 Les ultrasons focalisés dans la médecine	6
1.2.2 Les ultrasons focalisés et la BHE	7
1.3 Les ultrasons focalisés	9
1.3.1 Paramètres acoustiques	9
1.3.2 Transducteurs ultrasonores focalisés	10
1.4 État de l'art de l'ouverture de BHE par FUS	12
1.4.1 Cavitation des microbulles pour perméabiliser la BHE	13
1.4.2 Contrôle par rétroaction de la cavitation dans la littérature	24
1.4.3 Synthèse de l'étude bibliographique	33
1.5 Conclusion partielle	36
2 Caractérisation de la cavitation <i>in vitro</i>	37
2.1 La caractérisation de la cavitation des microbulles <i>in vitro</i>	39
2.1.1 Rôle de la caractérisation	39
2.1.2 État de l'art de la caractérisation de la cavitation <i>in vitro</i>	39
2.2 Dispositif expérimental et protocole	41
2.2.1 Dispositif expérimental	41
2.2.2 Protocole	42
2.2.3 Analyse des signaux enregistrés	45
2.3 Résultats obtenus	49
2.3.1 Tirs ultrasonores trapézoïdaux	49
2.3.2 Tirs ultrasonores triangulaires	56
2.4 Discussion	61
2.4.1 Tirs trapézoïdaux et triangulaires	61
2.4.2 Comparaison entre tirs trapézoïdaux et triangulaires	62
2.4.3 Conclusion	63

3	Détection de cavitation sur des modèles précliniques	65
3.1	Introduction sur les expériences <i>in vivo</i>	67
3.1.1	Les principaux objectifs des expériences précliniques dans notre laboratoire	67
3.2	L'algorithme Kamimura	68
3.2.1	Le problème à résoudre et les limitations inhérentes	68
3.2.2	Principe de l'algorithme	69
3.2.3	Validation de l'algorithme chez le PNH	70
3.2.4	Discussion autour des limites de l'algorithme	74
3.3	Acquisition de données par FPGA avec des tirs sans contrôle	75
3.3.1	Dispositif expérimental	75
3.3.2	Résultats	78
3.3.3	Discussion	80
3.4	La discrimination entre la cavitation cérébrale et la cavitation musculaire	81
3.4.1	Méthodes	81
3.4.2	Résultats	84
3.4.3	Discussion	88
3.4.4	Conclusion partielle	91
4	Contrôle de la cavitation intra-tir	93
4.1	L'algorithme de contrôle de la cavitation	95
4.1.1	FPGA utilisé et fonctionnement de l'algorithme	95
4.1.2	Fonctions de base du FPGA	95
4.1.3	Fonctions ajoutées	98
4.2	Expériences <i>in vitro</i>	103
4.2.1	Méthode	103
4.2.2	Résultats	105
4.2.3	Discussion	107
4.3	Validation <i>in vivo</i>	109
4.3.1	Méthode	109
4.3.2	Résultats	110
4.3.3	Discussion	111
4.4	Conclusion	115
5	Vers un transfert clinique	117
5.1	Le crâne : un double impact	119
5.2	La propagation des ultrasons au travers du crâne	120
5.2.1	Mesure de champs de pression en eau libre	120
5.2.2	Mesure de champ de pression au travers d'un crâne <i>ex vivo</i>	121
5.3	La mesure de la cavitation au travers du crâne	123
5.3.1	Dispositif expérimental	123
5.3.2	Protocole	125
5.3.3	Résultats	125
5.3.4	Discussion	132
5.4	Contrôle de la cavitation au travers du crâne	133
5.4.1	Méthode	133
5.4.2	Résultats	133
5.4.3	Discussion	138
5.5	Conclusion	139
	Conclusion	141

Bibliographie

147

Table des figures

1.1	Structure de la barrière hémato-encéphalique	2
1.2	Altération de la BHE par des pathologies du SNC	3
1.3	Différentes stratégies pharmacologiques pour traverser la BHE	5
1.4	Différentes applications des FUS pour les pathologies du SNC	7
1.5	Différents paramètres des tirs ultrasonores émis	9
1.6	Transducteurs focalisés	10
1.7	Focalisation électronique	11
1.8	Schéma de présentation d'un algorithme de contrôle de l'ouverture de la BHE	12
1.9	Évolution de la publication d'article sur l'ouverture de BHE par FUS et schéma de procédé d'inclusion	13
1.10	Différents états de la cavitation des microbulles	14
1.11	Figure présentant les différentes possibilités de positionnement relatifs de l'émetteur et du récepteur	16
1.12	Ratio de la fréquence centrale du PCD sur f_0	18
1.13	Schéma présentant le fonctionnement du PAM et du PCD	19
1.14	Images obtenues grâce à la cartographie de cavitation	20
1.15	Bandes fréquentielles utilisées pour caractériser la cavitation	20
1.16	Spectre calculé à partir du signal rétro-diffusé	21
1.17	Nombre d'études portant sur les différentes harmoniques et ultra-harmoniques	22
1.18	Différentes utilisations de la baseline	23
1.19	Différence entre un contrôleur proportionnel et intégral	24
1.20	Fonctionnement de différents algorithmes de contrôle de la cavitation	30
2.1	Transducteur et pièce 3D pour l'expérience <i>in vitro</i>	41
2.2	Photo du dispositif <i>in vitro</i>	42
2.3	Schéma du dispositif <i>in vitro</i>	43
2.4	Signal ultrasonores émis	44
2.5	Fenêtre Flat-top	46
2.6	Spectre avec les différents indices extraits	47
2.7	Calcul de la pression à laquelle les indices sont détectés	48
2.8	Carte de cavitation inertielle, tirs trapézoïdaux	49
2.9	Carte de cavitation des harmoniques, tirs trapézoïdaux	50
2.10	Carte de cavitation des ultra-harmoniques, tirs trapézoïdaux	50
2.11	Évolution des différentes composantes de l'indice harmonique, tirs trapézoïdaux	51
2.12	Évolution des différentes composantes de l'indice ultra-harmonique, tirs trapézoïdaux	52
2.13	Évolution des indices harmoniques, tirs trapézoïdaux	52
2.14	Évolution des indices ultra-harmoniques, tirs trapézoïdaux	53
2.15	Évolution des indices inertiels, tirs trapézoïdaux	54
2.16	Évolution des indices de cavitation pour la dilution 1 :27, tirs trapézoïdaux	55
2.17	Évolution des indices de cavitation pour la dilution 1 :80 et 1 :240, tirs trapézoïdaux	55
2.18	Évolution des indices de cavitation pour la dilution 1 :240, tirs trapézoïdaux, flacons 2 et 3	56

2.19 Carte de cavitation des harmoniques, tirs triangulaires	57
2.20 Carte de cavitation des ultra-harmoniques, tirs triangulaires	57
2.21 Carte de cavitation inertielle, tirs triangulaires	58
2.22 Évolution des indices harmoniques, tirs triangulaires	58
2.23 Évolution des indices ultra-harmoniques, tirs triangulaires	59
2.24 Évolution des indices inertiels, tirs triangulaires	59
2.25 Évolution des indices de cavitation pour la dilution 1 :27, tirs triangulaires	60
2.26 Évolution des indices de cavitation pour la dilution 1 :80, tirs triangulaires	60
3.1 Évolution de la pression avec l'algorithme Kamimura	69
3.2 Graphiques de contrôle du couplage pour les expériences chez le PNH	69
3.3 Différentes ouvertures de BHE chez le PNH	74
3.4 Dispositif rongeur expérimental de perméabilisation de BHE	77
3.5 Évolution des différents indices au sein d'un tir sans cavitation non stable, mais avec du bruit	78
3.6 Images IRM de la perméabilisation de la BHE et des vérifications de l'intégrité vasculaire	78
3.7 Évolution des différents indices au sein d'un tir sans cavitation non stable	79
3.8 Évolution des différents indices au sein d'un tir avec de la cavitation non stable	80
3.9 Évolution de la pression lors d'ouverture avec des PNH à muscle fins	82
3.10 Images IRM anatomiques de PNH avec des muscles temporaux épais ou fin	83
3.11 Évolution de la pression lors d'ouverture avec des PNH à muscle fins	84
3.12 Évolution de la pression lors d'ouverture avec des PNH à muscle fins	85
3.13 Différents événements apparaissant lors des expériences effectuées sur des PNH avec des muscles épais et fins	86
3.14 Figure représentant les images par IRM des expériences 9 et 10	86
3.15 Différents événements apparaissant lors des expériences avec rétro-contrôle sur le coefficient alpha	87
3.16 Représentation des différents événements apparaissant lors des expériences effectuées sur des PNH avec la métrique proposée par Maimbourg <i>et al.</i>	88
4.1 Différents échanges d'information et de puissance entre les éléments du dispositif	95
4.2 Fonctionnement des doubles mémoires du FPGA	96
4.3 Signaux fenêtrés dans le processus du FPGA	97
4.4 BLoc LabVIEW pour l'obtention du module de la FFT	97
4.5 Différentes composantes fréquentielles calculées à partir du spectre par le FPGA	98
4.6 Différentes phases d'un signal émis avec une enveloppe par FPGA	99
4.7 Schéma bloc représentant la rampe de montée	100
4.8 Schéma bloc représentant la détection d'événements	100
4.9 Problème du délai dans l'analyse du FPGA	101
4.10 Schéma bloc représentant la rampe de montée améliorée	101
4.11 Correction du problème causé par le délai dans l'analyse du FPGA	102
4.12 Ajout de coupure en cas de détection tardive de cavitation non stable	103
4.13 Positionnement du capillaire dans l'expérience <i>in vitro</i>	103
4.14 Méthode pour déterminer β_{UH} et β_{BB}	105
4.15 Valeurs de maintien de la pression pour le contrôle de la cavitation <i>in vitro</i>	105
4.16 Histogramme des valeurs de maintien de la pression pour le contrôle de la cavitation <i>in vitro</i>	106
4.17 Histogramme des valeurs de maintien de la pression pour 5 contrôles de la cavitation <i>in vitro</i>	106
4.18 Histogramme des valeurs de maintien de la pression pour le contrôle de la cavitation <i>in vitro</i>	107
4.19 Modélisation des indices BB et UH par une loi log-normale	108

4.20	Positionnement du transducteur par rapport aux souris	110
4.21	Deux spectrogrammes du signal rétro-diffusé pour des couplages correct et incorrect	111
4.22	Images IRM d'ouverture de barrière chez la souris avec l'algorithme de contrôle de la cavitation	112
4.23	Pressions de maintien obtenues par l'algorithme au cours d'une expérience chez 2 souris	113
4.24	Apparition de la cavitation inertielle et interruption du tir par l'algorithme	114
4.25	Hypothèse sur l'augmentation de la pression pendant les expériences <i>in vivo</i>	114
5.1	Schémas des différentes couches composant le crâne humain	119
5.2	Champ de pression généré par la sonde clinique en eau libre	121
5.3	Dispositif expérimental permettant de mesurer le champ de pression émis par la sonde clinique au travers d'un crâne	122
5.4	Différentes positions de la sonde relativement au crâne pour la propagation des ultrasons	122
5.5	Champ de pression généré par la sonde clinique au travers d'un demi-crâne humain	123
5.6	Crâne utilisé dans l'expérience <i>ex-vivo</i> de mesure de la cavitation	123
5.7	PCD positionné en regard de la cible numéro 2, placée au niveau de la fenêtre acoustique de l'os temporal.	124
5.8	Transducteur dans son porte-sonde équipé du porte capillaire	124
5.9	Évolution des différentes composantes de l'indice des harmoniques, tirs trapézoïdaux	126
5.10	Évolution des différentes composantes de l'indice ultra-harmonique, tirs trapézoïdaux	126
5.11	Évolution des différentes composantes de l'indice de bruit large bande, tirs trapézoïdaux	127
5.12	Carte de cavitation des harmoniques, mesure au travers du crâne	128
5.13	Carte de cavitation des ultra-harmoniques, mesure au travers du crâne	128
5.14	Carte de cavitation des ultra-harmoniques non moyennés	129
5.15	Carte de cavitation inertielle, mesure au travers du crâne	130
5.16	Évolution des indices harmoniques, mesure au travers du crâne	131
5.17	Évolution des indices de cavitation pour la dilution 1 :17 et 1 :100, tirs trapézoïdaux	131
5.18	Évolution des indices de cavitation pour la dilution 1 :17 et 1 :100, tirs triangulaires	132
5.19	Représentation des indices des tirs de référence pour 2 expériences et les seuils associés	134
5.20	Historiques et histogrammes des pressions pour les expériences de contrôle de la cavitation au travers d'un crâne	135
5.21	Représentation des fenêtres des différents indices lors des tirs de référence et du contrôle	136
5.22	Évolution temporelle de 2 tirs ultrasonores aux comportements différents	137

Liste des tableaux

1.1	Pathologies cérébrales et leur potentiel de thérapie par des petites molécules	4
1.2	Facteur de transmission des US au travers du crâne de différentes espèces	8
1.3	Comparaison des différentes technologies de PCD	15
1.4	Nombre d'éléments des PCD	17
1.5	Différentes valeurs d'UH et résultats observés dans l'état de l'art	23
1.6	Tableau résumant les différents algorithmes de contrôle de la cavitation	26
2.1	Paramètres et seuils d'apparitions des UH et du BB dans les expériences <i>in vitro</i> de la littérature	40
2.2	Délai depuis l'ouverture des flacons de microbulles	45
2.3	Seuils de pression d'apparition des UH et BB pour les différentes expériences	56
2.4	Seuils de pression d'apparition des UH et BB pour les différentes expériences avec les tirs triangulaires	61
3.1	Récapitulatif de l'ensemble des expériences sur les PNH	72
3.2	Informations sur les rongeurs pour les tirs ultrasonores de caractérisation de la cavitation	76
3.3	Tableau récapitulatif des expériences avec des tirs triangulaires sans contrôle	79
3.4	Tableau récapitulant les expériences considérées dans l'étude sur le positionnement de la cavitation	82
3.5	Tableau résumant les pressions maximales atteintes dans chaque expérience dans les muscles et le crâne	87
4.1	Comparaison des valeurs seuils de β_{UH} et β_{BB} avec les deux méthodes de calcul	109
4.2	Décompte du nombre de rongeurs passés dans chaque version du protocole	109
5.1	Décalage et atténuation de la tache focale après propagation des ultrasons au travers du crâne humain	122
5.2	Seuils de pression d'apparition des UH et BB pour les différentes expériences	132
5.3	Différentes valeurs de β_{UH} et β_{BB} pour le contrôle de cavitation au travers du crâne . .	134

Table des symboles et abréviations

BHE	Barrière hémato-encéphalique
CAN	Convertisseur analogique-numérique
DSP	Densité Spectrale de Puissance
FFT	Fast Fourier Transform : Transformée de Fourier Rapide
FPGA	Field Programmable Gate Arrays : Réseaux de portes programmables
FUS	Focalized Ultrasound : Ultrasons focalisés
IC	Inertial Cavitation : Cavitation inertielle
ICD	Inertial Cavitation Dose : Dose de cavitation inertielle
MB	Microbulles
PAM	Passive Accoustic Mapping
PCD	Passiv Cavitation Detector : Détecteur Passif de Cavitation
PNH	Primate Non Humain
PRF	Pulse Repetition Frequency : Fréquence de répétition des tirs
RSB	Rapport signal sur bruit
SH	Sous Harmonique
SNC	Système Nerveux Central
TFD	Transformée de Fourier discrète
UH	Ultra Harmonique
US	Ultrasons

Chapitre 1

Contexte et problématique

Ce chapitre présente les aspects structurels et fonctionnels de la barrière hémato-encéphalique (BHE), ainsi que les problématiques qui y sont rattachées en termes de possibilités thérapeutiques dans les pathologies cérébrales. Les méthodes utilisées pour perméabiliser cette barrière seront abordées, en détaillant particulièrement les thérapies ultrasonores utilisant les microbulles.

Sommaire

1.1 Généralités sur la barrière hémato-encéphalique et son implication dans le traitement des pathologies cérébrales	2
1.1.1 Aspects fonctionnels et structurels de la barrière hémato-encéphalique	2
1.1.2 Les pathologies cérébrales et le blocage thérapeutique de la BHE	4
1.1.3 Techniques de délivrance médicamenteuse dans le cerveau	4
1.2 Les ultrasons thérapeutiques et la BHE	6
1.2.1 Les ultrasons focalisés dans la médecine	6
1.2.2 Les ultrasons focalisés et la BHE	7
1.3 Les ultrasons focalisés	9
1.3.1 Paramètres acoustiques	9
1.3.2 Transducteurs ultrasonores focalisés	10
1.4 État de l'art de l'ouverture de BHE par FUS	12
1.4.1 Cavitation des microbulles pour perméabiliser la BHE	13
1.4.1.1 Régimes de cavitation	13
1.4.1.2 Origine des différentes signatures de cavitation	14
1.4.1.3 Technologies des transducteurs de mesure de la cavitation	15
1.4.1.4 Cartographie de cavitation ou PAM	16
1.4.1.5 Les FPGA, une électronique permettant un contrôle ultra-rapide	18
1.4.1.6 Indices de cavitation	19
1.4.1.7 Signaux de référence	20
1.4.1.8 Composants ultra-harmoniques et sous-harmoniques et évaluation de la sécurité	22
1.4.2 Contrôle par rétroaction de la cavitation dans la littérature	24
1.4.2.1 Contrôle de la cavitation <i>in vitro</i>	26
1.4.2.2 Contrôle de la cavitation <i>in vivo</i> avec une pression constante	27
1.4.2.3 Contrôle de la cavitation <i>in vivo</i> avec une pression semi constante	28
1.4.2.4 Contrôle de la cavitation <i>in vivo</i> avec une pression variable	31
1.4.3 Synthèse de l'étude bibliographique	33
1.5 Conclusion partielle	36

1.1 Généralités sur la barrière hémato-encéphalique et son implication dans le traitement des pathologies cérébrales

1.1.1 Aspects fonctionnels et structurels de la barrière hémato-encéphalique

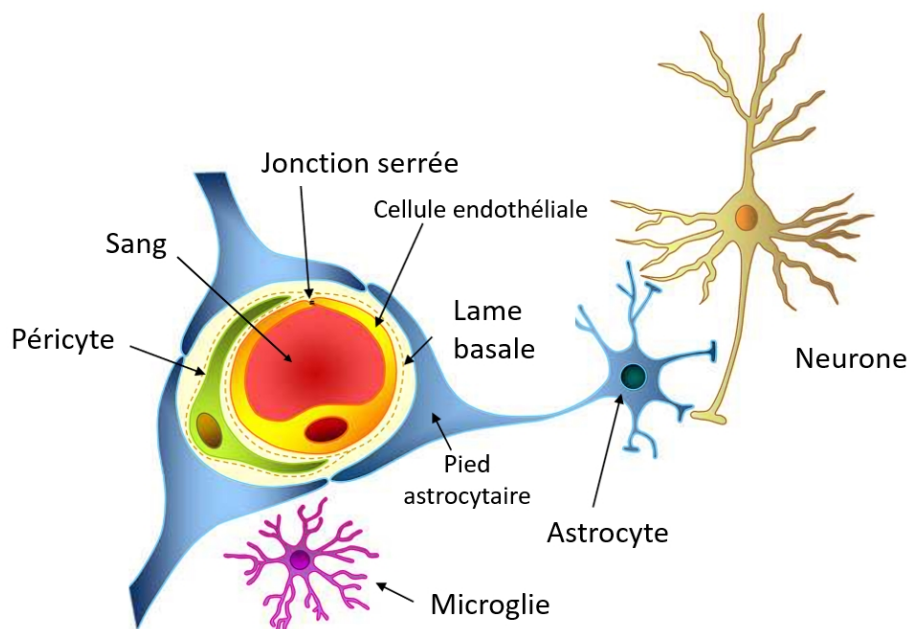


FIGURE 1.1 – Représentation en coupe d'un capillaire cérébral. Les cellules endothéliales cérébrales non fenestrées sont liées par des jonctions serrées qui bloquent le passage para-cellulaire. Les péricytes s'associent étroitement aux cellules endothéliales avec lesquelles ils partagent une lame basale commune. Les prolongements membranaires des astrocytes enveloppent la lame basale endothéliale sur toute sa surface. (Figure tirée de (ABBOTT 2013))

Le système nerveux central, correspondant à l'encéphale et à la moelle épinière, comporte différentes populations cellulaires assurant les mécanismes de neurotransmission nécessaires aux fonctions motrices, sensibles, sensorielles et cognitives. La neurotransmission, principalement médiée par les neurones, repose sur la propagation de potentiels d'action le long des axones et la libération de neuromédiateurs au niveau des terminaisons synaptiques. Ces phénomènes électro-chimiques nécessitent à la fois l'apport d'oxygène et de nutriments aux tissus cérébraux, et le maintien constant d'un équilibre hydro-électrolytique strict entre les milieux intra et extra-cellulaires (ABBOTT et al. 2010). Les capillaires sanguins cérébraux assurent cette double fonction grâce à une architecture pariétale spécifique, différente de celle des vaisseaux périphériques. La perméabilité extrêmement sélective des capillaires cérébraux est à l'origine de l'appellation "barrière hémato-encéphalique" (BHE). Cette barrière correspond à un ensemble cellulaire complexe associé à la totalité des vaisseaux intra-crâniens, dont les propriétés anatomiques et physico-chimiques permettent d'isoler le tissu cérébral du compartiment sanguin (LEBOVITZ 1970; McILWAIN 1968).

A l'échelle microscopique, la BHE est formée par l'association des cellules endothéliales bordant la face luminale des parois vasculaires, ainsi que des péricytes et des prolongements astrocytaires sur le versant abluminal.

Les cellules endothéliales cérébrales ont pour particularités d'être non fenestrées et étroitement liées entre elles par des jonctions serrées. Ces jonctions associent des molécules membranaires (occludine, claudines et JAM pour "Jonction Associated Molecules") ainsi que des molécules cytoplasmiques (Zonula Occludens et cinguline) permettant de connecter les cytosquelettes d'actine des cellules endothéliales entre elles.

Cet endothélium continu est tapissé par une lame basale contenant des cellules mésenchymateuses non différenciées, les péricytes, qui renforcent la continuité de la surface endothéliale et contribuent à la synthèse de la lame basale (ARMULIK et al. 2010; BELL et al. 2010; DANEMAN et al. 2010; SENGILLO et al. 2013). Cette dernière est engainée sur toute sa surface abluminale par les prolongements membranaires des astrocytes, renforçant encore l'isolation et la sélectivité de l'interface entre le sang et le tissu cérébral (cf figure 1.1). Cette organisation est également appelée "complexe neuro-vasculaire".

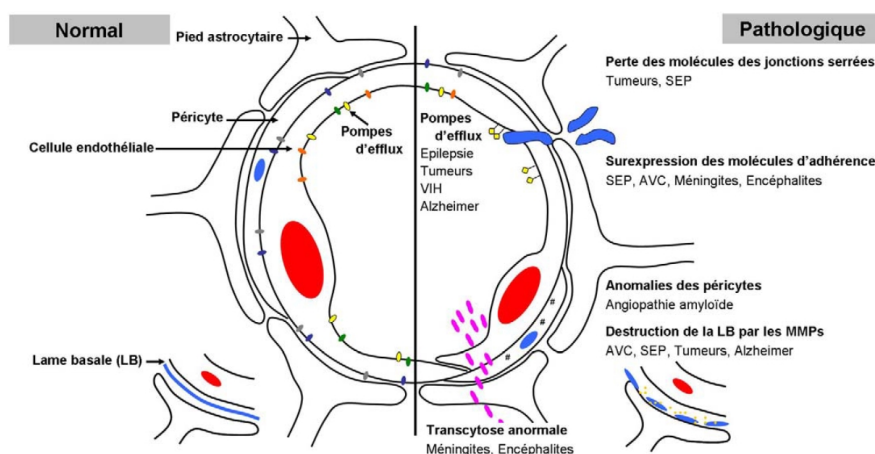


FIGURE 1.2 – Représentation de la BHE pour un sujet sain et les différentes modifications introduites par différentes pathologies réduisant à différents degrés ses capacités d'homéostasie. (Figure tirée de (WEISS et al. 2009))

Il faut noter que certaines pathologies cérébrales peuvent avoir comme symptômes, un amoindrissement de la capacité protectrice de la BHE (SENGILLO et al. 2013; WEISS et al. 2009). Les différents mécanismes permettant de protéger le SNC par la BHE peuvent être plus ou moins amoindris selon les pathologies (cf figure 1.2). Ces perméabilisations ne sont malheureusement pas utilisables pour le traitement car trop localisées, hétérogènes (Y. S. CHOI et al. 2015; AREVALO-PEREZ et al. 2015) et ne permettant pas un passage de toutes les dimensions de molécules. Notamment dans le cas du glioblastome, la BHE est perméabilisée à l'intérieur des tumeurs, toutefois c'est dans les frontières avec les tissus sains que la perméabilisation est recherchée (LUO et al. 2020).

1.1.2 Les pathologies cérébrales et le blocage thérapeutique de la BHE

Troubles du SNC pouvant être traités par des médicaments composés de petites molécules	Troubles du SNC largement réfractaires à la thérapie par petites molécules
Dépression Schizophrénie Douleur chronique Épilepsie	Maladie d'Alzheimer Maladie de Parkinson Maladie d'Huntington Sclérose en plaque Sclérose latérale amyotrophique Neuro-SIDA Cancer cérébral (primaire ou métastases) Accident vasculaire cérébral Traumatisme médullaire ou cérébral Autisme Trouble de stockage lysosomal Syndrome de l'X fragile Ataxie héréditaire Cécité d'origine centrale

TABEAU 1.1 – Pathologies affectant le SNC possédant des traitements avec des médicaments composés de molécules de faible masse moléculaire (~ 100 Dalton) et pathologies du SNC réfractaire aux traitements avec des molécules de faibles masses moléculaires. (Figure tirée de (PARDRIDGE 2005))

La composition et les propriétés de la BHE la rendent imperméable à l'écrasante majorité des médicaments actuellement mis sur le marché. L'endothélium cérébral possède des systèmes de transport hautement spécifiques qui sont utilisables par un nombre restreint de molécules thérapeutiques, telle que la L-Dopa dans le traitement de la maladie de Parkinson. La diffusion passive à travers la barrière est possible pour certaines molécules lipophiles et de bas poids moléculaire (poids inférieur à 500 Da), avec un possible rejet de ces molécules dans le compartiment sanguin par les pompes d'efflux (glycoprotéine P principalement) présentes à la surface des cellules endothéliales. Les molécules hydrophiles et/ou de haut poids moléculaire, correspondant à la majorité des antibiotiques et chimiothérapies, n'ont pas la possibilité de traverser la BHE par diffusion ou transport actif (PARDRIDGE 2005). Bien qu'elle assure le maintien de l'homéostasie cérébrale, cette barrière complique donc considérablement la prise en charge médicamenteuse des pathologies touchant le système nerveux central toutes causes confondues.

À ce jour, peu de traitements efficaces à bases de petites molécules existent pour la plupart des pathologies cérébrales (cf Figure 1.1). Il existe toutefois un arsenal de médicaments potentiellement prometteurs, pour traiter un grand nombre de ces pathologies. Ces médicaments innovants sont validés principalement sur cultures cellulaires mais, une fois administrés *in vivo*, restent dans l'incapacité d'atteindre les régions cérébrales. Il est donc nécessaire de développer des approches afin de rendre disponible dans le cerveau des médicaments de taille moléculaire importante (PARDRIDGE 2002).

1.1.3 Techniques de délivrance médicamenteuse dans le cerveau

Diverses stratégies sont employées pour permettre aux médicaments d'atteindre les tissus cérébraux. Des descriptions exhaustives de ces différentes stratégies peuvent être retrouvées dans les revues suivantes : (GABATHULER 2010; Y. CHEN et al. 2012; ZHAO et al. 2023; ALAJANGI et al. 2022).

Une approche consiste à contourner la BHE en injectant directement les médicaments dans les tissus cérébraux. Les techniques incluent l'infusion intracérébro-ventriculaire, qui permet une distri-

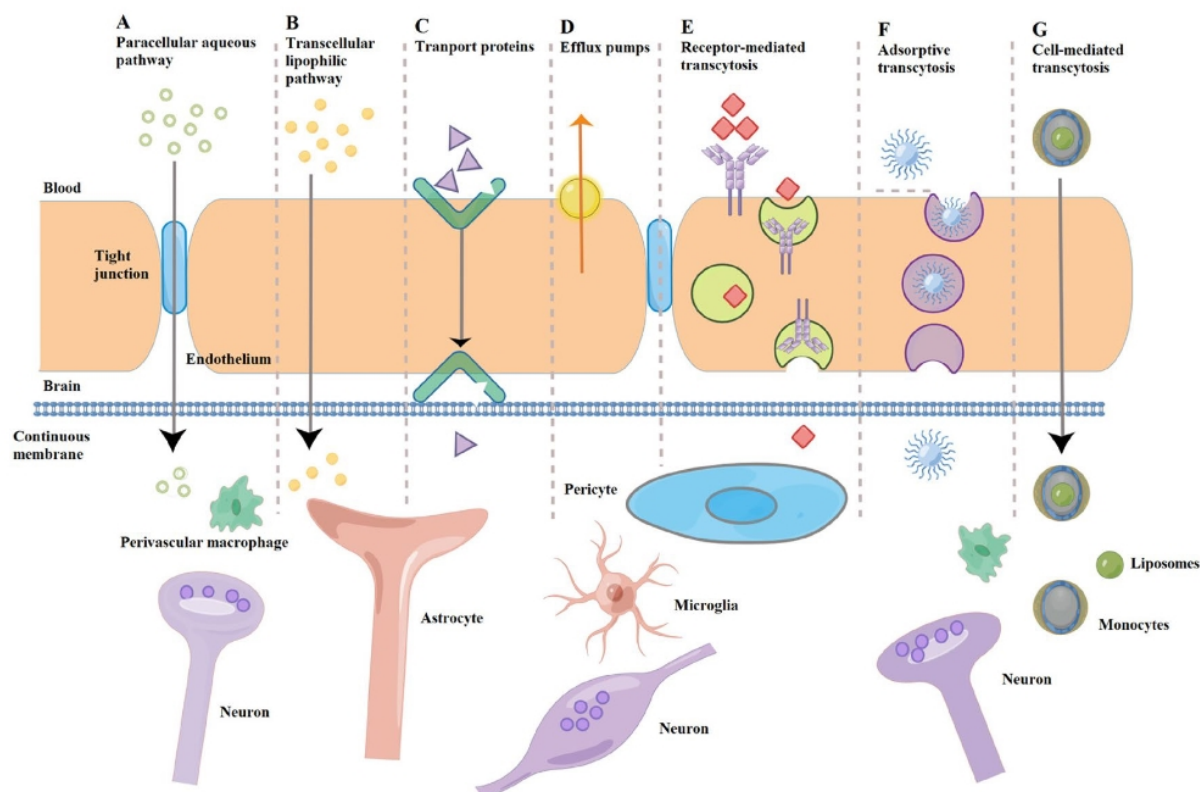


FIGURE 1.3 – Différentes approches pharmacologiques permettant de faire passer des médicaments du sang au SNC. (Figure tirée de (ZHAO *et al.* 2023))

bution limitée du médicament ; et la délivrance améliorée par convection, qui permet une diffusion plus étendue dans le parenchyme cérébral. L'injection intra-cérébrale ou l'utilisation d'implants sont également utilisées, mais la diffusion du médicament est limitée par la distance. Une autre approche en développement est l'injection de virus adéno-associés exprimant des facteurs neurotrophiques. Ces approches présentent certaines limitations. En effet, ces techniques sont coûteuses, nécessitent une anesthésie et une hospitalisation, et peuvent causer des dommages aux neurones et pourraient favoriser la dissémination tumorale (GABATHULER 2010).

Une deuxième approche est l'approche pharmacologique qui consiste à modifier des molécules afin de favoriser leur passage à travers la BHE. Certaines molécules, comme l'alcool, la nicotine et les benzodiazépines, peuvent traverser la BHE de manière passive en raison de leur petite taille moléculaire (inférieure à 500 Da), d'une faible charge et d'une lipophilicité élevée. La réduction du nombre de groupes polaires dans les médicaments augmente leur capacité à traverser la BHE. Des transporteurs lipidiques (voie B figure 1.3) ont été utilisés avec succès pour faciliter le transport (PARDRIDGE 1995). De plus, la modification de médicaments en y ajoutant des composés spécifiques peut améliorer leur capacité à atteindre les cellules cibles du SNC.

Une autre approche consiste à formuler les médicaments de manière à améliorer leur délivrance au cerveau en augmentant leur solubilité et leur stabilité dans le plasma (voie A figure 1.3). L'utilisation de micelles pluroniques pour transporter des médicaments de faible masse moléculaire a montré des résultats prometteurs en augmentant leur solubilité, leur stabilité et en améliorant leur pharmacocinétique et leur biodistribution (KABANOV *et al.* 2003).

Cependant, les mécanismes précis par lesquels ces formulations nanoparticulaires traversent la BHE ne sont pas entièrement compris. De plus, l'application de nanoparticules à de grandes molécules thérapeutiques hydrophiles nécessite encore des recherches supplémentaires pour démontrer son efficacité.

Il est également possible d'utiliser une approche physiologique. En effet, le cerveau nécessite des substances essentielles pour son métabolisme et sa survie, telles que le glucose, l'insuline, l'hormone de croissance, les lipoprotéines de basse densité, etc. Ces substances sont reconnues par des récepteurs spécifiques ou des mécanismes de transport, ce qui entraîne un transport vers le cerveau. La manière la plus efficace de fournir des médicaments neuroactifs est donc de les transporter via des transporteurs spécifiques ou des récepteurs d'internalisation situés sur les capillaires cérébraux. Les médicaments peuvent être modifiés pour tirer parti des systèmes de transport nutritif natifs de la BHE (voie C, D, figure 1.3) ou pour être conjugués à des ligands qui reconnaissent les récepteurs exprimés au niveau de la BHE. Cela permettra leur transport à travers la BHE par transcytose médiée par les récepteurs (voie E, F, G, figure 1.3). Cette approche physiologique est reconnue par la communauté scientifique comme ayant la plus grande chance de succès.

Il existe d'autres approches pour délivrer des médicaments dans le SNC, certaines ne sont maintenant plus utilisées (solutions hyperosmotiques) à cause d'une balance bénéfique/risque trop déséquilibrée.

Enfin la technologie de la perméabilisation de la BHE par ultrasons focalisés est une approche très prometteuse. Elle a été décrite pour la première fois en 2001 par l'équipe du professeur Hynynen (HYNYNEN et al. 2001). Cette technique permet une perméabilisation de la BHE de façon localisée, non-invasive et réversible après plusieurs heures. C'est l'optimisation de cette technologie et du protocole thérapeutique qui constitue le sujet de cette thèse.

1.2 Les ultrasons thérapeutiques et la BHE

1.2.1 Les ultrasons focalisés dans la médecine

L'apparition, les oscillations ultérieures ou les effondrements de microbulles de gaz (MB) constituent un phénomène acoustique appelé cavitation. Lorsqu'elle est correctement contrôlée, la cavitation est utilisée dans les thérapies par ultrasons focalisés (FUS) en ajustant l'énergie ultrasonore nécessaire pour induire des effets biologiques. Lors de l'ablation thermique, la présence de MB dans la région cible augmente considérablement l'absorption locale de l'énergie ultrasonore et renforce ainsi le dépôt thermique tout en préservant les tissus extérieurs à la zone de focalisation (TUNG et al. 2006; LO et al. 2006). Dans l'histotripsie à haute intensité, la pression ultrasonore est suffisamment forte pour créer un nuage de MB de gaz dissous (cavitation endogène) qui détruit les tissus par implosion (HOOGENBOOM et al. 2015).

Bien que la cavitation puisse se produire sans injection de MB, les agents de contraste ultrasonores exogènes agissent également comme des germes de cavitation. Les premières utilisations de MB injectées dans le contexte des ultrasons thérapeutiques ont été mentionnées dans les années 2000 (POLIACHIK et al. 1999; TRAN et al. 2003; MILLER et al. 1995). Les MB injectées créent des effets de cavitation similaires aux MB endogènes sous l'exposition aux ultrasons. Cela évite d'atteindre les valeurs d'amplitude négative de pression requises pour l'apparition des MB endogènes (TRAN et al. 2003). De plus, les propriétés, la taille, la quantité et la position des MB sont également plus précisément contrôlés.

Outre la destruction tissulaire, l'utilisation combinée de MB injectées et d'ultrasons pulsés à faible puissance est également connue pour induire des effets réversibles sur les membranes cellulaires et les parois vasculaires. En effet, la compression/dilatation des MB induit un micro-écoulement du fluide ainsi que des forces mécaniques directes sur les membranes cellulaires environnantes (stimulation mécanique des membranes cellulaires), entraînant une perméabilisation temporaire, un effet connu sous le nom de sonoporation (WAMEL et al. 2006; Yanye YANG et al. 2020). Un phénomène

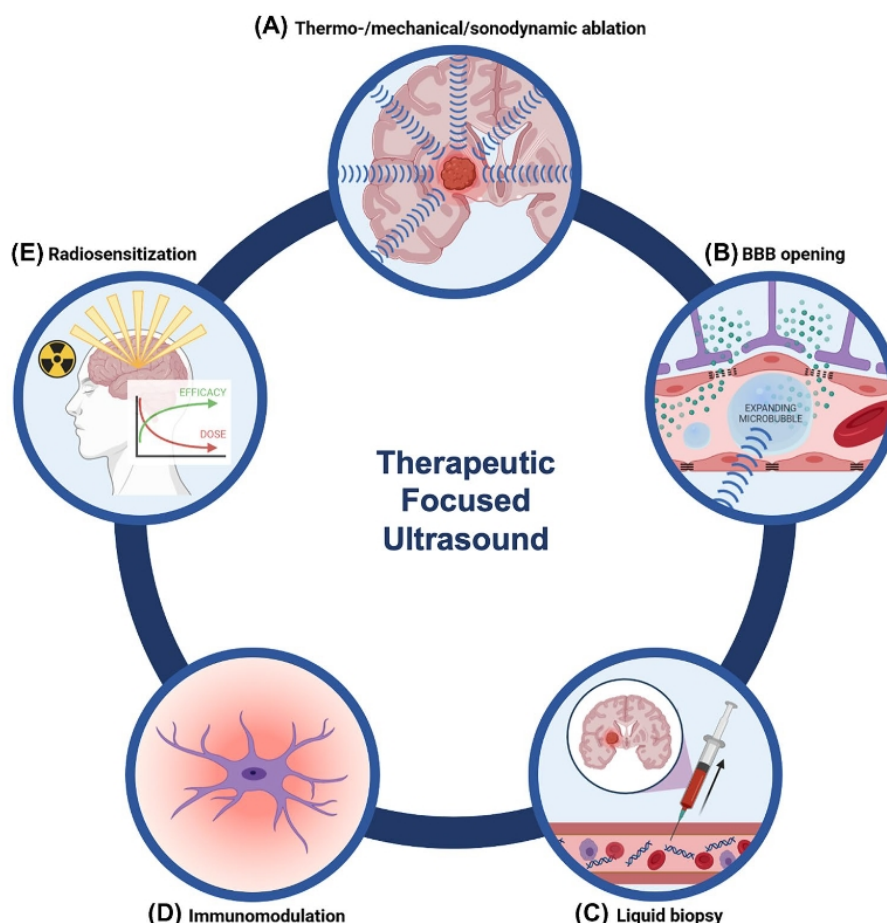


FIGURE 1.4 – Différentes applications des ultrasons focalisés pour traiter les pathologies affectant le système nerveux central (Figure tirée de (MENG et al. 2022))

similaire se produit dans les capillaires cérébraux, entraînant une perméabilisation réversible de la BHE. Lors de la perméabilisation de la BHE induite par FUS, les MB oscillent et induisent un écoulement de fluide dans un rayon de l'ordre de leur diamètre autour d'elles-mêmes. Cela conduit au relâchement des jonctions serrées entre les cellules endothéliales, permettant aux molécules plus larges de pénétrer dans la zone ciblée du cerveau (CAMMALLERI et al. 2020; HYNENEN et al. 2001; SHEIKOV et al. 2004).

De plus, les ultrasons focalisés assistés par microbulles peuvent également modifier l'expression génique de protéines de transport essentielles de la BHE, telles que la diminution de la glycoprotéine P (Pgp), ce qui améliore la localisation des médicaments dans le parenchyme (JANGJOU et al. 2021; ARYAL et al. 2017; CONTI et al. 2022). Cependant, il est difficile de comprendre l'ensemble et la contribution des mécanismes issus des interactions entre les MB et les tissus et conduisant à la perméabilisation de la BHE (BARZEGAR-FALLAH et al. 2022).

1.2.2 Les ultrasons focalisés et la BHE

En ce qui concerne cette dernière application, la cavitation doit être soigneusement contrôlée pour garantir la sécurité et l'efficacité (DAUBA et al. 2020a). Une pression acoustique excessive peut provoquer l'implosion des MB, entraînant des forces de pression qui causeront des dommages vasculaires ou tissulaires importants, tels que des hémorragies et des œdèmes. Au contraire, si la pression acoustique est insuffisante, la BHE reste intacte. La plage de pression permettant l'ouverture de la BHE sans dommage est étroite, car elle s'étend généralement sur plusieurs dizaines de kPa (ILOVITSH et al. 2018). Par exemple, TUNG et al. 2010a ont rapporté une plage de 300 à 450 kPa (0,25 à 0,36 en

Espèce	Souris	Rats	PNH	Homme
Facteur de transmission au travers du crâne	85% à 1,5 MHz (FELIX et al. 2021)	60% à 1,5 MHz (GERSTENMAYER et al. 2018)	40% à 600 kHz (DEFFIEUX et al. 2010)	24% à 500 kHz (DEFFIEUX et al. 2010)

TABLEAU 1.2 – *Facteur de transmission des ultrasons pour l'os pariétal des souris, des rats, des primates non humains (NHP) et des humains à différentes fréquences (expériences ex vivo). En règle générale, la réduction de la fréquence d'émission des ultrasons améliore la transmission à travers les crânes plus épais. Cependant, pour les crânes les plus minces (comme ceux des rongeurs), des fréquences plus élevées sont utilisées pour éviter de créer des points focaux plus grands qui ne seraient pas adaptés à leur cerveau plus petit.*

indice mécanique), S. XU et al. 2019 ont rapporté une plage de 250 à 500 kPa (0,25 à 0,4 en indice mécanique), et BASERI et al. 2010 ont rapporté une plage de 300 à 460 kPa (0,25 à 0,37 en indice mécanique). Il convient de noter que l'apparition de la cavitation stable lors de l'ouverture de la BHE dépend de divers facteurs, notamment la fréquence, la pression, la durée du tir, le rapport cyclique, le type de bulle, la taille de la bulle, la dose de bulles et le modèle animal. Il faut noter qu'en l'absence de dommages tissulaires constatés suite à l'ouverture de la BHE, il n'y a pas d'effets secondaires indésirables comportementaux ou médicaux constatés, que ce soit pour les études précliniques ou cliniques (PASQUINELLI et al. 2019).

La non-linéarité de la cavitation par rapport à la pression ainsi que les hétérogénéités des milieux de propagation (crâne, tissu) rendent le contrôle de l'ouverture de la BHE complexe. L'os du crâne est en effet composé d'un os spongieux, le diploë, et de deux tables externe et interne, qui sont des os corticaux denses et compacts. Le diploë présente une structure poreuse hautement hétérogène et anisotrope. La transmission des ultrasons à travers le crâne est affectée non seulement par l'absorption de l'os et des tissus, mais aussi par les réflexions et les réfractions à chaque interface entre les milieux ayant des impédances acoustiques différentes (par exemple, tissu, os, moelle osseuse) (PINTON et al. 2012). La courbure de l'os contribue également à augmenter la réflexion du faisceau ultrasonore pénétrant le crâne avec un angle d'incidence non nul. En conséquence, le faisceau ultrasonore est dévié et son intensité est réduite d'une manière unique pour chaque individu et chaque cible dans le cerveau. Cet effet est plus prononcé chez les espèces animales de plus grande taille avec des crânes plus épais (voir Tableau 1.2) (ASAHARA 2013; PORTO et al. 2013), et même au sein d'une même espèce, la transmission peut varier en fonction du poids, du sexe ou de la taille de l'individu (O'REILLY et al. 2011). Plusieurs études ont montré que le facteur de transmission à travers le crâne humain s'améliore lorsque la fréquence d'émission diminue (H.-L. LIU et al. 2014; PICHARDO et al. 2010; WHITE et al. 2006). C'est la raison pour laquelle la fréquence d'émission doit être réduite à mesure que l'épaisseur du crâne augmente.

Les simulations numériques comprenant une modélisation de la tête spécifique au patient sont particulièrement adaptées pour atténuer ces effets (ANGLA et al. 2023). Cependant, cette approche est exigeante en termes de calcul et peut souffrir d'incertitudes concernant les propriétés physiques des tissus *in vivo* et d'imprécisions en termes de quantification du profil de pression 3D. En revanche, la surveillance en temps réel de l'activité de cavitation permet de garantir que la dose appropriée d'ultrasons est délivrée pour perturber de manière constante la BHE à travers le crâne sans causer de dommages vasculaires. D'autre part, la mesure de cavitation permet de contrôler l'évolution de l'état des MB dont les propriétés varient rapidement au cours du temps, une fois injectées dans l'organisme. C'est dans ce cadre que mon travail de doctorat se place. En effet les MB sont dans des états et concentrations différentes lors d'expériences *in vivo*. Il est donc critique de pouvoir caractériser ces concentrations et proposer un contrôle s'adaptant à l'ensemble de ces conditions.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) peut être utilisée à plusieurs fins, telles que le positionnement (Y. LIU et al. 2015), la mesure des effets thermiques (RADEMAKER et al. 2003; RIEKE et al. 2008) et la surveillance de l'efficacité du traitement. Cependant, elle n'est actuellement que peu utilisée pour suivre la cavitation et l'état des MB (PENG et al. 2017). Au lieu de cela, la cavitation peut être surveillée en analysant le signal ultrasonore rétro-diffusé par les MB lors de la sonication. De multiples indices sont calculés pour l'analyse en temps réel des spectres rétro-diffusés, qui sont ensuite utilisés comme entrées pour divers algorithmes de contrôle de la cavitation afin de moduler l'intensité acoustique des ultrasons thérapeutiques.

L'objectif principal de cette thèse est la mise en place d'un contrôle de la cavitation permettant d'atteindre les plages de pressions pour lesquelles la perméabilisation de la BHE est maximale tout en évitant les pressions potentiellement dangereuses. Ce contrôle utilisera les signaux acoustiques rétro-diffusés par les microbulles.

1.3 Les ultrasons focalisés

1.3.1 Paramètres acoustiques

Les ultrasons utilisés pour l'ouverture de la BHE sont des ultrasons pulsés. En effet si les ultrasons étaient émis de façon continue, l'énergie déposée dans les tissus serait importante et des augmentations de température pourraient avoir lieu. Le rapport cyclique correspond au rapport entre le temps pendant lequel les ultrasons sont émis sur la période totale de temps de répétition d'un tir (équation 1.1). Sur une cible ponctuelle, ce rapport cyclique est généralement inférieur à 10% pour l'ouverture de BHE afin d'éviter l'accumulation de chaleur (BAEK et al. 2022; GORICK et al. 2022). Le temps entre 2 tirs correspond aussi à l'inverse de la Pulse Repetition Frequency (PRF) qui correspond au nombre de tirs ultrasonores par seconde (équation 1.3). Pour l'ouverture de BHE, la PRF est en générale choisie pour être entre 1 et 10 Hz (KONG et al. 2023). Cela nous donne un délai entre chaque tir qui se situe donc majoritairement pour notre application entre 0.1 et 1 seconde. La durée des tirs ultrasonores est de l'ordre de la dizaine de millisecondes pour l'ouverture de BHE.

$$\text{Rapport cyclique} = \frac{\text{Durée de tirs}}{\text{Délais entre les tirs}} \quad (1.1)$$

$$T = \frac{1}{f_0} \quad (1.2)$$

$$\text{PRF} = \frac{1}{\text{Délais entre les tirs}} \quad (1.3)$$

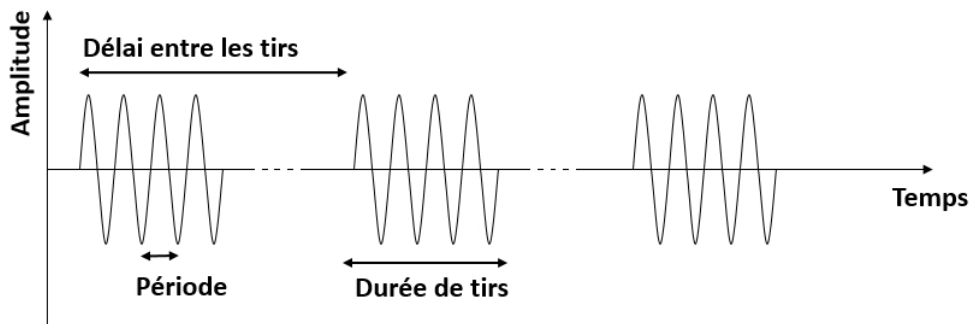


FIGURE 1.5 – Différents paramètres acoustiques des ultrasons émis par le transducteur

Les signaux ultrasonores sont émis à une fréquence f_0 qui est l'inverse de la période (équation 1.2). Cette fréquence est souvent définie par la fréquence centrale du transducteur qui permet d'avoir le meilleur rendement sur ce dernier. En thérapie du cerveau, la fréquence centrale du transducteur est choisie préalablement selon l'espèce animale, à savoir la largeur de la zone focale ciblée et l'épaisseur du crâne à traverser par exemple (DEFFIEUX et al. 2010; GERSTENMAYER et al. 2018; FELIX et al. 2021). Les fréquences les plus élevées sont de l'ordre de 10 MHz et sont généralement utilisées chez le rongeur et les plus faibles, proches de 200 kHz, sont utilisées chez l'homme ou le PNH. Enfin le dernier paramètre acoustique est la pression ultrasonore émise (cf figure 1.5). C'est ce paramètre qui est le plus directement lié à la cavitation et qui est généralement utilisé dans les algorithmes de rétro-contrôle pour éviter les dommages ou augmenter la perméabilisation.

L'Indice Mécanique (MI) est un indice unificateur qui combine la fréquence centrale des ultrasons (f_0 en MHz) et la pression négative maximale (PNP en MPa), cette relation est la suivante : équation 1.4

$$MI = \frac{PNP}{\sqrt{f_0}} \quad (1.4)$$

Il faut noter que de nombreuses études ont essayé d'optimiser ces paramètres acoustiques. Ils sont souvent le reflet d'une optimisation entre les optimums dans le domaine de la perméabilisation de la BHE et les contraintes liées à chaque dispositif expérimental. Ainsi, le délai entre les tirs est, dans le cas des tirs avec contrôle par rétroaction, limité par le temps d'analyse du signal pour la définition de la prochaine amplitude de tir.

1.3.2 Transducteurs ultrasonores focalisés

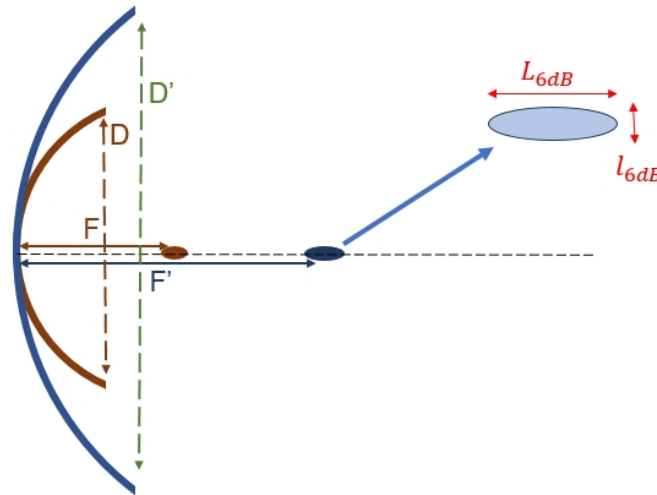


FIGURE 1.6 – Figure présentant 2 transducteurs focalisés avec leurs taches focales ainsi que les différents paramètres permettant de caractériser des transducteurs : F et D .

Les transducteurs qui ont été utilisés au cours de cette thèse sont des transducteurs construits à partir de matériaux piézoélectriques. Les matériaux piézoélectriques sont des matériaux qui lorsqu'ils sont soumis à une tension électrique, se déforment. Cela permet de créer des champs de pression variable en les alimentant. Ces matériaux sont aussi réversibles cela signifie que s'ils sont déformés (sous l'effet d'une pression variable par exemple) ils se polarisent et produisent une tension.

Les transducteurs utilisés en émission dans cette thèse sont des transducteurs focalisés. Cela signifie que pour un signal émis par la surface, la forme du transducteur focalise l'énergie émise en un

point. Deux paramètres importants pour le comportement du transducteur sont la distance focale F du transducteur et son diamètre D . La tache focale est caractérisée (équation 1.5 des dimensions à -6 dB selon les 2 axes) par ces dimensions ainsi que par la fréquence des ultrasons émis f (Figure 1.6 (COBBOLD 2006)). La tache focale de ce type de transducteur possède une symétrie de révolution autour de son axe. Une coupe de cette tache dans le sens de la longueur correspond à une ellipse. Plus le rapport $\frac{F}{D}$ est grand et plus la tache focale sera longue et fine. On représente généralement la tache focale par l'enveloppe du volume de pression pour lequel la pression est à $-6dB$ du maximum de pression générée :

$$L_{6dB} = 9,7\lambda\left(\frac{F}{D}\right)^2 \quad l_{6dB} = 1,4\lambda\frac{F}{D} \quad (1.5)$$

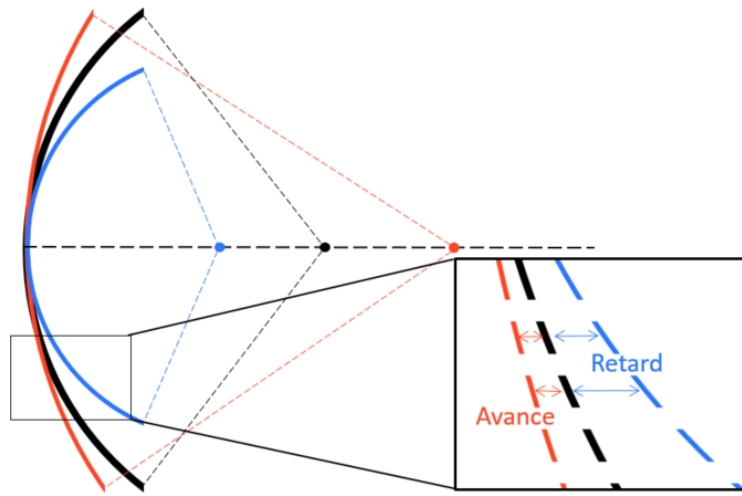


FIGURE 1.7 – Représentation graphique de la focalisation électronique consistant à émettre les signaux de certaines portions du transducteur avec un retard ou une avance de phase. La surface vermillon a été émise en ayant un retard de plus en plus important pour les éléments avec un rayon important. Pour la surface couleur bleu, plus les éléments sont situés vers l'extérieur du transducteur, plus les signaux sont émis avec une avance importante.

Ces taches focales ainsi obtenus pour des signaux en phase, peuvent être déformées et déplacées si les transducteurs sont composés de plusieurs éléments permettant d'utiliser une focalisation électronique. Ainsi en déphasant légèrement les signaux émis par les différents éléments du transducteur, un front d'onde est produit qui est équivalent à celui d'une surface avec un F et D différents. Dans cette thèse, tous les transducteurs utilisés lorsqu'ils ne seront pas des mono éléments, seront des transducteurs composés d'anneaux permettant une focalisation paramétrable uniquement sur l'axe du transducteur. Le schéma de la figure 1.7 présente 2 surfaces avec une distance de focalisation différente de celle du transducteur. La surface vermillon est obtenue en émettant avec une phase négative les signaux sur les anneaux les plus extérieurs afin de simuler une surface moins concave. La surface bleue est obtenue en émettant sur les anneaux extérieurs avec une phase positive permettant de simuler une surface plus concave et avec une distance focale plus réduite.

Ce type de transducteur est particulièrement utile pour des expériences *in vivo* où des régions d'intérêts spécifiques sont ciblées dans le cerveau et les contraintes physiques (ballon d'eau, taille de l'animal) empêchent une superposition de la tache focale avec la cible.

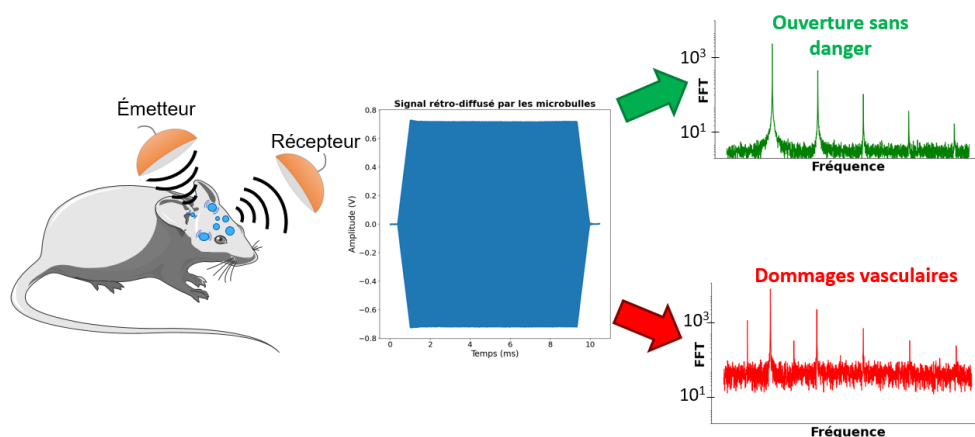


FIGURE 1.8 – Schéma de présentation d'un algorithme de contrôle de l'ouverture de la BHE

1.4 État de l'art de l'ouverture de BHE par FUS

Dans cette thèse, l'objectif est d'optimiser la perméabilisation de la BHE lors de thérapies par FUS et MB injectées. Plus concrètement, cela consiste à réduire les potentiels dommages vasculaires tout en optimisant la cavitation des MB afin de permettre à un maximum de molécules de passer du sang aux tissus cérébraux. Une boucle de rétrocontrôle est mise en place pour contrôler la cavitation. Cette boucle va modifier l'amplitude de la pression d'émission des ultrasons en fonction de l'état de la cavitation des microbulles, cet état va être déterminé en utilisant le spectre rétro-diffusé par ces dernières (cf figure 1.8). Cette dernière partie de ce chapitre d'introduction propose un état de l'art portant sur les différents algorithmes de contrôle de la cavitation des MB. Des statistiques et analyses sur les technologies ainsi que les indices utilisés dans de tels algorithmes seront également décrits.

Avant de faire évoluer les algorithmes de contrôle de la cavitation déjà présents dans mon laboratoire, une recherche exhaustive de l'ensemble des algorithmes de contrôle de la cavitation des MB a été effectuée. Dans cette partie sont présentés tout d'abord les différents régimes de cavitation qui ont été décrits dans la littérature. Seront ensuite présentés les différents indices et références utilisées dans ce domaine pour caractériser la cavitation. Enfin seront présentés les 20 articles utilisant un algorithme de contrôle de la cavitation des microbulles dans une optique de perméabilisation de la BHE. Ce travail de synthèse bibliographique a été publié dans la revue *Physics, medicine and biology* en 2023 (MONDOU et al. 2023).

Une recherche a été effectuée sur PubMed en utilisant les mots-clés suivants : (("blood-brain barrier" OR BBB) AND "cavitation") OR ("stable cavitation" and (monitor OR control)) OR ((microbubbles AND ultrasound AND monitoring AND cavitation) OR ((ultrasound) AND (microbubbles) AND ((cavitation AND monitoring AND focused) OR (cavitation AND focused AND therapy) OR (monitoring AND focused AND therapy)))). Au total, 436 articles ont été trouvés et analysés (Figure 1.9). Après examen de leurs titres et résumés, près de 200 articles ont été exclus car ils ne traitaient pas de mesures de cavitation pour la perméabilisation de la BHE. Certains articles qui utilisaient l'ouverture de la BHE sans surveiller le signal acoustique rétro-diffusé ont également été exclus car ils ne contribuaient pas à cette revue. Les articles restants ont fait l'objet d'un examen approfondi pour évaluer leur pertinence, en excluant ceux qui ne fournissaient pas suffisamment de détails sur leur protocole, leurs méthodes de calcul, ou qui reproduisaient des protocoles déjà décrits ailleurs. Au final, un total de 86 articles portant sur la surveillance et le contrôle de la cavitation, ainsi que sur les émissions non linéaires des microbulles excitées, ont été sélectionnés à partir de cette base de données.

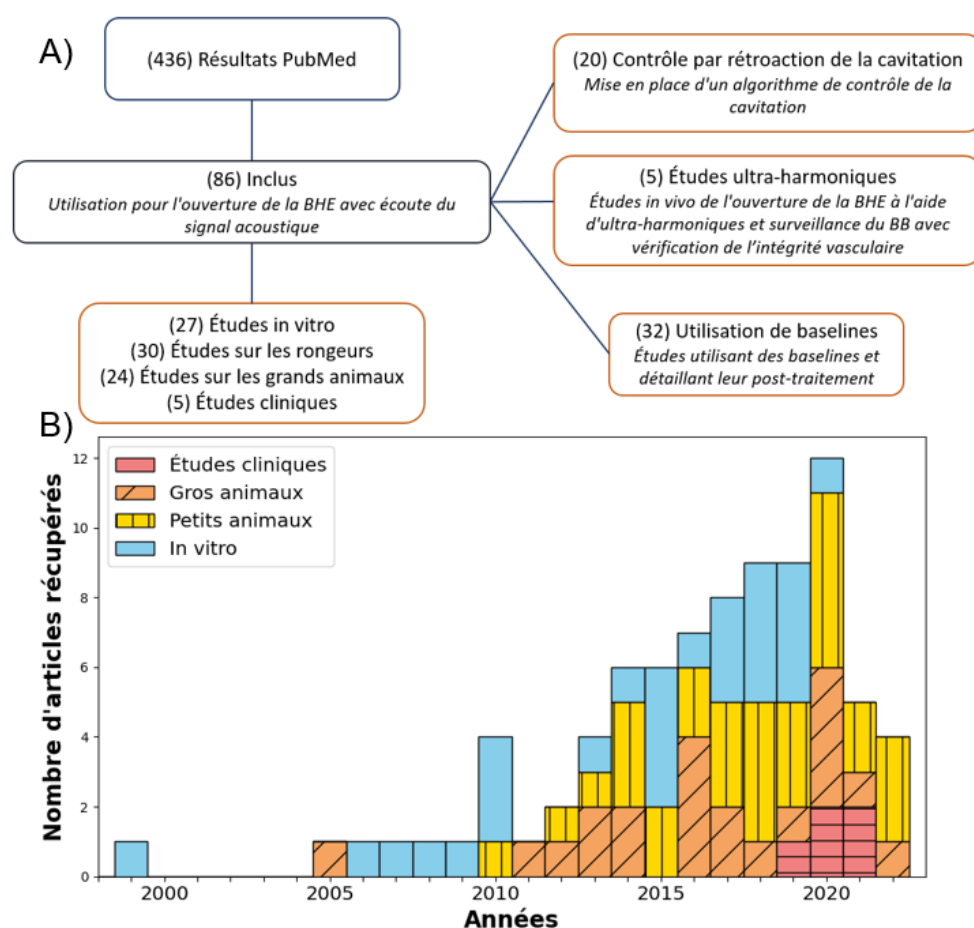


FIGURE 1.9 – A) Schéma de procédé illustrant l'inclusion des articles dans la revue en fonction des résultats de PubMed. Sur le côté droit, le diagramme présente les différentes utilisations des articles inclus dans la revue. B) Graphique montrant le nombre d'articles récupérés et inclus dans la revue par année, démontrant l'intérêt croissant de ce sujet dans la recherche médicale.

1.4.1 Cavitation des microbulles pour perméabiliser la BHE

1.4.1.1 Régimes de cavitation

Des études ont montré que l'augmentation de la pression *in situ* est corrélée à une augmentation de la perméabilisation de la BHE (MCDANNOLD et al. 2008; CHU et al. 2016). Cette perméabilisation n'apparaît qu'à partir d'un certain seuil de pression dépendant de l'espèce animale, du poids et de l'âge, du choix de la fréquence des ultrasons, des caractéristiques des MB, de la concentration des MB, et de la vascularisation dans la région focale. L'augmentation de la perméabilité s'accompagne d'une augmentation de la taille des molécules qui peuvent pénétrer dans le cerveau (H. CHEN et al. 2014). Au-delà d'un 2e seuil de pression, les MB commencent à s'effondrer, ce qui entraîne des phénomènes physiques localement violents pouvant conduire à des lésions vasculaires. Deux régimes de cavitation sont différenciés : la cavitation stable et la cavitation inertielle. En cas de cavitation stable, les oscillations des MB (mécanisme de poussée et de traction) le long des cellules endothéliales induisent une rupture des jonctions serrées et une perméabilisation sans danger de la BHE (MCDANNOLD et al. 2006). Au contraire, la cavitation inertielle est généralement associée à des lésions tissulaires. L'implosion des MB provoque des ondes de choc (LEIGHTON 1994) et des micro-jets (BLAKE et al. 1987). Ces forces sont responsables des dommages causés aux vaisseaux sanguins et aux organes.

Le signal rétro-diffusé des MB peut être détecté et exploité dans les algorithmes de contrôle de la

cavitation en tant que source de rétroaction. Ce signal peut être enregistré par des récepteurs piézo-électriques (EVERBACH et al. 1997). Le régime des oscillations des MB peut alors être déduit de la décomposition spectrale du signal rétro-diffusé (COUSSIOS et al. 2008). Plusieurs réponses en fréquence peuvent être extraites du signal rétro-diffusé : la fondamentale f_0 , ses harmoniques ($nf_0 \mid n \in \mathbb{N}^*$), la sous-harmonique (SH) $\frac{f_0}{2}$ et ses multiples appelés ultra-harmoniques (UH) ($\frac{n+1}{2}f_0 \mid n \in \mathbb{N}^*$) et le bruit large bande. Le bruit large bande peut être défini par l'augmentation du niveau de bruit dans le domaine fréquentiel.

1.4.1.2 Origine des différentes signatures de cavitation

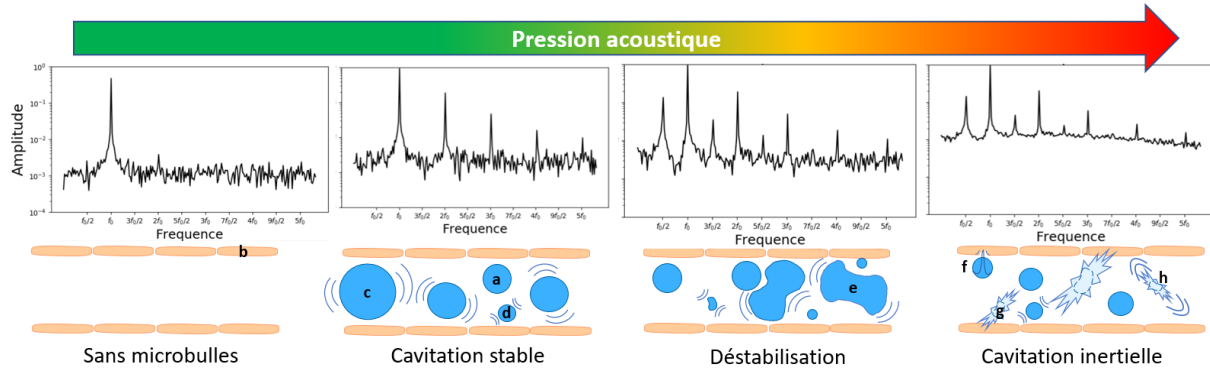


FIGURE 1.10 – État de la cavitation des MB et spectres typiques associés. Les microbulles (a) circulent entre les cellules endothéliales du cerveau (b). La cavitation stable induit un mécanisme de poussée (c) et de traction (d). En cas de déstabilisation, l'enveloppe des MB est déformée (e) ; et la cavitation inertielle induit un microjet (f), une fragmentation (g) et des ondes de choc (h) qui peuvent endommager les capillaires cérébraux.

Les MB sont composées d'un noyau gazeux, principalement constitué d'un gaz inerte, entouré d'une enveloppe qui protège le gaz de la diffusion. Les MB typiques ont un diamètre compris entre 0,5 et 10 μm et circulent pendant quelques minutes dans le système sanguin après une injection intraveineuse. Sous l'effet des ondes ultrasonores sinusoïdales, les MB vont vibrer en alternant des phases de compression/dilatation. Lorsque les MB subissent des oscillations d'amplitude modérées, le signal rétro-diffusé est uniquement composé des composantes fondamentale, harmoniques, sous-harmonique et ultra-harmoniques du signal transmis. Sous l'exposition aux ultrasons, l'enveloppe se déstabilise, se courbe, perd ses lipides ou même diffuse le gaz, ce qui augmente la non-linéarité de la réponse des MB (LEIGHTON 1994; SHI et al. 2000).

À mesure que la pression acoustique augmente, les oscillations des MB s'intensifient, de même que les émissions non linéaires. Ces modifications des propriétés de l'enveloppe peuvent être observées par l'augmentation des composantes sous-harmonique et ultra-harmonique (Figure 1.10). De plus, les émissions sous-harmoniques peuvent provenir de divers mécanismes, notamment à l'approche du régime d'oscillation chaotique (PARLITZ et al. 1990; LAUTERBORN et al. 1981; LAUTERBORN et al. 2010), et dans le cas de l'excitation d'une bulle ayant un rayon d'équilibre deux fois supérieur au rayon de résonance.

À mesure que la pression continue d'augmenter, les MB finiront par s'effondrer, émettant un bruit large bande (W.-S. CHEN et al. 2003; EVERBACH et al. 1997; YASUI 2023). Les observations suggèrent que l'effondrement des MB génère des émissions de choc périodiques au sein de nuages de cavitation entraînés acoustiquement, qui émettent également la composante sous-harmonique (JOHNSTON et al. 2014). En effet, lorsqu'une MB s'effondre, les forces de pression générées amènent les MB voisines à s'effondrer également (APFEL 1982; DELALANDE et al. 2013; LEIGHTON 1994). Cette séquence d'événements se produit très rapidement et émet un signal impulsif caractérisé, dans le domaine fréquentiel, par une émission à très large bande. Les interactions entre les MB et les parois solides

influencent le transfert de chaleur et de masse, la dynamique des bulles et les schémas d'écoulement du fluide, ce qui entraîne des altérations dans le comportement global des MB dans le champ libre (KLASEBOER et al. 2004).

Il convient de noter que, bien que ces phénomènes aient été observés et étudiés, il existe d'autres phénomènes issus des interactions bulles/ultrasons et bulles/bulles encore peu comprises en raison de la physique complexe du comportement des bulles (LAUTERBORN et al. 2010). Il est également à souligner que le signal rétro-diffusé correspond à la réponse moyennée d'un nuage de MB polydisperses oscillant dans différents régimes. Plusieurs des phénomènes évoqués ci-dessus se produisent donc simultanément.

1.4.1.3 Technologies des transducteurs de mesure de la cavitation

Pour mesurer la cavitation, des surfaces piézoélectriques du même type que celles utilisées pour émettre les ultrasons sont utilisées. Ces surfaces ne sont pas alimentées et la tension à leur borne permettra d'imager la force de pression appliquée sur ces dernières, ce sont des détecteurs passifs de cavitation (PCD). Différents types de transducteurs sont actuellement utilisés pour les PCD et sont classés en fonction du nombre d'éléments de réception, du rapport entre la fréquence de réception et la fréquence d'émission, des technologies de transducteurs utilisées (tableau 1.3) ainsi que selon la forme et le positionnement des transducteurs pendant la sonication.

Matériaux	Sensibilité	Bande passante
Piézocomposite (CHAPELON et al. 2000)	Élevée	Petite
PZT (Q. Q. ZHANG et al. 2006)	Moyenne	Moyenne
PVDF (FOSTER et al. 2000)	Faible	Très large
CMUT (DAUBA et al. 2020b)	Moyenne	Large

TABLEAU 1.3 – Caractéristiques de bande passante et de sensibilité des différentes technologies de transducteurs utilisées pour la surveillance de l'activité de cavitation

Les matériaux couramment utilisés sont les ferroélectriques (titanate de zirconate de plomb, communément abrégé en PZT) et les polymères (fluorure de polyvinylidène, abrégé en PVDF). Bien qu'ils soient plus complexes à produire, les piézocomposites présentent un coefficient de couplage électromécanique plus élevé que les céramiques PZT de base, ce qui se traduit par un meilleur rapport signal/bruit et une meilleure détection du signal. Récemment, les transducteurs ultrasonores capacitifs micro-usinés (CMUT) ont montré un potentiel intéressant pour la PCD *ex vivo* en offrant un compromis entre la sensibilité et la largeur de bande. Les transducteurs (émetteur et récepteur) sont placés sur le sommet du crâne de l'animal pour les rongeurs. Les rongeurs sont placés en décubitus dorsal ou ventral en fonction de la disposition du dispositif ultrasonore. Pour les macaques, les transducteurs sont placés à la normale du crâne et positionnés de manière à permettre un ciblage optimal des sections cérébrales sélectionnées. Les régions cérébrales les plus fréquemment observées sont les suivantes : putamen, thalamus, striatum, hippocampe. Il s'agit de régions cérébrales appariées qui permettent de comparer la différence de signal entre les deux hémisphères du cerveau.

Les transducteurs utilisés pour le contrôle ou la surveillance de la cavitation sont pour la plupart des mono-éléments (tableau 1.4). Les transducteurs à élément unique permettent un traitement simplifié du signal. Certaines études utilisent des transducteurs multi-éléments comportant jusqu'à 256 éléments. La multiplicité des éléments permet d'effectuer une cartographie acoustique passive (Passive Acoustic Mapping : PAM) et d'obtenir des informations sur la localisation de l'activité de cavitation. Le transducteur PCD peut être placé à l'intérieur de l'émetteur pour faire coïncider les axes de propagation (21 études) ou à l'extérieur autour de l'émetteur (23 études) (cf figure 1.11). Les élé-

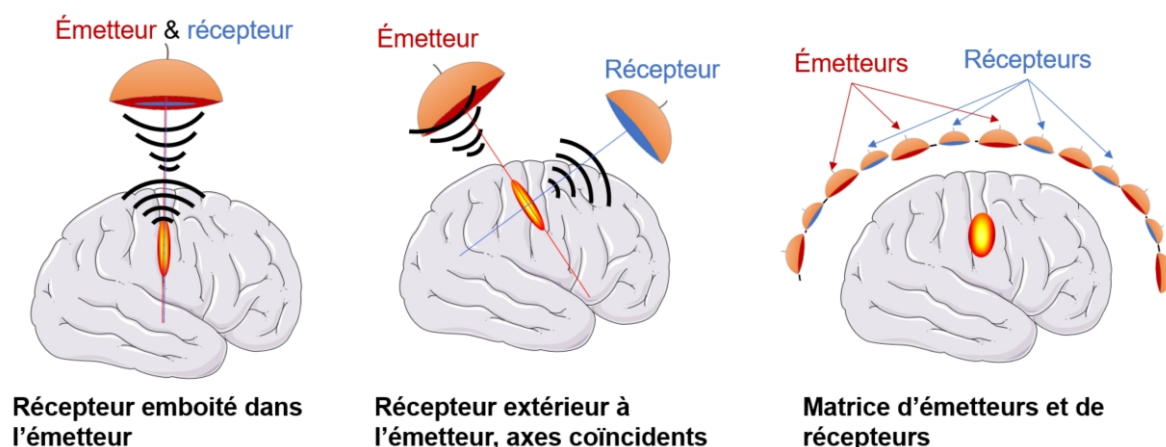


FIGURE 1.11 – Figure présentant les différentes possibilités de positionnement relatifs de l'émetteur et du récepteur. La première option est d'encastrier le récepteur au centre de l'émetteur, assurant ainsi la bonne orientation du récepteur. Il est aussi possible d'avoir un récepteur distinct de l'émetteur, il est toutefois crucial de garantir une bonne orientation en ciblant la zone focale de l'émetteur. Enfin dans le cas de matrice d'émission composée de nombreux émetteurs entourant le crâne, les récepteurs sont aussi positionnés de part et d'autre de la zone ciblée.

ments peuvent également être placés de manière à former une demi-sphère entourant le crâne de l'animal (HUANG et al. 2017; JONES et al. 2018; JONES et al. 2020).

La figure 1.12 montre les rapports entre la fréquence centrale du récepteur et la fréquence de l'émetteur pendant le contrôle de la cavitation. Cette figure décrit certains choix technologiques effectués par les équipes de recherche. De nombreuses études ont un rapport proche de 1 avec une petite largeur de bande. Cela concerne principalement les équipes menant des recherches sur les animaux et qui s'attendent à observer les UH qui traversent le mieux le crâne. Les études dont les rapports sont compris entre 2 et 5 surveillent généralement les 2 ou 3 premières harmoniques ou UH. Les études dont les rapports sont compris entre 6 et 10 utilisent généralement un nombre d'harmoniques ou d'UH supérieur à 8 ou 10. Il est intéressant de noter que la réponse non linéaire à des harmoniques plus élevées peut être enregistrée même pour des expériences sur des animaux de grande taille (figure 1.12). Enfin, plusieurs études utilisent des hydrophones à large bande dont les fréquences centrales sont très élevées en raison de leur très grande largeur de bande.

1.4.1.4 Cartographie de cavitation ou PAM

Lorsque le transducteur en réception possède au moins 3 éléments, il est possible de réaliser une localisation de la cavitation par triangulation grâce au PAM. Il s'agit d'une méthode de suivi en temps réel des traitements par ultrasons thérapeutiques tels que l'ablation par HIFU (ZHU et al. 2017; SMITH et al. 2020) et la délivrance ciblée de médicaments par ultrasons (J. J. CHOI et al. 2011; PATEL et al. 2018; BAE et al. 2023). Cette méthode nécessite l'utilisation de sondes diagnostiques matricielles 2D ou de sondes 1,5D (WILDES et al. 1997). Contrairement aux méthodes conventionnelles, la PAM se concentre sur la cartographie spatiale des émissions acoustiques résultant de l'activité de cavitation stable ou inertielle des microbulles (VIGNON et al. 2013).

Dans la PAM, les bulles de cavitation agissent comme des sources acoustiques à large bande émettant des ondes de pression sphériques détectables par un récepteur acoustique. Lorsque la cavitation se produit, ces bulles émettent des ondes de pression qui sont mesurées par un réseau de capteurs (cf figure 1.13). La PAM utilise une matrice de récepteurs pour calculer les différences de temps de

Nombre d'éléments du PCD	Nombre d'études	Études
1	39	(H. CHEN et al. 2014; BING et al. 2018; FAN et al. 2014; KAMIMURA et al. 2019; LYNCH et al. 2021; MARQUET et al. 2014; S.-Y. WU et al. 2014; S. SUN et al. 2018; S.-Y. WU et al. 2018b; T. SUN et al. 2017; SIERRA et al. 2017; ÇAVUŞOĞLU et al. 2019; CONSTANS et al. 2020; POULIOPOULOS et al. 2020a; POULIOPOULOS et al. 2020b; PASCAL et al. 2020; Yaoheng YANG et al. 2019; S.-K. WU et al. 2017; FAN et al. 2015; MCMAHON et al. 2020; Y. LIN et al. 2017; O'REILLY et al. 2010; CHENG et al. 2019; NOVELL et al. 2020; TSAI et al. 2016; Ji et al. 2021; H. XU et al. 2019; S. XU et al. 2019; TUNG et al. 2011a; DESJOUY et al. 2015; DESJOUY et al. 2013; BOULOS et al. 2018; S. ZHANG et al. 2017; CHU et al. 2016; TUNG et al. 2011b)
2	1	(HUANG et al. 2017)
4	1	(S.-Y. WU et al. 2018a)
10	1	(MCDANNOLD et al. 2006)
28	1	(H.-C. LIN et al. 2020)
64	1	(POULIOPOULOS et al. 2018)
Jusqu'à 128	6	(KAMIMURA et al. 2020; O'REILLY et al. 2014; CHITNIS et al. 2019; ARVANITIS et al. 2013; BURGESS et al. 2018; POULIOPOULOS et al. 2016)
Jusqu'à 256	3	(JONES et al. 2018; PATEL et al. 2018; JONES et al. 2020)

TABLEAU 1.4 – Énumération du nombre d'éléments des transducteurs utilisés pour la mesure de la cavitation.

vol des événements de cavitation. Cette information permet la construction de cartes d'intensité des sources de cavitation (cf figure 1.14). Au lieu de localiser des sources individuelles, la PAM vise à cartographier la distribution d'intensité de l'activité de cavitation sur une région.

La reconstruction des faisceaux ultrasonores consiste au traitement par décalage et somme des signaux provenant des différents éléments de la matrice. La carte d'intensité $I(x, y, z)$ des sources de cavitation est obtenue par la méthode d'acoustique d'exposition temporelle (time exposure acoustics : TEA). Le signal rétropropagé $Hi(x, y, z, t)$ de chaque élément du réseau est utilisé pour calculer la carte d'intensité de la source.

La résolution axiale dépend principalement de la taille de l'ouverture de réception et est influencée par l'emplacement et la fréquence de la source. Les résultats expérimentaux montrent que la PAM peut atteindre des résolutions axiales de quelques millimètres (GYÖNGY et al. 2010; O'REILLY et al. 2014). Selon la résolution et la taille de la carte voulue, les temps de calculs peuvent devenir conséquents (KAMIMURA et al. 2020).

La PAM présente des avantages par rapport aux méthodes de contrôle existantes pour la thérapie par ultrasons. Elle est économique, offre des taux d'images élevés (ce qui la différencie de l'IRM) et est plus sensible pour détecter la cavitation (par rapport à l'imagerie en mode B standard). Elle est utilisée en temps réel pendant le traitement par ultrasons sans nécessiter le rajout d'une surcouche d'imagerie. De plus les capteurs utilisés peuvent très facilement s'intégrer avec ceux utilisés en émission. Cependant, des défis subsistent, notamment l'adaptation de la technique aux tissus hétérogènes, la résolution des effets d'aberration causés par le chauffage et la cavitation, l'amélioration de la résolu-

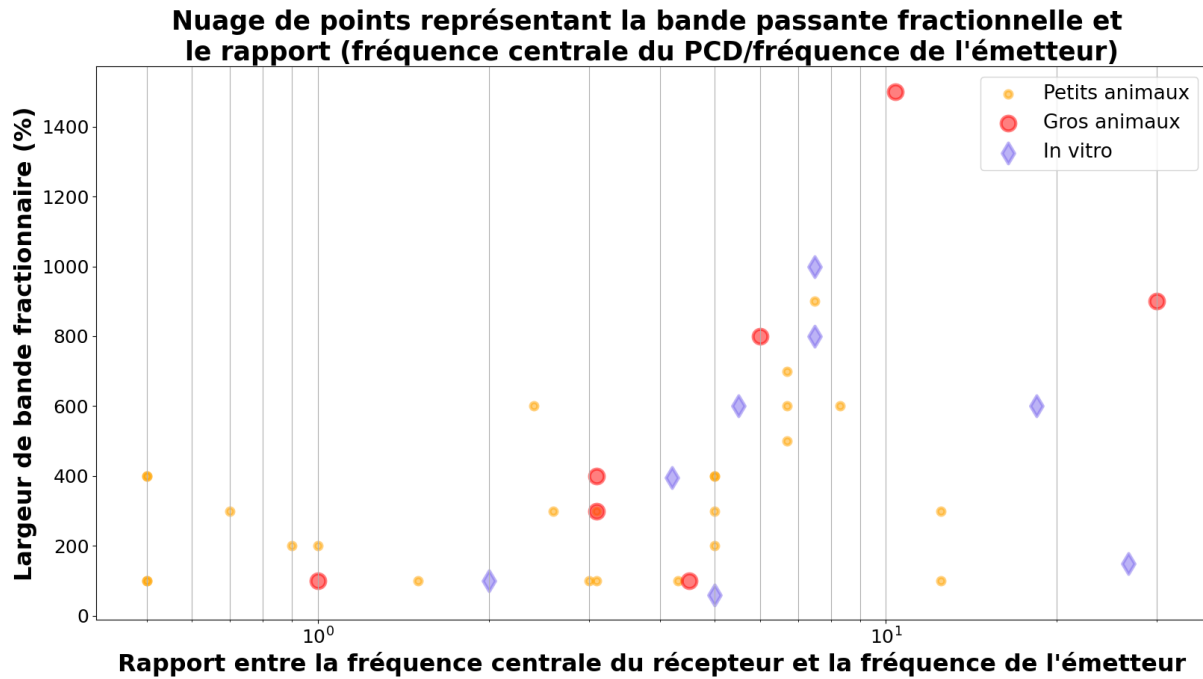


FIGURE 1.12 – Nuage de points représentant sur l'axe x le rapport entre la fréquence centrale du PCD et la fréquence émise. L'axe des y représente la largeur de bande spectrale mesurée divisée par la fréquence émise.

tion axiale par le biais d'algorithmes d'imagerie plus complexes (LYKA et al. 2018; BOULOS et al. 2018) et le temps de calcul qui augmente dès que les régions d'intérêt sont conséquentes.

1.4.1.5 Les FPGA, une électronique permettant un contrôle ultra-rapide

Les Field-Programmable Gate Arrays (FPGA), ou réseaux de portes programmables, sont des dispositifs électroniques qui ont révolutionné le domaine de l'électronique numérique. Ils sont généralement opposés aux circuits intégrés traditionnels dont les fonctionnalités sont figées à leur fabrication, les FPGA sont des composants reconfigurables, c'est à dire qu'il est possible de changer leur câblage interne à souhait et selon les besoins du concepteur.

Les FPGA sont constitués de blocs logiques programmables disposés dans une matrice, et de connexions configurables qui permettent de créer les assemblages de blocs logiques voulu. Cette capacité unique offre une adaptabilité exceptionnelle, permettant aux FPGA d'être utilisés dans une grande variété d'applications en particulier tous les domaines où des prototypes sont réalisés.

Les FPGA et les circuits intégrés sont 2 solutions permettant de réaliser un grand nombre d'opérations numériques. Ils sont de plus reliés à des convertisseurs analogique-numérique (CAN) leur permettant d'interagir avec différents capteurs. Ils sont capables d'interagir beaucoup plus rapidement avec différents bus de données que le sont les ordinateurs. Ils sont donc majoritairement privilégiés aux logiciels pour des applications nécessitant une complexité limitée, une fréquence d'exécution maximale et des interactions avec plusieurs périphériques.

La programmation des FPGA peut être complexe et exigeante. Elle requiert une maîtrise des langages de description matérielle (HDL) tels que le VHDL et le Verilog. Il s'agit de langages peu courants et peu utilisés. Il existe heureusement la possibilité d'utiliser le langage graphique LabVIEW de National Instrument® pour programmer du matériel FPGA.

Cette difficulté de programmation ainsi que le coût d'acquisition rendent cette technologie peut utiliser pour dans le domaine des algorithmes de contrôle de la cavitation. Quelques équipes de recherche les ont employé mais il s'agit d'une minorité (DESJOUY et al. 2013; DESJOUY et al. 2015; CORNU et al. 2018). Ces algorithmes seront détaillés dans la partie 1.4.2.

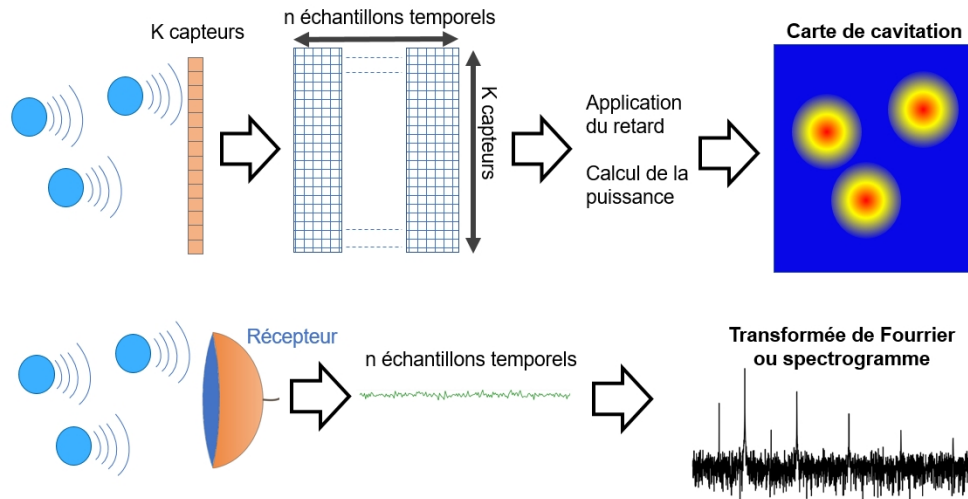


FIGURE 1.13 – Schéma présentant le fonctionnement de la cartographie de cavitation où un retard est appliqué aux différents signaux collectés pour créer une carte de puissance de l'indice voulu (harmoniques, UH, BB). Pour le PCD, le signal capté correspond à la somme des signaux provenant des différentes bulles. On peut à partir de ces données connaître l'évolution de la cavitation au cours du temps grâce à chaque indice.

1.4.1.6 Indices de cavitation

L'indice le plus couramment utilisé pour caractériser la cavitation inertielle est basé sur la caractérisation du bruit large bande. La caractérisation de la cavitation stable est moins consensuelle et est caractérisée par un mélange des composantes harmoniques et ultra-harmoniques (figure 1.15). Ici, la chronologie est importante, car les premières études qui ont mis en place une surveillance de la cavitation utilisaient principalement des harmoniques, alors que l'utilisation d'ultra-harmoniques a été signalée plus récemment.

Il est important de noter que certaines études contrôlent la composante SH pour représenter la cavitation inertielle. D'un point de vue physique, la SH est générée pendant les déformations concentriques MB et les composantes UH apparaissent comme des harmoniques de ce sous-multiple de f_0 (BIAGI et al. 2007). Certaines études se sont concentrées sur des dispositifs conçus pour être sensibles à la composante SH, principalement pour des raisons d'atténuation crânienne plus faible à $f_0/2$. Les études utilisant le PCD pour la surveillance de la cavitation utilisent divers indices calculés à partir de certaines bandes de fréquences entourant les harmoniques et les fréquences ultra-harmoniques. La valeur calculée est obtenue en intégrant le spectre sur la bande de fréquence ou en détectant une valeur maximale dans cette bande. La largeur de ces bandes de fréquences caractérise la sensibilité et la spécificité des indices associés. Et la cavitation inertielle est calculée en intégrant le signal sur une fenêtre spectrale entre les harmoniques et les ultra-harmoniques (Figure 1.16).

Parmi les études qui contrôlent les harmoniques, $3f_0$ et $4f_0$ sont les composantes les plus fréquemment contrôlées (voir figure 1.17), suivies par $5f_0$ et $2f_0$. Les harmoniques plus élevées sont moins utilisées, principalement en raison de la restriction de la bande passante du PCD et/ou de l'atténuation du crâne. En ce qui concerne les UH, les composantes les plus fréquemment utilisées sont $f_0/2$ et $5f_0/2$, suivies de $7f_0/2$ et $3f_0/2$. Les composantes UH plus élevées sont moins utilisées pour les mêmes raisons (voir figure 1.17). Les composantes UH et harmoniques étudiées sont généralement proches de $3f_0$ ou $4f_0$ car la fréquence du transducteur récepteur est généralement comprise entre 1 et 5 fois la fréquence de l'émetteur (voir figure 1.17). L'harmonique $2f_0$ est généralement évitée sans précision de la part des auteurs, de même que l'UH $3f_0/2$. Cependant, d'après mon expérience, il ar-

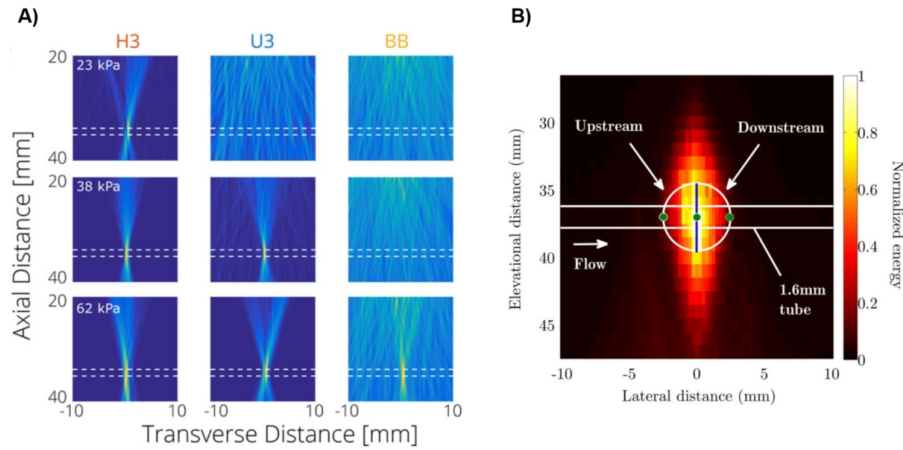


FIGURE 1.14 – Images obtenues grâce à la cartographie de cavitation. L'image A est tirée de (PATEL *et al.* 2018), la figure B provient de (POULIOPOULOS *et al.* 2016). On peut voir sur l'image A les différentes cartographies que l'on peut obtenir selon les composantes fréquentielles que l'on choisit d'utiliser.

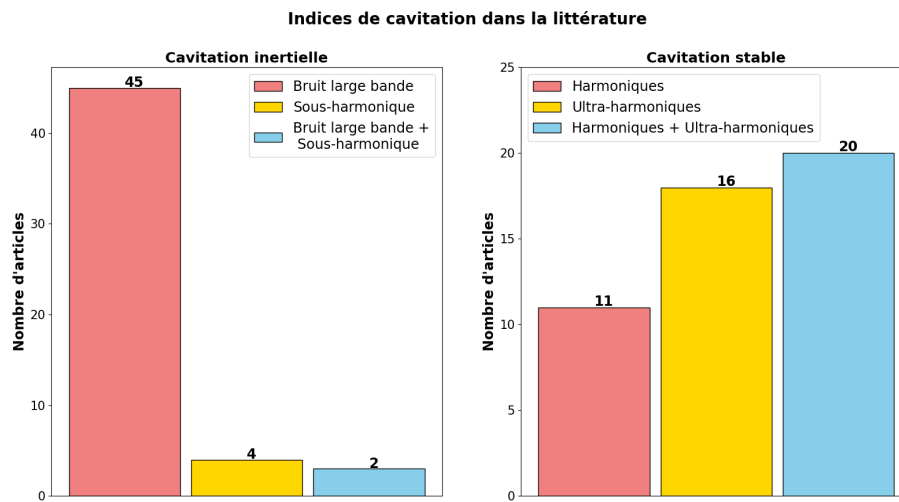


FIGURE 1.15 – Différents types de bandes de fréquences utilisées pour calculer les indices représentant la cavitation stable et inertielle dans la littérature.

rive que l'élargissement fréquentiel du pic du fondamental soit tellement important qu'il contribue à faire augmenter ces indices situés trop proches du fondamental.

1.4.1.7 Signaux de référence

Afin de permettre une surveillance plus précise de la cavitation, les spectres de référence sont acquis selon différentes procédures. Les spectres correspondant au signal rétro-diffusé par le tissu uniquement (c'est-à-dire avant l'administration des MB) sont enregistrés. Parmi toutes les études examinées, la plupart (63%) utilisent une telle acquisition pour obtenir ce signal de référence. Ce signal de référence est ensuite comparé au signal obtenu pendant le traitement pour extraire la signature acoustique liée aux seules MB. Différentes méthodes d'acquisition peuvent être adoptées. La grande majorité des études mesurent le signal de référence en appliquant une pression acoustique similaire à celle utilisée pour le traitement (sans les MB). Dans certaines études, l'amplitude de la référence est inférieure à l'amplitude du tir de traitement.

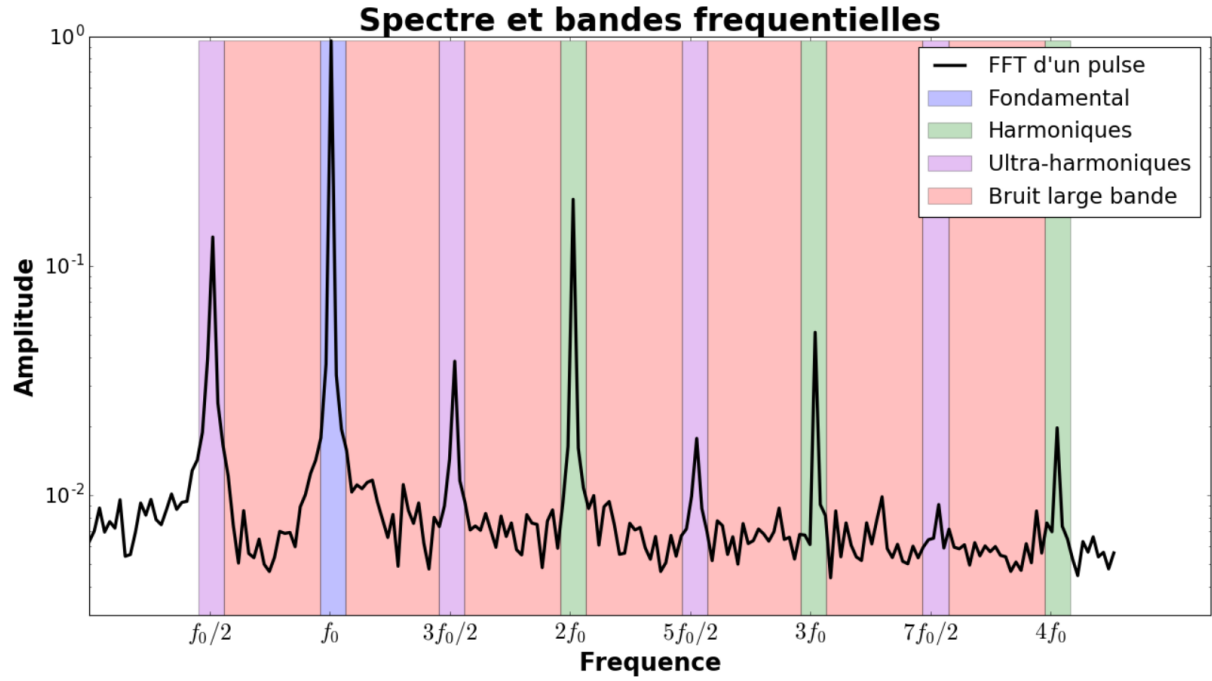


FIGURE 1.16 – Représentation des bandes de fréquence utilisées pour calculer les indices sur un spectre de fréquence du signal rétro-diffusé obtenus avec une transformée de Fourier rapide (FFT)

$$\text{Indice}_{\text{soustrait}} = \text{Indice}_{\text{traitement}} - \text{Indice}_{\text{référence}} \quad (1.6)$$

$$\text{Indice}_{\text{divisé}} = \frac{\text{Indice}_{\text{traitement}}}{\text{Indice}_{\text{référence}}} \quad (1.7)$$

$$\text{Indice}_{\text{combiné}} = \frac{\text{Indice}_{\text{traitement}} - \text{Indice}_{\text{référence}}}{\text{Indice}_{\text{référence}}} \quad (1.8)$$

Pour les études permettant la modulation de la pression au cours du traitement, une large gamme d'amplitude est balayée afin de déduire un signal de référence associé à chaque valeur d'amplitude. Cette référence est directement utilisée pour définir les seuils utilisés dans les algorithmes de contrôle de la cavitation (17%). Par exemple, [H. CHEN et al. 2014](#), ont obtenu le niveau de bruit moyen et son écart-type par rapport à la référence pour déterminer le signal renvoyé par l'environnement. Une autre option consiste à utiliser cette référence pour normaliser les données (non-logarithmiques) en soustrayant (1.6), en divisant (1.7), ou les deux (1.8), la valeur des indices de cavitation calculés sur le spectre avec MB par la valeur de référence (Figure 1.18). Il convient également de noter que certaines études traitent (c'est-à-dire divisent ou soustraient) ensemble les spectres de référence et de traitement avant de calculer les indices sur le spectre final. Bien que les deux approches ne soient pas équivalentes, la plupart des articles ne précisent pas si la comparaison est effectuée sur les spectres ou sur les indices.

Outre la mise en évidence des non-linéarités provenant des MB, l'utilisation de ces acquisitions de référence permet la comparaison entre les signaux obtenus lors d'expériences sur des sujets différents ou de sessions répétées sur un même sujet. Une méthode efficace de comparaison implique l'utilisation de l'augmentation relative par rapport à un signal de référence. Ce signal de référence est soigneusement sélectionné pour que l'augmentation relative reflète principalement l'état des micro-bulles. Toute variation due aux propriétés du milieu de propagation (comme la réflexion et l'absorption) est observée dans le signal de référence et est partiellement corrigée lors de la normalisation avec ces données de référence. Cette approche rend la consigne aussi résistante que possible aux variations inter-sujets.

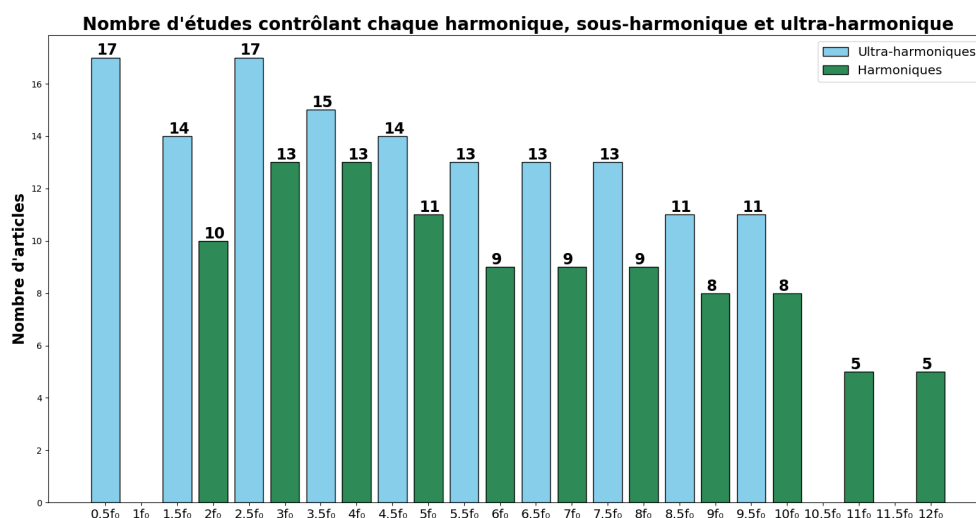


FIGURE 1.17 – Nombre d'études portant sur les différentes harmoniques et ultra-harmoniques.

1.4.1.8 Composants ultra-harmoniques et sous-harmoniques et évaluation de la sécurité

Les composantes ultra-harmoniques (UH) sont un point de divergence dans la littérature. Dans certaines études, l'apparition des UH est considérée comme synonyme de cavitation stable, et par conséquent, la détection des composantes UH est encouragée pour obtenir une ouverture efficace de la BHE (Bing *et al.* 2018). Cependant, il est possible de perturber efficacement la BHE même sans UH (ou du moins sans UH détectable), comme le montre l'étude de S.-Y. Wu *et al.* 2014. Dans d'autres études, l'apparition des composantes UH est considérée comme indicative d'une possible cavitation inertielle et de dommages tissulaires (O'REILLY *et al.* 2012). Il convient de noter qu'il n'y a pas de telle controverse pour l'interprétation des autres contenus spectraux (harmoniques et bruit large bande).

Toutefois en particulier dans le domaine de la sonoporation, il a été observé *in vitro* et *ex vivo* que la cavitation inertielle contribue de façon importante à la perméabilisation de cellules endothéliales sans dommages associés (KARTHIKESH *et al.* 2021; BAZAN-PEREGRINO *et al.* 2013; ARVANITIS *et al.* 2011). Malgré ces articles portant sur la sonoporation, pour la BHE, la cavitation inertielle est synonyme de dommages vasculaires.

Si l'apparition des composantes UH a été bien décrite théoriquement (LAUTERBORN *et al.* 2010) et dans des études *in vitro* (JOHNSTON *et al.* 2014), les expériences *in vivo* présentent des défis particuliers. En effet, les états des MB polydisperses peuvent varier considérablement. La taille, la position et l'orientation des capillaires varient également. Cette complexité rend les simulations et la modélisation extrêmement difficiles. Par conséquent, dans cette sous-section, les résultats expérimentaux *in vivo* sont rapportés pour fournir un aperçu de la littérature à ce sujet.

Une analyse bibliographique a été réalisée pour identifier tous les articles effectuant des ouvertures de BHE et contrôlant les indices UH/SH et le bruit large bande ainsi que les traces de lésion tissulaire (par IRM ou histologie). L'IRM permet d'observer les œdèmes (hyperintense en pondération T2) et les hémorragies (hypointense en pondération T2*). Avant 2014, aucune étude n'a utilisé les UH dans le cadre défini précédemment. Depuis 2014, seuls 5 articles évalués par des pairs (BING *et al.* 2018; FAN *et al.* 2014; JONES *et al.* 2018; KAMIMURA *et al.* 2019; S.-Y. WU *et al.* 2018b) répondent aux exigences définies précédemment. Un total de 7 cas est identifié en raison de la prise en compte de plusieurs seuils de cavitation dans certaines études. Tous ces protocoles aboutissent à une ouverture réussie de la BHE. Pour chaque étude, le tableau 1.5 compare les seuils de cavitation UH/SH (c'est-à-dire l'augmentation des composantes UH par rapport à la référence) et la présence de dommages tels que l'hémorragie ou l'œdème à l'aide de l'IRM ou la présence de globules rouges extravasés (ERBC) à l'aide de l'histologie. Cette augmentation correspond souvent à l'émergence d'UH à partir du bruit

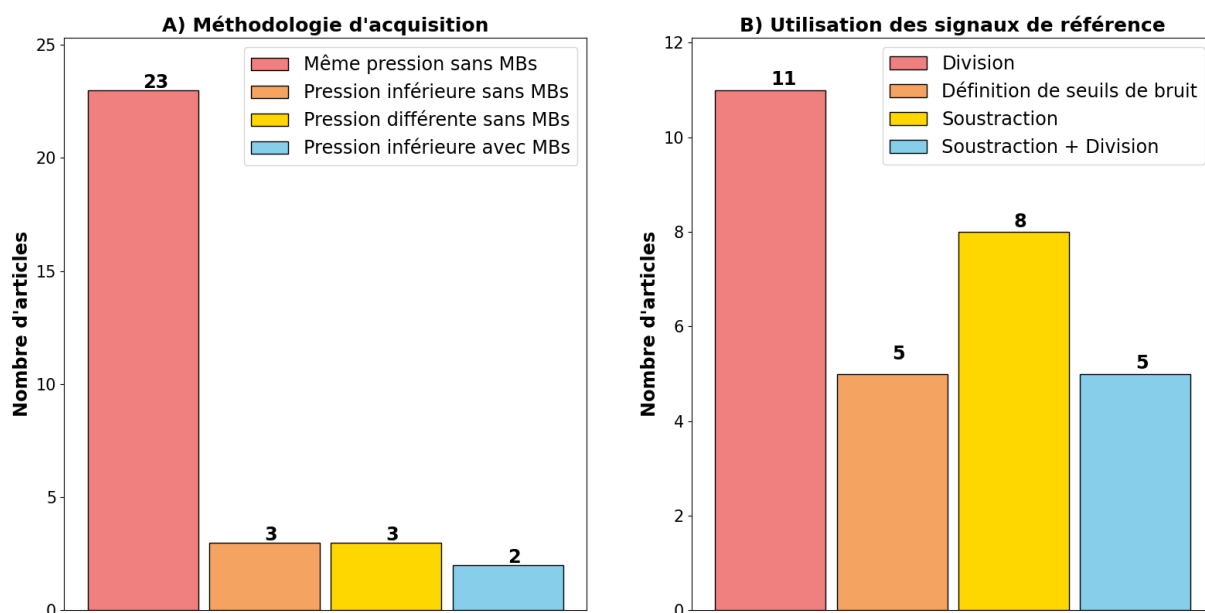


FIGURE 1.18 – Graphiques représentant les différents processus utilisés pour obtenir le signal de référence (A) et leur utilisation (B).

de fond, car les UH ne sont pas présents ou très faible dans le signala référence. La comparaison directe entre ces études reste difficile car la détection de la cavitation est intrinsèquement associée à la sensibilité du ou des capteurs PCD utilisés.

Références	Augmentation de l'UH par rapport à l'acquisition de référence	Œdèmes	Hémorragie	ERBC	Nombre d'animaux
#1 (FAN et al. 2014)	100%		Non	Peu	12 rats
(FAN et al. 2014) #2	200%		Non	Oui	4 rats
(JONES et al. 2018)	700%	Peu	Non	Non	5 lapins
#1 (KAMIMURA et al. 2019)	60%	Non	Non		2 macaques
(KAMIMURA et al. 2019) #2	180%	Non	Non		1 macaque
(BING et al. 2018)	900%			Non	26 rats
(S.-Y. WU et al. 2018b)	45%			Non	3 rats

TABEAU 1.5 – Résultats des études d'ouverture de la BHE qui mesurent les composantes ultra-harmoniques tout en maintenant le bruit large bande à un faible niveau ($< 2\text{dB}$). Résultats radiologiques et histologiques, type et nombre d'animaux utilisés.

La découverte de lésions vasculaires dans les études où des composantes UH ont été détectées est très inhabituelle si l'augmentation des UH par rapport à la référence reste faible (c'est-à-dire inférieure à 200 %). L'augmentation significative des UH dans l'étude de Bing *et al.* (Table 1.5) peut provenir d'une meilleure sensibilité de leur équipement par rapport à celui utilisé par les autres équipes de recherche. Aucune étude n'a rapporté simultanément un niveau élevé des UH et un faible niveau de bruit large bande. Les UH peuvent donc être considérés comme un précurseur du bruit large bande et de la cavitation inertielle dans les expériences d'ouverture de la BHE, comme le prévoient les approches théoriques. En effet, l'émission de composantes UH ne signifie pas nécessairement qu'une lésion vasculaire se produira, mais plutôt que la cavitation inertielle est très susceptible de se produire si la pression ultrasonore est maintenue constante ou augmentée davantage.

1.4.2 Contrôle par rétroaction de la cavitation dans la littérature

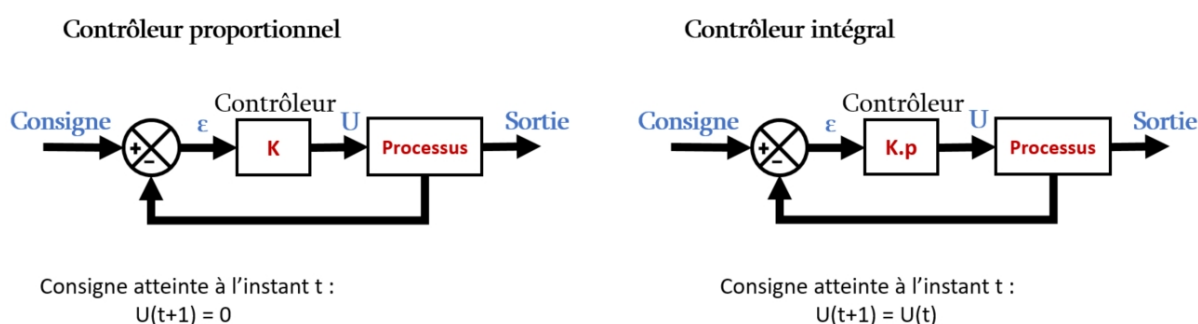


FIGURE 1.19 – Schéma rappelant le principe des contrôleurs proportionnels et intégraux. Le contrôleur proportionnel est utilisé pour des phénomènes où une inertie est suffisante pour maintenir la sortie à une valeur proche de la consigne (moteur électrique). Un correcteur proportionnel est utilisé pour les processus qui s'arrêtent rapidement sans excitation, la cavitation en fait partie.

Nous avons précédemment détaillé les différents indices de cavitation associés aux régimes de cavitation. La majorité des études de perméabilisation de la BHE effectuent des ouvertures avec une pression acoustique fixe (ainsi que d'autres paramètres de sonication) généralement prédéterminée pour obtenir une perméabilisation maximale tout en produisant des dommages vasculaires minimaux. Les paramètres acoustiques sont généralement conçus et personnalisés en fonction de l'espèce animale, de l'âge et de la masse corporelle. Au contraire, le contrôle de cavitation permet d'adapter l'amplitude de la pression acoustique à l'animal et au comportement dynamique des MB pendant l'excitation ultrasonore.

Dix-neuf articles mettant en œuvre le contrôle de la cavitation ont été trouvés dans la littérature, 15 sont des études *in vivo*, quatre sont des études *in vitro*. Certains d'entre eux étaient axés sur l'algorithme de contrôle et le traitement du signal, tandis que d'autres étudiaient les premiers résultats *in vivo* du contrôle par rétroaction. Deux articles précurseurs ne seront pas décrits en détail, car ils portent sur le contrôle de la cavitation inertielle pendant l'ablation par ultrasons focalisés de haute intensité (HOCKHAM *et al.* 2010) et sur une méthode de contrôle de la cavitation nécessitant une intervention manuelle (ARVANITIS *et al.* 2012). Le tableau 1.6 résume les différentes études présentées avec leurs principales caractéristiques. La figure 1.19 rappelle les différences entre un contrôleur intégral et proportionnel.

Étude	Modèle	MB/ Concen- tration /Injection	Fréquence de boucle de contrôle	Stratégie de contrôle	Contrôle de la pres- sion	Fin de sonication	Utilisation des signaux de référence	Contrôle de la sécurité
(DESJOUY et al. 2013)	<i>in vitro</i>	Endogènes/ N/A / N/A	3,3 kHz	Intégral	Boucle fer- mée (BB)	Durée fixe	Non	Non
(DESJOUY et al. 2015)	<i>in vitro</i>	SonoVue/ $2,5 \times 10^6$ MB/mL /N/A	3,3 kHz Hz	Intégral	Boucle fer- mée (BB)	Durée fixe	Non	Non
(CORNU et al. 2018)	<i>in vitro</i>	Endogènes/ N/A / N/A	4,0 kHz	Intégral	Boucle fer- mée (SH)	Durée fixe	Non	Non
(PATEL et al. 2018)	<i>in vitro</i>	Optison/ 6×10^3 MB/mL /infusion	2 Hz	Intégral	Boucle fer- mée (UH)	Durée fixe	Non	Pas fixes en pression (BB)
(TSAI et al. 2016)	rats	SonoVue/ 100 μ L/kg /bolus	1 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte	SH dose	Oui	Arrêt selon la dose de SH
(HUANG et al. 2017)	cochons	Definity/ 10-20 μ L/kg /bolus	33 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte	SH événements	Oui	Arrêt selon la dose de SH
(JI et al. 2021)	souris	Definity/ 100 μ L/kg /bolus	2 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte	Dose harmonique	Oui	Non
(O'REILLY et al. 2012)	rats	Definity/ 20 μ L/kg /infusion	2 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte (UH)	Durée fixe	Oui	Non
(JONES et al. 2018)	lapins	Definity/ 200 μ L/kg /infusion	11.8 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte (BB)	Durée fixe	Oui	Non
(McMAHON et al. 2020)	rats	BG8774, Definity, MSB4/ 500 μ L/kg /infusion	2 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte (UH)	Durée fixe	Oui	Non
(LYNCH et al. 2021)	souris	Definity/ 20 μ L/kg /bolus	1 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte (UH)	Durée fixe	Non	Non
(KAMIMURA et al. 2019)	macaques	SonoVue/ 300 μ L/kg /bolus	5 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte (BB)	Durée fixe	Oui	Pas fixes en pression (BB)
(NOVELL et al. 2020)	rats, ma- caques	SonoVue/ 300 μ L/kg /bolus	10 Hz	Dépassement de seuils	Boucle ou- verte (BB)	Durée fixe	Oui	Pas fixes en pression (BB)
(T. SUN et al. 2017)	rats	Optison/ 10 μ L/kg / bo- lus+infusion	4 Hz	Intégral	Boucle fer- mée (SH)	H dose	Non	Pas fixes en pression (BB)
(BING et al. 2018)	rats	Definity, Optison, HM/c1,1- 1,2 μ L/mL* infusion	1 Hz	Pas fixes en pression (avec seuils)	Boucle fer- mée (UH)	Durée fixe	Oui	Non
(ÇAVUŞOĞLU et al. 2019)	souris	BG8235/ 10 μ L/kg /infusion	1 Hz	Pas variable	Boucle fer- mée (BB)	Durée fixe	Oui	Non
(McDANNOLD et al. 2020)	rats	Definity/ 100 μ L/kg /bolus	1.1 Hz	Intégral pour 30% de la durée	Boucle fer- mée (H)	Durée fixe	Oui	Pas fixes en pression (BB or subH)
(CHIEN et al. 2022b)	souris	Definity/ 100 μ L/kg /infusion	2 Hz	Pas fixes en pression	Boucle fer- mée (H)	Durée fixe	Oui	Non

(CHIEU et al. 2022a)	cochons	Definity/ 10 μ L/kg /infusion	1 Hz	Pas fixes en pression	Boucle fer- mée (H)	Durée fixe	Oui	Non
(H. LEE et al. 2022)	souris	Definity/ 100 μ L/kg /bolus	1 Hz	Intégral avec pas variable	Boucle fer- mée (H)	Durée fixe	Oui	Pas fixes en pression (BB)

TABLEAU 1.6 – Tableau résumant les différentes caractéristiques des algorithmes de contrôle par rétroaction. Les algorithmes *in vitro* (1.4.2.1) sont identifiés en bleu, les algorithmes *in vivo* à pression constante (1.4.2.2) sont identifiés en orange, les algorithmes *in vivo* à pression semi-constante (1.4.2.3) sont identifiés en gris et les algorithmes *in vivo* à pression variable (1.4.2.4) en vert. La "stratégie de contrôle" précise si l'algorithme utilise un contrôleur intégral, un contrôle basé sur la détection de seuils ou une variation à pas fixe avec une zone morte pour faire varier la pression. La colonne "contrôle de la pression" précise si la pression est en boucle ouverte, en boucle fermée avec entre parenthèses le type de composante fréquentielle utilisée comme signal de mesure. Les algorithmes en boucle ouverte avec une composante entre parenthèses indiquent pour les algorithmes à pression semi-constante la composante dont la détection permet de passer d'une rampe de pression à une pression fixe. La colonne "contrôle de sécurité" précise si un contrôle de la cavitation inertielle permet un comportement protecteur de l'algorithme par la diminution de la pression d'un pas fixe à partir d'une composante trop importante (entre parenthèses) ou l'arrêt de la sonication à partir de la dose totale de cavitation inertielle dépassant un seuil. (*Cette concentration est exprimée en volume de gaz/volume de liquide injecté)

1.4.2.1 Contrôle de la cavitation *in vitro*

Bien que ces études évitent les problèmes liés aux paramètres biologiques de l'animal, elles offrent des avancées technologiques significatives. Tout d'abord, DESJOUY et al. 2013 ont présenté un algorithme ajustant la pression ultrasonore afin de contrôler le niveau de cavitation inertielle dans l'eau. Dans cette étude, il a été supposé que la moyenne de la réponse spectrale correspondait à la cavitation inertielle et que les harmoniques étaient négligeables. Un contrôleur intégral a été utilisé. Un contrôleur intégral est un contrôleur qui fait varier la commande d'une valeur proportionnelle à la différence entre la mesure et la consigne. La pression ultrasonore a été modifiée en ajoutant la différence entre le signal de mesure et la consigne, multipliée par un coefficient. Les tirs de fréquences 550 kHz duraient 25 ms et la boucle de rétroaction durait 300 μ s grâce à l'utilisation d'un FPGA. Les MBtir étaient endogènes; elles devaient donc être créées au début de chaque tirs. Cela a conduit à de fortes oscillations pour les premiers tirs parce que la pression de cavitation était beaucoup plus élevée que la pression nécessaire pour maintenir la cavitation inertielle.

Dans une autre étude, DESJOUY et al. 2015 ont utilisé 2 transducteurs distincts en transmission et des MB SonoVue®. L'utilisation de MB exogènes a montré une amélioration de la stabilité de la cavitation. La pression ultrasonore nécessaire pour atteindre le même régime d'oscillation était significativement plus faible.

Les travaux de CORNU et al. 2018 ont exploité des FPGA pour le contrôle de la cavitation stable *in vitro*. De manière intéressante, la pression acoustique varie à l'intérieur d'un tir d'excitation grâce à l'utilisation de FPGA. Les expériences ont été réalisées dans un réservoir d'eau dans lequel aucune MB n'avait été ajoutée. La composante SH a été extraite du signal PCD en intégrant le spectre sur une bande de fréquence centrée sur le SH pour représenter la cavitation stable. Le bruit de la bande a également été contrôlé pour obtenir des informations sur la cavitation inertielle, mais n'a pas été utilisé par l'algorithme de contrôle de la cavitation. Le contrôleur était un intégrateur pur qui utilisait la composante SH comme signal d'entrée. La consigne de cavitation stable a été déterminée à partir d'essais en boucle ouverte pour des valeurs de cavitation stable où aucune cavitation inertielle

(IC) n'avait été détectée. La boucle de rétroaction était capable de modifier l'amplitude ultrasonore toutes les 250 μ s. L'article a montré la possibilité de contrôler la cavitation stable en évitant la cavitation inertielle *in vitro*. Cet algorithme fonctionne de manière similaire aux algorithmes de Desjouy *et al.* illustrés à la figure 1.20D.

Patel et ses collaborateurs ont présenté une méthode de contrôle de la cavitation *in vitro* utilisant la PAM (PATEL *et al.* 2018). La cavitation a été réalisée dans une tubulure dans laquelle circulaient des MB (Optison®). L'ensemble était immergé dans un réservoir d'eau avec les transducteurs ultrasonores. Le signal de contrôle était la pression ultrasonore. Le signal rétro-diffusé a été mesuré par un réseau de transducteurs pour effectuer l'analyse PAM. Le contrôleur était de type intégral avec un seuil minimal de sensibilité pour limiter la sensibilité au bruit. Le seuil minimal de sensibilité correspondait à une valeur d'erreur minimale, ϵ_{min} , nécessaire pour faire varier la pression, ce qui signifie que pour un écart par rapport à la consigne inférieure à ϵ_{min} , la pression ultrasonore n'est pas modifiée. Le contrôleur a utilisé les composantes UH comme signal d'erreur. Le bruit de bande a également été surveillé afin de réduire la pression ultrasonore d'un montant fixe lorsqu'une augmentation substantielle du bruit était constatée (101 % par rapport à la baseline). Ce contrôleur était limité par le temps de calcul de la PAM, et sa boucle de rétroaction durait donc 500 ms. Une cavitation stable a été maintenue autour de la valeur de consigne pendant 6 secondes avec une tolérance de 10 %.

1.4.2.2 Contrôle de la cavitation *in vivo* avec une pression constante

Plusieurs études ont choisi comme approche le maintien d'une pression ultrasonore constante tout en faisant varier le temps de sonication pour contrôler la cavitation. Ces études nécessitent des expériences préalables sur des animaux, présentant les mêmes caractéristiques que ceux traités, afin de déterminer précisément la pression à appliquer. Ces algorithmes sont donc généralement moins robustes que ceux présentés dans la section suivante avec une pression variable au cours du traitement.

L'article de TSAI *et al.* 2016 présente le contrôle de la cavitation par PCD pour une ouverture de la BHE sur des rats. La pression de sonication a été maintenue constante tout au long de la sonication qui s'est terminée lorsque la composante SH a dépassé un seuil (augmentation de 5,5dB par rapport au niveau de base). Ce seuil a été déterminé sur la base d'expériences préliminaires afin de garantir la meilleure sensibilité et la meilleure spécificité. La boucle de contrôle était parmi les plus lentes (1s). Les temps de sonication liés à ce contrôle étaient très variables. Pour une pression de 0,82MPa *in situ*, une sonication a été réalisée en 5s et une autre en 40s.

HUANG *et al.* 2017 ont publié un article utilisant une pression constante et un temps de sonication variable pour l'ouverture de la BHE. Il s'agissait de la rupture de la BHE sur des cochons au travers de fragments de crânes humains placés sur le dessus de la tête de l'animal. Le signal utilisé pour ce contrôle a été obtenu en intégrant une large bande de fréquence autour de la composante SH (115 ± 40 kHz). Deux seuils ont été définis (0,15 et 0,20, valeurs normalisées), et lorsque l'indice calculé dépasse l'un des seuils, le compteur associé à cet indice est incrémenté. Les compteurs sont vidés à chaque période de temps où le seuil n'est pas dépassé. Lorsque le nombre d'événements associés à l'un des compteurs d'événements SH dépassait un nombre fixe (30 pour le seuil de 0,15 et 3 pour le seuil de 0,20), la sonication était interrompue. La boucle de rétroaction avait une durée de 30 ms. Cet algorithme est représenté à la figure 1.20A pour illustrer les algorithmes de contrôle de la cavitation à pression constante.

Le dernier article faisant état d'un contrôle de la cavitation à pression constante a été publié par Ji *et al.* 2021. Le contrôle de la cavitation a été utilisé chez la souris pour perméabiliser la BHE. L'objectif de cette étude était d'étudier la corrélation entre les marqueurs de l'inflammation et l'ouverture de

la BHE. Les paramètres de contrôle étaient la durée de la sonication et les réinjections de MB. Le signal mesuré était la dose de cavitation. Elle a été calculée en intégrant des bandes de fréquence (0,2 MHz) autour des harmoniques, du troisième (4,5 MHz) au neuvième (13,5 MHz). Une acquisition de référence a été mesurée avant l'injection de MB. Une dose cumulative de cavitation (DCC) a été définie. Après chaque tir ultrasonore, si la DCC mesurée était inférieure à la dose de cavitation de base, les MB étaient réinjectées. Lorsque la dose cumulée de tous les tirs ultrasonores dépassait la dose totale définie, la sonication était terminée. Dans cette étude, 3 doses de cavitation différentes ont été définies : $1 \times 10^7 V^2s$, $5 \times 10^7 V^2s$, $1 \times 10^8 V^2s$. Bien que la pression acoustique ait été la même pour tous les DCC, les souris ayant reçu la dose la plus faible ne présentaient aucune lésion vasculaire, alors que celles ayant reçu le DCC le plus élevé présentaient des extravasations de globules rouges visibles à l'histologie et des œdèmes visibles à l'IRM. Ce résultat démontre bien qu'il existe de fortes hétérogénéités, même chez la souris, nécessitant une personnalisation de la dose ultrasonore pour chaque animal.

1.4.2.3 Contrôle de la cavitation *in vivo* avec une pression semi constante

Les algorithmes décrits dans cette section ont été développés par le laboratoire du Pr. Hynynen à l'Université de Toronto pour ajuster la pression des ultrasons à chaque expérience. Un algorithme en deux étapes a été conçu. Tout d'abord, la pression acoustique augmente linéairement jusqu'à ce que la composante UH sélectionnée émerge du bruit. Ensuite, une fois que le seuil UH est dépassé, la pression acoustique est réduite à un pourcentage fixe de sa dernière valeur. La pression est ensuite maintenue constante pour le reste de la sonication. Cet algorithme est illustré dans la figure 1.20B.

La première étude mettant en œuvre *in vivo* un algorithme de contrôle par rétroaction pour la cavitation des MB a été proposée par O'REILLY et al. 2012. Cette étude décrit la régulation de la pression ultrasonore pendant l'ouverture de la BHE induite par FUS chez le rat. Cette étude *in vivo* a évalué l'efficacité d'un tel contrôle sur la sécurité de l'ouverture de la BHE. Le contrôle de la pression a été réalisé en surveillant les deuxième et troisième UH du signal rétro-diffusé à l'aide du PCD. Une fois que l'UH a émergé du bruit pendant la phase d'augmentation de l'amplitude de la pression, la pression a été immédiatement réduite dans le tir ultrasonore suivant à un pourcentage fixe (25 %, 50 % ou 75 %). La sonication est ensuite poursuivie à cette pression jusqu'à la fin. La durée de la boucle de rétroaction était de 500 ms. L'étude a également montré que ce type de séquence était efficace et sûr lorsque l'amplitude des ultrasons était réduite à 25 % et 50 % de la pression seuil.

Trois autres études ont confirmé l'efficacité du protocole tout en se concentrant sur d'autres aspects : influence du type de bulles, utilisation de la PAM, efficacité des médicaments. Le premier de ces articles a été publié quelques années plus tard par le même groupe. Il décrit un nouveau dispositif permettant la PAM et donc la localisation spatiale de la cavitation (JONES et al. 2018). De plus, les transducteurs d'émission étaient capables d'orienter le faisceau ultrasonore, permettant un déplacement de la tache focale. L'indice de contrôle était le SH. Cependant, la boucle de contrôle avait été ralentie (1s). Le temps de calcul de la PAM dépendait du champ de vision (FOV) reconstruit. Pour un petit champ de vision, le temps de reconstruction était de 85 ms. Les auteurs ont conclu que, pour une application clinique, il pourrait être intéressant d'utiliser un FOV contenant l'ensemble du crâne pour détecter les ondes stationnaires. Cela augmenterait le temps de calcul à 27 secondes en utilisant leur configuration.

Le deuxième article a été publié par McMAHON et al. 2020. Il se concentre en partie sur la répétition de l'expérience de 2012 d'O'Reilly avec une comparaison entre 3 types de MB : BG8774, Definity et MSB4. L'étude utilise toujours les deuxième et troisième UH comme signal mesuré pour arrêter l'augmentation de la pression ultrasonore. La pression n'a été réduite que de 50 % dès l'apparition des UH. Les UH ont été considérés comme présents lorsque leur valeur dépassait de 10 écarts types leur valeur de baseline. L'étude a confirmé l'absence de dommages importants, par extravasation de

globules rouges 7 jours après la sonication. Il est à noter cependant que quelques extravasations aient été observées 24 heures après la sonication. Aucune différence significative n'a été constatée entre les différentes MB pour le contrôle de la rétroaction.

Le dernier article utilisant ce protocole a été publié par [LYNCH et al. 2021](#). Les bandes de fréquences observées étaient cette fois les UH à $1,5f_0$, $2,5f_0$ et $3,5f_0$. L'amplitude de la pression ultrasonore émise par le transducteur a été réduite de 75 % (25% de la pression seuil détectée) lorsque les UH ont émergés de la bande de bruit. Ce contrôle a été utilisé dans cette étude pour évaluer le temps de refermeture de la BHE après la perméabilisation de la BHE induite par les FUS et l'administration de vasculotide. La conclusion de l'étude est que le vasculotide accélère la restauration de la BHE après perméabilisation dans le cas d'une présence de pathologie amyéloïde.

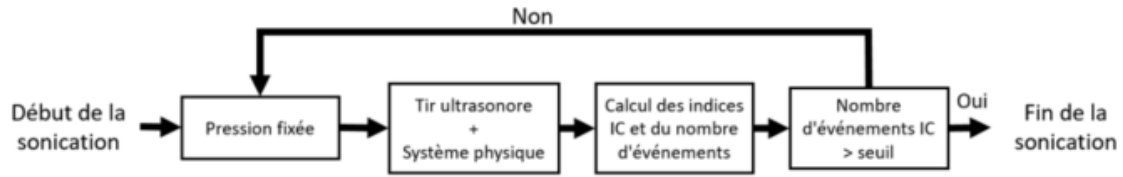
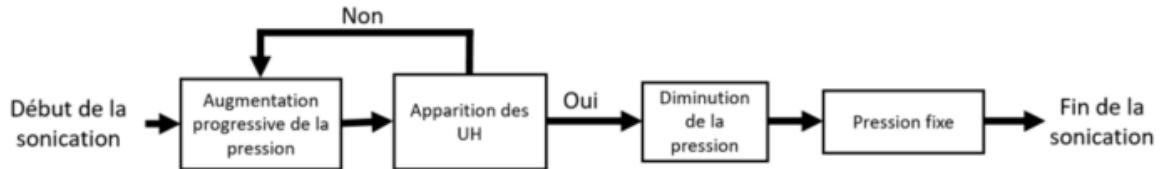
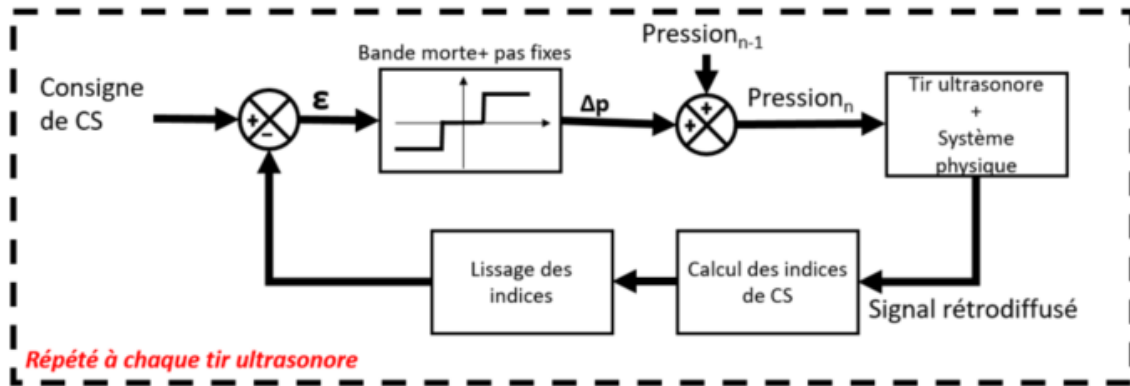
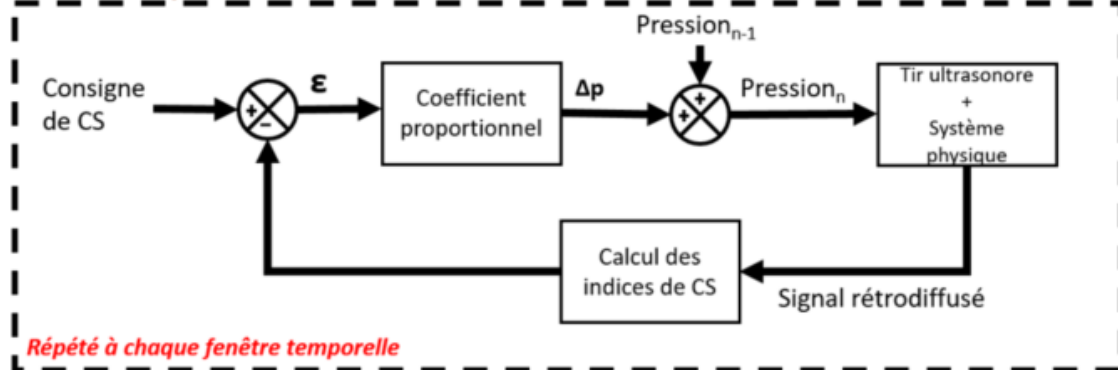
A) Contrôle de la cavitation par pression constante *in vivo*B) Contrôle *in vivo* de la cavitation à pression semi-constanteC) Contrôle *in vivo* de la cavitation stableD) Contrôle intra-pulse *in vitro* de la cavitation stable

FIGURE 1.20 – Exemples de 4 algorithmes différents de contrôle de la cavitation. A) Méthodes *in vivo* basées sur la détection d'événements de cavitation inertielle (HUANG *et al.* 2017) B) Algorithme utilisé par l'équipe de l'université de Toronto (O'REILLY *et al.* 2012) avec un algorithme à pression semi-constante pour le contrôle de la cavitation *in vivo*. C) Algorithme utilisé *in vivo* pour le contrôle de la cavitation sans la possibilité de changer la pression à l'intérieur d'un tir ultrasonore et la modification pour empêcher le dépassement ou la divergence de la pression ultrasonore. L'indice n correspond au numéro du tir ultrasonore considéré (BING *et al.* 2018). D) Algorithme typique de contrôle de la cavitation intra-pulse permettant la modulation de la pression *in vitro*. La valeur n correspond au numéro de la fenêtre temporelle du signal rétro-diffusé considéré (CORNU *et al.* 2018). (ϵ : différence entre la consigne et la mesure, SC : cavitation stable, IC : cavitation inertielle, ΔP : variation de pression).

1.4.2.4 Contrôle de la cavitation *in vivo* avec une pression variable

Cette section recense les études *in vivo* qui se sont concentrées sur le contrôle de la cavitation par la variation de la pression ultrasonore appliquée pendant la sonication. La principale différence avec celles rapportées dans la section précédente est la présence de variations à la hausse et à la baisse de la pression ultrasonore en réaction aux signaux rétro-diffusés enregistrés.

KAMIMURA *et al.* 2019 ont ouvert la BHE chez le PNH en utilisant un protocole qui contrôlait l'augmentation de la pression acoustique de manière progressive. Le signal de mesure était un indice de cavitation inertielle (IC). Cet indice a été calculé en intégrant le spectre du signal rétro-diffusé par les MB en dehors des bandes de fréquences entourant les harmoniques et l'UH (ces bandes sont aussi appelées inharmoniques). Un événement se produisait si l'indice IC dépassait un seuil (+150 % par rapport à la référence) au cours d'un tir. L'algorithme de contrôle comprenait une phase de rampe au cours de laquelle la pression était augmentée à chaque tir par un pas de pression fixe de 9kPa. L'augmentation pouvait être interrompue et la pression diminuée du même palier dès qu'un événement se produisait, mais la rampe reprenait l'augmentation lors des tirs suivants. La phase d'augmentation ne se terminait que si deux événements se produisaient dans la dernière seconde (c'est-à-dire dans les cinq derniers tirs) ou si le nombre d'événements était supérieur à dix. La pression était alors maintenue constante et diminuée par un palier de pression fixe de 9kPa si 2 nouveaux événements consécutifs se produisaient. Le seuil de valeur d'IC a été choisi sur la base d'expériences précédentes. Cette étude a montré la robustesse de cet algorithme pour ouvrir la BHE en évitant tout dommage vasculaire.

Le même protocole que dans l'article de Kamimura a été repris dans l'article publié par NOVELL *et al.* 2020. Les données des enregistrements PCD ont été utilisées pour proposer un nouvel indice de cavitation permettant d'éviter les dommages vasculaires. Ce nouvel indice de cavitation ne est utilisable que si les temps de boucle sont inférieurs à la durée des tirs ultrasonores afin de permettre la modulation de la pression au sein d'un tir. L'évolution de l'UH a été observée à l'intérieur d'un tir (typiquement 10 ms) afin d'observer la déstabilisation des MB au fil du temps. Le niveau des UH a été comparé à une fenêtre de référence située au début de ce tir. Les UH sont apparus spontanément durant le tir (au bout de quelques ms), avant le début de la cavitation inertielle (en moins de 128 μ s). L'objectif est de couper le tir ultrasonore ou de réduire son amplitude dès que le contenu UH est détecté, ce qui permettrait une réaction immédiate.

Une étude publiée par T. SUN *et al.* 2017 a utilisé un protocole plus complexe pour l'ouverture de la BHE chez le rat. Le temps de sonication et l'amplitude des ultrasons étaient tous deux variables. Les indices calculés à partir du signal rétro-diffusé étaient les composantes harmoniques (DCC stable) et le bruit large bande (IC). L'amplitude de la pression a été contrôlée par un contrôleur intégral pour atteindre une consigne définie sur la composante harmonique. La consigne a été choisie à partir d'une étude précédente et a été définie comme la valeur en dessous de la valeur maximale de la composante harmonique atteinte sans augmentation simultanée du bruit large bande. La DCC stable a été calculée en intégrant et en additionnant toutes les émissions harmoniques de chaque tir. Une fois que la DCC sélectionnée a été atteinte, la sonication a été interrompue. Une condition de sécurité a également été développée dans le contrôle de rétroaction : si une augmentation des émissions de bruit large bande était détectée, la pression émise était réduite dans le tir suivant d'un pas fixe. La boucle de rétroaction durait 250 ms et les auteurs ont convenu que l'un des meilleurs moyens d'améliorer la sécurité de la sonication était de réduire cette durée.

BING *et al.* 2018 ont publié une étude comparant 3 types différents de MB (Definity, Optison, nanobulles fabriquées au laboratoire) pour l'ouverture de la BHE chez le rat. Le signal de mesure était un indice calculé à partir de la décomposition en fréquence du signal rétro-diffusé pour un tir ultrasonore entier. L'indice a été calculé en intégrant la deuxième composante UH (0,75 MHz) sur une

bande de fréquence (0,05 MHz), cette valeur étant moyennée avec la valeur des deux tirs précédents. La consigne a été choisie à partir d'études antérieures sur l'ouverture de la BHE. La commande était basée sur une variation de pression fixe (10 à 30 kPa) selon si l'indice était supérieur ou inférieur à une bande morte entourant la consigne. La boucle de rétroaction durait 1 seconde. Il s'agissait d'une solution efficace pour adapter un contrôle intégral lorsque le taux de rafraîchissement de l'algorithme était plus lent que le système à contrôler. Cet algorithme est représenté à la figure 1.20C avec un régulateur intégral pour un contrôle effectué tir après tir.

Çavuşoğlu et ses collaborateurs ont ensuite publié un article ÇAVUŞOĞLU et al. 2019 sur le contrôle de la cavitation chez la souris en se concentrant sur la différenciation entre les régimes d'oscillation des MB. Le contrôle a été réalisé par une variation tir après tir de la pression ultrasonore. Le signal de mesure était l'indice IC qui était calculé à partir de l'intégrale du spectre en dehors des bandes de fréquences (± 150 kHz) entourant les composantes harmoniques et ultra-harmoniques. Leur contrôle était basé sur un pré-étalonnage en deux étapes. Un premier pré-étalonnage de 20 minutes a été effectué en appliquant plusieurs niveaux de pression sur différents animaux perfusés avec une solution de MB. Ensuite, les animaux traités ont subi une étape de pré-calibration de 80 s qui consistait à appliquer les mêmes niveaux de pression que pour les animaux de calibration. Dans cette étape de pré-calibrage, les tirs ne duraient que 200 μ s comme mesure de sécurité et étaient utilisés pour établir des relations avec les bandes de pré-calibrage de la première expérience afin de réduire l'effet sur les variations inter-animaux. Le contrôle a été effectué en déterminant, à partir des valeurs de l'indice IC des tirs précédents, les états de cavitation correspondants aux différents modes d'oscillation obtenus avec le pré-étalonnage. La pression ultrasonore du tir suivant était alors choisie pour être aussi proche que possible de l'état de cavitation stable. Malgré une boucle de contrôle lente (1s), le contrôle a été efficace. Cependant, le pré-calibrage semble provoquer une certaine extravasation des globules rouges.

Un article récent publié par McDANNOLD et al. 2020 présente un contrôle de la cavitation par la pression chez des rats. Le contrôle par rétroaction n'était actif que quelques secondes, ensuite la valeur moyenne de la pression de l'étape initiale a été maintenue pour le reste de la sonication. L'indice utilisé pour mesurer l'état de cavitation était l'intégrale du spectre entourant les deuxième et troisième harmoniques (460 et 690 ± 10 kHz). Le contrôleur intégral augmentait ou diminuait la pression d'une valeur proportionnelle à la différence entre la consigne et la valeur de l'indice. Un seuil minimal d'action a été mis en place autour de la valeur de consigne pour limiter la sensibilité au bruit. Le contrôle commençait à la 8^{ème} seconde, s'arrêtait à la 30^{ème} seconde, la valeur moyenne de la pression pendant le contrôle était alors fixée pour les 25 secondes restantes. La pression pouvait encore être réduite si la composante SH émergeait du bruit ou si le bruit large bande dépassait un certain seuil. L'étude a conclu qu'il est possible d'ouvrir la BHE de manière répétée et sans dommage avec le système clinique ExAblate®. La fréquence de répétition des tirs ultrasonores était de 1,1 Hz.

Chien et ses collaborateurs ont publié une étude (CHIEN et al. 2022b) sur l'ouverture de la BHE chez la souris. Le signal de mesure était la troisième harmonique du spectre rétro-diffusé représentant le SC. Une baseline a été préalablement acquise pour 10 tirs après le début de la perfusion de MB à une pression relativement faible (0,2 MPa). Le but du contrôle de la cavitation était d'obtenir différentes augmentations de la SC par rapport à la baseline (0,5, 1, 2, 3, 4 dB). Après une phase initiale d'augmentation linéaire de la pression, la SC était maintenue en faisant varier la pression ultrasonore d'un pas fixe (13 kPa) lorsque l'écart entre la SC et la consigne dépassait un certain seuil. La durée de la boucle était de 500 ms. Pour chaque consigne, le volume d'ouverture de la BHE et les dommages histologiques ont été décrits. Toutes les différentes consignes ont permis la perméabilisation de la BHE et les consignes (0,5, 1, 2 dB) n'ont pas induit d'ERBC détectable.

Une autre étude a ensuite été publiée par CHIEN et al. 2022a, utilisant le même protocole. Cette

fois, l'étude a été réalisée sur des porcs en tant que modèle animal de grande taille. La référence était composée de seulement 5 tirs qui ont été émis à une pression de 0,3 MPa. Les consignes étaient (0,25, 0,5, 1 dB). Les trois consignes ont entraîné l'ouverture de la BHE et seule la consigne de 1 dB a entraîné des dommages histologiques visibles. Le temps de boucle a été ralenti à 1s.

Un article publié par [H. LEE et al. 2022](#) présente l'ouverture de la BHE chez des souris dans le but de favoriser le marqueur pro-inflammatoire ICAM-1 et d'administrer un anti-PD1 dans un modèle de glioblastome chez la souris. La stratégie de contrôle mise en œuvre visait à atteindre une augmentation ciblée de l'indice de cavitation stable. Cet indice a été calculé en intégrant la troisième harmonique du signal rétro-diffusé. La pression a ensuite été ajustée pour atteindre le point de consigne de la cavitation stable. Une loi de comportement pour les émissions de la troisième harmonique a été construite à partir de données antérieures. La taille du pas a varié en fonction de la proximité entre les données collectées et le modèle reconstruit. Le modèle lui-même a été ajusté sur la relation pression-amplitude en utilisant un modèle de tangente hyperbolique. De plus, ce régulateur n'a été activé qu'après la détection du bolus de MB dans la circulation sanguine et a été arrêté après une diminution de 20 % de la concentration en MB. Une mesure de sécurité a été mise en place en surveillant le bruit large bande, où la pression était automatiquement réduite d'un pas fixe lors de la détection. La boucle de contrôle avait une durée de 1 seconde. L'approche de contrôle s'est avérée efficace, sûre et robuste face aux variations biologiques chez toutes les souris testées.

1.4.3 Synthèse de l'étude bibliographique

Les études présentées ci-dessus illustrent l'importance du contrôle de la cavitation en temps réel *in vivo*. Les sections 1.4.1.6, 1.4.1.7 et 1.4.1.8 mettent en évidence la grande variété d'indices de cavitation et de mesures de référence qui ont été utilisées, ainsi que les différentes méthodes pour les calculer. Nous avons souligné certaines différences substantielles dans les stratégies de surveillance de la cavitation utilisées par les groupes de recherche, en partie dues à des disparités dans l'équipement, les modèles animaux et les montages expérimentaux utilisés (par exemple, des fréquences plus basses pour des crânes plus épais, voir le tableau 1.2). Il existe également des différences dans l'interprétation de certaines composantes fréquentielles. Le bruit large bande est couramment mesuré pour prédire une éventuelle hémorragie ou un œdème, son impact biologique étant consensuel. Les harmoniques ne représentent que la cavitation stable lorsqu'elles sont surveillées et interprétées. En ce qui concerne les UH et le SH, plusieurs conclusions existent. Certaines études considèrent les composantes UH/SH comme de la cavitation stable tandis que d'autres les considèrent comme du bruit large bande. Cela a un impact sur les algorithmes de contrôle de la cavitation, qui fonctionneront différemment dans l'utilisation de l'UH/SH selon qu'ils soient interprétés comme de la cavitation stable ou inertielle.

Les études *in vivo* ont mis en place des protocoles permettant d'effectuer un contrôle sûr tir à tir avec des temps de boucle supérieurs à 10 ms. Le principal problème des algorithmes de contrôle actuels est le délai de traitement. En effet, il est difficile de préserver une cavitation stable et efficace pendant un tir ultrasonore, car le comportement dynamique et la concentration des MB varient dans le temps. L'extrême variabilité de la réponse des MB est parfaitement illustrée par toutes les études de perméabilisation de la BHE à pression ultrasonore constante, où les indices de cavitation stable ou inertielle peuvent varier d'un facteur 10 pour des tirs consécutifs. Par conséquent, même pour des tirs successifs d'amplitude et de durée similaires, le flux variable de MB polydispersées dans le faisceau ultrasonore générera des réponses de cavitation différentes (phénomène stochastique). Par conséquent, le manque de contrôle au sein d'un tir ultrasonore nécessite une grande prudence (c'est-à-dire l'utilisation de marges de sécurité au détriment de l'efficacité) afin d'éviter l'apparition d'une cavitation inertielle. Tous les algorithmes évalués dans les études *in vivo* sont le résultat de stratégies très sûres : augmentation très progressive, réduction de l'amplitude au début de l'IC. Comme

l'ont souligné certaines études (NOVELL et al. 2020), il est possible au début de certains tirs de détecter l'IC de manière précoce. Cette détection en temps réel permettrait de réduire l'amplitude ou de mettre fin au tir en cours. Cette simple mise en œuvre pourrait réduire fortement la durée de l'IC au sein d'un tir (jusqu'à 250 μ s avec la mise en œuvre de FPGA). Les études *in vitro* utilisent principalement des algorithmes avec des contrôles dit intra-pulse (détection de cavitation et modulation du signal dans un même tir). Ces études nous permettent d'observer les types d'algorithmes, principalement les contrôleurs intégraux qui pourront être utilisés *in vivo* une fois que les technologies FPGA seront implémentées. Actuellement, seuls quelques groupes de recherche disposent des moyens nécessaires pour mettre en œuvre un tel contrôle, tandis que beaucoup préfèrent se concentrer sur les aspects pharmaceutiques et biologiques, optant pour un contrôle tir après tir (détection de cavitation et modulation du signal d'un tir à l'autre).

La revue de la littérature présente des études *in vitro* avec différents types de contrôle adaptés à des temps de boucle très courts. Les résultats obtenus *in vitro* bénéficient de conditions expérimentales mieux maîtrisées avec entre autres l'émission d'un faisceau ultrasonore sans aberration et un signal rétro-diffusé plus intense. Récemment, les premiers exemples d'utilisation de FPGAs dans le contrôle de la cavitation intra-pulse ont été réalisés *in vivo* avec une étude de transmission à travers un crâne (CORNU et al. 2022).

La durée de la sonication nécessaire pour ouvrir la BHE est très variable. La plupart des études utilisent des sonications qui durent entre 2 et 3 minutes, c'est-à-dire jusqu'à ce que les MB soient éliminées de la circulation sanguine. Cependant, d'autres études parviennent à perméabiliser la BHE avec des sonications de moins de 10s (TSAI et al. 2016). De même, de nombreux autres paramètres sont fixés dans les études de contrôle de la cavitation : type des MB utilisées, fréquence de répétition des tirs ultrasonores, durée des tirs, méthode d'injection des MB. La fréquence de répétition des tirs est particulièrement impactant lors de tirs à des pressions suffisantes pour détruire les MB. En effet selon la vitesse de circulation des MB, le volume de la tache focale sera plus ou moins rempli de MB non excitées lors des tirs suivants. Pour la perméabilisation de la BHE, la cavitation inertielle ne devrait pas apparaître et le choix de la fréquence de répétition des tirs n'en est donc pas limité (J. J. CHOI et al. 2012).

Chaque groupe a optimisé ces paramètres, mais les différences de protocole entraînent des écarts importants dans les résultats et rendre la comparaison entre les stratégies très complexe. Ainsi, chaque combinaison de modèle animal, de PCD, d'émetteurs, de MB pourrait avoir un algorithme et des paramètres ultrasonores dédiés afin d'optimiser l'efficacité de la perméabilisation de la BHE et le processus de sécurité.

En ce qui concerne l'utilisation de différents indices de cavitation, nous pourrions résumer que deux indices distincts sont nécessaires. Le premier serait un indice de cavitation stable et donc un indice corrélé à la perméabilisation de la BHE. Il pourrait être obtenu à partir des composantes harmoniques et devrait être maximisé. Le second serait un indice de danger, qui serait un indicateur de cavitation inertielle et qui devrait donc être minimisé. Cet indice pourrait probablement être calculé à partir du bruit large bande. La déstabilisation des MB calculée à partir des composantes UH des MB pourrait également être incluse dans cet indice de danger. Cela permettrait de prévenir l'apparition de lésions vasculaires résultant de la cavitation inertielle à un stade plus précoce.

Suite aux nombreuses preuves de concept et études précliniques, quelques essais cliniques sur la perméabilisation de la BHE ont déjà été menés à bien chez l'Homme. A ce jour, plusieurs études cliniques sont en cours de recrutement (BECCARIA et al. 2020; BUNEVICIUS et al. 2020; K.-T. CHEN et al. 2021a). Les différentes pathologies ciblées par ces études sont le glioblastome, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique. Différents systèmes cliniques sont utilisés pour réaliser la perméabilisation de la BHE dans le cerveau humain (K.-T. CHEN et al. 2021b; MAINPRIZE et al. 2019; S.-Y. WU et al. 2018a; BECCARIA et al. 2020).

Les différents articles (ABRAHAO et al. 2019; GASCA-SALAS et al. 2021; MAINPRIZE et al. 2019;

PAVLOS ANASTASIADIS et al. 2021 ; LIPSMAN et al. 2018) décrivant des protocoles cliniques d'ouverture de la BHE avec contrôle de la cavitation utilisent tous le même protocole de contrôle de pression et le même système, à savoir la réduction d'amplitude après la détection de la composante SH à l'aide du système Exablate®. Une autre étude clinique menée par le Pr. Hynynen (HUANG et al. 2022) et utilisant le même dispositif, a mis en place un algorithme de contrôle de la cavitation différent, utilisant une augmentation progressive de la pression jusqu'à atteindre la valeur du SH souhaitée. La pression est ensuite maintenue constante. Les résultats, préliminaires mais prometteurs, démontrent des perméabilisations réussies de la BHE sans effets indésirables observés. À l'avenir, on s'attend à la publication de résultats supplémentaires associés à l'ouverture de la BHE, ainsi qu'à l'émergence de différentes techniques de contrôle de la BHE. Cependant, la mise en œuvre de ces techniques peut être retardée en raison des réglementations propres à chaque pays régissant les essais de nouveaux protocoles de thérapies par ultrasons et MB.

La dose d'exposition à la cavitation correspond à la quantité de cavitation stable cumulée sur l'ensemble des tirs constituant le traitement. La corrélation entre cette dose de cavitation et sa corrélation avec la délivrance de médicaments suscitent, dans le contexte de l'ouverture de la BHE, un intérêt croissant au sein de la communauté scientifique. Cela est particulièrement pertinent compte tenu de la multiplication des études examinant l'efficacité de différents médicaments. Des recherches récentes ont établi des corrélations entre la dose de cavitation et la quantité de médicaments délivrés (JI et al. 2021 ; P. LEE et al. 2023 ; H. CHEN et al. 2014 ; MARQUET et al. 2014 ; J. WU et al. 2014), soulignant ainsi le potentiel d'optimisation de la délivrance de médicaments au cerveau, grâce à des boucles de rétroaction basées sur ces relations dose-réponse. L'exploration de la dose de cavitation et sa corrélation avec la délivrance de médicaments ouvrent des perspectives prometteuses pour améliorer l'efficacité et la précision de la délivrance de médicaments à travers la BHE. L'utilisation d'algorithmes basés sur ces corrélations offre de nouvelles possibilités pour optimiser la délivrance ciblée de médicaments au cerveau.

Réaliser l'ouverture de la BHE sur un volume représente également un défi majeur. Alors que la plupart des études chez les rongeurs se limitent à l'ouverture d'un point focal, des observations dans des études cliniques ont montré des ouvertures volumiques différentes utilisant le guidage électronique et une série de tirs juxtaposés. Cependant, il n'existe actuellement aucun article sur l'ouverture de la BHE avec un contrôle de cavitation utilisant un transducteur mobile. Dans les études cliniques, les volumes de perméabilisation sont significativement plus importants que dans les études précliniques, ce qui nécessite des recherches supplémentaires dans ce domaine.

Dans le contexte de l'ouverture de la BHE *in vivo*, l'absence d'un modèle complet pour simuler les résultats obtenus constitue un défi majeur. Bien qu'il soit possible de modéliser les interactions entre un nombre fini de MB, la nature polydispersée des MB, ainsi que leur position variable et leur proximité avec les parois capillaires sanguines, qui présentent elles-mêmes des positions, tailles et orientations diverses, rendent extrêmement difficile la simulation de l'ensemble de ces interactions complexes. Cependant, avec les progrès de la puissance de calcul et les développements en cours dans ce domaine, il serait possible d'utiliser des simulations pour estimer certains paramètres et potentiellement réduire le nombre d'expériences. Ces avancées offrent des perspectives prometteuses pour la recherche et l'exploration futures dans ce domaine.

Parallèlement à ces avancées, l'utilisation croissante de la PAM présente un grand potentiel pour relever les défis de l'ouverture de la BHE. La PAM permet de confirmer la position précise des zones de cavitation. Cette technologie offre l'avantage de limiter les erreurs de positionnement du point focal, potentiellement induites par la déflexion du faisceau ultrasonore par le passage du crâne, et d'empêcher la cavitation non intentionnelle en dehors de la zone de perméabilisation ciblée. En incorporant une boucle de rétroaction basée sur le guidage électronique ou le déplacement mécanique, il devient possible de réduire les erreurs de positionnement du point focal, éliminant ainsi finalement

la dépendance à l'IRM pour le guidage du traitement. Cette intégration de la PAM et des mécanismes de rétroaction en temps réel constitue une avancée significative pour améliorer la précision et l'efficacité des procédures d'ouverture de la BHE.

Enfin, l'intelligence artificielle et les techniques d'apprentissage automatique ont le potentiel d'optimiser les procédures d'ouverture de la BHE par ultrasons focalisés, en les faisant passer à la vitesse supérieure. (P. LEE et al. 2023) ont récemment démontré l'application réussie d'algorithmes d'apprentissage profond pour détecter les volumes d'ouverture de la BHE, ce qui a permis de réduire les doses d'agents de contraste injectés pour l'IRM. Cependant, il convient de noter que l'efficacité de ces méthodes d'IA pour améliorer le contrôle de la cavitation dépend de la disponibilité d'un grand nombre de données humaines pour leur entraînement. De plus, les algorithmes d'IA, tels que ceux étudiés par H. XU et al. 2019, montrent des perspectives prometteuses pour améliorer la détection et la classification des états de cavitation. L'intégration de l'IA et des méthodes d'apprentissage automatique, basée sur des modèles physiques bien développés et un nombre conséquent de données humaines, a le potentiel d'améliorer la précision et l'efficacité des procédures d'ouverture de la BHE, permettant une délivrance de médicaments personnalisée et optimisée au cerveau.

1.5 Conclusion partielle

J'ai présenté au cours de ce chapitre d'introduction les enjeux de la perméabilisation de la BHE, enjeux qui permettront d'augmenter drastiquement la quantité de médicaments utilisables pour soigner les pathologies du SNC. La perméabilisation de la BHE par ultrasons focalisés est l'approche de cette thèse. J'ai donc après avoir présenté les différents moyens de faire passer des molécules pharmaceutiques dans les tissus cérébraux, décrit les outils à notre disposition pour mettre en place cette technologie. Les ultrasons focalisés, les transducteurs focalisés ainsi que la transmission des ultrasons au travers du crâne sont ainsi détaillés pour permettre au lecteur une compréhension la plus complète pour aborder l'ensemble des expériences réalisées pendant ce doctorat.

L'état de l'art a ensuite permis de mettre en évidence les progrès significatifs réalisés dans la compréhension du contrôle de la cavitation et son impact sur la perméabilisation de la BHE. Cependant, plusieurs défis restent à relever, notamment la nature stochastique de la cavitation et la nécessité d'un contrôle de pression le plus adaptatif aux populations de MB excitées. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour traduire les résultats précliniques en contexte clinique, en mettant l'accent sur l'augmentation des volumes de perméabilisation et la mise en œuvre du contrôle de pression par ultrasons à travers le crâne humain. La résolution de ces défis est essentielle pour explorer le plein potentiel de l'ouverture de la BHE par MB en tant que stratégie thérapeutique efficace pour diverses maladies cérébrales.

Chapitre 2

Caractérisation de la cavitation *in vitro*

Ce chapitre présente les différentes expériences qui ont pour objectif de caractériser la cavitation des microbulles *in vitro*. Il détaille l'intérêt de cette caractérisation, le matériel utilisé ainsi que les protocoles et dispositifs expérimentaux mis en place dans le cadre de cette expérience.

Le travail présenté dans ce chapitre a été réalisé entièrement par moi-même, que ce soit au niveau de l'expérimentation ou du traitement des données. La partie en impression 3D a été produite par le laboratoire de mécanique de Neurospin.

Sommaire

2.1 La caractérisation de la cavitation des microbulles <i>in vitro</i>	39
2.1.1 Rôle de la caractérisation	39
2.1.2 État de l'art de la caractérisation de la cavitation <i>in vitro</i>	39
2.2 Dispositif expérimental et protocole	41
2.2.1 Dispositif expérimental	41
2.2.2 Protocole	42
2.2.2.1 Paramètres ultrasonores	42
2.2.2.2 Déroulé des expériences	43
2.2.3 Analyse des signaux enregistrés	45
2.2.3.1 Traitement des signaux temporels	45
2.2.3.2 Traitement des signaux fréquentiels	45
2.2.3.3 Affichages des tirs à enveloppe trapézoïdale	47
2.2.3.4 Affichages des tirs triangulaires	48
2.3 Résultats obtenus	49
2.3.1 Tirs ultrasonores trapézoïdaux	49
2.3.1.1 Carte de cavitation	49
2.3.1.2 Variation des différentes composantes des indices harmoniques et ultraharmoniques	51
2.3.1.3 Évolution des indices de cavitation selon la concentration en microbulles et la pression	52
2.3.1.4 Évolution des différents indices de cavitation selon la pression pour chacune des dilutions de microbulles	54
2.3.1.5 Répétabilité de l'expérience	54
2.3.2 Tirs ultrasonores triangulaires	56
2.3.2.1 Cartes de cavitation	56
2.3.2.2 Variation des différents indices de cavitation selon la concentration en microbulles et la pression	58
2.3.2.3 Évolutions des différents indices de cavitation selon la pression pour chacune des concentrations de microbulles	60
2.3.2.4 Répétabilité de l'expérience	61

2.4 Discussion	61
2.4.1 Tirs trapézoïdaux et triangulaires	61
2.4.1.1 Tirs trapézoïdaux	61
2.4.1.2 Tirs triangulaires	62
2.4.2 Comparaison entre tirs trapézoïdaux et triangulaires	62
2.4.3 Conclusion	63

2.1 La caractérisation de la cavitation des microbulles *in vitro*

2.1.1 Rôle de la caractérisation

L'objectif premier de cette thèse est la création d'algorithmes de contrôle de la cavitation permettant d'implémenter une boucle de rétroaction lors de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique. Pour ce faire, il convient préalablement de mesurer précisément les signaux rétro-diffusés par les MB et d'en extraire différents indices qui seront utilisés par ces algorithmes. L'apparition des différentes composantes lors des différentes phases de la cavitation a été mise en évidence par plusieurs travaux. Ainsi la cavitation stable sera caractérisée principalement par la présence des harmoniques de la fréquence d'émission. La déstabilisation des MB, est caractérisée par l'apparition de composantes ultra-harmoniques (LEIGHTON 1994; SHI et al. 2000). Enfin en cas de cavitation inertielle et d'implosion des MB, ce sera le bruit large qui augmentera fortement sur le spectre des signaux rétro-diffusés (W.-S. CHEN et al. 2003; EVERBACH et al. 1997). Toutefois, même si les composantes restent les mêmes, des résultats très différents en termes de comportements ou de valeurs obtenues sont trouvés dans la littérature. En effet, il existe une grande pluralité de calculs possibles pour tous ces indices et il convient de choisir ceux adaptés à notre matériel (émetteur, récepteur, type et concentration des MB), et nos expériences (espèces animales, positionnement du transducteur, technique de couplage). C'est pour cela que des acquisitions *in vitro* d'abord, puis *in vivo*, permettront de mettre en évidence les types de calculs et les bandes fréquentielles les plus pertinents pour caractériser la cavitation des MB dans nos conditions expérimentales. Ces indices serviront ensuite comme signaux de contrôle dans nos algorithmes d'ouverture de la BHE.

Les acquisitions *in vitro* présentent de nombreux intérêts. Premièrement, il est possible de caractériser de larges plages de pressions, allant jusqu'à des pressions pour lesquels d'importants dommages auraient été produits. Ces pressions importantes créant de potentiels dommages aux tissus, il n'est pas possible d'enchaîner les tirs ultrasonores dans cette partie du tissu. De plus, dans toutes les expériences *in vivo*, la concentration en MB n'est connue qu'au moment de l'injection, et cette concentration va varier très fortement dans la circulation sanguine. Cela rend toutes les observations dépendantes d'un paramètre qui reste inconnu et difficilement caractérisable. Enfin, *in vivo*, le rapport signal sur bruit (RSB) du signal reçu est dégradé du fait de la propagation au travers du crâne et des tissus. La caractérisation des MB s'en trouve alors amputée, selon la diminution du RSB, d'une partie non négligeable du signal. Pour ces raisons, les expériences *in vitro* sont pertinentes en particulier lorsque l'ensemble des données sont acquises et traitées avec les même matériels et méthodes que les données ensuite récupérées *in vivo*.

2.1.2 État de l'art de la caractérisation de la cavitation *in vitro*

Dans la littérature, différentes expériences ont été réalisées pour caractériser la cavitation des MB et les signaux rétro-diffusés associés. Ces expériences utilisent différents dispositifs expérimentaux pour caractériser la cavitation. Certaines expériences utilisent du gel d'agar, il peut s'agir soit de chambres contenant les MB excitées (Y. LIN et al. 2017), soit de tunnels dans lesquelles ces dernières circulent (MARTINEZ et al. 2022) ou ne circulent pas (SASSAROLI et al. 2007; TUNG et al. 2010a). Certaines expériences placent les MB diluées dans un contenant avant de tirer les ultrasons dessus (PAUL et al. 2010). Enfin d'autres expériences utilisent des capillaires en plastique plongés dans une cuve d'eau. C'est cette configuration qui a été retenue pour mon expérience. Cette configuration présente l'avantage d'être simple à mettre en place, reproductible, et permet d'observer la cavitation à différentes pressions avec de très nombreux tirs se succédant grâce à la circulation des MB en continu.

Il existe dans la littérature d'autres études caractérisant l'apparition des composantes inertielles ou ultra-harmoniques sans utiliser des MB. Ces études utilisent soit des nano-gouttes (PRIEUR et al. 2016) ou n'utilisent aucune MB et les créent en tirant à des pressions importantes (quelques MPa)

(SABRAOUI et al. 2011 ; FANT et al. 2019 ; CORNU et al. 2018). Ces études ne seront pas ici présentées car leurs résultats ne sont pas comparables avec des tirs sur des MB déjà formées.

Les résultats des différentes études montrent que des seuils de pression bien définis sont observés pour l'apparition des composantes ultra-harmoniques et de bruit large bande. Ces seuils présentent une grande disparité selon les articles, en grande partie dû aux grandes différences de dispositifs expérimentaux. Le seuil d'apparition de la cavitation inertielle dans ces articles varie entre 0,36 et 0,72. Pour le seuil d'apparition des ultra-harmoniques, seules deux études l'évaluent et les seuils sont 0,18 et des valeurs variant entre 0,2 et 0,4 selon la taille des MB utilisées. Le seuil d'indice mécanique d'apparition des ultra-harmoniques est inférieur ou égal à celui de l'apparition du bruit large bande dans toutes les expériences mesurant ces 2 seuils.

Selon les études, la circulation des MB entre les tirs ultrasonores n'est pas toujours assurée, introduisant potentiellement des effets d'hystérésis entre les tirs. De plus une grande diversité de MB est utilisée et leur dilution présente également un large éventail de valeurs. Certains paramètres sont modifiés dans le dispositif expérimental en plus de la pression ultrasonore : taille du tunnel (SASSAROLI et al. 2007), fréquence d'émission (PAUL et al. 2010), taille des MB (MARTINEZ et al. 2022), concentration des MB (Y. LIN et al. 2017 ; MARTINEZ et al. 2022). Les paramètres variants autres que la pression et la fréquence d'émission provoque dans plusieurs études la variation des seuils des différents indices (SASSAROLI et al. 2007 ; MARTINEZ et al. 2022). Ces caractéristiques sont résumées dans le tableau 2.1. Ces résultats ont été obtenus avec un large panel de paramètres acoustiques et de procédés de traitement de signal, cela explique les disparités entre les seuils observés.

Étude	MB / concentra- tion (MB/mL)	Fréquence d'émission (MHz)	Milieu / diamètre du tunnel (μm)	Vitesse de circulation (mm/s)	Paramètres variants	Seuils des UH / BB (MI)
(SASSAROLI et al. 2007)	Optison / $1 - 8E^6$	1,736	Tunnel / 90-800 μm	0	Diamètre du tunnel	X / 0,49-0,72
(TUNG et al. 2010a)	Definity / $2,5E^7$	1,525	Tunnel / 610 μm	0		X / 0,36
(PAUL et al. 2010)	Sonazoid / $8E^5$	2 - 6	Cuve / N/A	N/A	Fréquence d'émission	0,18 / X
(Y. LIN et al. 2017)	SonoVue / $1E^3 - 2,5E^7$	1	Cavité / N/A	N/A	Dilution / Paramètre US	0,5 / 0,5
(MARTINEZ et al. 2022)	Fabriquées / $1E^{11}$	1,515	Tunnel / 900 μm	15	Taille des MBs	0,2-0,4 / 0,6

TABLEAU 2.1 – Différents paramètres des expériences de l'état de l'art sur la caractérisation de la cavitation in vitro des MB ainsi que les seuils d'apparition en indice mécanique du bruit large bande et des composantes ultra-harmoniques.

Toutefois ces résultats sont assez peu précis. En effet, la majorité des études effectuait des mesures avec des pas de pression de 50 à 200 kPa. La précision du seuil de déclenchement de ces expériences est donc limitée. De plus, les différences de dispositif expérimental (fréquence d'excitation, MB, circulation des MB) et d'analyse des données (fenêtrage, détection des indices, bandes fréquentielles) rendent la correspondance de ces niveaux de pression complexe voir impossible pour les paramètres utilisés dans notre laboratoire.

C'est pourquoi une expérience de caractérisation de la cavitation *in vitro* a été effectuée. Cette expérience s'est efforcée de caractériser différentes concentrations de MB ainsi qu'une plage étendue de pression avec un pas de mesure permettant une détection fine des variations de la cavitation. Les

paramètres utilisés sont choisis pour être transposable aux expériences réalisées *in vivo*. L'utilisation d'un capillaire avec une circulation constante a aussi été utilisée pour faciliter la mesure de ces plages de pression avec une quantification fine nécessitant un grand nombre de mesures.

2.2 Dispositif expérimental et protocole

2.2.1 Dispositif expérimental

L'expérience de caractérisation de la cavitation *in vitro* a été menée avec le transducteur utilisé pour les expériences sur les rongeurs. Pour cela, la chaîne d'émission des ultrasons et d'acquisition des ultrasons reste inchangée au cours de toutes ces expériences. Le transducteur utilisé est un mono élément de fréquence centrale $f = 1,5$ MHz (diamètre externe $D = 25$ mm) construit par Imasonic®, et percé en son centre (diamètre interne $d = 8,96$ mm). Sa tache focale se trouvait à une distance $F = 20$ mm, et les dimensions de la tache focale étaient les suivantes : l_{6dB} étant la largeur de la tache focale et L_{6dB} (cf équation 2.3). La vitesse de propagation des ultrasons dans les tissus mous utilisée est $c = 1482$ m.s⁻¹. Le PCD en son centre avait une fréquence centrale de 4,5 MHz et était aussi construit par Imasonic®.

$$l_{6dB} = 1,4\lambda \frac{F}{D} = 1,1 \text{ mm} \quad (2.1)$$

$$L_{6dB} = 9,7\lambda \left(\frac{F}{D}\right)^2 = 6,1 \text{ mm} \quad (2.2)$$

$$\text{avec } \lambda = \frac{c}{f} = 0,988 \text{ mm} \quad (2.3)$$

Le transducteur était maintenu dans un support réalisé en impression 3D (cf figure 2.1) permettant de faire traverser, de manière reproductible, un capillaire au centre de la tache focale. Le capillaire utilisé était un tuyau de diamètre externe $d_{externe} = 2$ mm et de diamètre interne $d_{interne} = 0,8$ mm. Un liquide (eau milliQ) contenant différentes concentrations de MB SonoVue® était mis en circulation à l'intérieur de ce capillaire.

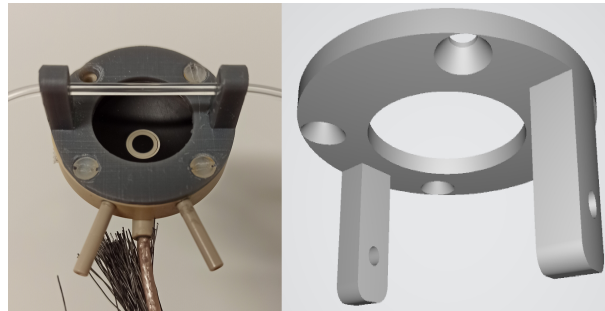


FIGURE 2.1 – A) Transducteur ultrasonore avec le PCD inséré dans la cavité centrale et la pièce en impression 3D. B) Schéma 3D de la pièce imprimée en 3D avec SolidWORKS®, permettant de maintenir le capillaire au centre de la tache focale du transducteur focalisé pour rongeurs.

La solution était mise en circulation par une pompe péristaltique (minipuls 3, Gilson®) permettant de réguler la vitesse du liquide. La vitesse a été fixée à $v_{liquide} = 18$ mm.s⁻¹ ce qui permettait de se rapprocher de la vitesse moyenne de circulation sanguine dans le cerveau (CHAVIGNON 2021). La vitesse est toutefois plus importante que les vitesses usuelles observées dans les capillaires cérébraux qui sont entre 1 et 3 mm.s⁻¹ (PAWLIK et al. 1981 ; KLEINFELD et al. 1998 ; KUGA et al. 2009 ; UNEKAWA et al. 2010). Le choix de la vitesse de circulation a suivi la problématique suivante : être le plus proche des vitesses du sang dans les capillaires et minimiser le temps entre les tirs. En effet, garantir une

vitesse suffisamment importante permet de réduire le temps entre chaque tir, temps qui permet de vidanger la portion du capillaire à l'intérieur de la tache focale et de mettre en face du transducteur des MB non excitées. Minimiser le temps entre les tirs permet de réduire la durée de l'expérience et minimiser ainsi les variations de l'état et de la concentration des MB dans le b cher en agitation.

Pour définir la vitesse de circulation, des bulles d'air étaient introduites dans le capillaire, leur vitesse de déplacement (observation visuelle) sur 40 centimètres a été calculée et la vitesse de rotation de la pompe adaptée afin de garantir les 18 mm.s^{-1} . La solution pomp e était contenue dans un b cher positionné sur un agitateur magnétique. Le passage de la pompe après le passage par la zone de sonication permettait d'éviter que les compressions de la pompe péristaltique n'affectent les MB en circulation.



FIGURE 2.2 – Photo du dispositif expérimental avec la cuve, le transducteur, la pièce en impression 3D et le capillaire ainsi que l'absorbeur acoustique

Le transducteur, la pièce imprimée et une partie du capillaire étaient immergés dans un bain d'eau d -ionisée qui était préalablement d g z e pendant environ 3 heures avec un système hydraulique conçu par Image Guided Therapy® (Pessac, France), composé, entre autres, d'une pompe de circulation (débit 3 L.min^{-1}) couplée à une pompe à vide. L'eau de la cuve atteignait ainsi une concentration en oxygène dissous entre 20 et 30%. Un absorbeur acoustique était placé sur la paroi en regard du transducteur afin de limiter les réflexions sur la paroi de la cuve (cf. Figure 2.2). Enfin, le transducteur était alimenté par un générateur construit par la société IGT® au travers d'une adaptation d'impédance réglée pour ce transducteur. Le générateur était commandé par ordinateur via un script développé sur Python (version 2.7.10). Par ailleurs, le signal émis par le générateur était modulé en amplitude à partir d'un signal produit par le FPGA (Field-Programmable Gate Array, carte NI PXIe-7971R®, Austin, TX, 16 bits, module NI-5783) permettant de produire des formes de d'onde particulières que le générateur n'était pas capable de produire nativement (cf. Figure 2.3).   l'intérieur du transducteur, une cavité permettait d'insérer un PCD qui agissait en récepteur ultrasonore (cf Figure 2.1). Il permettait d'enregistrer sur la carte d'acquisition FPGA les signaux ultrasonores rétro-diffusés par les MB en oscillation.

2.2.2 Protocole

2.2.2.1 Paramètres ultrasonores

Lors de chaque expérience, les enveloppes des tirs ultrasonores émis étaient de deux types différents. Il s'agissait soit (i) de tirs dits trapézoïdaux habituellement utilisés dans nos expériences *in vivo*, soit (ii) de tirs dits triangulaires. Les tirs ultrasonores trapézoïdaux étaient constitués d'une première phase d'augmentation progressive de la pression (rampe montante) suivie d'une longue durée

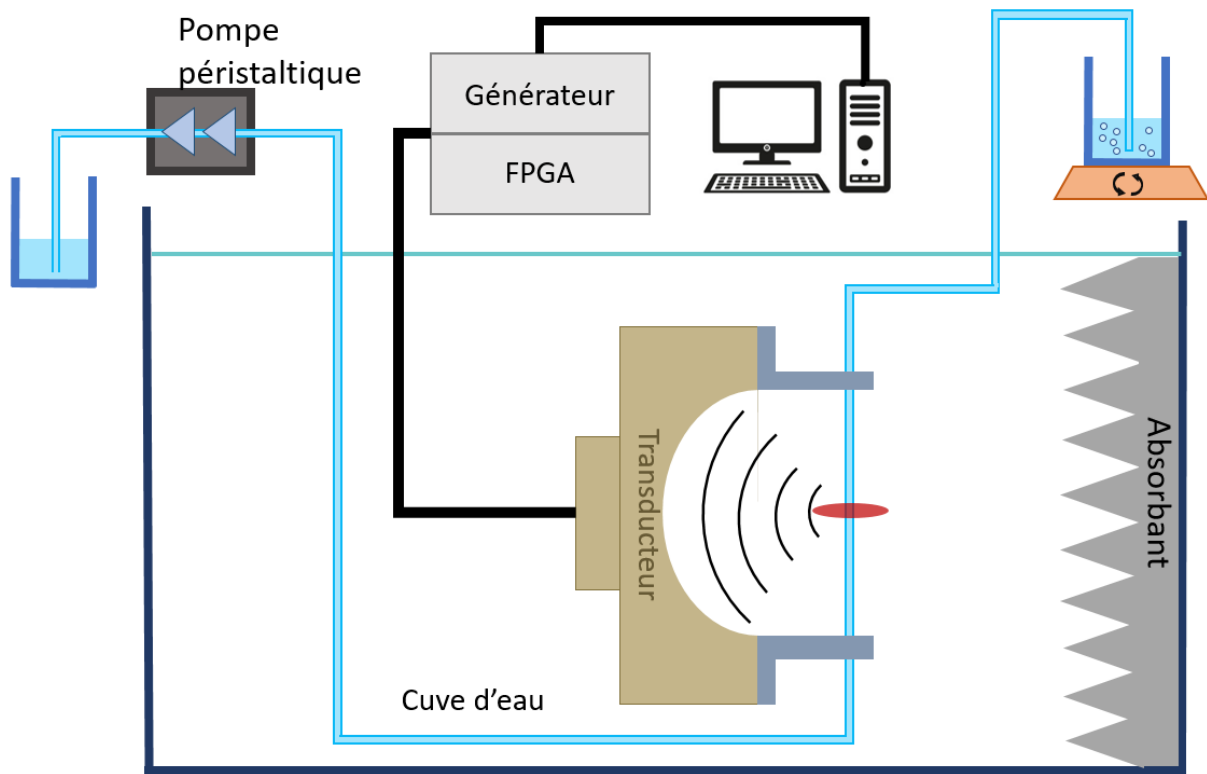


FIGURE 2.3 – Schéma de l'ensemble du dispositif expérimental utilisé pour l'expérience de caractérisation de la cavitation des microbulles in vitro

à pression constante avant une phase de réduction de pression (rampe descendante), la forme symétrique de leur enveloppe temporelle était donc un trapèze (cf Figure 2.4 A). Dans ces expériences, les signaux étaient tirés avec des amplitudes différentes afin d'observer la variation de la cavitation des MB selon la pression ultrasonore exercée. Les tirs ultrasonores duraient 10 ms avec des rampes de durée 0,5 ms en début et fin de tir. Ces rampes avaient pour fonctions d'éviter des variations trop rapides d'amplitude au niveau du générateur, qui auraient pu entraîner des dépassements des valeurs de pression souhaitées. Les pressions parcourues allaient de 36 kPa à 1,1 MPa avec des pas de 15 kPa. Pour chacune des 75 amplitudes différentes, 20 répétitions étaient effectuées afin de pouvoir mesurer la variation des résultats obtenus. La fréquence d'émission était fixée à 1,5 MHz pour correspondre à la fréquence centrale du transducteur utilisé. La fréquence d'échantillonnage était de 25 MHz.

Une 2nd forme de signal d'enveloppe triangulaire a été utilisée. Ce signal est composé d'une augmentation de la pression pendant 13 ms avant de maintenir la pression constante pendant 2 ms avant de couper le tir ultrasonore (cf Figure 2.4 B). Ce type de tir ultrasonore avait pour objectif de caractériser les différentes dynamiques d'apparition des composantes fréquentielles durant une augmentation progressive de la pression. La partie à pression constante finale servait à observer de potentiels régimes transitoires des indices après ces rampes très progressives. Ces tirs étaient tous effectués avec la même pression maximale. Il s'agissait donc de 300 répétitions du même tir.

2.2.2.2 Déroulé des expériences

Plusieurs expériences ont été réalisées. Pour chacune des expériences, 4 différentes solutions ont été mises en circulation dans le capillaire. Premièrement de l'eau dé-ionisée été utilisée. Ensuite 3 dilutions successives de l'agent de contraste ultrasonore SonoVue® étaient utilisées. Les facteurs de dilution étaient 1:27, 1:80 et 1:240, ils ont été choisis afin que la concentration la plus forte soit proche de celle utilisée dans les expériences *in vivo* (1:27) les autres dilutions ont été choisies pour toujours

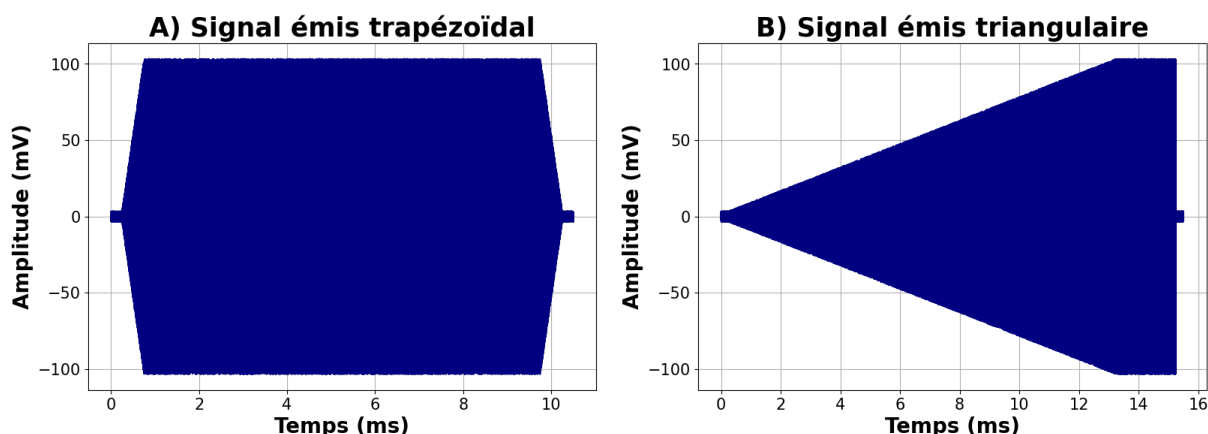


FIGURE 2.4 – A) Tir ultrasonore avec une enveloppe trapézoïdale. La pression est augmentée pendant 400 μ s avant d'atteindre une valeur maintenue pendant 9,2 ms. La pression est alors réduite jusqu'à 0 en 400 μ s. B) Tir ultrasonore avec une enveloppe triangulaire. Le tir comporte une augmentation progressive de la pression pendant 13 ms avant de maintenir la pression constante pendant 2 ms.

avoir un facteur 3 avec la précédente. La dilution était effectuée avec de l'eau dé-ionisée non dégazée afin de maximiser la stabilité des MB au cours de l'expérience.

L'utilisation de concentrations plus faibles permettait de caractériser, au moins de façon tendancielle, le comportement des MB au cours d'une expérience *in vivo*. En effet, leur concentration décroît rapidement une fois injectées dans le sang de l'animal. Pour chaque solution, les différentes pressions ultrasonores étaient tirées de façon aléatoire afin d'éviter que la variation de l'état des MB dans le béccher ne biaise l'expérience.

En effet lors d'expériences préliminaires, il a été observé des variations de l'ordre de 4 à 5% des indices pour 5 minutes d'agitation dans le béccher de MB. Ces variations sont beaucoup plus faibles que chez l'animal où les MB sont difficilement observables après 3 ou 4 minutes.

Il y avait pour l'expérience avec des tirs trapézoïdaux $75 \times 20 = 1500$ tirs ce qui représente une durée d'acquisition de 3 minutes et 45 secondes pour 10 répétitions des tirs par seconde (PRF = 10 Hz). Cela a permis de considérer les variations de l'état des MB dans le béccher comme presque constant pendant l'expérience. En effet si pour les composantes harmoniques les variations de l'état des MB étaient observables, pour les composantes ultra-harmoniques et de bruit large bande, leurs variations intrinsèques étaient très supérieures à ce changement d'état des MB.

Une fois les tirs de formes trapézoïdales terminés, les tirs avec une enveloppe triangulaire étaient émis, cela durait 45 secondes ce qui à nouveau permettait de considérer comme acceptable la variation d'état et de concentration des MB pendant toute l'expérience. À la fin de chaque expérience, le béccher agité était vidé et nettoyé avec une serviette en papier afin d'éviter que des MB n'y restent accrochées. Le capillaire était rincé avec de l'eau dé-ionisée et des successions d'air et d'eau y étaient injectées. La concentration suivante de MB était ensuite diluée dans l'eau et après une minute d'agitation et de circulation de la solution, les tirs commençaient. Les concentrations de MB ont été utilisées dans un ordre croissant (0, 1:240, 1:80 et 1:27) afin qu'en cas de résidu de bulles dans le béccher ou le capillaire, l'impact soit le plus réduit pour les expériences suivantes.

L'ensemble de l'expérience (c.-à-d. les 4 concentrations et pour chacune les tirs trapézoïdaux et triangulaires) a été répété 3 fois avec plusieurs flacons de SonoVue® avec des dates d'ouvertures différentes (cf Table 2.2). L'expérience avec des MB reconstituées pendant l'expérience a été reproduite 2 fois (avec des flacons différents). Après leur ouverture, les flacons de MB avaient été conservés au réfrigérateur. L'utilisation de ces flacons déjà utilisés a permis plusieurs choses : prioriser les flacons les plus récents pour les expériences *in vivo* et vérifier si les MB de ces flacons plus anciens avaient

des propriétés différentes de celles des MB reconstituées pendant l'expérience.

	Expérience 1	Expérience 2	Expérience 3
Délai depuis l'ouverture	0 jour	21 jours	140 jours

TABEAU 2.2 – Délai depuis l'ouverture des flacons de SonoVue® lors de leur utilisation dans chaque expérience. Ils ont été conservés au réfrigérateur.

2.2.3 Analyse des signaux enregistrés

2.2.3.1 Traitement des signaux temporels

Chacun des signaux obtenus comptait 260 000 et 380 000 valeurs respectivement pour les tirs trapézoïdaux et triangulaires. Chacun de ces signaux a suivi le traitement suivant :

1. Découpage en fenêtre de 2048 échantillons du signal temporel (80 μ s, 123 cycles), ce nombre d'échantillon en puissance de 2 permet d'optimiser la vitesse de calcul des Transformées de Fourier Rapides (Fast Fourier Transform : FFT). Le découpage des fenêtres s'effectuait avec un décalage de 1024 échantillons de façon à maintenir une redondance du signal mesuré et ne pas amoindrir trop fortement certaines valeurs lors de l'utilisation de fenêtres d'apodisation qui suivait. Cela correspond à 253 et 371 fenêtres pour chaque signal. Le fenêtrage commence au premier cycle pour lequel une augmentation de la pression est observée.
2. Convolution de ces fenêtres avec une fenêtre Flat-top. Cette fenêtre d'apodisation permet lors de sa convolution d'obtenir un maximum de précision sur l'amplitude du signal tout en réduisant la résolution fréquentielle. Dans notre cas la fréquence des différentes composantes est connue et seule leur amplitude nous intéresse, cette fenêtre est donc tout indiquée (cf figure 2.5).
3. Passage dans le domaine de Fourier avec une Transformée de Fourier Discrète (TFD) permettant de récupérer les spectres des différentes fenêtres de notre signal.
4. Calcul des différents indices de cavitation

2.2.3.2 Traitement des signaux fréquentiels

Une fois les spectres obtenus, différents indices sont calculés. Plusieurs méthodes sont employées selon les indices.

Indices Harmoniques Les indices harmoniques sont les valeurs des composantes du spectre aux valeurs multiples de la fréquence d'émission : $f_n = n * f_0 \mid n \in \mathbb{N}^*$. Les indices harmoniques dans cette expérience sont calculés selon la formule suivante :

$$H_n = \max\{\sqrt{DSP[nf_0 - 50kHz : nf_0 + 50kHz]}\} \mid n \in \mathbb{N}^* \quad (2.4)$$

avec DSP la Densité Spectrale de Puissance

Les différents indices harmoniques H_n représentent les valeurs de chacune des composantes nf_0 obtenus par une détection de maximum sur une bande fréquentielle de $\pm 50 kHz$ autour de chaque harmonique. Ces indices étaient sommés pour représenter la valeur des harmoniques (généralement sans H_1 car fortement dépendante de la réflexion directe) ou analysés séparément.

Pour le calcul de chaque indice, la valeur choisie a été le maximum. En effet la seconde option aurait été une intégrale du spectre centrée sur chaque harmonique. Toutefois la largeur de la bande d'intégration aurait été un paramètre changeant la valeur de l'indice, de plus le nombre d'échantillon dans la fenêtre aurait aussi contribué à la largeur du pic de chaque harmonique, faisant à nouveau

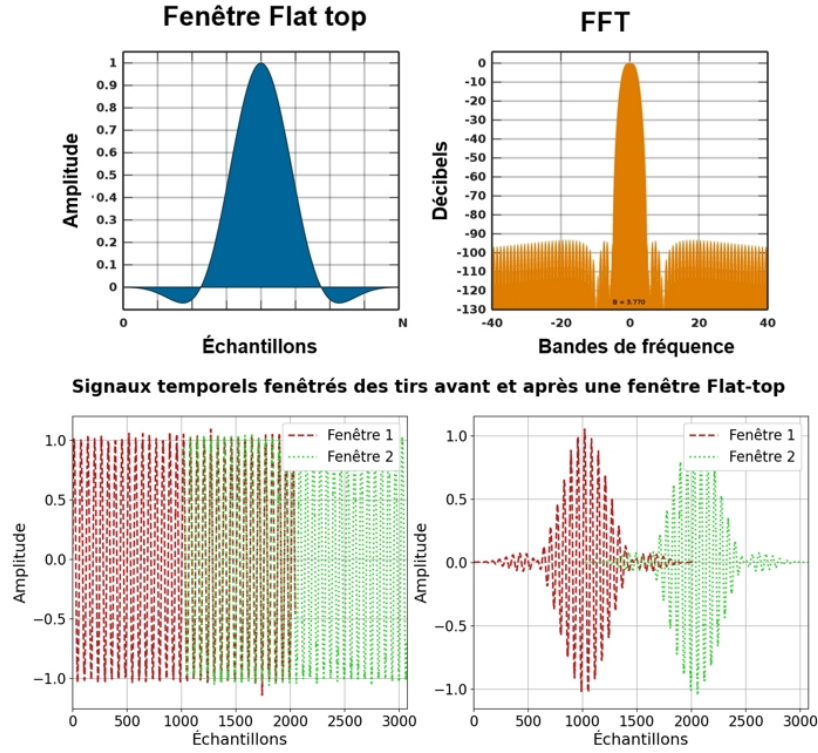


FIGURE 2.5 – Fenêtre Flat Top utilisée pour la convolution de chaque fenêtre temporelle du signal acoustique. Sa représentation en fréquence, caractérisée par une précision élevée en amplitude, en fait un choix optimal pour l'analyse spectrale. Exemple de signal temporel fenêtré avec cette fenêtre, de largeur 2048 points et décalée de 1024 points.

potentiellement varier la valeur de l'indice. La valeur maximale de l'indice correspond à la solution la plus reproductible pour des traitements variables et avec le moins de paramètres arbitraire à choisir.

Indices sous-harmonique et ultra-harmoniques La fréquence sous-harmonique est la fréquence de valeur $\frac{f_0}{2}$. Les indices ultra-harmoniques sont les valeurs des composantes du spectre aux valeurs des multiples impairs de la fréquence du sous-harmonique : $\frac{2n+1}{2}f_0 \mid n \in \mathbb{N}^*$. Les indices sous-harmoniques et ultra-harmoniques dans cette expérience sont calculés selon la même méthodologie que les harmoniques :

$$UH_n = \max\left\{\sqrt{DSP\left[\frac{2n+1}{2}f_0 - 50 \text{ kHz} : \frac{2n+1}{2}f_0 + 50 \text{ kHz}\right]}\right\} \mid n \in \mathbb{N}^* \quad (2.5)$$

$$SH = \max\left\{\sqrt{DSP\left[\frac{f_0}{2} - 50 \text{ kHz} : \frac{f_0}{2} + 50 \text{ kHz}\right]}\right\} \quad (2.6)$$

Les différents indices sous-harmonique et ultra-harmoniques UH_n et SH représentent les valeurs de chacune des composantes $\frac{2n+1}{2}f_0 \mid n \in \mathbb{N}$ obtenus par une détection de maximum sur une bande fréquentielle de ± 50 kHz autour de chaque ultra-harmonique. Ces indices étaient également sommés pour représenter la valeur des ultra-harmoniques ou analysés séparément.

Indices bruit large bande Le bruit large bande correspond à une augmentation du niveau de bruit présent sur l'ensemble du spectre. Il est représentatif de la cavitation inertielle. Dans certaines études, cet indice est calculé en faisant l'intégrale du spectre sur l'entièreté des fréquences dans la gamme d'écoute du PCD. Toutefois, selon les dispositifs et la longueur des spectres tracés, les harmoniques et ultra-harmoniques peuvent avoir une influence sur le résultat obtenu. Dans notre cas, les FFT

étant tracées sur uniquement 2048 points, nous avons choisi d'intégrer le spectre uniquement sur des bandes fréquentielles excluant les harmoniques et les ultra-harmoniques pour éviter toute perturbation.

Pour cela, en plus d'exclure les bandes fréquentielles sur lesquelles les harmoniques et ultra-harmoniques ont été recherchés, les bandes d'exclusion entourant ces fréquences ont été élargies. Cela a été choisi à cause de l'effet d'élargissement des pics en fréquence sur le spectre lorsque l'amplitude ultrasonore augmente. Cet élargissement n'a pas besoin d'être répercuté sur les bandes de recherche de maxima car les maxima seront toujours centrés. En revanche dans le cas du bruit large bande, l'intégrale sur le spectre ne doit pas prendre en compte des fréquences trop proches des pics harmoniques sous peine de contamination de la valeur intégrale par cet élargissement des pics.

$$BB = \sum_{i=3}^7 \int_{\frac{2i+1}{4} - 225 \text{ kHz}}^{\frac{2i+1}{4} + 225 \text{ kHz}} \sqrt{DSP[f]} df \quad (2.7)$$

J'obtiens donc une valeur pour chaque plage de fréquence (au nombre de 5) qui est intégrée et qui peuvent ensuite être moyennées pour obtenir une valeur globale pour chaque spectre. Pour intégrer le bruit large bande, une bande fréquentielle de largeur 150 kHz entoure chaque harmonique et ultra-harmoniques est exclue. Cela revient aussi à intégrer le spectre sur les bandes fréquentielles suivantes $\frac{2n+1}{4} f_0 \pm 225 \text{ kHz} \mid n \in \llbracket 3, 7 \rrbracket$. Ces bandes ont été choisies afin d'être dans la bande passante du PCD, elles sont observables en rose sur la figure 2.6.

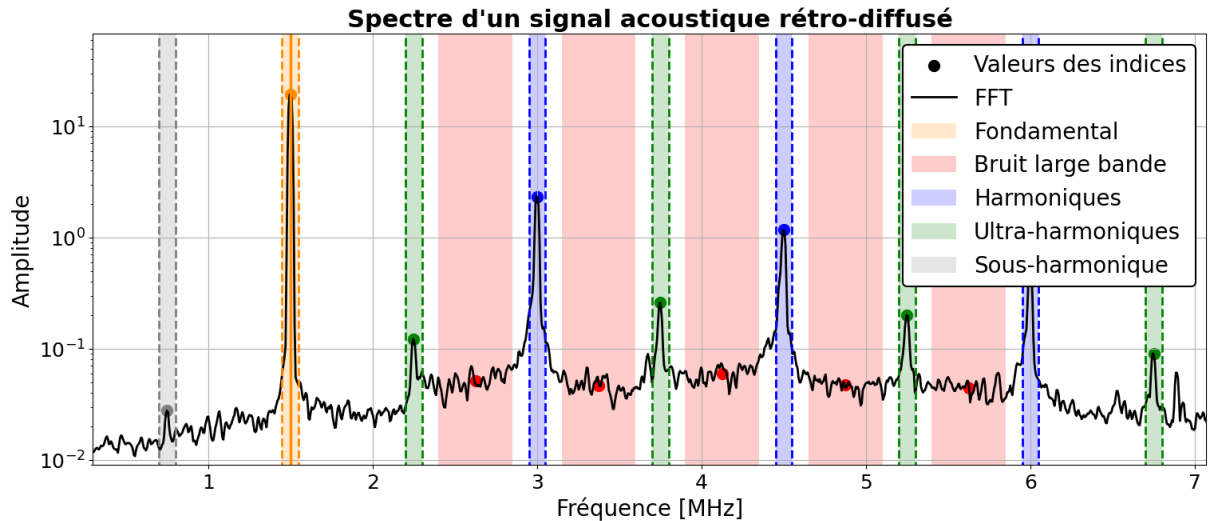


FIGURE 2.6 – Spectre obtenu à partir du signal rétro-diffusé par les microbulles à une pression ultrasonore permettant l'apparition des composantes ultra-harmoniques et inertielles

2.2.3.3 Affichages des tirs à enveloppe trapézoïdale

Pour les tirs avec une enveloppe trapézoïdale, chaque émission correspond à une pression et une concentration donnée. Vingt tirs ont été émis pour chaque pression. Le processus de traitement est donc appliqué sur l'ensemble des tirs. Une fois cela fait, les indices des tirs correspondant à des pressions similaires sont regroupés et l'écart type et la moyenne des indices sont calculés.

Des cartes de cavitations représentant l'évolution d'un indice selon la pression mais aussi selon le temps au sein du tir (analyse intra-tir) sont aussi déterminées (cf partie 2.3.1.1). Les différents indices sont donc calculés pour chaque pression, chaque fenêtre temporelle et pour l'ensemble de ces indices, la moyenne et l'écart type sont calculés.

Il est également possible de moyenniser les valeurs obtenues dans les différentes fenêtres sur l'entière des tirs ultrasonores (253 fenêtres, 10 ms). Pour les harmoniques et ultra-harmoniques, l'entière du tir ultrasonore est moyennée (analyse inter-tir). Pour la cavitation inertielle seule la première milliseconde est moyennée du fait du caractère très transitoire de la cavitation inertielle (cf figure 2.8). Il est alors possible d'observer l'évolution pour une concentration donnée des différentes composantes d'un indice moyenné sur les 20 mesures (par exemple : H_2 , H_3 , H_4 , H_5) (cf partie 2.3.1.2).

Il est ensuite possible de représenter l'évolution d'une composante selon la pression en représentant sur une même figure les différentes concentrations de MB (cf partie 2.3.1.3).

Pour une concentration donnée il est possible d'afficher sur une même figure l'ensemble des indices calculés en les normalisant les différents indices par son maximum (cf équation 2.8) et d'afficher ces indices sur un même graphique.

$$Indice_{norm} = \frac{Indice - \min(Indice)}{\max\{Indice - \min(Indice)\}} \quad (2.8)$$

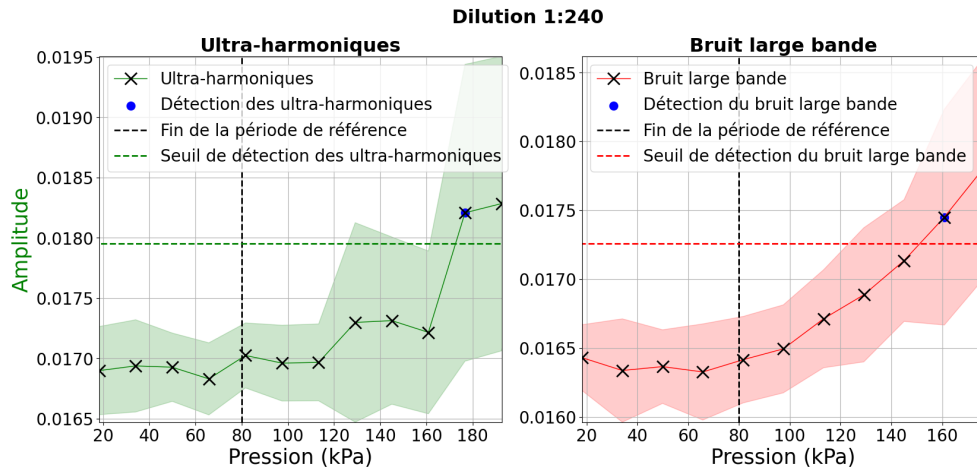


FIGURE 2.7 – Figure où sont représentés pour les indices de bruit large bande et des ultra-harmoniques les pressions seuils d'apparition. Lorsque la valeur moyenne de l'indice dépasse la valeur moyenne de référence additionnée à 3 fois l'écart type de référence, on considère que l'indice apparaît.

Pour obtenir précisément les seuils à partir desquels ces composantes sont observables, le traitement suivant est mis en place. Les valeurs de chaque indice entre 36 et 80 kPa sont utilisées comme références. À partir des valeurs de ces indices à ces pressions sont calculés la moyenne et l'écart type du signal associé à ces 2 indices lorsqu'ils ne sont pas détectables. Le seuil d'apparition de chacun de ces indices correspond ensuite à la première pression pour laquelle l'indice excède la moyenne de référence plus 3 fois l'écart type de référence. Cela est représenté dans la figure 2.7.

2.2.3.4 Affichages des tirs triangulaires

Pour les tirs triangulaires, tous les 300 tirs sont effectués avec la même enveloppe et la même amplitude maximale. Le même traitement temporel et fréquentiel que pour les tirs à enveloppe trapézoïdale est appliqué. Une fois ce traitement effectué des courbes similaires à celles obtenues avec les tirs trapézoïdaux sont représentées.

La pression est donc strictement croissante pendant les 13 premières millisecondes du tir. Chaque fenêtre temporelle observée correspond à une amplitude différente, et même au sein de cette fenêtre, la pression émise varie. Pendant une fenêtre la pression va augmenter de 7,5 kPa. Pour chaque tir une centaine de fenêtres se succèdent, toutes possédant des intervalles d'amplitude différents. Ces intervalles de pressions associés à chaque fenêtre temporelle sont les mêmes entre les différents tirs. En

utilisant les intervalles de pression associés à chacune de ces fenêtres, il est possible de tracer des cartes de cavitation similaires à celles des tirs trapézoïdaux. Les variations des différents indices n'apparaîtront pas selon l'axe vertical mais horizontal car tous les tirs sont similaires. En revanche il est possible d'observer l'effet de l'augmentation de pression au cours du tir ultrasonore par la variation de l'indice suivant l'axe des abscisses (cf partie 2.3.2.1).

L'évolution des indices harmoniques, ultra-harmoniques et inertiels est également calculée selon la pression en moyennant les fenêtres avec les mêmes pressions dans les 300 tirs (cf partie 2.3.2.2). L'écart type associé à ces tirs est calculé à partir des 300 échantillons. Enfin, pour une même concentration, 3 indices normalisés sont calculés pour observer leurs évolutions relatives (cf partie 2.3.2.3). Afin de pouvoir déterminer la valeur de la pression de chaque fenêtre, un rapport entre l'amplitude médiane de la fenêtre pour une émission sans MB et la valeur maximale d'amplitude associée à la pression maximale émise (cf équation 2.9).

$$Pression_{\text{fenêtre } n} = Amplitude_{\text{fenêtre } n} \times \frac{Pression_{max}}{Amplitude_{max}} \quad (2.9)$$

2.3 Résultats obtenus

2.3.1 Tirs ultrasonores trapézoïdaux

2.3.1.1 Carte de cavitation

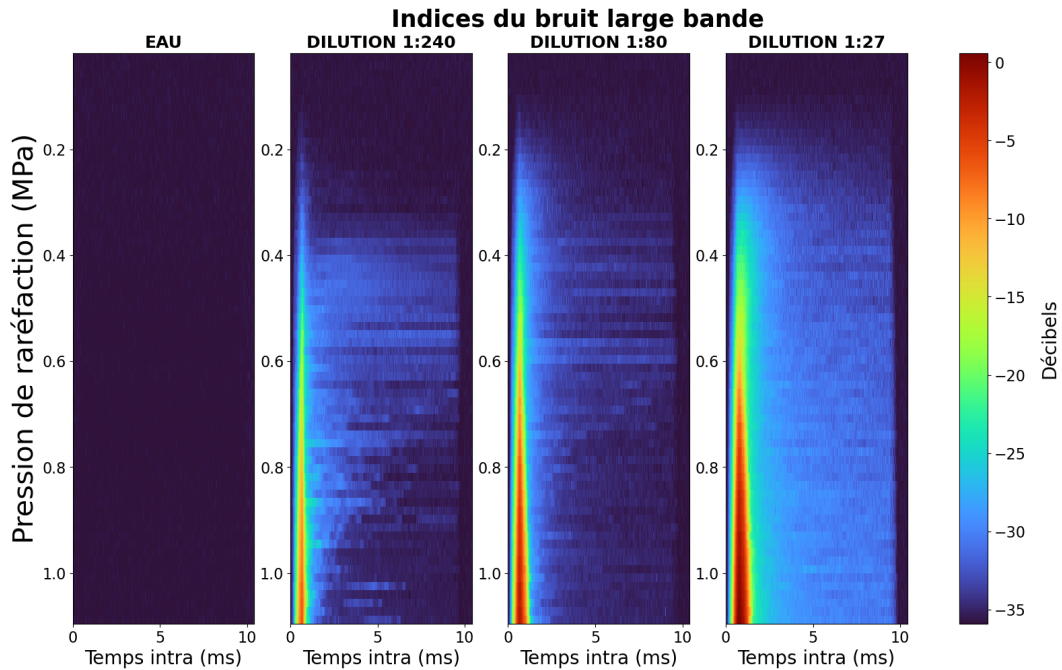


FIGURE 2.8 – Carte de cavitation où est affichée l'évolution de la cavitation inertielle (bruit large bande) pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. Les indices évoluent avec la pression (axe vertical) et le temps au sein du tir (axe horizontal).

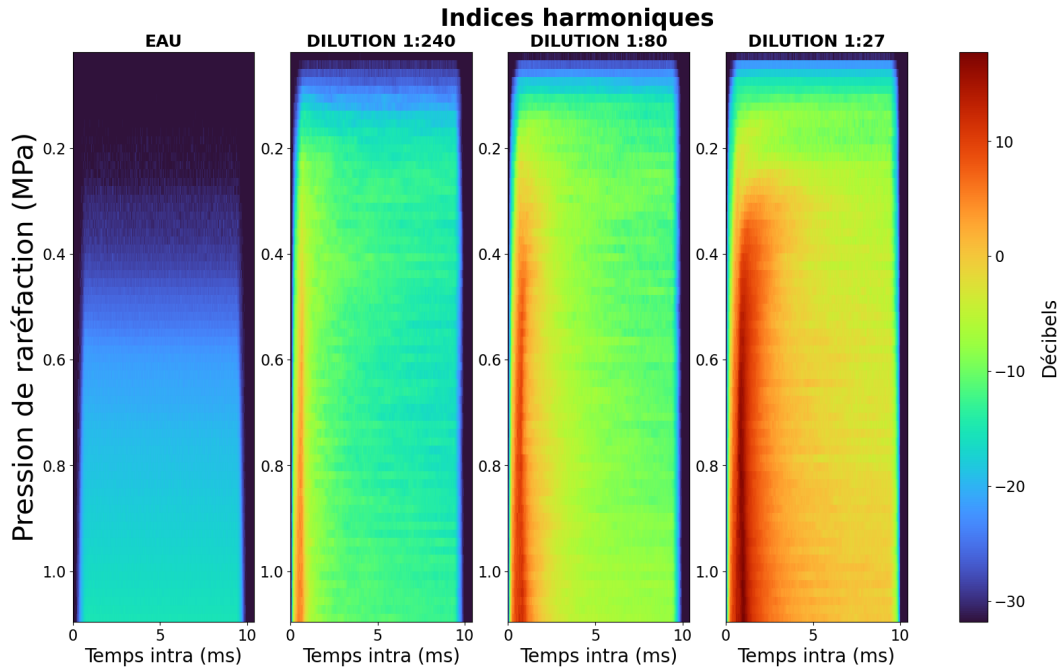


FIGURE 2.9 – Carte de cavitation où est affichée l'évolution de l'indice harmonique pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. Les indices évoluent avec la pression (axe vertical) et le temps au sein du tir (axe horizontal).

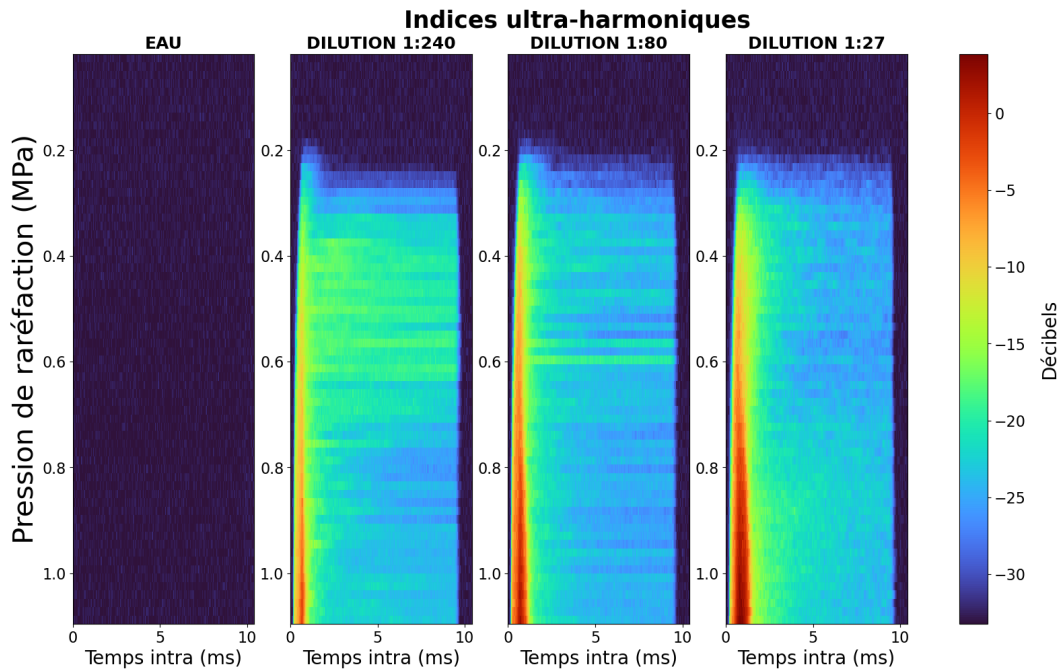


FIGURE 2.10 – Carte de cavitation où est affichée l'évolution de l'indice ultra-harmonique pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. Les indices évoluent avec la pression (axe vertical) et le temps au sein du tir (axe horizontal).

Des cartes de cavitation permettant d'observer l'évolution des différents indices avec la pression, la concentration et aussi l'évolution temporelle au sein d'un tir (analyse intra-tir) sont tracées pour les tirs ultrasonores trapézoïdaux.

Pour les cartes de cavitation de l'indice de bruit large bande (Fig 2.8), cet indice n'est pas détec-

table pour des pressions inférieures à 200 kPa. Si la pression est supérieure à ces valeurs, une apparition transitoire de l'indice de cavitation inertielle est observable en début de tirs ultrasonores (< 1 ms). Ce comportement transitoire est très certainement expliqué par le caractère destructif de la cavitation inertielle qui va détruire les MB qui sont la principale source du signal rétro-diffusé.

Il est aussi possible d'observer un maintien de l'activité de la cavitation inertielle entre 380 et 600 kPa pour les dilutions les plus importantes. Cette présence de cavitation inertielle pendant le tir est néanmoins inférieure à la partie transitoire initiale. La durée de ce maintien diminue progressivement lorsque la pression augmente. Cette présence n'est pas un phénomène systématique en effet sur les 20 tirs à chaque pression compris dans cette plage, certains tirs vont engendrer de la cavitation inertielle sur l'ensemble du tir quand d'autres vont uniquement produire la partie transitoire de début de tir.

Concernant la composante harmonique, cette composante apparaît à des pressions très faibles. L'indice augmente avec la pression et la concentration des MB. A noter que le caractère transitoire est beaucoup moins marqué que pour la composante inertielle.

Pour la composante ultra-harmonique, les cartes de cavitation montrent à nouveau un effet de seuillage avec une absence de la composante ultra-harmonique en dessous d'une certaine valeur de pression, autour de 200 kPa.

2.3.1.2 Variation des différentes composantes des indices harmoniques et ultra-harmoniques

Pour les composantes harmoniques et ultra-harmoniques, il est possible d'observer la variation des différentes composantes les unes par rapport aux autres : H_2 , H_3 , H_4 , H_5 ainsi que SH , UH_1 , UH_2 , UH_3 , UH_4 . Cela a permis de définir quelles étaient les composantes recevant le plus de signal et dont les variations étaient les plus marquées. Ainsi, les composantes les plus significatives sont H_2 et H_3 pour les harmoniques d'après la figure 2.11 ce seront donc ces 2 composantes qui seront affichées pour les cartes de cavitation et pour l'indice des harmoniques. Pour les composantes ultra-harmoniques, les composantes les plus significatives sont UH_1 , UH_2 , UH_3 , d'après la figure 2.12 ce seront donc ces 3 composantes qui seront affichées pour les cartes de cavitation et pour l'indice des ultra-harmoniques.

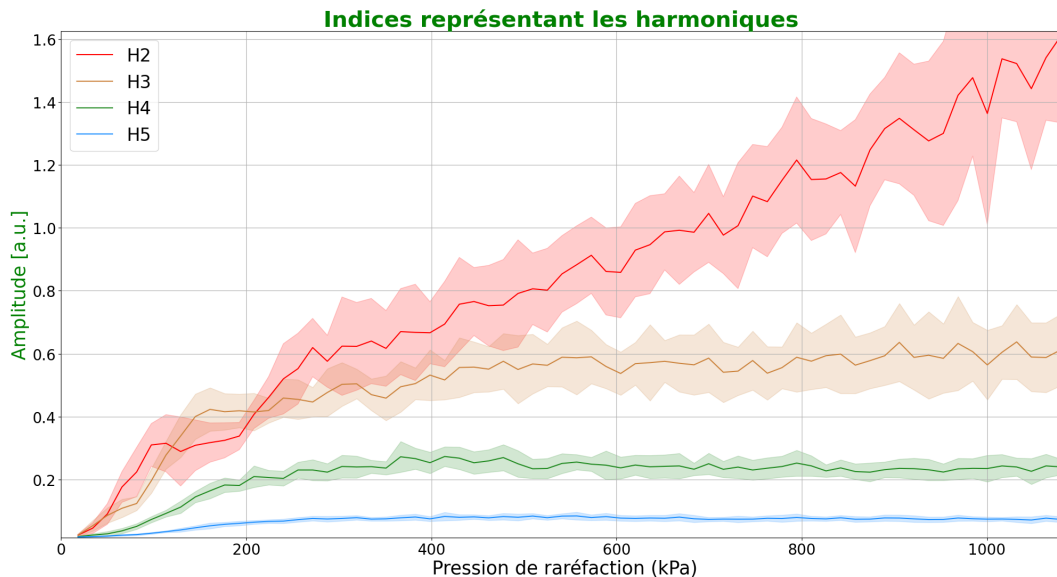


FIGURE 2.11 – Évolution des différentes composantes H_1 , H_2 , H_3 , H_4 qui représentent l'évolution des différents harmoniques pour l'expérience avec le flacon 1. Les composantes H_1 , H_2 sont les plus significatives

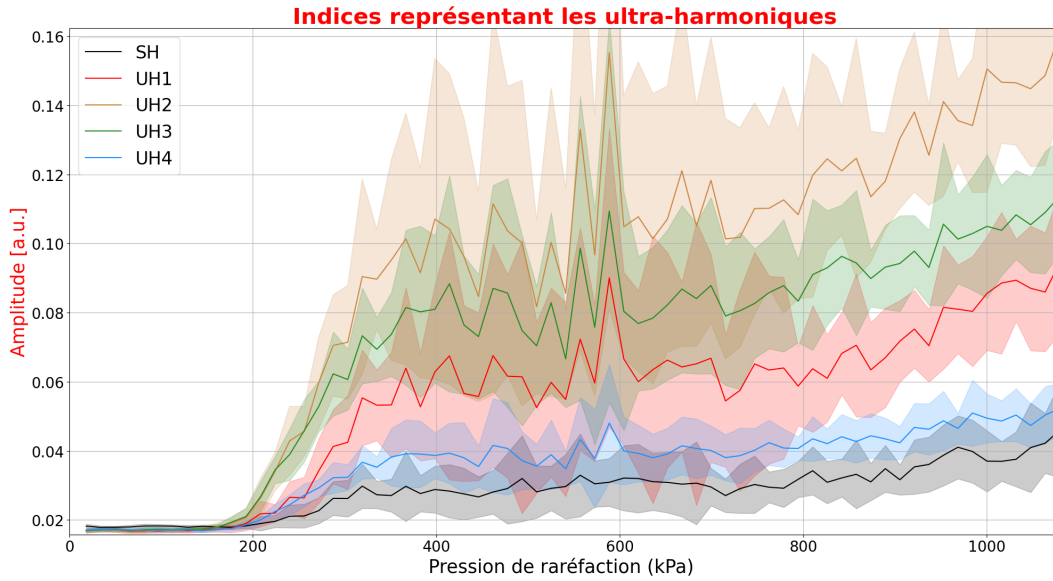


FIGURE 2.12 – Évolution des différentes composantes SH , UH_1 , UH_2 , UH_3 et UH_4 qui représentent l'évolution des différents ultra-harmoniques pour l'expérience avec le flacon 1. Les composantes UH_1 , UH_2 et UH_3 sont les plus significatives

La même caractérisation a été effectuée pour les différentes bandes fréquentielles sur lesquelles est intégré le bruit large bande. Toutes les bandes observées ont exactement le même comportement avec de légères variations entre les valeurs atteintes de 20% maximum. Elles sont donc toutes utilisées dans les calculs permettant d'afficher les différentes cartes et figures sur la cavitation inertielle.

2.3.1.3 Évolution des indices de cavitation selon la concentration en microbulles et la pression

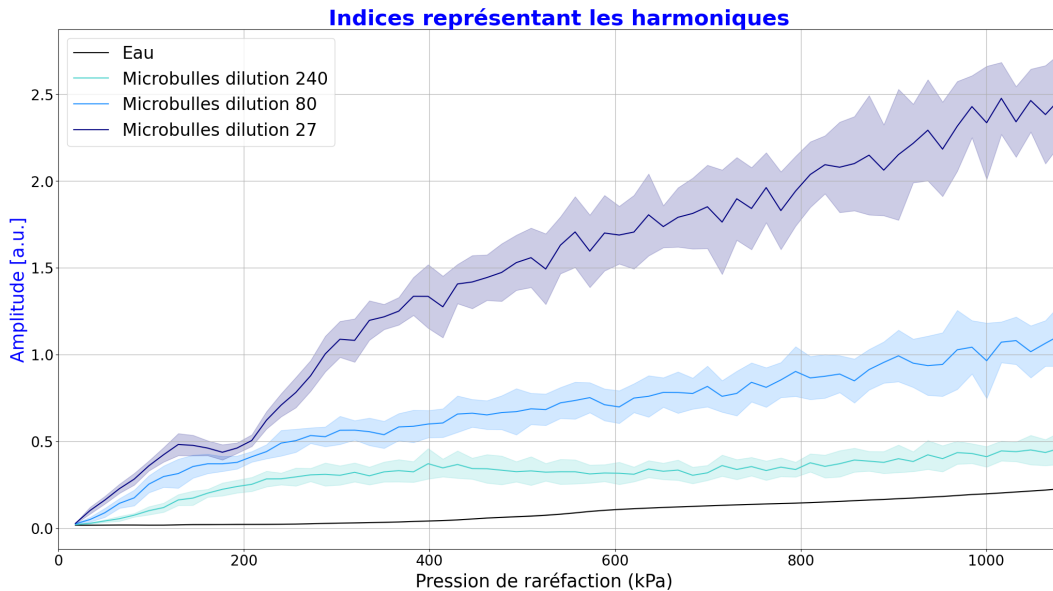


FIGURE 2.13 – Évolution des indices harmoniques pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. Le nuage entourant chacune des courbes représente l'écart type associé. La composante harmonique augmente avec la pression et la concentration en MB. Cet indice des harmoniques est calculé à partir de la moyenne de la valeur maximale de H_2 et H_3 .

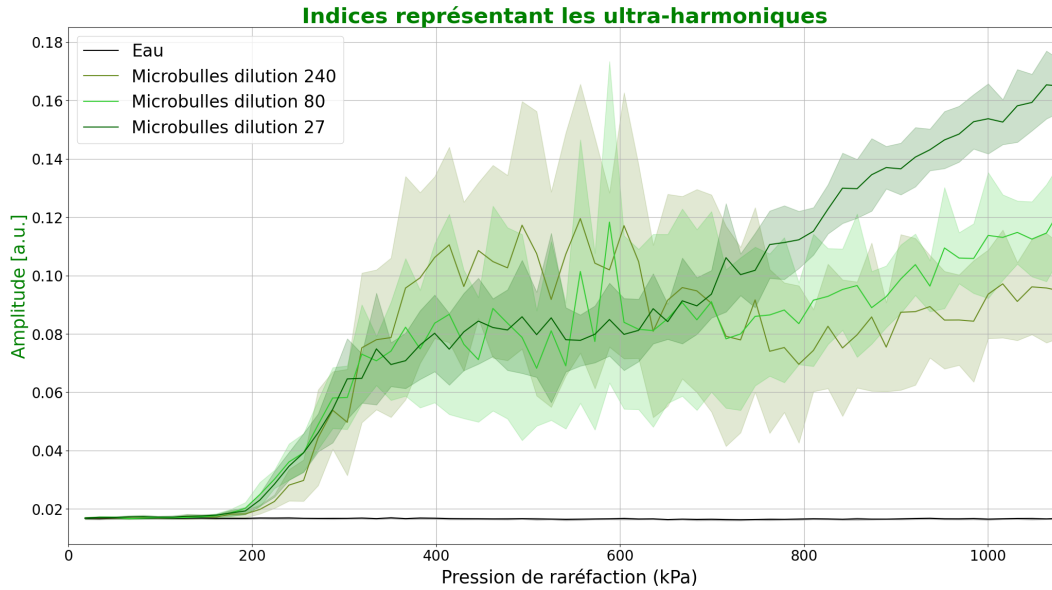


FIGURE 2.14 – Évolution des indices ultra-harmoniques pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. Le nuage entourant chacune des courbes représente l'écart type associé. La composante ultra-harmonique apparaît à partir d'une pression seuil de 200 kPa. Pour l'expérience sans MB, aucun ultra-harmonique n'est détecté. Pour les composantes ultra-harmoniques détectées, pour des pressions supérieures à 200 kPa, les valeurs d'indices sont relativement proches pour les différentes concentrations.

Une caractérisation intéressante de la cavitation peut être effectuée en affichant l'évolution de chaque indice sur une figure avec en ordonnée la valeur de cet indice, en abscisse la pression tirée et plusieurs courbes représentant chacune des concentrations. Ces figures seront présentées dans cette sous-partie.

Pour les harmoniques, l'indice calculé est fortement dépendant de la concentration en MB (cf Figure 2.13) et croît avec la pression. Pour chacune des concentrations évaluées, une augmentation de l'indice des harmoniques avec la pression émise est observée. Pour l'expérience sans MB, la composante harmonique est aussi observable à forte pression, certainement dû à la propagation non linéaire de l'onde ultrasonore et aux réflexions du capillaire. Enfin, le nuage entourant chaque courbe représente l'écart type qui a été calculé à partir des 20 répétitions pour chaque concentration et valeurs de pression.

Pour les ultra-harmoniques (cf Figure 2.14), il est intéressant de remarquer qu'aucune composante ultra-harmonique n'a été détectée sur la plage de pression observée lors de l'expérience sans MB. Cela confirme que ces composantes non linéaires ne sont pas induites par la propagation des ultrasons dans le milieu. Pour les 3 différentes dilutions de MB, en dessous d'une certaine pression seuil (ici 177 kPa) aucun indice ultra-harmonique n'a été détecté. Une fois cette pression dépassée les ultra-harmoniques sont détectés. Il convient de noter que les valeurs des indices et des seuils obtenues pour les différentes concentrations en MB sont très proches. L'apparition de ces composantes semble donc être peu dépendante de la concentration. Lorsque la pression dépasse 300 kPa, l'indice ultra-harmonique atteint un plateau et arrête sa croissance, seule la dilution 1:27 de MB reprend son augmentation à partir de 700 kPa, nous verrons toutefois que cette augmentation est fortement due à la présence importante de cavitation inertielle.

Pour l'indice de cavitation inertielle (cf Figure 2.15), à nouveau un phénomène de seuillage est observable avec la détection de la composante de bruit large bande pour des pressions acoustiques supérieures à 130 kPa. Une fois cette pression dépassée l'augmentation de la composante de bruit large bande suit une croissance exponentielle. Contrairement à la composante ultra-harmonique

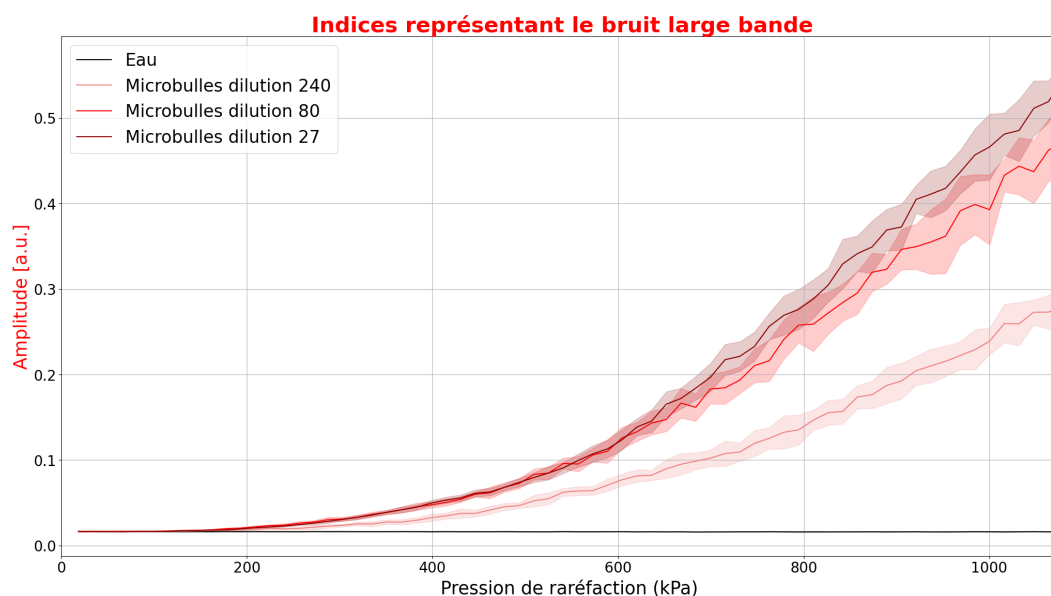


FIGURE 2.15 – Évolution des indices inertiels pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 des MB avec le flacon 1. Le nuage entourant chacune des courbes représente l'écart type associé. La composante inertielle augmente exponentiellement avec la pression et la concentration en MB. Cette augmentation est détectable à partir de 200 kPa, pression avant laquelle aucune composante inertielle n'est détectée. Pour l'expérience sans MB, aucune augmentation du bruit large bande n'est observable.

où le seuil d'apparition est fortement marqué, ici l'augmentation est plus progressive ce qui rend plus difficile la détermination précise du seuil de pression. De plus les valeurs atteintes sont très importantes contrairement aux ultra-harmoniques dont les valeurs restent plus limitées. L'écart type des différentes concentrations est relativement faible ce qui permet de bien différencier les dilutions 1:240 des concentrations 1:80 et 1:27. Toutefois pour ces deux dernières concentrations, les courbes sont très fortement similaires que ce soit pour la valeur moyenne ou l'écart type.

2.3.1.4 Évolution des différents indices de cavitation selon la pression pour chacune des dilutions de microbulles

Les figures 2.16 et 2.17 représentent les variations relatives de chaque indice pour chaque facteur de dilution. Cette visualisation donne une indication de l'augmentation et diminutions des différents indices. Les ultra-harmoniques et le bruit large bande commencent à être détectables pour des valeurs seuil de pression proches. Ces seuils sont symbolisés avec des pointillés pour ces indices.

Le bruit large bande est toujours détecté avant les ultra-harmoniques. Cela semble contre-intuitif au vu des courbes normalisées, mais les ultra-harmoniques sont détectés de façon beaucoup plus faible que le bruit large bande. Cet indice atteint rapidement 50% de sa valeur pour 1,1 MPa contrairement à l'indice inertiel qui augmente plus progressivement. Toutefois le signal obtenu à partir de l'indice inertiel possède un meilleur RSB.

2.3.1.5 Répétabilité de l'expérience

Cette expérience a été répétée 3 fois avec différents flacons de MB ouverts à différents temps. Les résultats obtenus sur ces différents flacons sont très similaires. Les figures représentant les différents indices pour les concentrations similaires sont très ressemblantes, comme par exemple les indices obtenus pour la concentration 1;240 visibles dans la figure 2.18.

Les seuils obtenus sont légèrement différents selon les expériences (cf tableau 2.3) mais, pour une même dilution il reste similaire pour les différentes concentrations. Cette variation entre expériences

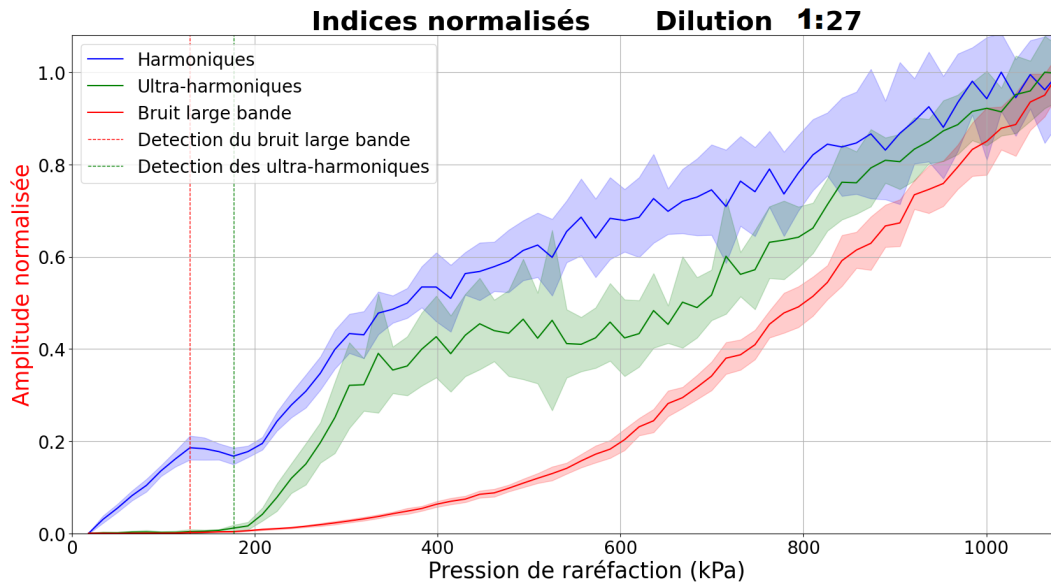


FIGURE 2.16 – Évolution des différents indices de cavitation qui ont été normalisés entre 0 et 1 pour la dilution 1:27 des MB avec le flacon 1. Les harmoniques augmentent quasi linéairement, et le bruit large bande de façon exponentielle. Enfin les ultra-harmoniques apparaissent pour des pressions supérieures à 177 kPa et le bruit large bande à partir de 129 kPa.

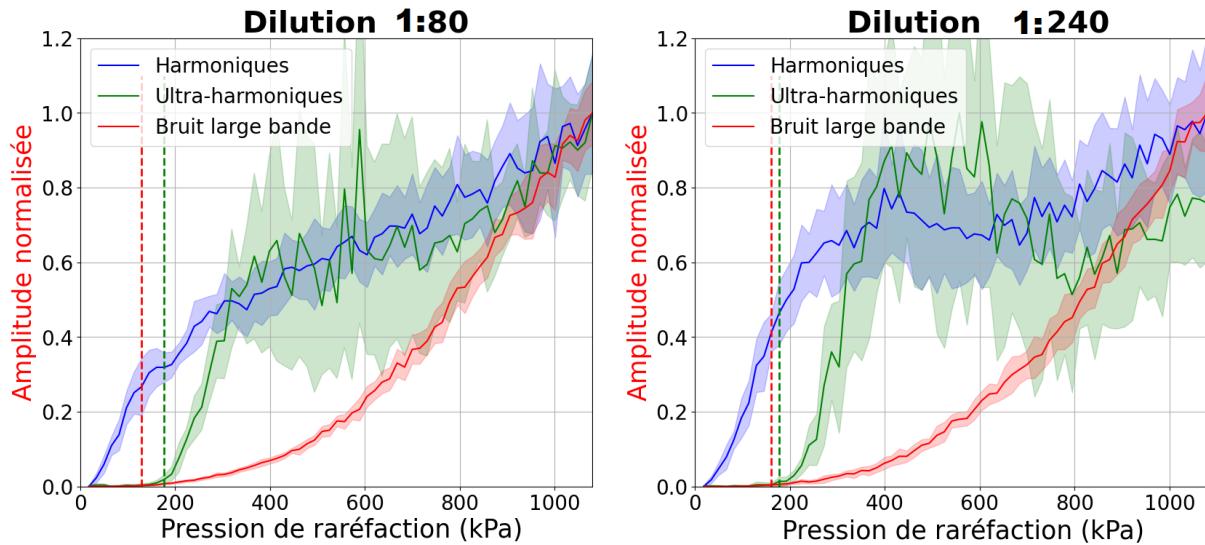


FIGURE 2.17 – Évolution des différents indices de cavitation qui ont été normalisés entre 0 et 1 pour la dilution 1:80 et 1:240 des MB avec le flacon 1. Les harmoniques augmentent quasi linéairement, et le bruit large bande de façon exponentielle. Enfin les ultra-harmoniques apparaissent pour des pressions supérieures à 177 kPa pour les 2 concentrations. Le bruit large bande est détecté à partir de 129 kPa pour la dilution 1:80 et 161 kPa pour la dilution 1:240.

provient très probablement du capillaire inséré et de sa position qui peut légèrement varier selon sa courbure et son positionnement. Ce léger décalage en position fait varier la position de capillaire par rapport à la tache focale et donc fait varier la pression au centre du capillaire. Seule la variation dans la direction orthogonale à la propagation des ultrasons est observable du fait de la dissymétrie de la tache focale.

Dilution	Seuils de pression du bruit large bande			Seuils de pression des ultra-harmoniques		
	1:27	1:80	1:240	1:27	1:80	1:240
Flacon 1	129 kPa	129 kPa	161 kPa	177 kPa	177 kPa	177 kPa
Flacon 2	193 kPa	177 kPa	240 kPa	224 kPa	224 kPa	240 kPa
Flacon 3	129 kPa	129 kPa	161 kPa	145 kPa	161 kPa	161 kPa

TABLEAU 2.3 – Seuils de pression d'apparition des composantes ultra-harmoniques et de bruit large bande pour les différentes expériences.

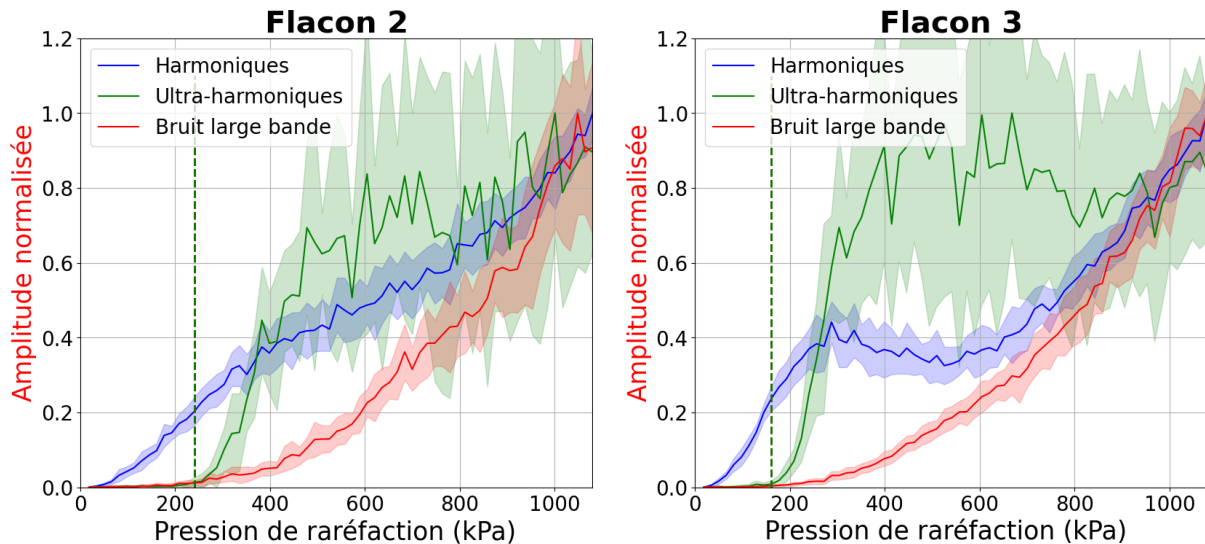


FIGURE 2.18 – Évolution des différents indices de cavitation qui ont été normalisés entre 0 et 1 pour la dilution 1:240 des MB du flacon 2 et 3. Les harmoniques augmentent quasi linéairement, et le bruit large bande de façon exponentielle.

2.3.2 Tirs ultrasonores triangulaires

2.3.2.1 Cartes de cavitation

L'affichage des cartes de cavitation pour les tirs triangulaires permet de voir l'apparition des différents indices avec une pression croissante. Il est intéressant de noter sur la carte de cavitation représentant les harmoniques (cf figure 2.19) que le maximum de cet indice n'est pas atteint au moment où la pression émise ($t = 12$ ms) est maximale. En effet, dès l'apparition de cavitation inertielle, la concentration en MB diminue ce qui a pour conséquence de diminuer le signal rétro-diffusé pour la composante harmonique. L'indice harmonique augmente néanmoins avec la concentration en MB.

Pour l'indice des ultra-harmoniques (cf figure 2.20), on peut à nouveau observer ce phénomène de seuil, avec la détection de cet indice seulement au-delà d'une certaine pression. Plus la concentration est importante et plus la pression à laquelle apparaissent les ultra-harmoniques devient précise et répétable. Une fois apparus, les ultra-harmoniques décroissent faiblement avec l'augmentation de la pression, probablement à cause de la destruction des MB par la cavitation inertielle.

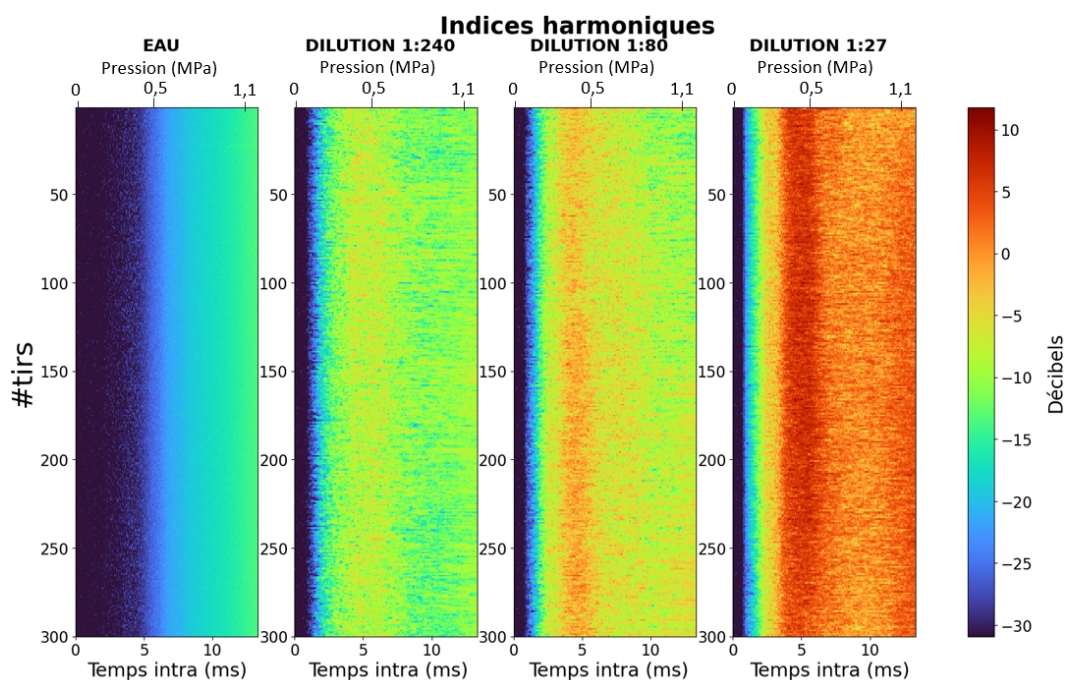


FIGURE 2.19 – Carte de cavitation pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. L'évolution des harmoniques y est représentée selon la pression et le temps au sein du tir (axe horizontal). Sont représentés sur chaque lignes les différents tirs (total 300) tous avec la même enveloppe de pression.

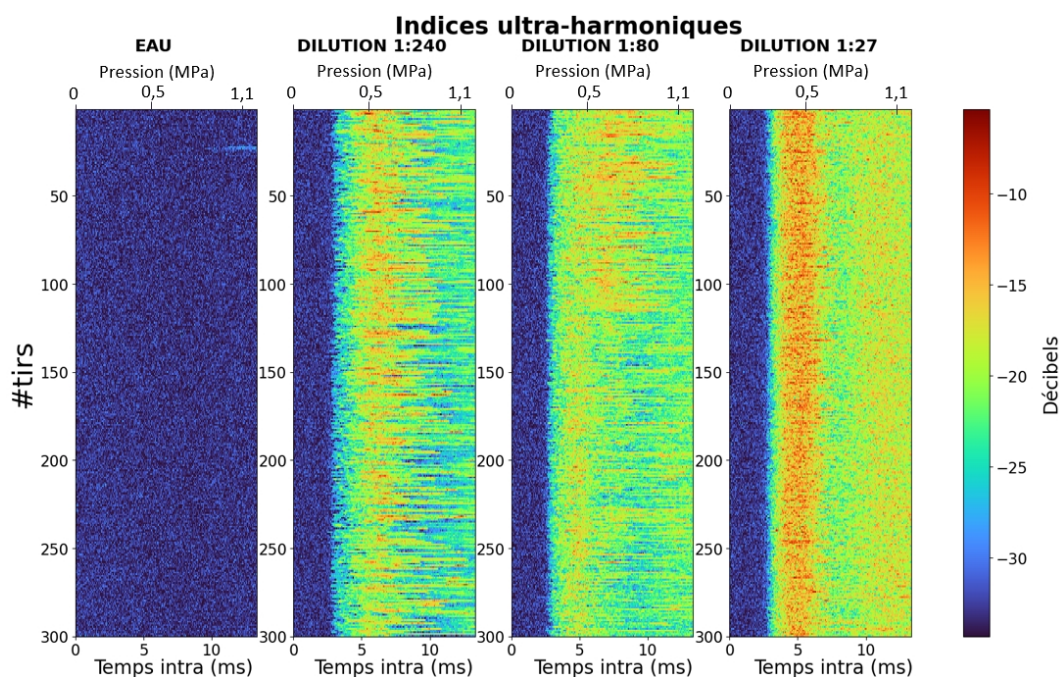


FIGURE 2.20 – Carte de cavitation pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. L'évolution des ultra-harmoniques y est représentée selon la pression et le temps au sein du tir (axe horizontal). Sont représentés sur chaque lignes les différents tirs (total 300) tous avec la même enveloppe de pression.

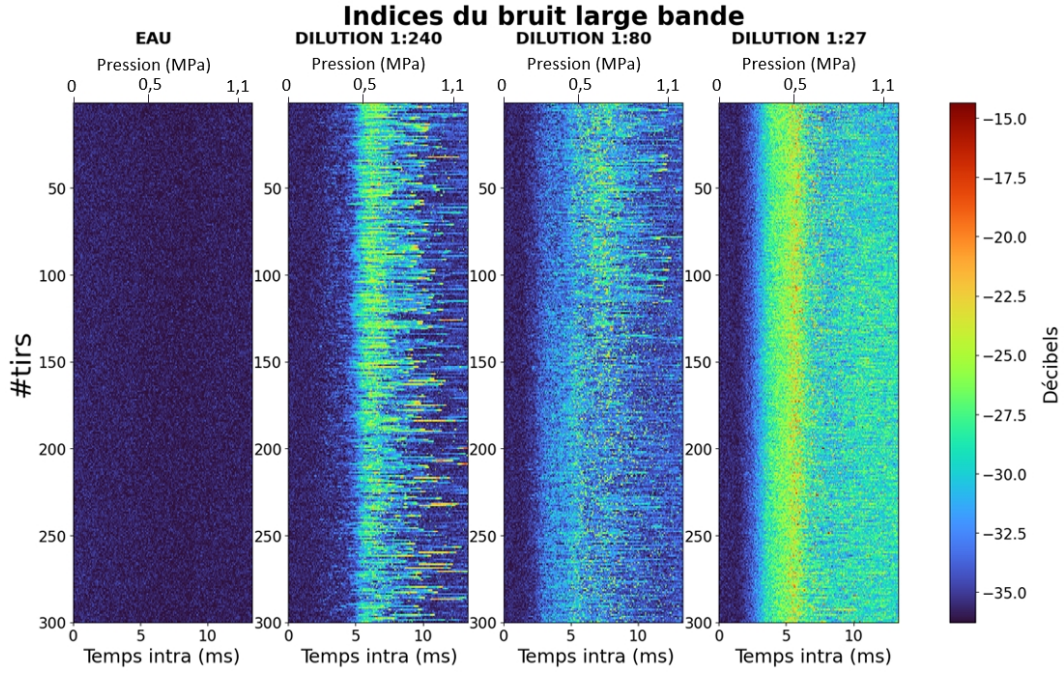


FIGURE 2.21 – Carte de cavitation pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. L'évolution du bruit large bandes y est représentée selon la pression et le temps au sein du tir (axe horizontal). Sont représentés sur chaque lignes les différents tirs (total 300) tous avec la même enveloppe de pression.

Pour ce qui est de l'indice inertiel (cf figure 2.21), il n'est observable qu'au delà d'une certaine pression. Toutefois, contrairement à l'indice des ultra-harmoniques, l'apparition du bruit large bande est plus transitoire avec une diminution importante quelques millisecondes après son apparition.

2.3.2.2 Variation des différents indices de cavitation selon la concentration en microbulles et la pression

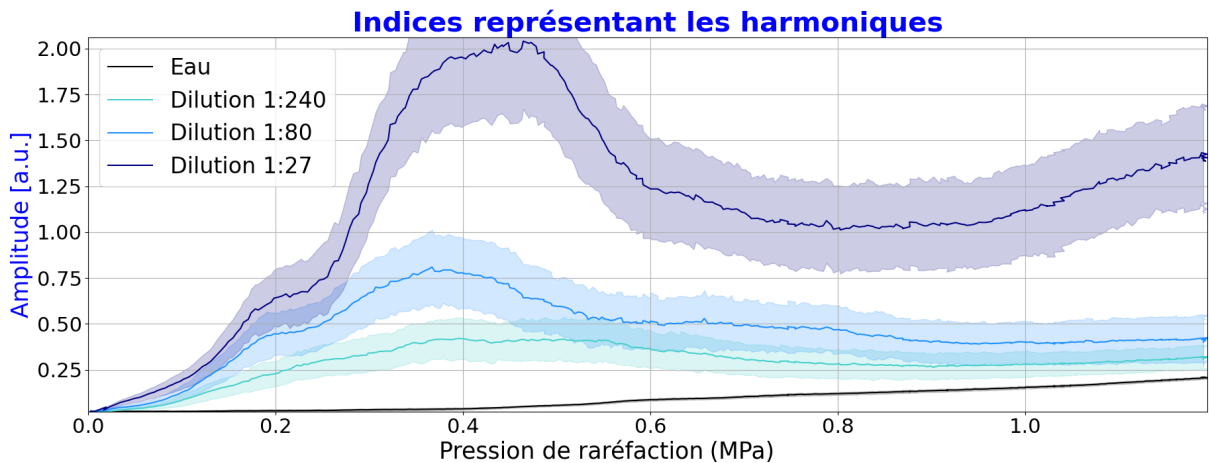


FIGURE 2.22 – Évolution des indices harmoniques pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. Le nuage entourant chacune des courbes représente l'écart type associé aux 300 répétitions. Cet indice des harmoniques est calculé à partir de la moyenne de la valeur maximale de H_2 et H_3 .

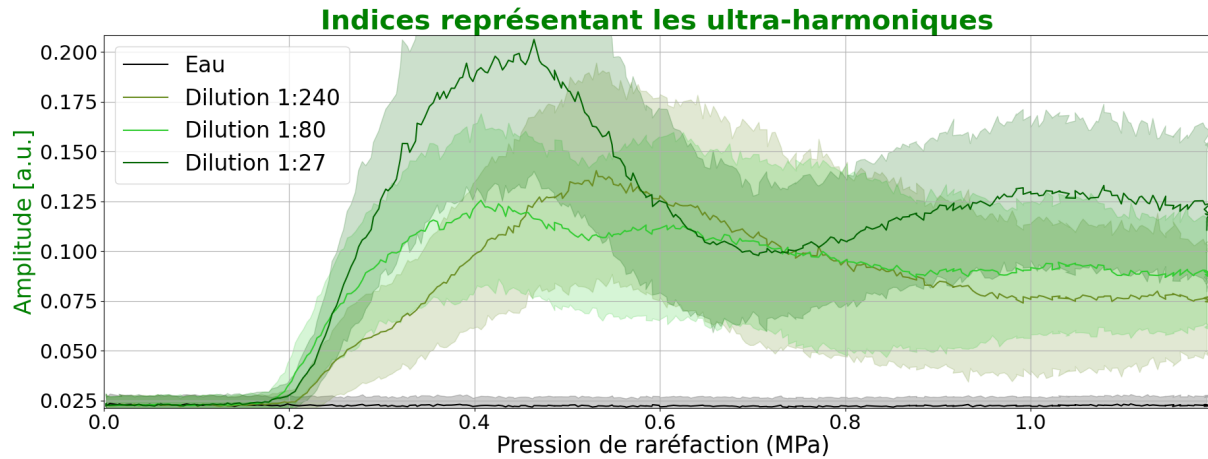


FIGURE 2.23 – Évolution des indices ultra-harmoniques pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 de MB avec le flacon 1. La composante ultra-harmonique apparaît pour des pressions seuils allant de 203 à 227 kPa pour les expériences avec des MB. Pour l'expérience sans MB, aucun ultra-harmonique n'est détecté.

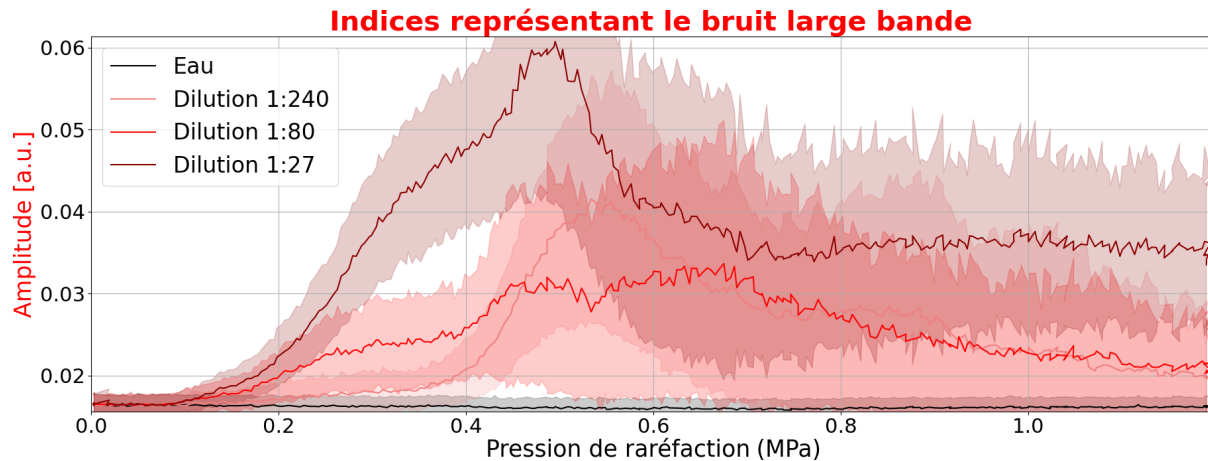


FIGURE 2.24 – Évolution des indices inertiels pour les expériences avec de l'eau, et les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 des MB avec le flacon 1. L'indice est détectable à partir de pressions seuils. Ces pressions valent 158, 182 et 362 kPa pour les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240 respectivement. Pour l'expérience sans MB, aucune augmentation du bruit large bande n'est observable.

Les résultats obtenus diffèrent de ceux observés avec les tirs trapézoïdaux. En effet, à partir d'une certaine pression (proche de 400 kPa) l'indice harmonique décroît. La valeur de l'indice harmonique reste croissante avec la concentration en MB.

Pour les ultra-harmoniques, les résultats sont proches de ceux obtenus avec les tirs trapézoïdaux. En effet, cet indice n'est pas détecté pour des pressions inférieures à environ 210 kPa (cf figure 2.20). De plus, son augmentation est importante (>15 dB) juste après ce seuil d'apparition. À nouveau, cet indice présente un écart type important lorsqu'il est détectable et aucun ultra-harmonique n'est détecté dans l'expérience sans MB.

L'indice représentant la cavitation inertielle n'est pas détecté dans l'expérience sans microbulles (cf figure 2.21). Pour les différentes concentrations de MB, le seuil d'apparition est à nouveau observable, il fluctue assez fortement selon le facteur de dilution. Ainsi pour la dilution 1:240 le seuil est proche de 362 kPa (avec comme critère de seuil de dépassement : 2 écarts types). Pour la dilution 1:80 il vaut 182 kPa et 158 kPa pour la dilution 1:27.

2.3.2.3 Évolutions des différents indices de cavitation selon la pression pour chacune des concentrations de microbulles

L'affichage des différents indices normalisés pour chaque dilution donne des résultats différents de ceux obtenus lors des tirs trapézoïdaux. En effet si pour les tirs triangulaires, la pression seuil des ultra-harmoniques est très proche pour les différentes dilutions (210 kPa). Pour la composante de bruit large bande, ces pressions seuils diffèrent assez significativement (158, 182 et 362 kPa pour les dilutions 1:27, 1:80 et 1:240, respectivement). Cette variation sur la détection de l'indice de bruit large bande entraîne que, selon le facteur de dilution, les ultra-harmoniques et le bruit large bande ne sont pas détectés dans le même ordre pour une pression croissante.

Enfin, tous les indices finissent par diminuer à partir d'une certaine pression. Cette décroissance est probablement dû à la cavitation inertielle qui a réduit la concentration en microbulles ce qui réduit le signal rétro-diffusé par ces dernières.

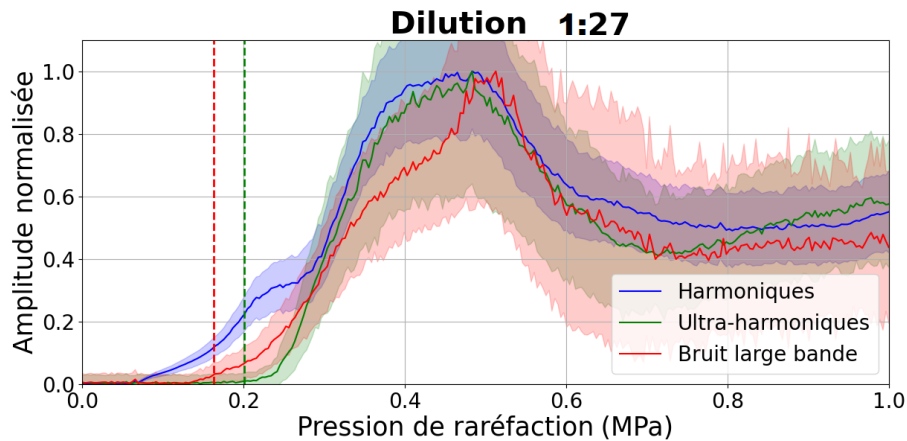


FIGURE 2.25 – Évolution des différents indices de cavitation qui ont été normalisés entre 0 et 1 pour la dilution 1:27 des MB avec le flacon 1. Les différentes composantes augmentent jusqu'à environ 400 kPa avant qu'elles ne décroissent suite à la destruction des MB. Avec ce facteur de dilution, c'est le bruit large bande qui est détectable avant la composante ultra-harmonique.

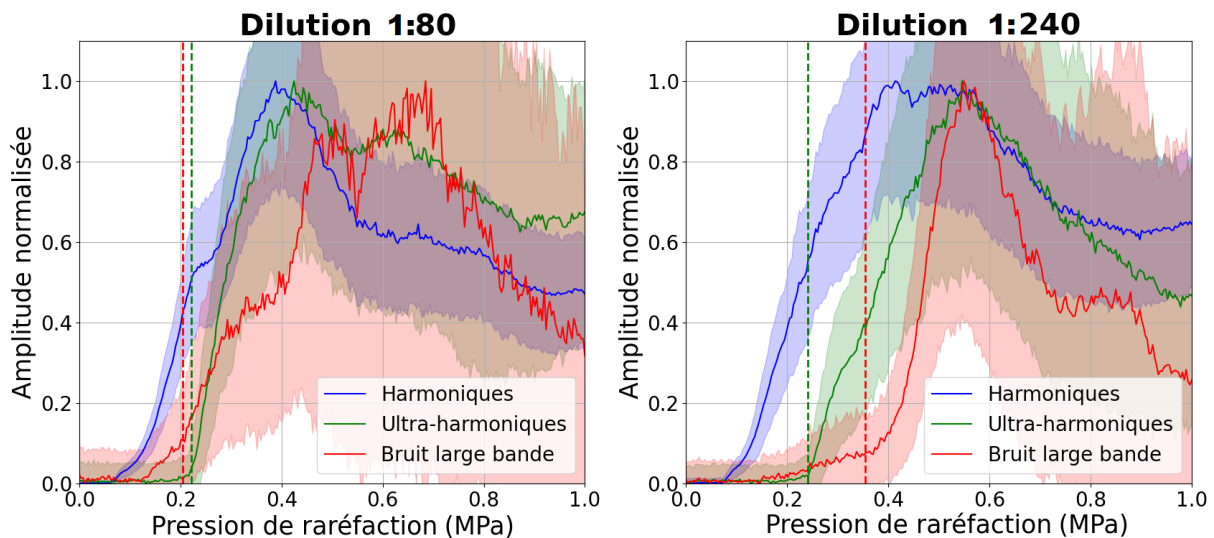


FIGURE 2.26 – Évolution des différents indices de cavitation qui ont été normalisés entre 0 et 1 pour la dilution 1:80 et 1:240 des MB avec le flacon 1. Les différentes composantes augmentent jusqu'à environ 500 kPa avant qu'elles ne décroissent suite à la destruction des MB. Avec ce facteur de dilution, c'est le bruit large bande qui est détectable avant la composante ultra-harmonique.

2.3.2.4 Répétabilité de l'expérience

Les résultats obtenus sur les 3 expériences avec des flacons différents montrent des données similaires. Une bonne reproductibilité du seuil d'apparition des ultra-harmoniques est observée (cf tableau 2.4). Pour la composante de bruit large bande, les seuils d'apparition sont variables avec une détection à des pressions plus importantes si la dilution augmente. La pression varie avec la même tendance pour les ultra-harmoniques mais avec des variations plus faibles. Cela conduit le seuil du bruit large à être inférieur à celui des ultra-harmoniques pour la dilution la plus faible et supérieur pour la dilution la plus importante.

Dilution	Seuils de pression du bruit large bande			Seuils de pression des ultra-harmoniques		
	1:27	1:80	1:240	1:27	1:80	1:240
Flacon 1	158 kPa	182 kPa	362 kPa	211 kPa	203 kPa	227 kPa
Flacon 2	202 kPa	388 kPa	456 kPa	234 kPa	275 kPa	326 kPa
Flacon 3	145 kPa	186 kPa	283 kPa	186 kPa	207 kPa	222 kPa

TABLEAU 2.4 – Seuils de pression d'apparition des composantes ultra-harmoniques et de bruit large bande pour les différentes expériences avec les tirs possédant des enveloppes triangulaires.

2.4 Discussion

2.4.1 Tirs trapézoïdaux et triangulaires

2.4.1.1 Tirs trapézoïdaux

Les résultats de la partie des tirs trapézoïdaux montrent tout d'abord l'apparition des différents régimes de cavitation au travers de l'apparition et de l'évolution décorréliées des différents indices calculés. En effet, si la composante harmonique augmente avec la pression et la concentration en MB, les composantes ultra-harmoniques et de bruit large bande ne sont pas détectables avant une certaine pression. L'indice du bruit large bande est détectée à des pressions légèrement plus faibles que l'indice des ultra-harmoniques.

Contrairement à d'autres étude (MARTINEZ et al. 2022) il n'est pas possible, avec notre dispositif expérimental et cette forme d'enveloppe, de détecter les ultra-harmoniques avant le bruit large bande. Cela est dommageable car le bruit large bande est synonyme de dommages vasculaires contrairement à l'indice ultra-harmonique. Il est donc préjudiciable qu'avec ce dispositif et cette forme d'enveloppe nous ne soyons pas capable de détecter cet indice de façon précoce par rapport au bruit large bande.

De plus le bruit large bande est, lorsqu'il est détecté, beaucoup plus intense avec un meilleur RSB que la composante ultra-harmonique. Toutefois, dans l'optique d'un contrôle de cavitation pour lequel les signaux enregistrés devraient préalablement traverser le crâne, l'indice de bruit large bande ne serait pas automatiquement préférable à l'indice ultra-harmonique. En effet, le fait que la composante du sous-harmonique soit placée à des fréquences plus faibles que les composantes du bruit large peut décroître plus fortement le RSB du bruit large bande que celui des ultra-harmoniques. Ce point sera détaillé dans le chapitre 5 avec des expériences *ex vivo* utilisant un demi-crâne humain.

Ces résultats diffèrent de l'état de l'art. En effet, premièrement, les ultra-harmoniques sont détectés à des pressions supérieures à celle de détection du bruit large bande. Ensuite, en comparant les valeurs d'indice mécanique, les indices mécaniques de détection du bruit large bande sont proches de 0,11 quand ils sont de 0,5 majoritairement dans l'état de l'art. Pour ce qui est des ultra-harmoniques, ils sont détectés pour des indices mécaniques proches de 0,15 ce qui est plus proche de l'état de l'art où les indices sont détectés à des indices proches de 0,2. Il faut toutefois préciser que les moyens de détecter ces indices ainsi que les capteurs PCD, et tout le dispositif expérimental influent énormément.

ment sur les résultats observés.

2.4.1.2 Tirs triangulaires

Pour les tirs triangulaires, le phénomène le plus observable est la décroissance marquée de tous les indices pour des pressions supérieures à 500 kPa. Pour une expérience (concentration) donnée, les variations des différents indices sont très similaires, notamment à forte concentration de MB. Des contrôles avec ce type d'enveloppe devront donc utiliser l'indice de cavitation inertielle et d'ultra-harmonique de façon similaire afin de limiter au maximum l'apparition d'effets indésirables. En effet, avec une concentration décroissante en MB dans le sang de l'animal, nos résultats indiquent que les ultra-harmoniques seront de plus en plus précoces et pourront être utilisés comme indicateur de la cavitation inertielle.

Il est difficile de comparer ces résultats avec la littérature car aucune expérience n'a utilisé des tirs ultrasonores avec une enveloppe ayant cette forme, *in vivo* ou bien *in vitro*.

2.4.2 Comparaison entre tirs trapézoïdaux et triangulaires

Des différences sont observées entre les 2 formes de signal. Premièrement, l'apparition du bruit large bande dépend de la forme du signal. Ce résultat était attendu pour les ultra-harmoniques sur la base de l'article publié par [BIAGI et al. 2006](#). En effet, cette équipe de recherche a observé que la réponse du sous-harmonique (par extension les ultra-harmoniques) est fortement dépendante de la forme de l'enveloppe ultrasonore. Il faut toutefois noter que les tirs ayant la rampe de montée la plus lente dans leur étude ont tout de même une rampe plus courte que pour les tirs trapézoïdaux de mon expérience. De plus, leurs résultats sont obtenus avec des tirs très courts (4-20 μ s) et à faible pression (maximum 140 kPa). Aucun bruit large bande (car uniquement de faibles pressions) n'a été observé dans leur expérience.

Il est intéressant de constater que lors de la répétition des différentes expériences, le seuil d'apparition des ultra-harmoniques est légèrement plus important pour le flacon n°2 (cf tableau 2.3). Or, cette augmentation du seuil de détection a aussi été retrouvée dans les résultats de l'expérience 2 pour les tirs triangulaires (cf tableau 2.4). Il semble probable que lors de l'expérience 2, le capillaire maintenu par le support ait été légèrement décentré de sa position supposée, contribuant à appliquer sur les MB une pression légèrement inférieure à celle estimée.

Les résultats obtenus sont affichés avec des pressions qui ont été calculées à partir de lois de pressions mesurées lors d'une calibration du transducteur avec un hydrophone dans une cuve d'eau dégazée. La pression au sein du capillaire sera par conséquent plus faible et ne peut être précisément mesurée.

De plus la position du capillaire peut légèrement varier d'environ 300 μ m, ce qui peut à nouveau réduire la pression moyenne appliquée sur les MB. Les variations ne sont significatives que dans la direction orthogonale à la propagation des ultrasons car la tache focale est plus étroite dans cette direction.

Cela peut expliquer les variations de pressions d'apparition des diverses composantes entre les expériences, comme par exemple entre les flacons 1 et 3 et le flacon 2. Toutefois pour une expérience donnée, toutes les concentrations de MB sont excitées sans aucune variation de la position du capillaire, les mêmes valeurs seuils sont observables pour les ultra-harmoniques au travers des 2 types de pulses différents. Cette analyse des différents indices a été effectuée en cherchant à mesurer les variations relatives des différents indices et non déterminer précisément des valeurs de pression.

Les résultats sur les tirs à enveloppe trapézoïdale semblent indiquer que l'indice du bruit large bande semble être particulièrement adapté pour éviter l'apparition de la cavitation inertielle de par sa détection plus précoce et avec un meilleur RSB comparé à l'indice des ultra-harmoniques. Malheureusement, la cavitation est beaucoup plus stochastique *in vivo* pour diverses raisons : circulation des MB en circuit fermé, variation de l'état et de la concentration des MB, présence de différentes tailles de capillaires. La pression permettant une cavitation stable, sans induire de cavitation inertielle, va varier durant l'expérience. Pour cela, un contrôle cherchant à trouver pour chaque tir ultrasonore à la pression permettant de faire caviter à la pression maximale ne faisant pas apparaître de cavitation non stable. Ainsi la pression serait adaptée pour chaque nuage de MB (présentes dans la tache focale du transducteur). Une augmentation de la pression jusqu'à l'apparition de composantes ultra-harmoniques et de bruit large bande est un choix assurant efficacité et sécurité maximale. À noter que si des tirs triangulaires venaient à être utilisés, l'indice ultra-harmonique peut apparaître sans détection du bruit large bande, augmentant de fait la sécurité du contrôle.

2.4.3 Conclusion

Cette expérience de caractérisation de la cavitation, a permis d'observer les variations relatives des différents indices qui sont calculés à partir du signal rétro-diffusé par les MB. La composante ultra-harmonique du signal rétro-diffusé apparaît à des pressions similaires que le bruit large bande, cela en fait donc un bon indice à coupler avec ce dernier dans l'objectif de réduire au minimum l'apparition de la cavitation inertielle. Dans le cas des tirs trapézoïdaux, habituellement utilisés au laboratoire, l'indice des ultra-harmoniques est même un indicateur précoce de l'apparition de la cavitation inertielle. La composante inertielle peut toutefois apparaître avant la composante ultra-harmonique lors de tirs triangulaires (avec une rampe de pression lente).

L'expérience a été réalisée avec différentes concentrations de MB, permettant de mesurer l'évolution de la cavitation lorsque la concentration décroît pendant l'expérience. C'est particulièrement intéressant pour mieux comprendre l'évolution de la cavitation dans des expériences *in vivo* où la concentration en MB dans le sang chute drastiquement entre les premières secondes et la fin du traitement.

Enfin ces résultats sont obtenus avec un RSB qui ne peut être atteint *in vivo* du fait de la présence du crâne, à l'atténuation du signal ultrasonore dans le milieu et aux pertes liées aux différentes interfaces acoustiques. Les indices obtenus seront donc, dans des expériences *in vivo*, calculés avec un niveau de bruit beaucoup plus important. Les indices définis dans ce chapitre restent toutefois pertinents, car les mêmes états de cavitation sont attendus *in vivo*.

Il convient maintenant de chercher à mettre en place une boucle de rétroaction pour contrôler la cavitation, de façon à se placer dans un état de cavitation stable tout en évitant l'apparition prolongée de la cavitation inertielle. Pour cela la pression ultrasonore sera adaptée à l'aide d'un algorithme. Cet algorithme prendra ses décisions à partir des signaux ultrasonores rétro-diffusés par les microbulles en oscillation.

Il reste néanmoins à s'assurer préalablement que le comportement des indices de cavitation lors d'expériences *in vivo* est bien similaire à ce qui est observé *in vitro*.

Chapitre 3

Détection de cavitation sur des modèles précliniques

Dans ce chapitre est présenté l'algorithme de contrôle de la cavitation, utilisé dans le laboratoire pour perméabiliser la BHE, de façon sécurisée et sans danger chez le rongeur et le primate non humain. Après avoir expliqué le fonctionnement de cet algorithme, les résultats obtenus expérimentalement avec ce dernier ainsi que ses limitations seront présentés et discutés. Ensuite différentes expériences mises en œuvre dans cette thèse dans le but de construire un nouveau type d'algorithme bénéficiant de la technologie FPGA seront détaillées. Enfin, ce chapitre présentera une problématique propre aux expériences chez le PNH et proposera une approche innovante permettant de différencier la cavitation cérébrale de la cavitation musculaire.

Dans ce chapitre les expériences sur les rongeurs ont été réalisées avec l'aide d'Erwan Selingue qui s'est occupé de la gestion des animaux, leur rasage, leur installation dans l'IRM, les injections et le lancement des séquences IRM. La préparation du transducteur, du ballon d'eau et la création et le lancement des séquences ultrasonores ont été réalisées par moi-même. J'ai également analysé les signaux acoustiques et les images IRM.

Pour les expériences chez le PNH, les animaux ont été surveillés et préparés par Marion Gay et Maxime Roustan ou Audrey Fayard et Sophie Lecourtois (selon le site de l'expérience). Les séquences IRM ont été choisies et lancées par QI Zhu et Elias Djaballah ou Julien Flament selon le site. La préparation du transducteur, du ballon d'eau, le lancement des séquences ultrasonores ont été réalisés par Corentin Cornu et moi-même. La neuronavigation a été réalisée par Clémentine Morisset et moi-même. Et enfin j'ai procédé à l'entièreté des analyses des signaux ultrasonores.

Sommaire

3.1 Introduction sur les expériences <i>in vivo</i>	67
3.1.1 Les principaux objectifs des expériences précliniques dans notre laboratoire	67
3.2 L'algorithme Kamimura	68
3.2.1 Le problème à résoudre et les limitations inhérentes	68
3.2.2 Principe de l'algorithme	69
3.2.3 Validation de l'algorithme chez le PNH	70
3.2.3.1 Méthodes	70
3.2.3.2 Résultats	73
3.2.4 Discussion autour des limites de l'algorithme	74
3.3 Acquisition de données par FPGA avec des tirs sans contrôle	75
3.3.1 Dispositif expérimental	75
3.3.2 Résultats	78
3.3.3 Discussion	80
3.4 La discrimination entre la cavitation cérébrale et la cavitation musculaire	81

3.4.1	Méthodes	81
3.4.1.1	Expériences considérées	81
3.4.1.2	Dépendance en fréquence du bruit large bande	82
3.4.1.3	Analyse postérieure des expériences de BHE réussies ou infructueuses	83
3.4.1.4	Détection améliorée des événements de cavitation inertielle dans la boucle de rétroaction grâce à l'utilisation du coefficient alpha	83
3.4.2	Résultats	84
3.4.2.1	Ouverture de la BHE avec contrôle par rétroaction	84
3.4.2.2	Discrimination entre la cavitation intra-cérébrale et musculaire	85
3.4.2.3	Résultats du contrôle de la cavitation avec rétroaction étendue au co- efficient alpha	86
3.4.2.4	Pression maximale obtenue lors de chaque expérience	87
3.4.2.5	Comparaison avec l'indicateur proposé dans l'état de l'art	88
3.4.3	Discussion	88
3.4.4	Conclusion partielle	91

3.1 Introduction sur les expériences *in vivo*

La recherche préclinique, menée principalement sur des rongeurs et des PNH, joue un rôle crucial dans l'établissement d'un lien entre les études *in vitro* et les essais cliniques. Les modèles précliniques, en particulier les PNH, offrent une meilleure ressemblance physiologique avec les humains, permettant ainsi une compréhension approfondie des maladies et le développement de stratégies de traitement efficaces. Ces modèles présentent des avantages significatifs pour l'étude des ultrasons focalisés dans le cerveau, notamment pour la recherche sur l'ouverture de la BHE. De plus, la recherche sur les PNH permet des évaluations comportementales et cognitives sophistiquées, offrant ainsi des indications précieuses sur l'impact fonctionnel des traitements, avant leur application potentielle aux patients humains.

3.1.1 Les principaux objectifs des expériences précliniques dans notre laboratoire

Dans le cadre de ma thèse, j'ai conduit différentes expériences précliniques en ultrasons focalisés portant sur les trois aspects suivants :

- L'optimisation de l'ouverture de BHE en termes d'efficacité et de sécurité.
- La recherche de substances thérapeutiques à associer à la perméabilisation de BHE pour soigner diverses pathologies cérébrales.
- La validation de briques technologiques visant au développement d'un système clinique pour l'ouverture de BHE.

Protocoles de détection de cavitation lors de l'ouverture de la BHE

Différents algorithmes et analyses de données ont aussi été testés afin d'améliorer le protocole thérapeutique. Durant ma thèse, j'ai fait des mesures permettant d'appréhender l'état de la cavitation des MBs (chapitre 2) durant le tir ultrasonore pour ensuite optimiser divers algorithmes de contrôle de la cavitation. Les travaux présentés dans ce chapitre détaillent différentes expériences précliniques réalisées dans l'objectif d'extraire et d'exploiter au mieux la signature acoustique des MB pendant les tirs.

Recherche pharmacologique et biologique

Bien que je n'aie pas été directement impliqué dans ces expériences, j'ai apporté mon soutien aux personnes responsables de ces études. Par exemple, des recherches ont été menées sur l'utilisation de la technique de perméabilisation de BHE en combinaison avec les médicaments Safinamide (Merative, Micromedex®) et N-acétylcystéine pour le traitement de la maladie de Parkinson chez les rongeurs. De plus, des analyses histologiques ont été réalisées pour évaluer les effets des ultrasons sur les tissus, ainsi que des mesures du couplage neurovasculaire lors de l'ouverture de la BHE. Ces travaux ont contribué à une meilleure compréhension des mécanismes d'action des ultrasons focalisés et de l'efficacité de l'association de substances thérapeutiques dans le contexte de la perméabilisation de la BHE.

Translation clinique

La recherche produite afin de créer un prototype clinique est principalement concentrée sur le PNH. Outre une certaine similitude morphologique évidente avec le cerveau de l'Homme, la structure du crâne est également proche, bien que plus fine. Le PNH permet de valider des instrumentations et des protocoles visant à atteindre certaines régions profondes dans le cerveau. Les expériences sur le PNH durant ma thèse ont permis d'intégrer et valider de nouveaux développements technologiques et méthodologiques dans notre dispositif thérapeutique en vue de prochains essais chez l'Homme.

Dans ce chapitre, je vais tout d'abord décrire en détail l'algorithme développé par Hermes Kamimura et publié en 2018. Ensuite seront décrites les différentes expériences que j'ai conduites durant

ma thèse sur la base de cet algorithme sur des rongeurs et des PNH. J'aborderai ensuite les modifications et améliorations apportées à cet algorithme durant ma thèse. Enfin, ce chapitre présentera un critère de détection de cavitation innovant permettant de discriminer l'origine de la cavitation, musculaire ou cérébrale, dans le cas de l'ouverture spécifique de la BHE chez le PNH.

3.2 L'algorithme Kamimura

Cette section présente l'algorithme de détection de cavitation développé précédemment au laboratoire et les expériences qui ont été réalisées avec ce dernier durant ma thèse. Dans la suite de ce manuscrit, l'algorithme sera appelé du nom du chercheur postdoctorant dans notre laboratoire à l'origine de celui-ci : Hermes Kamimura. Cet algorithme, initialement conçu pour l'ouverture de la BHE chez le PNH, est décrit dans (KAMIMURA et al. 2019). Une brève description de cet algorithme est donnée dans l'introduction de ce manuscrit (partie 1.4.2).

3.2.1 Le problème à résoudre et les limitations inhérentes

L'algorithme a été conçu pour éviter de créer des dommages vasculaires lors d'ouverture de la BHE chez des PNH. En effet, comme précisé dans (KAMIMURA et al. 2019), de tels dommages ont été observés suite à l'application d'un protocole de perméabilisation de la BHE par ultrasons chez des PNH. En effet, malgré l'émission d'une pression acoustique raisonnable n'ayant pourtant pas provoqué de dommages lors des précédentes sessions, une des séances thérapeutiques a engendré une hémorragie cérébrale constatée au niveau de la tache focale. Ce résultat indiqua une forte hétérogénéité entre les sessions et les sujets (animaux) et confirma la nécessité d'appliquer un traitement personnalisé basé sur la détection de cavitation lors de chaque traitement.

L'algorithme mis en place avait pour objectif de trouver la pression ultrasonore maximale pour laquelle un nombre raisonnable et limité d'évènements de cavitation inertielle était observé. Les dommages vasculaires associés à la cavitation inertielle étaient ainsi évités au maximum. Ainsi l'algorithme convergeait vers des pressions légèrement inférieures (à la limite du seuil) à celles induisant de la cavitation inertielle dans le but de maximiser la perméabilisation de la BHE qui augmente avec la pression. Les différentes contraintes et obligations de cet algorithme étaient les suivantes :

- Le contrôle de la pression se faisait entre chaque tir ultrasonore. Ainsi la PRF de 5 Hz permettait de laisser moins de 200 ms pour rapatrier les données PCD, les analyser et renvoyer une consigne de pression pour le tir suivant.
- Les informations de cavitation étaient obtenues par un PCD positionné au centre du transducteur focalisé émetteur. Le signal de 10 ms était enregistré par un oscilloscope numérique (PicoScope 5242B, Pico Technology®, Cambridgeshire, UK) à une fréquence d'échantillonnage de 31,25 MHz.
- Cet algorithme s'intéressait uniquement à la cavitation inertielle et n'utilisait pas les composantes harmoniques ou ultra-harmoniques.
- L'algorithme devait s'adapter au caractère stochastique de la cavitation et ainsi réagir modérément à chaque événement de cavitation inertielle détectée afin de préserver une pression ultrasonore et un régime de cavitation permettant une perméabilisation de la BHE.

Cela a conduit à l'implémentation d'un algorithme dans lequel la pression variait uniquement entre chaque tir ultrasonore jusqu'à la détermination du niveau de pression maximale autorisé. Ensuite, seules des réductions de la pression étaient possibles. Les variations ne se faisaient qu'avec des pas fixes de pression pour éviter tout dépassement de l'algorithme. Enfin, la seule métrique utilisée était la cavitation inertielle au travers du bruit large bande. L'utilisation d'une seule métrique pour le contrôle a permis d'établir un premier algorithme simple et somme toute efficace.

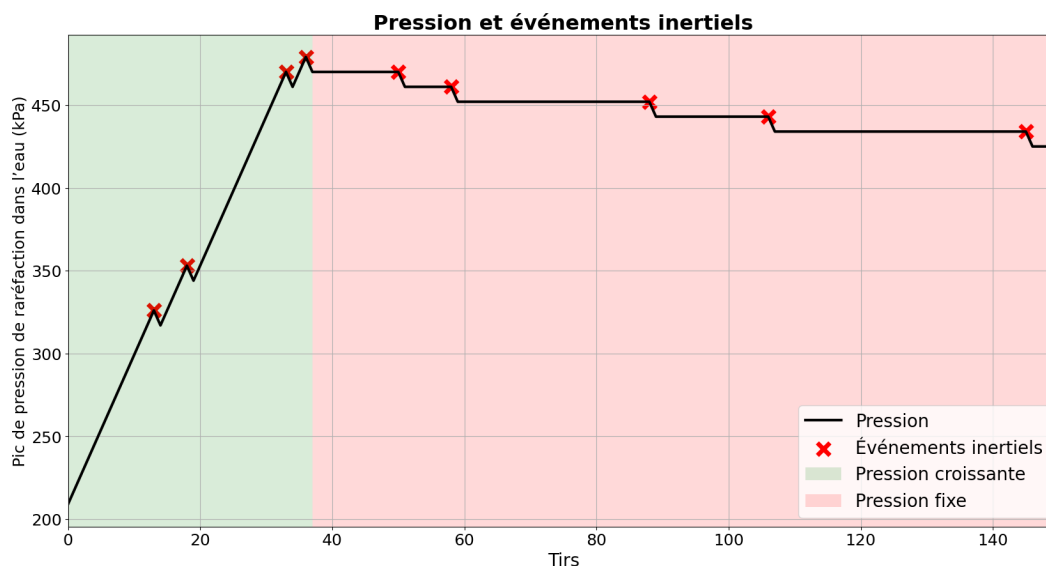


FIGURE 3.1 – Figure montrant les variations de la pression lors de l'apparition d'événements de cavitation inertielle. La pression diminue après chaque événement de cavitation inertielle, et si aucun événement ne se produit dans les cinq derniers tirs ultrasonores, la pression continue d'augmenter par défaut jusqu'à ce que deux événements soient observés dans la dernière seconde.

3.2.2 Principe de l'algorithme

Le fonctionnement de l'algorithme est basé sur l'analyse du signal rétro-diffusé par les MB. L'analyse consistait à obtenir le spectre de puissance du signal PCD et à en extraire divers indices liés aux composantes harmoniques, ultra-harmoniques et inertielles. Le spectre de puissance relatif était obtenu en normalisant le spectre obtenu pour chaque tir par un spectre moyen, acquis à la même pression en l'absence des MB. Le spectre de référence, appelé "baseline", était obtenu en émettant 5 tirs ultrasonores à toutes les pressions acoustiques envisagées avant l'injection des MB. Les spectres de ces 5 tirs étaient ensuite moyennés pour obtenir le spectre de référence pour cette amplitude. Les pressions auxquelles ces lignes de base étaient émises variaient de 9 kPa à 1 MPa par incréments de 9 kPa (mesurées en eau libre).

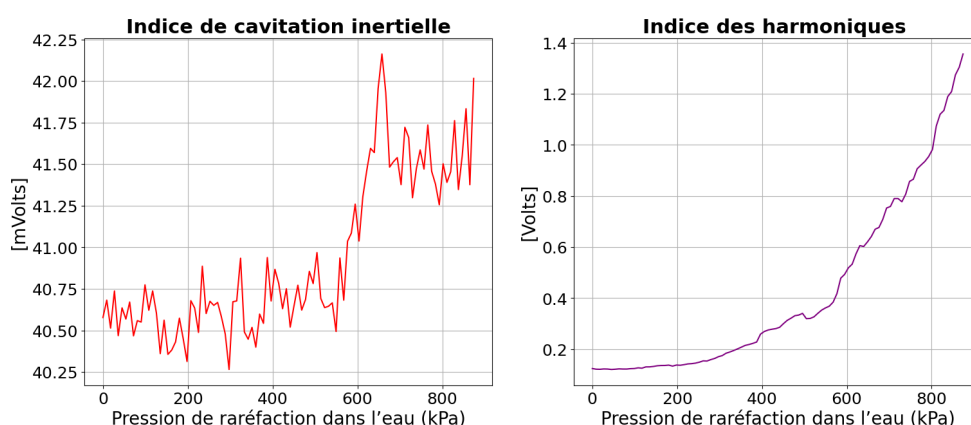


FIGURE 3.2 – Figure montrant les variations de l'indice mesurant la cavitation inertielle et les harmoniques en fonctions de la pression pour des tirs sans MB. Un bon couplage est observé lorsque l'indice de la cavitation inertielle varie très peu et les variations sont proches de celles du bruit et lorsque l'indice des harmoniques augmente exponentiellement avec la pression.

Immédiatement après l'émission des tirs de référence, des graphiques montrant l'évolution des

indices de cavitation stable et inertielle étaient examinés (cf figure 3.2). Ces graphiques permettaient de vérifier si le couplage acoustique entre le transducteur, le ballon d'eau et le crâne était exempt de la présence de bulles d'air. En cas de couplage acoustique correct, les MB (SonoVue®) étaient immédiatement injectées, suivies du début des tirs de traitement d'une durée de 120 secondes. Dans le cas contraire, le positionnement du transducteur et le couplage étaient réeffectués jusqu'à obtention d'un signal satisfaisant.

Le contrôle était réalisé en analysant la dose de cavitation inertielle (ICD) rétrodiffusée pour chaque tir ultrasonore. Les événements de cavitation inertielle étaient des tirs pour lesquelles la composante inertielle du spectre de puissance relatif dépassait un certain seuil, fixé ici à 1,5, soit une augmentation de 50% de l'indice inertiel par rapport à la référence. Le contrôle de la cavitation était basé sur le principe suivant : dans la première partie, la pression émise était augmentée tir par tir avec un pas de pression de 9 kPa. Lorsqu'un événement CI se produisait, la pression était réduite d'un pas de pression fixe, 9 kPa, au tir suivant. Cette rampe de pression était maintenue jusqu'à ce que deux événements se produisent dans la dernière seconde (c'est-à-dire dans les cinq derniers tirs) ou si le nombre d'événements dépassait dix. Une fois la rampe terminée, la pression ultrasonore était maintenue constante et uniquement réduite pour chaque nouvel événement CI. Un exemple du fonctionnement de l'algorithme est présenté dans la figure 3.1.

3.2.3 Validation de l'algorithme chez le PNH

J'ai ainsi participé à 18 expériences sur des PNH. Dix ont été réalisés dans le cadre d'une collaboration avec MIRCen, et en particulier Julien Flament, Julien Valette et Romina Aron Badin. Huit autres ont été réalisées à Neurospin dans le cadre d'un projet avec Clémentine Morisset, Elias Djaballah et Qi Zhu.

3.2.3.1 Méthodes

Les différents PNH

Toutes les expériences ont été menées conformément aux réglementations européennes (Directive de l'UE 86/609), françaises (Code rural français R 214-87 à 126) et selon les lignes directrices ARRIVE (Animal Research : Reporting In Vivo Experiments) pour les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire. L'installation animale a été approuvée par les autorités vétérinaires locales (Autorisation no. B 92-032-02 et 20_058) et est conforme aux normes de soins et d'utilisation humains des animaux de laboratoire du Bureau du bien-être des animaux de laboratoire (OLAW #A5826-01). Le protocole expérimental a été approuvé par le comité d'éthique CEtEA n 44 et le ministère français de la Recherche et de l'Éducation (Autorisation n°APAFIS#9082015062410594279v2 et APAFIS#32632-2021080216315953v1). Au total, 18 expériences d'ouverture de la BHE ont été réalisées, réparties sur 2 espèces de PNH et les deux sexes, comme détaillé dans le tableau 3.1.

Les expériences ont été réalisées à MIRCen 11 fois sur des singes cynomolgus (*Macaca Fascicularis*, fourni par Noveprim, Île Maurice). Ils ont été initialement sédatisés avec un mélange de kétamine/xylazine (10:1 mg/kg) et maintenus sous sédatif avec une perfusion intraveineuse de propofol pendant toute l'expérience à un débit de 1 ml/kg/h. Les fréquences cardiaque et respiratoire ont été surveillées tout au long de l'expérience (Resp./2_CH IBP, SA Instruments Inc., NY, USA).

L'expérience a également été réalisée à Neurospin 7 fois sur des singes rhésus (*Macaca Mulatta*, fournis par RC Hartelust BV, Pays-Bas). Ils ont été initialement sédatisés avec un mélange de kétamine (3 mg/kg) et de dexmédétomidine (0,015 mg/kg) et maintenus sous sédatif avec une perfusion intraveineuse d'alfaxalone pendant toute l'expérience à un débit de 0,12 et 0,10 mg/kg/min respectivement. Les fréquences cardiaque et respiratoire ont été surveillées tout au long de l'expérience (Iradimed 3880). Un coussin chauffant flexible (SA Instruments Inc., NY, USA) a maintenu la température

de l'animal à 37°C.

Les 19 expériences portant sur le PNH ont eu des objectifs divers. Le tableau 3.1 récapitule l'ensemble de ces expériences et les caractéristiques principales des PNH traités. Dans ces expériences, différents objectifs ont été poursuivis comme la formation de nouveau membre de l'équipe de recherche, ou le ciblage de nouvelle zone à perméabiliser. Dans de nombreuses expériences l'objectif a été de réussir à perméabiliser la BHE au travers de muscles imposants, d'épaisseur supérieure à 20 mm, présent chez les sujets mâles âgés. Ce sujet ainsi que l'élaboration d'un contrôle sur le coefficient α seront détaillés dans la partie 3.4.

Les différentes modifications du protocole et de l'algorithme de contrôle de la cavitation ont aussi été détaillées. Ces modifications ont constitué principalement en le remplacement du picosope par le FPGA comme carte de conversion analogique-numérique, l'ajout de la modulation d'amplitude pour modifier légèrement l'enveloppe des tirs. Cela n'a pas été précisé dans le tableau mais le logiciel de neuronavigation a aussi été amélioré continuellement de janvier 2021 à septembre 2021.

Numéro de l'expérience / Sexe/ Espèce	Masse/ Épaisseur estimée des muscles	Modification de l'algorithme	Objectif	Succès de l'ouverture	Oedèmes et hémorragies
1 / Mâle / Macaca Fascicularis	7,9 kg / < 5 mm		Formation	Problème d'IRM	Problème d'IRM
2 / Mâle / Macaca Fascicularis	5,2 kg / < 5 mm	Doublage de l'acquisition par le FPGA		Pas d'ouverture	Pas de dommage
3 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,6 kg / < 5 mm	Doublage de l'acquisition par le FPGA	Formation	Ouverture	Pas de dommage
4 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,7 kg / < 5 mm	Nouvel anes-thésiant	Formation	Pas d'ouverture	Pas de dommage
5 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,3 kg / < 5 mm	Acquisition uniquement par le FPGA	Tentative de cible profonde	Ouverture	Pas de dommage
6 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,2 kg / < 5 mm	Ajout de coupure par modulation	Tentative de cible profonde	Ouverture	Pas de dommage
7 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,1 kg / < 5 mm		Répétition en zone peu profonde	Pas d'ouverture	Pas de dommage
8 / Mâle / Macaca Mulatta	10,8 kg / > 20 mm		Tentative au travers de muscles épais	Pas d'ouverture	Pas de dommage
9 / Mâle / Macaca Mulatta	10,8 kg / > 20 mm		Tentative au travers de muscles épais	Pas d'ouverture	Pas de dommage
10 / Mâle / Macaca Mulatta	13,7 kg / > 20 mm		Tentative au travers de muscles épais	Pas d'ouverture	Pas de dommage
11 / Mâle / Macaca Mulatta	10,6 kg / > 20 mm		Tentative au travers de muscles épais	Pas d'ouverture	Pas de dommage
12 / Mâle / Macaca Mulatta	10,6 kg / > 20 mm		Tentative au travers de muscles épais	Pas d'ouverture	Pas de dommage
13 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,3 kg / < 5 mm		Répétition au travers de muscles fins	Ouverture	Pas de dommage
14 / Mâle / Macaca Fascicularis	10,3 kg / > 20 mm	Contrôle sur le coefficient α		Pas d'ouverture	Pas de dommage
15 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,4 kg / < 5 mm		Contrôle sur le coefficient α sur des muscles fins	Ouverture	Pas de dommage
16 / Mâle / Macaca Mulatta	11,4 kg / > 20 mm		Tentative au travers de muscles épais	Pas d'ouverture	Pas de dommage

17 / Mâle / Macaca Mulatta	14,6 kg / > 20 mm		Tentative au travers de muscles épais	Pas d'ouverture	Pas de dommage
18 / Femelle / Macaca Fascicularis	6,1 kg / < 5 mm		Formation	Ouverture	Pas de dommage

TABLEAU 3.1 – Récapitulatif de l'ensemble des expériences sur les PNH. Les expériences réalisées à MIR-Cen sont en gris et celles à Neurospin en orange. Dans les objectif des expériences, différentes cibles de perméabilisation ont été définis. Les cibles profondes sont toujours l'amygdale et les les cibles peu profondes sont le striatum. Les formations consistent en l'apprentissage de l'expérience à un nouveau membre de l'équipe. Les différentes expériences au travers de muscles fins et épais servent pour la discrimination de la position de la cavitation détaillée dans la partie 3.4. Les modifications de l'algorithme ont principalement consisté en l'incorporation du FPGA et le développement d'un contrôle discriminant la cavitation cérébrale de musculaire (détaillé dans la partie 3.4).

Dispositif expérimental de perméabilisation de la BHE

Les pièces mécaniques ont été conçues en interne et fabriquées par des sociétés sous-traitantes. Toutes les pièces étaient compatibles IRM. Un transducteur ultrasonore annulaire (fréquence centrale :500 kHz, largeur de bande de fréquence :300 à 700 kHz, nombre d'éléments :14, diamètre :7 cm, rayon de focalisation sphérique :6 cm; Imasonic® SAS, Voray sur l'Ognon, France) a été conçu avec une forme sphérique et un trou au centre pour loger un PCD (décrit dans la section suivante 3.1).

Le transducteur a été fixé dans un support de sonde (M2E®, Eaubonne, France) avec un système de dégazage et de circulation d'eau (IGT®, Pessac, France) qui contrôlait le dégazage et la pression hydrostatique du ballon d'eau. Le support de sonde présentait une membrane à base de latex pour le couplage acoustique du transducteur avec la tête de l'animal préalablement rasée et recouverte de gel de couplage acoustique centrifugé, mélangé avec de l'eau dans un rapport de 1:1. Le support de sonde a été fixé à un cadre stéréotaxique bidimensionnel (M2E®, Eaubonne, France) où l'animal était placé en position sphinx à l'aide d'un bras mécanique qui était verrouillé en place avec une vis.

Le transducteur était alimenté par un amplificateur radio-fréquence à canaux multiples (IGT®, Pessac, France). Cet amplificateur radio-fréquence émettait des impulsions rectangulaires qui étaient modulées en amplitude par une tension analogique agissant comme un gain réglable. Ce signal de modulation était généré par le FPGA (carte NI PXIe-7971R, Austin, TX, USA, 16 bits, fréquence d'échantillonnage de 25 MHz, module NI-5783). Après l'injection intraveineuse de microbulles (dose :0,30 mL/kg; SonoVue, Bracco®, Italie), des tirs ultrasonores ont été émis 2 minutes avec une pression négative maximale variant de 0,09 à 1,0 MPa (calibrée dans l'eau libre), une fréquence de 500 kHz, une fréquence de répétition des impulsions de 10 Hz et une longueur d'impulsion de 10 ms (5000 cycles ou un rapport cyclique de 10%).

Neuro-navigation

Un logiciel de neuro-navigation a été utilisé pour planifier et cibler la zone de traitement souhaitée pour l'exposition aux ultrasons. Le logiciel fournit un guidage en temps réel en superposant la position du transducteur sur des images IRM préalablement acquises de la tête du PNH. La configuration expérimentale comprend une caméra infrarouge (Polaris, NDI®) qui capture l'ensemble du dispositif centré sur la tête du PNH, détectant différents éléments avec des signatures de marqueurs uniques à l'aide de combinaisons spécifiques de perles réfléchissantes infrarouges.

Trois supports différents avec des configurations distinctes de marqueurs optiques réfléchissants sont utilisés :un fixé sur la tête du patient pour une référence absolue, un fixé sur le robot pour la localisation du transducteur, et un manipulé par l'opérateur pour la co-registation IRM-patient. En suivant ces marqueurs, le logiciel est capable de déterminer la position et l'orientation du transducteur par rapport à la tête du PNH grâce à l'enregistrement des différents éléments.

La procédure de neuro-navigation consistait à prépositionner quatre points caractéristiques sur l'animal (yeux, oreilles) et 100 points représentant la peau supérieure du crâne. L'enregistrement avec l'algorithme ICP (Iterative Closest Point) a aligné ces 100 points avec la peau automatiquement segmentée à partir de l'IRM anatomique de l'animal (séquence T1). La position du transducteur était connue dans le référentiel de l'animal, et l'opérateur visualisait la position du point focal et de la cible.

Le transducteur était relié au cadre stéréotaxique de l'animal par un bras mécanique avec des vis de verrouillage. Une fois que l'opérateur avait aligné le point focal avec la cible, la focalisation a été déterminée pour superposer correctement la cible et le centre du point focal. Toute la scène était affichée en temps réel sur un écran, fournissant une rétroaction continue à l'opérateur.

Signal PCD

Un transducteur ultrasonore plan mono-élément (fréquence centrale : 1,5 MHz, bande passante fractionnelle : 58%, diamètre : 4,5 mm; Imasonic®, Voray sur l'Ognon, France), positionné au centre du transducteur ultrasonore thérapeutique, a été utilisé pour détecter passivement les ultrasons rétro-diffusés par le milieu de couplage, la tête de l'animal et les microbulles circulantes. Le signal détecté par le transducteur PCD a été amplifié (20 dB, Tabor electronics®, Nesher, Israël) avant d'être acquis (fréquence d'échantillonnage de 25 MHz) avec le CAN du FPGA. Le signal numérisé a ensuite été envoyé par le FPGA vers un ordinateur qui mettait en œuvre la boucle de rétroaction de pression de cavitation avec un logiciel développé en Python (version 2.7.12, Python Software Foundation, Delaware, USA).

Les composantes fréquentielles du signal ont été quantifiées en calculant les valeurs moyennes et maximales sur des bandes spectrales définies après la FFT du signal. Le calcul de la FFT a été réalisé en faisant la moyenne des spectres du signal temporel, qui a été divisé en fenêtres temporelles de 80 μ s. Les composantes fréquentielles ont été calculées sur des bandes de fréquence de largeur $\Delta f_{sub} = 30\text{kHz}$ autour de la sous-harmonique et des ultra-harmoniques ($f_{sub/ultra} = m \frac{f_0}{2} \pm \Delta f_{sub/ultra}$, avec $m = 1, 3, 5, 7, 9$), $\Delta f_{harm} = 60\text{kHz}$ autour des harmoniques ($f_{harm} = n f_0 \pm \Delta f_{harm}$), avec $n = 2, 3$, et 4), où f_0 était la fréquence transmise (500 kHz). La dose de cavitation stable a été déterminée comme la somme de la racine carrée de la moyenne quadratique des composantes de fréquence harmonique et ultra-harmonique. La dose de cavitation inertielle a été déterminée comme la racine carrée de la moyenne quadratique du signal large bande (780 kHz – 1,94 MHz), excluant les bandes de fréquence des harmoniques (30 kHz de large pour les ultra-harmoniques et 60 kHz de large pour les harmoniques).

3.2.3.2 Résultats

Sur ces expériences, 10 ont été effectuées sur des sujets avec des muscles temporaux fins et 8 sur des PNH avec des muscles temporaux épais. Aucune perméabilisation de la BHE n'a été possible chez les PNH possédant des muscles épais (> 20 mm). Ce sujet spécifique sera abordé dans la partie 3.4.

Pour les PNH à muscles fins, 3 expériences sur 8 ont échoué. Différentes ouvertures sont présentées dans la figure 3.3. L'hypersignal présent uniquement dans un des hémisphères du cerveau est produit par la présence dans les tissus cérébraux de gadolinium, un agent de contraste IRM, qui a s'est échappé des capillaires et a diffusé dans le cerveau suite à la perméabilisation de la BHE.

Un point à noter est l'absence de dommages vasculaires (œdème, hémorragie) dans les jours suivant l'expérience. Les dommages sont examinés au travers d'une nouvelle IRM 5 à 7 jours après le traitement.

Toutefois étant donné que ce contrôle n'est pas aussi précis que l'histologie, certains dommages localisés et limités peuvent échapper à la sensibilité de l'IRM. Ce point est important, il montre que l'algorithme est potentiellement trop prudent et n'est pas toujours efficace sur l'ensemble des perméabilisations mais il garantit à ce jour une sécurité dans l'ensemble des perméabilisations. Même durant

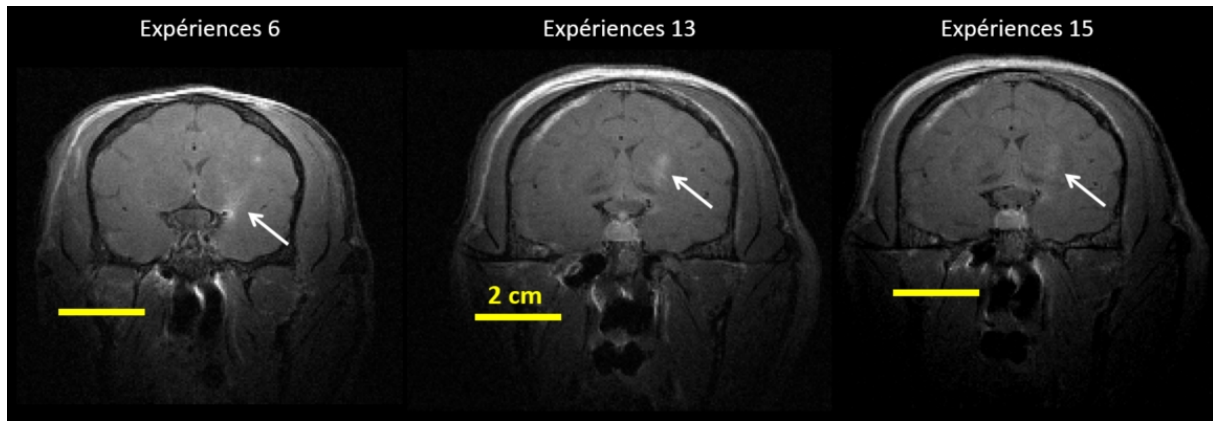


FIGURE 3.3 – Figure montrant les résultats de différentes ouvertures de BHE chez le PNH. Il s'agit d'images IRM 7T obtenues avec des séquences pondérées T1 après injection de Dotarem (0,4 mL/kg) sur lesquelles des hypersignaux indiqués par les flèches blanches sont observables aux endroits où la BHE a été perméabilisée et où le gadolinium a atteint les tissus cérébraux.

les expériences présentées à la partie 3.4, durant lesquelles l'algorithme a été légèrement modifié avec des pressions de raréfaction atteintes égales ou supérieures à 1 MPa (en eau libre).

3.2.4 Discussion autour des limites de l'algorithme

L'algorithme dit « Kamimura » est un premier outil précieux pour contrôler l'ouverture de BHE chez le PNH. Toutefois, il possède de par son fonctionnement des limitations. En effet, il possède une première phase d'augmentation de la pression (cf figure 3.1) avant d'avoir une phase de maintien, ce fonctionnement donne une pression maximale atteinte au moment correspondant à la bascule d'une phase à l'autre. La pression maximale est une pression supposée légèrement trop forte et potentiellement à risque car 2 événements de cavitation inertielle ont eu lieu dans un laps de temps très réduit. Par la suite, les événements inertiels détectés vont contraindre l'algorithme à redescendre la pression à une valeur sans danger.

Deux limitations ont été identifiées. Premièrement dans la phase d'ascension, une fois la pression potentiellement dangereuse atteinte, il est nécessaire de détecter, et donc laisser se produire, plusieurs événements de cavitation inertielle afin de réduire la pression. Cette approche est jugée risquée car elle peut correspondre à l'apparition de micro-dommages. Il serait donc intéressant de prédire l'apparition de cette cavitation inertielle sans que celle-ci ne se produise. Deuxièmement, il arrive que la pression acoustique soit fortement réduite dans la phase de maintien suite à la présence de plusieurs événements de cavitation inertielle, s'éloignant ainsi la pression appliquée du seuil de pression efficace d'ouverture. La cavitation étant un phénomène stochastique, et la population de bulles polydisperses, certains événements de cavitation inertielle apparaissent à des pressions proches des seuils efficaces d'ouverture de la BHE. En général, sur une séquence composée de 1200 tirs de traitement (à une cadence de 10 Hz), une centaine de tirs pendant la phase de pression ascendante ne seront pas assez forts, suivi de plusieurs dizaines de tirs potentiellement dangereux. Sur la phase de maintien, plusieurs centaines de tirs peuvent être émis à des pressions trop faibles, si les nuages de bulles ont été particulièrement déstabilisés pendant les tirs du début de cette phase.

Toutefois, il convient de noter que des versions plus efficaces sont envisageables. En effet, une première solution pour améliorer ce type d'algorithme est d'augmenter la vitesse de contrôle et de l'établir, idéalement, à quelques centaines de microsecondes. En effet, de précédents travaux ont démontré que des variations importantes de la signature acoustique des MB, associées à un changement de régime de cavitation, pouvait se produire en moins de 256 μ s (NOVELL et al. 2020). La

modification de la pression au sein d'un tir ultrasonore permettrait d'éviter de potentiels dommages vasculaires en arrêtant les ultrasons dès l'apparition des événements de cavitation inertielle. En outre, cela ouvrirait la possibilité par exemple à une augmentation plus rapide de la pression en début de séquence afin d'atteindre une pression efficace en quelques tirs au lieu d'une centaine avec l'algorithme conventionnel.

C'est pour cela que notre laboratoire a fait le choix de se doter d'intégrer la technologie FPGA permettant de contrôler la pression à cadence de 20 kHz (CORNU 2018). Cette technologie, développée au laboratoire par Corentin Cornu, m'a permis de mettre en place un contrôle ultrarapide de la cavitation basé sur cette possibilité de moduler la pression émise pendant les tirs ultrasonores. Cela a fait suite aux expériences de caractérisation de la cavitation présentée dans le chapitre 2. Dans la section suivante, la stratégie ultrarapide d'acquisition de données pour mettre en place le contrôle de cavitation.

3.3 Acquisition de données par FPGA avec des tirs sans contrôle

Des mesures de cavitation *in vitro* ont été décrites dans le chapitre 2. Ces mesures ont permis de mieux comprendre comment apparaissait et disparaissait les différents états de cavitation.

Sur la base de ces mesures *in vitro* effectuées avec les 2 types de tirs ultrasonores (trapézoïdaux et triangulaires), il est possible de définir des algorithmes de contrôle de la cavitation ultrarapide par FPGA pertinent. Toutefois les résultats étant différents selon le type d'enveloppe utilisée, l'approche doit donc être spécifique au type de tirs utilisés. De plus, la translation de la méthode chez l'animal n'est pas évidente et l'acquisition de données de cavitation *in vivo* reste indispensable.

Les résultats présentés ci-après ont été obtenus chez le rongeur. Sur la base des résultats *in vitro*, notre choix s'est porté sur l'utilisation des tirs triangulaires afin d'établir un algorithme de contrôle de la cavitation utilisant des rampes lentes d'augmentation de la pression. C'est donc avec des tirs à enveloppe triangulaire que des ouvertures de BHE ont été effectuées chez le rongeur.

3.3.1 Dispositif expérimental

Rongeurs

Ces acquisitions préliminaires sur des rongeurs ont été faites avec un nombre restreint de 6 animaux (2 souris et 4 rats, cf tableau 3.2) afin de respecter la règle des 3R.

Identifiant	Espèce animal	Sexe	Masse	Volume de MB injecté	Volume injecté de Gadolinium	Pression maximale de raréfaction dans l'eau
1	Souris, C57BL/6J	Femelle	29 g	50 µL	100 µL	0,715 MPa
2	Souris, C57BL/6J	Femelle	30 g	50 µL	100 µL	1,016 MPa
3	Rat, Sprague Dawley	Femelle	350 g	100 µL	200 µL	0,826 MPa
4	Rat, Sprague Dawley	Femelle	380 g	100 µL	200 µL	1,36 MPa
4	Rat, Sprague Dawley	Femelle	220 g	100 µL	200 µL	1,190 MPa
6	Rat, Sprague Dawley	Femelle	360 g	100 µL	200 µL	0,572 MPa

TABLEAU 3.2 – Informations sur les rongeurs utilisés dans l'expérience de tirs ultrasonores de caractérisation de la cavitation avec des tirs triangulaires *in vivo*.

Toutes les expériences ont été réalisées conformément aux recommandations de la Communauté européenne (86/609/CEE) et à la législation française (décret n° 87/848) concernant l'utilisation et le soin des animaux de laboratoire. Toutes les expériences sur animaux ont été approuvées par le Comité d'Éthique en Expérimentation Animale du Commissariat à l'Énergie Atomique et aux énergies alternatives Direction des Sciences du Vivant Ile de France (CETEA CEA DSV IdF, A21-012). Les animaux ont été endormis à l'aide d'un mélange gazeux d'air, d'oxygène (50:50) et de 1.5% d'isoflurane (induction à 3%). Les animaux ont d'abord été tondus puis épilés avec une crème dépilatoire. Les animaux sont maintenus au chaud pendant les expériences, avec une surveillance de la température corporelle et de la fréquence respiratoire.

Déroulement des expériences et préparation de l'animal

L'animal était pesé avant d'être anesthésié dans une boîte d'induction. Après épilation sur le dessus de la tête, le rongeur était ensuite positionné dans un lit d'IRM, sa tête était maintenue avec 2 barres d'oreilles et un mors. Le transducteur ultrasonore était ensuite placé au contact de la tête de l'animal avec un couplage réalisé avec un mélange (1:1) de gel d'échographie et d'eau milliQ préalablement centrifugé (figure 3.4). Les tirs de référence étaient émis jusqu'à obtenir un couplage adéquat avec un repositionnement si un mauvais couplage était observé. Les microbulles (SonoVue®, Bracco, Italie) et le produit de contraste IRM (Dotarem®, Guerbet, diamètre de 1 nm, 1,6 mL/kg) étaient ensuite injectés dans la queue de l'animal avant les tirs de traitement. Le dispositif ultrasonore était ensuite retiré et l'animal était placé dans l'IRM (scanner Pharmascan 7 T/90 mm, Bruker®, Ettlingen, Allemagne) afin de déterminer le succès de l'ouverture de la BHE (séquence T1-w, Multi-slice multi-echo (MSME)). L'animal était ensuite placé dans sa cage et surveillé jusqu'à son réveil. Le lendemain il était à nouveau anesthésié pour subir de nouvelles séquences IRM afin de déterminer la présence de potentiels dommages vasculaires (séquence T2-w, Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement (RARE)).

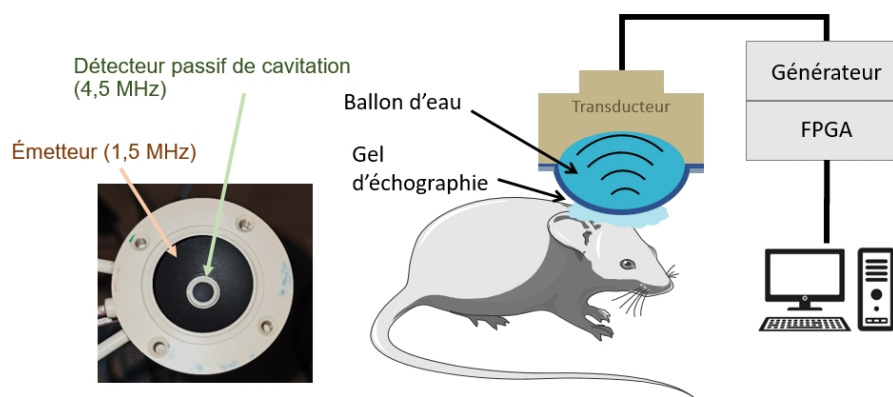


FIGURE 3.4 – Schéma du dispositif expérimental d'ouverture de BHE chez le rongeur.

Dispositif ultrasonore et contrôle de cavitation

L'ensemble de l'expérience était contrôlé par un ordinateur avec un programme python (version 2.7.12, Python Software Foundation, Delaware, USA). Une électronique de puissance RF (IGT®, Pessac, France) créait les signaux qui étaient transmis à un transducteur ultrasonore en forme d'anneau (fréquence centrale : 1,5 MHz, mono-élément, diamètre externe : 2,5 cm, rayon de focalisation sphérique : 2 cm; Imasonic®, SAS, Voray sur l'Ognon, France). Le transducteur thérapeutique était percé en son centre afin d'y insérer un PCD (Imasonic®, fréquence centrale 4,5MHz). Le signal du PCD était ensuite transmis à un boîtier FPGA (Field-Programmable Gate Array, carte NI PXIe-7965R®, Austin, TX, 16 bits, module NI-5783) incorporant une carte d'acquisition et un CAN, avant de retransmettre les données à l'ordinateur. Le boîtier FPGA émettait un signal de modulation contrôlant la carte de modulation du générateur. Cela permettait d'obtenir les enveloppes des tirs triangulaires émis.

Protocole des ultrasons

Les tirs ultrasonores étaient constitués de tirs durant 14 ms, émis à une fréquence de 1,5 MHz. La première partie du signal durait 12 ms et était constituée d'une augmentation de la pression linéaire, dépendante de la valeur maximale choisie. Ensuite, l'amplitude de modulation restait constante pendant 2 ms avant que le tir ultrasonore ne s'arrête. Cette durée permettait de vérifier si la cavitation non stable pouvait apparaître avec une pression constante sans être apparu au préalable dans la rampe de pression. Les tirs ultrasonores étaient émis toutes les 100 ms, produisant une PRF de 10 Hz.

Les pressions maximales de raréfaction pour chaque animal sont notées dans le tableau 3.2. Ces pressions ont été calculées pour avoir soit des pressions proches de l'apparition de la cavitation inertielle soit des pressions nettement plus importantes. Pour les rats, les pressions étaient calculées en fonction du coefficient de transmission associé à la masse de l'animal (GERSTENMAYER et al. 2018). Pour les souris, les pressions étaient déterminées à partir d'anciennes expériences. Les tirs de référence étaient composés de 20 tirs (2 secondes), le couplage était considéré comme satisfaisant si les indices ultra-harmoniques et du bruit large bande ne variaient pas pendant ces 20 tirs entre le début et la fin de la rampe de pression. Pour le traitement avec injection de MB, les tirs étaient émis de façon pulsée pendant 120 s.

Analyse des données

Premièrement, une analyse des signaux rétro-diffusés similaire à celle effectuée dans le chapitre 2 à la partie 2.2.3.4 a été effectuée. Ce traitement a consisté à étudier la variation temporelle des différents indices de cavitation non stable, les indices ultra-harmonique et de bruit large bande. Le signal est découpé en fenêtres de 2048 échantillons du signal temporel (80 μ s, 123 cycles) et décalé de 50 μ s (1280 échantillons). Pour chaque tir, les 40 premières fenêtres temporelles du signal ont servi de référence. Pour ces fenêtres, la pression était nulle ou inférieure à 20% de l'amplitude maximale (soit inférieure à 200 kPa). Les tirs où des événements de déstabilisation ont été détectés sont les tirs sui-

vants ces 40 fenêtres pour lesquels un des indices de bruit large bande ou ultra-harmonique dépasse de plus de 5 écarts types la valeur moyenne de l'indice. Ces tirs, où des événements ont été détectés, ont ensuite été vérifiés manuellement pour exclure ceux pour lesquels il ne s'agissait que d'un bruit de mesure comme dans la figure 3.5.

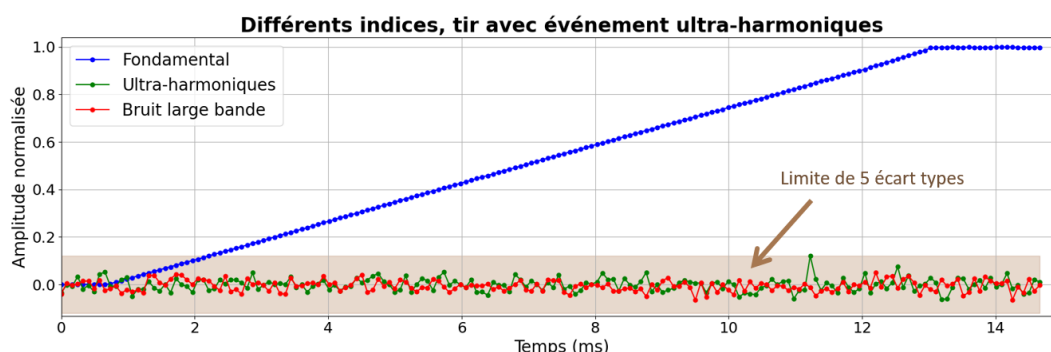


FIGURE 3.5 – Évolution des différents indices (fondamental, ultra-harmoniques et bruit large bande) au sein d'un tir pour lequel aucun événement de cavitation non stable n'a été détecté. L'indice des ultra-harmoniques dépasse toutefois la limite de détection de 5 écarts types (nuage entourant les valeurs). Après vérification manuelle, il s'agit très probablement de bruit non significatif (valeur très proche de la limite et totalement isolée). Résultats provenant de l'expérience sur la souris 2 avec une pression maximale de 1,016 MPa.

3.3.2 Résultats

Observations IRM

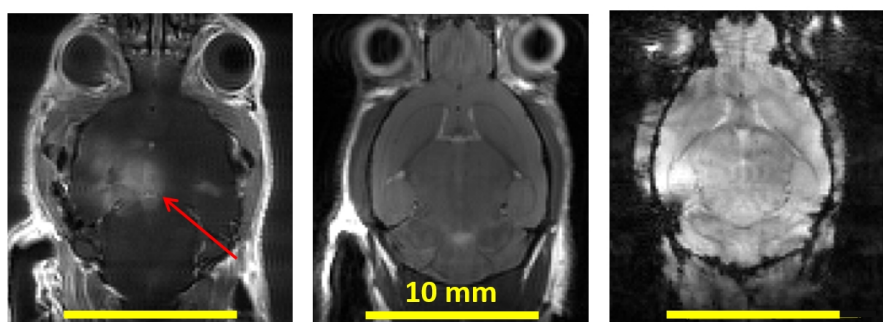


FIGURE 3.6 – Image IRM de la perméabilisation de la BHE (gauche) effectuée 15 minutes après les ultrasons sur la souris 2. Images IRM T1 (centre) et T2-w (droite) effectuée 24h après permettant de vérifier l'absence d'hémorragies et d'œdèmes.

Au cours de ces expériences, 4 expériences ont permis une perméabilisation de la BHE, l'une d'entre elles n'a pas permis la perméabilisation et enfin la dernière n'a pas été scannée suite à un problème sur l'IRM (cf tableau 3.3). Il n'y a eu aucuns dommages vasculaires constatés par IRM T1 ou T2 (cf figure 3.6).

Identifiant	Vérification de l'ouverture de BHE	Vérification de l'absence de dommages	Nombre d'événements IC	Nombre d'événements UH
Souris 1	Ouverture confirmée	Absence de dommages	6	0
Souris 2	Ouverture confirmée	Absence de dommages	19	9
Rat 3	Ouverture confirmée	Absence de dommages	1	0
Rat 4	Pas d'ouverture	Absence de dommages	1	0
Rat 5	Ouverture confirmée	Absence de dommages	1	0
Rat 6	Problème d'IRM	Absence de dommages	0	0

TABLEAU 3.3 – Tableau récapitulatif des expériences avec des tirs triangulaires sans contrôle de la cavitation. Pour la dernière de ces expériences, il n'a pas été possible de vérifier l'ouverture de la BHE suite à un problème sur l'antenne.

Résultats acoustiques

De manière intéressante, les séquences transmises ont produit peu de cavitation non stable. Les gammes de pressions ultrasonores avaient pourtant été définies au préalable comme étant des pressions pour lesquelles les ouvertures étaient quasi-systématiques et l'apparition de cavitation non stable probable. Il se trouve que les résultats pour des tirs ultrasonores avec une enveloppe de type trapézoïdale sont probablement plus à même de déstabiliser les MB. Ainsi, il est possible d'observer dans le tableau 3.3, que pour les sonications chez les rats, seulement 3 tirs ont résulté en une observation de cavitation inertielle. Cela est extrêmement réduit si l'on considère que pas moins de 4800 tirs ont été émis. De plus, la plupart de ces événements sont extrêmement brefs ($< 500 \mu s$), il est donc difficile de les observer.

Les apparitions de cavitation non stable sont plus prolongées chez la souris que chez le rat. Les résultats chez le rat sont donc difficilement exploitables et la suite de cette partie se concentre sur les résultats récoltés sur les souris.

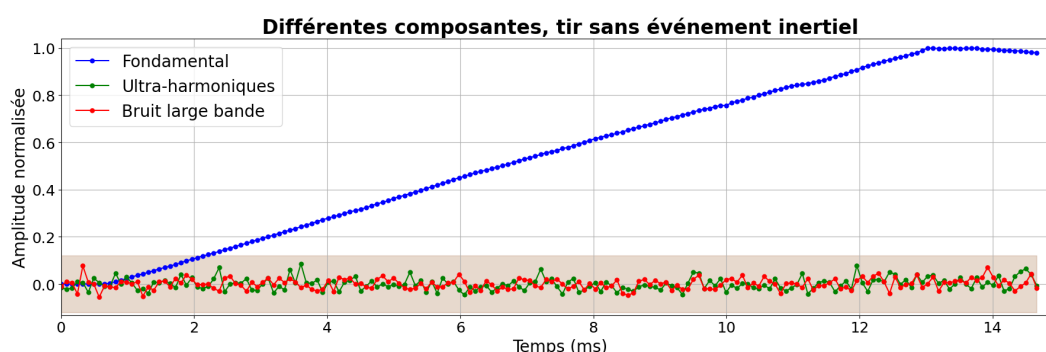


FIGURE 3.7 – Évolution des différents indices (fondamental, ultra-harmoniques et bruit large bande) au sein d'un tir pour lequel aucun événement de cavitation non stable n'est détecté. Les indices des ultra-harmoniques et du bruit large bande restent inférieurs à la limite de détection de 5 écarts types. Résultats provenant de l'expérience sur la souris 2 avec une pression maximale de 1,016 MPa.

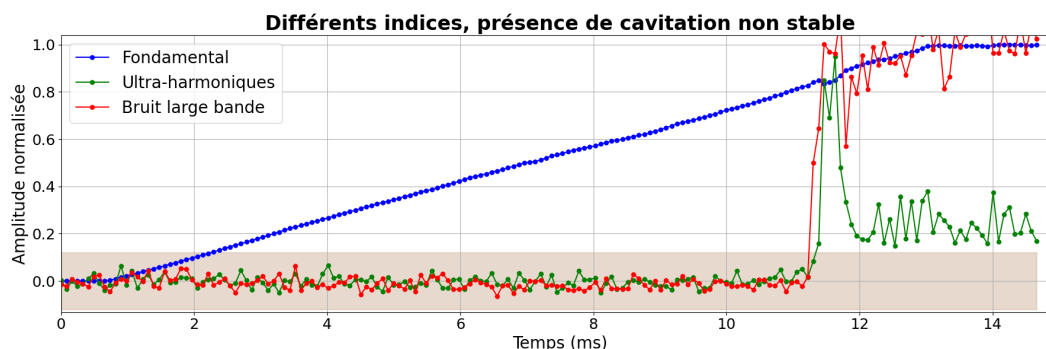


FIGURE 3.8 – Évolution des différents indices (fondamental, ultra-harmoniques et bruit large bande) au sein d'un tir pour lequel de la cavitation non stable a été observée au travers des indices des ultra-harmoniques et du bruit large bande. Résultats provenant de l'expérience sur la souris 2 avec une pression maximale de 1,016 MPa.

L'évolution des différents indices (signal d'émission réfléchi, ultra-harmoniques et bruit large bande) au sein de chacun de ces tirs est tracée sur les figures 3.5, 3.7 et 3.8.

La figure 3.7 présente l'évolution des différents indices lors d'un tir sans cavitation non stable. La composante représentant le signal du fondamental réfléchi par le crâne reste tout d'abord nulle lors de la première milliseconde du tir, augmente ensuite linéairement pendant les 12 ms suivantes et enfin reste constante pendant les 2 dernières millisecondes. On peut noter que les indices ultra-harmoniques et de bruit large bande suivent le même comportement entre le début et la fin du tir. Les bandes colorées correspondent à 5 fois l'écart type du signal. Dans ce tir, et dans 1165 autres de cette expérience, les indices ultra-harmoniques et de bruit large bande ne dépassent pas ces bornes calculées en début de tir.

Sur la figure 3.8, l'indice représentant f_0 augmente quasi linéairement avec la pression. Pour ce qui est des indices ultra-harmoniques et de bruit large bande, on peut notifier une bien plus grande activité. En effet, ces indices augmentent simultanément peu après 11 ms. L'indice du bruit large bande augmente fortement et reste très significatif jusqu'à la fin du tir. Pour l'indice des ultra-harmoniques, après avoir augmenté de façon similaire au bruit large bande, il décroît en 0,5 ms à une valeur légèrement supérieur à celle de la limite (5 écarts types) jusqu'à la fin du tir.

Les pressions d'apparition de la cavitation non stable sont supérieures à 65% de la pression maximale. Et si l'on exclut les événements très brefs ($< 200 \mu s$) et de faible intensité (< 8 écarts types), les pressions d'apparitions sont supérieures à 88% de la pression maximale. Les événements sont aussi nettement plus présents en début d'expériences (8 événements dans les 32 premiers tirs pour la souris 2).

3.3.3 Discussion

Ces mesures de la cavitation sans contrôle chez la souris et le rat m'ont permis de mieux appréhender les types de signaux détectés lors de l'ouverture de la BHE chez des rongeurs. Le premier constat fut l'absence marquante de contenu inertiel dans les signaux obtenus. En effet, les amplitudes de tirs avaient été volontairement choisies, sur la base des données *in vitro*, pour induire une quantité importante de cavitation non stable. Toutefois, il apparaît à nouveau que la différence entre les tirs ultrasonores avec des enveloppes trapézoïdales, comme utilisés par l'algorithme dit de «Kamimura», et ceux à enveloppe triangulaire est importante au niveau de la signature acoustique inertielle. En effet, que ce soit pour des expériences *in vivo* comme *in vitro* (cf partie 2), des tirs à amplitude similaires ne produisent pas les mêmes indices inertiels et ultra-harmoniques. Il serait intéressant de faire une étude animale comparant l'efficacité et la sécurité des ouvertures de BHE avec des tirs triangulaires et trapézoïdaux à des pressions fixes.

Cette faible quantité de cavitation inertielle a quand même permis d'obtenir plusieurs tirs présentant des signatures de cavitation inertielle ou de déstabilisation. Ces signaux ont permis d'essayer différents traitements du signal pour détecter efficacement les différents événements de cavitation non stable.

Ces résultats ont été exploités pour mettre au point et tester un algorithme avancé utilisant les capacités de modulation intra-tir du signal permettant d'obtenir un contrôle optimisé et sans danger de la cavitation des MB. Cet algorithme sera présenté dans le chapitre 4.

3.4 La discrimination entre la cavitation cérébrale et la cavitation musculaire

Les études sur les PNH offrent un modèle qui ressemble étroitement à l'Homme en termes de complexité anatomique et fonctionnelle. En particulier leur crâne est plus similaire à l'Homme par rapport aux rongeurs en termes de structure, forme et propriétés acoustiques. Cependant, des défis inhérents se posent avec les modèles PNH. Les macaques mâles, en particulier ceux de grande taille, ont tendance à avoir d'imposants muscles temporaux, absents chez l'homme. Lors des expériences d'ouverture de la BHE, ces muscles fortement vascularisés se remplissent de MB, créant une source de cavitation en dehors du crâne pouvant perturber les algorithmes de contrôle de la cavitation. Cette étude présente une stratégie permettant de discriminer la cavitation musculaire et cérébrale, basée sur les caractéristiques de filtre fréquentiel passe-bas du crâne (DEFFIEUX et al. 2010).

Une étude précédente *in vitro* réalisée par MAIMBOURG et al. 2018 a exploré cette problématique. Cependant, leurs résultats ont été obtenus à l'aide d'une configuration expérimentale légèrement différente, où leur PCD n'était pas aligné avec l'émetteur, évitant ainsi une partie importante des réflexions directes des ultrasons. De plus, leur étude se concentrait principalement sur la détection de bulles résultant d'un mauvais couplage du transducteur avec le crâne, et ce problème spécifique n'a pas été examiné auparavant en dehors du cadre de leur article dans la littérature.

3.4.1 Méthodes

3.4.1.1 Expériences considérées

Des différentes expériences présentées dans le tableau 3.1, seules certaines ont été utilisées dans le cadre de cette étude. Le tableau 3.4 permet de rappeler les informations pertinentes dans le cadre de cette étude et de faire le lien entre les PNH utilisés dans cette étude par rapport à l'ensemble des expériences réalisées. Le protocole d'anesthésie, de surveillance des constantes, d'émission et d'enregistrement des ultrasons et de neuronavigation est similaire à celui présenté dans la partie 3.2.

Numéro dans cette étude	Numéro dans le tableau 3.1	Sexe	Masse (kg)	Épaisseur du muscle	Seuil ICD	Type de contrôle	Ouverture de la BHE
1	3	Femelle	6,6	3 mm	1,5	ICD	Oui
2	5	Femelle	6,3	3 mm	1,5	ICD	Oui
3	6	Femelle	6,2	3 mm	1,5	ICD	Oui
4	8	Mâle	10,6	20 mm	1,5	ICD	Non
5	9	Mâle	10,6	20 mm	1,5	ICD	Non
6	10	Mâle	13,7	20 mm	1,8	ICD	Non
7	11	Mâle	10,8	20 mm	2,5	ICD	Non
8	12	Mâle	10,8	20 mm	2,5	ICD	Non
9	14	Femelle	6,3	3 mm	1,5	ICD & α	Oui
10	15	Mâle	10,4	20 mm	1,5	ICD & α	Non

TABEAU 3.4 – Récapitulatif des conditions expérimentales, comprenant le sexe, le poids, l'épaisseur maximale du muscle traversé, le type de rétroaction (Standard/avec coefficient α), le seuil de bruit large bande, et le succès ou l'échec de l'ouverture de la BHE. Les expériences réalisées à MIRCen sont en gris et celles à Neurospin en orange.

3.4.1.2 Dépendance en fréquence du bruit large bande

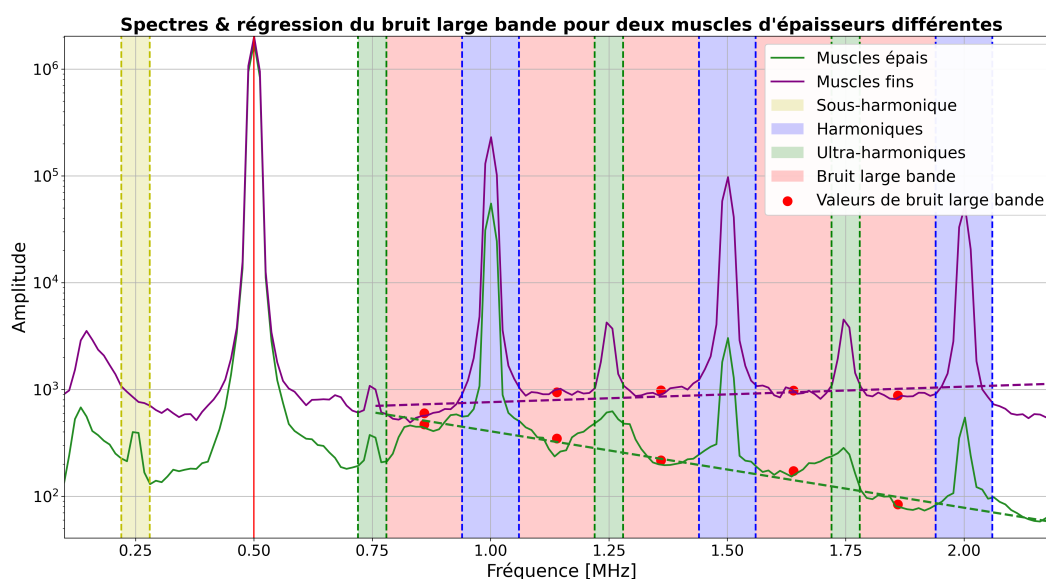


FIGURE 3.9 – Spectres rétro-diffusés par des MB lors de deux expériences d'ouvertures de la BHE sur des PNH. Le spectre en violet correspond à un sujet possédant des muscles temporaux épais et celui en vert à des muscles temporaux fins. La fréquence fondamentale est indiquée en rouge, les harmoniques en bleu, les ultra-harmoniques en vert et le bruit à large bande en rose. Les différentes valeurs de chaque bande de bruit à large bande sont représentées par des points rouges, et la régression linéaire basée sur ces valeurs est montrée par des lignes pointillées.

Pour la détection des événements de cavitation inertielle, le bruit large bande a été mesuré en intégrant cinq bandes de pression différentes (les mêmes que pour le calcul de l'IC), positionnées entre les harmoniques et les ultra-harmoniques (en rose sur la Figure 3.9).

Afin d'étudier la dépendance en fréquence de ce bruit large bande, une deuxième étape de post-traitement a consisté à déterminer la valeur moyenne du bruit large bande dans chacune de ces

bandes de fréquence sans les normaliser par les valeurs équivalentes de référence. Une régression linéaire (en utilisant Python avec `numpy.polyfit`) a ensuite été réalisée pour trouver le polynôme du premier degré le plus proche des cinq points de mesure du bruit large bande. Le coefficient de pente est appelé **coefficient alpha** et a été ensuite utilisé pour faire la distinction entre la cavitation cérébrale et musculaire. Le coefficient alpha a permis de faire la discrimination entre le bruit large bande traversant uniquement les tissus (c'est-à-dire provenant des muscles à l'extérieur du crâne) avec une atténuation dépendante de la fréquence basse pour la plage de fréquences utilisée en FUS (typiquement de 100 kHz à 2 MHz), et le bruit large bande filtré en passe-bas par le passage du crâne.

3.4.1.3 Analyse postérieure des expériences de BHE réussies ou infructueuses

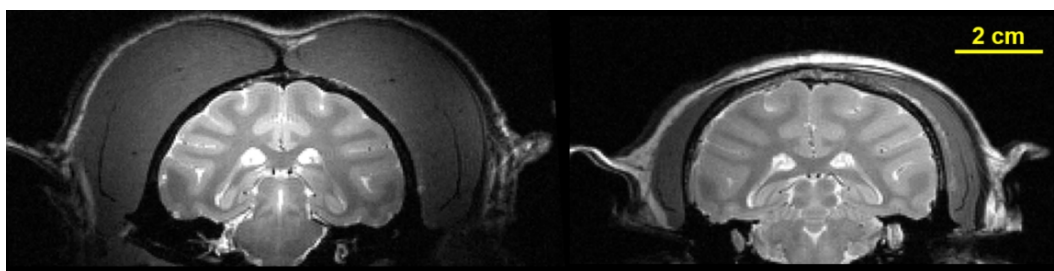


FIGURE 3.10 – Comparaison d'images IRM illustrant la différence entre les muscles temporaux épais et fins chez le PNH. Sur l'image de gauche, les muscles ont une épaisseur radiale de 2 cm, tandis que sur l'image de droite, l'épaisseur vaut 3 mm.

Ce coefficient alpha a été calculé pour l'ensemble des tirs des expériences précédentes sur les PNH en analysant rétrospectivement leurs signaux de cavitation (expériences 1 à 8). L'analyse rétrospective comprenait cinq expériences sur des PNH où la perméabilisation de la BHE n'a pas pu être réalisée (aucune amélioration de l'IRM pondérée en T1 après l'injection de Dotarem) et trois expériences où la perméabilisation de la BHE a été réussie. Dans toutes les ouvertures infructueuses de la BHE, les PNH étaient des sujets de sexe masculin de plus grande taille (10,5 et 13,7 kg) avec le faisceau ultrasonore traversant une couche significative de muscle (>20 mm). Dans les ouvertures réussies où la perméabilisation de la BHE a été accomplie, le PNH était une femelle jeune (6,6 kg) avec une couche de muscle très mince sur le crâne (<3 mm) (cf figure 3.10). L'estimation de l'épaisseur des muscles a été faite sur la base des IRM pré-opératoires (séquence T1). L'épaisseur était estimée à partir de la position du transducteur pour atteindre les cibles désignées. La précision est relativement faible (± 5 mm) pour les PNH à muscles épais, toutefois la différence avec des muscles fins reste très importante.

3.4.1.4 Détection améliorée des événements de cavitation inertielle dans la boucle de rétroaction grâce à l'utilisation du coefficient alpha

Deux expériences ont été menées sur des PNH avec de légères modifications de l'algorithme de contrôle de la cavitation. La définition des événements de cavitation inertielle a été dotée d'un seuil supplémentaire sur le coefficient alpha. Pour être considérée comme un événement, un tir doit avoir un coefficient alpha de la régression linéaire négatif inférieur à $-0,2 \text{ MHz}^{-1}$. Cette valeur a été définie à partir des valeurs alpha des sessions précédentes de perméabilisation de la BHE afin de réduire les risques de détection de faux événements de cavitation inertielle (c'est-à-dire des événements de CI ne provenant pas de l'intérieur du crâne). Cette valeur négative prend en compte le filtrage naturel associé à la bande passante du crâne. Les expériences ont été réalisées sur deux PNH : une femelle de 6 kg avec des muscles temporaux de moins de 5 mm d'épaisseur (notée expérience 9) et un mâle de 10 kg avec des muscles temporaux de plus de 2 cm d'épaisseur (noté expérience 10).

3.4.2 Résultats

3.4.2.1 Ouverture de la BHE avec contrôle par rétroaction

Ouvertures réussies de la BHE sur des PNH ayant des muscles temporaux minces

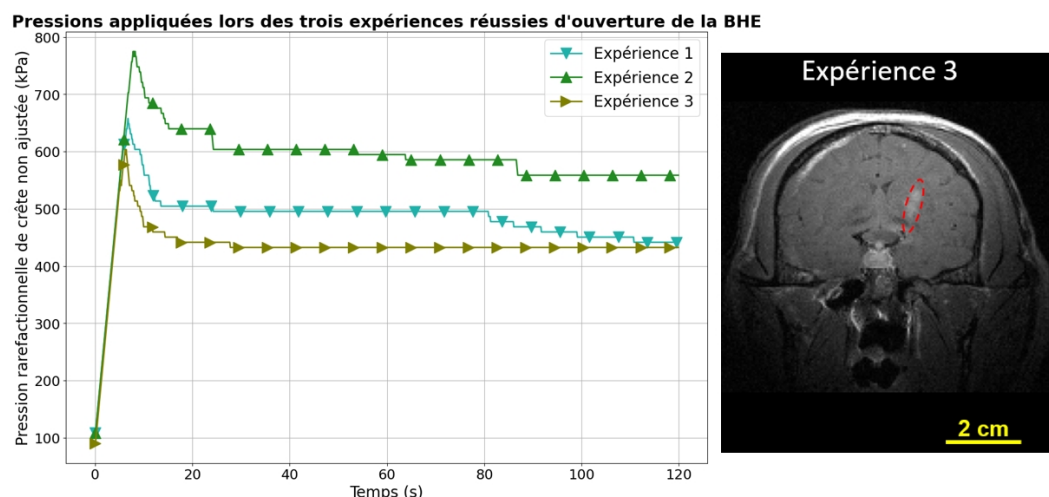


FIGURE 3.11 – Variations de pression pendant la perturbation de la BHE chez les PNH à l'aide d'un algorithme de contrôle de la cavitation. Les trois expériences présentées ont perméabilisé avec succès la BHE (confirmé par vérification par IRM). Le PNH utilisé dans ces trois expériences avait des muscles temporaux minces (<3 mm). Image par IRM illustrant l'ouverture de la BHE lors de l'expérience 3 avec le passage du gadolinium dans les tissus cérébraux.

Les résultats analysés comprennent des données de trois expériences menées sur des PNH avec des muscles temporaux minces (<3 mm). Ces résultats ont été obtenus en utilisant l'algorithme de contrôle de la cavitation "Kamimura" classique. Pour les trois ouvertures réussies de la BHE sur des PNH ayant des muscles minces, la perméabilisation a été confirmée par IRM en observant le passage de l'agent de contraste IRM dans le tissu cérébral au point focal du transducteur. L'algorithme de contrôle de la cavitation a convergé vers des pressions de raréfaction (en eau libre) de 485, 614 et 475 kPa, respectivement. Les pressions maximales atteintes étaient de 675, 775 et 604 kPa, respectivement. Dans ces expériences, 34, 32 et 26 événements de cavitation inertielle ont été détectés, contribuant à la convergence de l'algorithme vers ces pressions. L'algorithme a atteint la pression maximale en 6,7, 7,8 et 6,2 secondes, et a atteint sa valeur de convergence (dans les 10%) en 81, 24,2 et 10 secondes, respectivement. Les variations de pression au cours de ces expériences sont présentées dans la Figure 3.11.

Échecs d'ouvertures chez les PNH avec des muscles temporaux épais

Les résultats analysés incluent des données de cinq expériences menées sur des PNH avec des muscles temporaux épais (>20 mm). De manière similaire aux expériences précédentes, ces résultats ont été obtenus en utilisant l'algorithme de contrôle de la cavitation de base. Pour les cinq perméabilisations de la BHE chez les PNH avec des muscles épais, la perméabilisation n'a jamais été observée par IRM. Aucun hypersignal n'a été observé par rapport à la zone cérébrale controlatérale. L'algorithme de contrôle de la cavitation a convergé avec succès vers des pressions de 376, 324, 640, 207 et 279 kPa, respectivement. La pression maximale atteinte était de 387, 828, 648, 308 et 693 kPa, respectivement. Il y avait 8, 6, 21, 11 et 12 événements détectés dans ces différentes expériences, contribuant à la convergence de l'algorithme à ces pressions. L'algorithme a atteint la pression maximale en 4,1, 2,6, 6,3, 1,5 et 2,5 secondes, et sa valeur de convergence (dans les 10 %) en 4,3, 2,6, 8,5, 3 et 4,1 secondes.

Les variations de pression pendant ces expériences sont présentées dans la Figure 3.12.

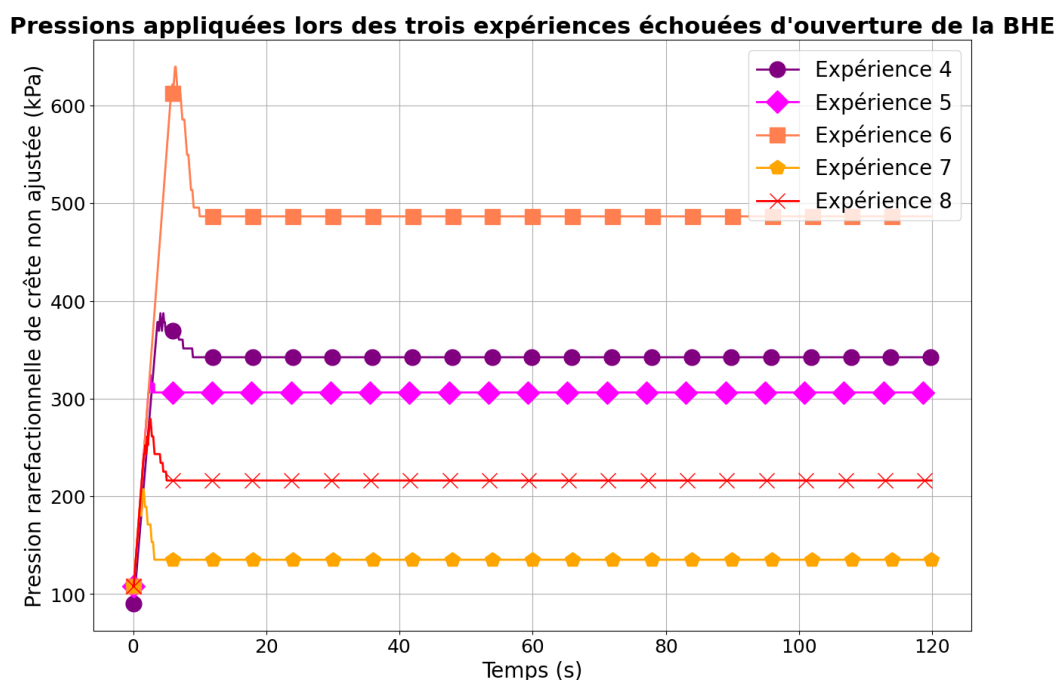


FIGURE 3.12 – Variations de pression pendant la perturbation de la BHE chez les PNH à l'aide d'un algorithme de contrôle de la cavitation. Les cinq expériences présentées n'ont pas réussi à ouvrir la BHE (confirmé par vérification par IRM). Les deux sujets PNH utilisés dans ces cinq expériences avaient des muscles temporaux épais (>20 mm).

3.4.2.2 Discrimination entre la cavitation intra-cérébrale et musculaire

L'analyse a posteriori des expériences d'ouverture de la BHE chez les PNH avec des muscles temporaux épais et fins a révélé des caractéristiques distinctes dans le bruit large bande en fonction de la réussite ou de l'échec de la procédure. La Figure 3.13 illustre que, pour les expériences menées sur des PNH avec des muscles épais, le coefficient alpha présente systématiquement une tendance similaire. Même à des niveaux élevés de la dose de cavitation inertielle, le coefficient de pente reste positif. En revanche, dans les expériences menées sur des PNH avec des muscles temporaux fins, tous les événements d'ICD présentent des coefficients alpha négatifs, et il est à noter que le coefficient alpha est inversement proportionnel à la valeur d'ICD. Le crâne agit comme un filtre passe-bas, contribuant à l'apparition d'une pente négative pour le contenu fréquentiel le traversant. Cet effet crânien n'est visible que chez les PNH ayant un muscle temporal fin.

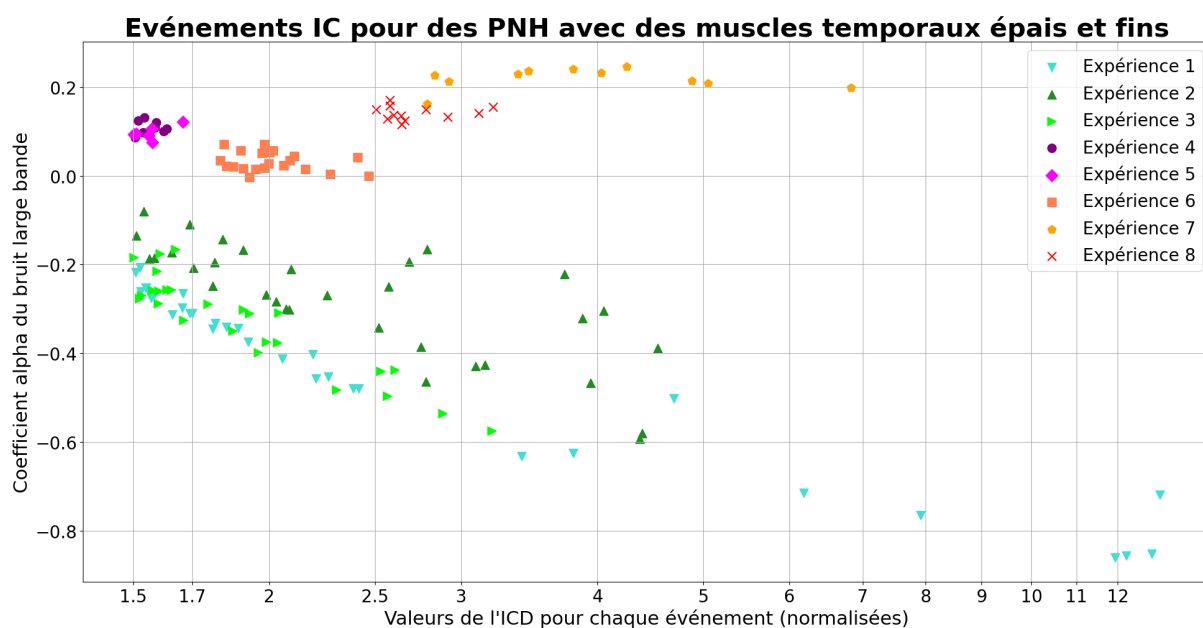


FIGURE 3.13 – Figure illustrant les différents événements pour lesquels la dose de cavitation inertielle dépasse le seuil défini dans chacune des 8 expériences. Les événements sont affichés avec les valeurs d'ICD sur l'axe des x, indiquées avec une échelle logarithmique. Sur l'axe des y, les événements sont positionnés en fonction de la valeur du coefficient de premier ordre de la régression linéaire du bruit large bande (coefficient alpha).

3.4.2.3 Résultats du contrôle de la cavitation avec rétroaction étendue au coefficient alpha

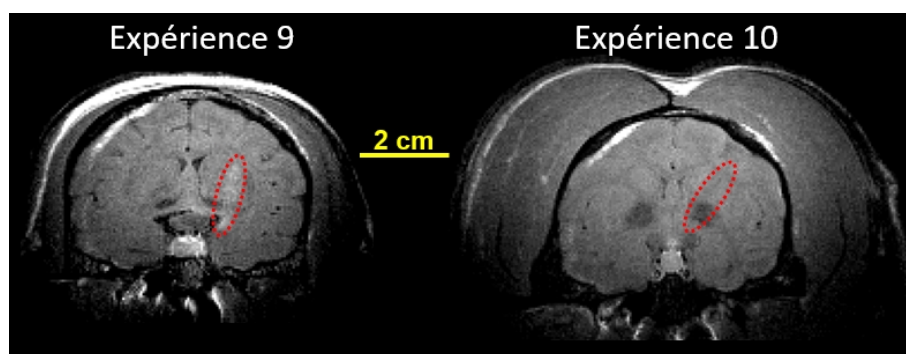


FIGURE 3.14 – Figure représentant des images par IRM obtenues après les expériences 9 et 10, intégrant le contrôle sur le coefficient alpha. Sur la Figure 9, un signal hyperintense est visible au point focal du transducteur. Dans l'expérience 10, aucune amélioration n'est observable au point focal.

L'ouverture réussie de la BHE a été obtenue chez le PNH avec des muscles fins (Expérience 9), entraînant une perméabilité de la BHE. Des événements similaires à ceux observés dans les expériences précédentes avec un contrôle basique de la cavitation ont été détectés. L'algorithme a convergé vers des valeurs de pression d'environ 600 kPa (en eau libre) en 6 secondes. En revanche, l'ouverture de la BHE chez le PNH avec des muscles épais (Expérience 10) a échoué, sans hypersignal observable sur la séquence IRM pondérée en T1 (Figure 3.14). En ce qui concerne la convergence de l'algorithme, un seul événement de cavitation inertielle a été détecté lors des 1200 tirs de traitement. Cela a conduit à une saturation de l'émission de pression à la valeur maximale autorisée par l'algorithme (1 MPa en eau libre). La figure 3.15 montre que, pour l'expérience 10, 530 événements ont été filtrés en raison d'un coefficient alpha supérieur à $-0,2 \text{ MHz}^{-1}$.

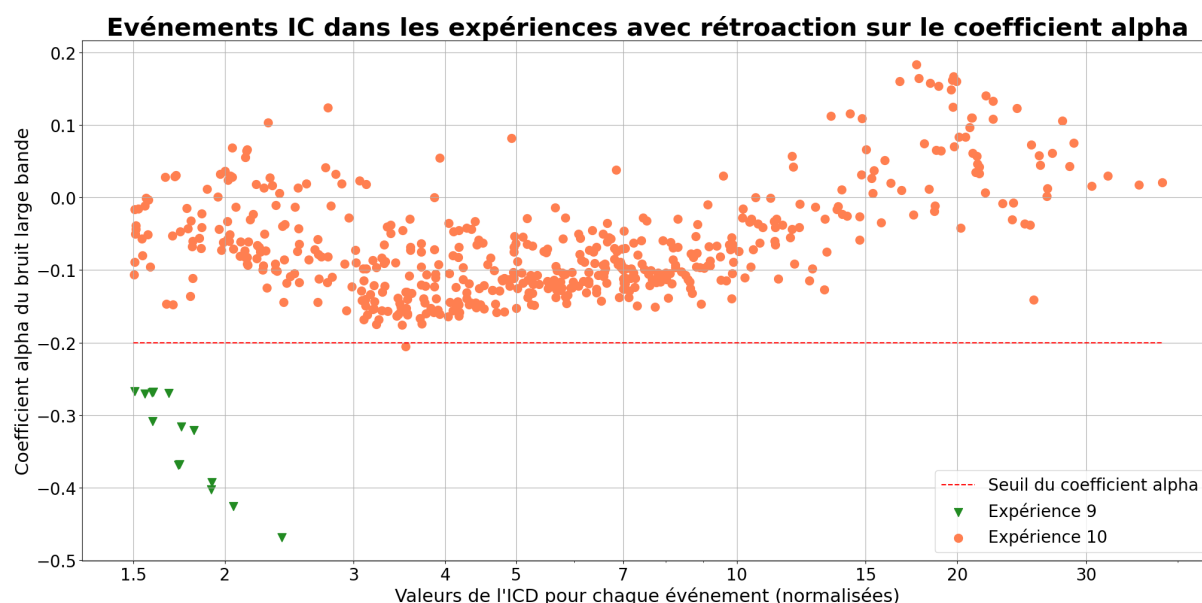


FIGURE 3.15 – Figure illustrant les différents événements pour lesquels la dose de cavitation inertielle (ICD) dépasse le seuil défini dans chacune des 2 expériences avec une rétroaction étendue sur le coefficient alpha. Les événements sont affichés avec les valeurs d'ICD sur l'axe des x, indiquées avec une échelle logarithmique. Sur l'axe des y, les événements sont positionnés en fonction de la valeur du coefficient de premier ordre de la régression linéaire du bruit large bande.

3.4.2.4 Pression maximale obtenue lors de chaque expérience

La table 3.5 facilite la comparaison entre les pressions dans les muscles et au point focal pour chaque expérience d'ouverture de la BHE. Pour calculer la pression au point focal, la littérature existante suggère un coefficient de transmission des ultrasons à travers les crânes de macaques allant de 0,35 à 0,6 (DEFFIEUX et al. 2010; KARAKATSANI et al. 2017; S.-Y. WU et al. 2018a; MARQUET et al. 2010). Les valeurs dans différentes études présentent une variabilité significative, même à l'intérieur du même crâne, avec une atténuation variant selon les différentes sections du crâne. Les valeurs de pression dans les muscles ont été dérivées des propriétés du faisceau d'ultrasons et de la configuration de chaque expérience. Par conséquent, la pression maximale est légèrement inférieure à 30% de la pression focale que le transducteur émettrait dans l'eau libre pour cette amplitude d'émission. En supposant que les MB présentes dans les muscles n'atténuent pas le faisceau d'ultrasons, la pression au point focal est supérieure d'un facteur allant de 16% à 100% par rapport aux muscles.

Expérience	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Pression maximale dans le cerveau (kPa)	236 / 405	271 / 465	211 / 362	135 / 232	113 / 194	224 / 384	72 / 124	98 / 167	235 / 402	344 / 589
Pression maximale dans les muscles (kPa)	N/A	N/A	N/A	116	97	192	62	84	N/A	295

TABEAU 3.5 – Tableau résumant la pression maximale (en kPa) atteinte dans chaque expérience dans les muscles et dans le crâne. Ces valeurs sont calculées sur la base d'un coefficient de transmission pour le crâne variant entre 0,35 et 0,6, et en supposant que la présence de MB dans les muscles n'entrave pas la propagation des ultrasons. Pour les muscles, la pression est calculée en supposant que le faisceau d'ultrasons, avant de rencontrer le crâne, atteint environ 30% de la pression au point focal (en fonction des propriétés de notre transducteur).

3.4.2.5 Comparaison avec l'indicateur proposé dans l'état de l'art

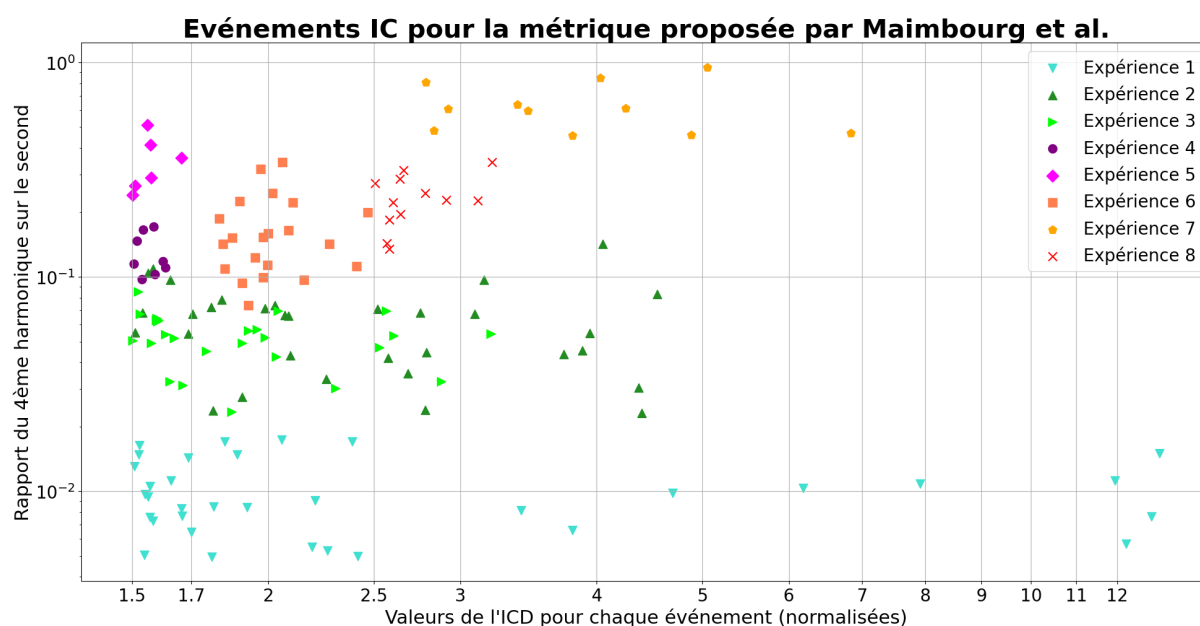


FIGURE 3.16 – Figure présentant les événements de la figure 3.13 mais en utilisant cette fois la métrique proposée par MAIMBOURG *et al.* 2018. Seul l'affichage selon l'axe des ordonnées change et vaut maintenant le ratio entre le 4^{ème} harmonique et le second. L'échelle des ordonnées est cette fois en échelle log.

La métrique proposée par MAIMBOURG *et al.* 2018 a également été testée. Sur la figure 3.16 les différents événements de cavitation inertielle sont positionnés pour l'axe des ordonnées selon le rapport entre le 4^{ème} harmonique et le second. En comparaison de la figure 3.13, les événements des expériences où la perméabilisation de la BHE a été efficace et non efficace sont plus proches et moins différenciés. La p-value correspondant à la séparation entre ces 2 types d'ouverture et de cavitation est donc plus grande : 1.5×10^{-21} contre 2.5×10^{-43} pour le coefficient alpha.

3.4.3 Discussion

Au cours de cette étude, nous avons proposé une technique de traitement du signal pour différencier les expériences menées sur des PNH ayant des muscles temporaux épais de celles sur des PNH ayant des muscles beaucoup plus fins. Nos algorithmes de contrôle de la cavitation étaient inefficaces pour les expériences avec des muscles temporaux épais, tandis qu'ils étaient efficaces pour celles avec des muscles fins, aboutissant à une ouverture réussie de la BHE. Cette technique exploite l'effet de filtrage fréquentiel passe-bas du crâne. En comparant les intensités de différentes bandes de fréquences de bruit large, il est possible de déduire si le signal rétro-diffusé par les MB excitées a traversé une partie du crâne ou non. La cavitation dans les muscles temporaux peut être distinguée de la cavitation cérébrale car son signal est atténué différemment pour chaque fréquence par le passage au travers du crâne.

Les résultats obtenus proviennent d'animaux de différents âges, entraînant probablement une certaine variation de l'épaisseur du crâne (estimée entre 2 et 3 mm à partir des scanners CT et IRM). Cette variabilité affecte significativement l'atténuation du crâne, car l'atténuation est directement proportionnelle à l'épaisseur (KARAKATSANI *et al.* 2017). Cette variance réduit principalement les pressions dans l'espace crânien et atténue les signaux rétro-diffusés par les tissus cérébraux. Le coefficient alpha sera différent selon l'épaisseur et l'atténuation du crâne. Cependant, la valeur spécifique est moins cruciale que la présence d'un coefficient non nul. Une pente négative signifie une détection réussie de la cavitation cérébrale. Ces observations sont également influencées par les propriétés du

PCD utilisé. La pente dépend de l'atténuation du crâne, qui varie avec la fréquence. Heureusement, la cavitation inertielle, étant un bruit large, couvre l'ensemble du spectre du signal. Ainsi, un capteur avec une large bande passante permet une mesure précise de la pente. Cependant, des fréquences excessivement élevées seront fortement atténuées, exigeant une sensibilité accrue.

Nous avons observé que le signal rétro-diffusé par les MB présentes dans les muscles temporaux est beaucoup plus fort que le signal provenant des MB dans le point focal. Même si les ultrasons ne sont pas focalisés dans les muscles, notre PCD n'est pas axé sur la réception et présente une sensibilité exceptionnelle à tous les signaux au-delà de sa région proche ($\frac{D^2}{4\lambda}$), qui est de 5,2 mm le long de l'axe du faisceau ultrasonore. Par conséquent, les ultrasons émis ne sont pas atténués par le crâne, et le signal rétro-diffusé par ces MB dans les muscles reste totalement inchangé. Cela a une importance dans notre contexte, car notre algorithme de contrôle de la cavitation est basé sur le rapport de la cavitation inertielle. L'augmentation significative du signal provenant des muscles, qui n'est pas atténué par le crâne, conduit à la détection de multiples événements de cavitation inertielle, empêchant ainsi la convergence basée sur l'état des MB dans la tache focale.

En utilisant le contrôle supplémentaire sur le coefficient alpha (expérience 10), la pression maximale atteinte dans le muscle dans cette configuration de tir est juste en dessous de 300 kPa. Cela suggère la probabilité de l'occurrence de la cavitation inertielle. Notamment, la cavitation inertielle a été documentée dans la littérature pour des indices mécaniques de 0,36 (TUNG *et al.* 2010b), correspondant à 260 kPa à une fréquence de 500 kHz. L'augmentation du signal provient donc probablement de la présence de cavitation inertielle dans les muscles. Cette hypothèse est étayée par l'augmentation significative de la composante de bruit large (500% de la valeur de référence) pendant l'augmentation de l'amplitude, correspondant à des pressions musculaires estimées de 255 kPa. Cela correspond étroitement au seuil décrit dans l'étude de Tung *et al.*

Cependant, dans les expériences 4 à 8, l'algorithme a convergé vers des valeurs de pression significativement plus basses, qui sont peu susceptibles de correspondre à la présence de cavitation inertielle, que ce soit dans le muscle ou dans le cerveau (voir Tableau 3.5). Les tirs d'ultrasons sur les MB dans les muscles ont néanmoins entraîné une augmentation du bruit large qui reste non atténué par le crâne. Cela a contribué à stopper la convergence de l'algorithme à des pressions trop basses pour permettre la présence de cavitation stable au point focal et donc, l'ouverture de la BHE. Le manque de sélectivité de l'algorithme concernant l'origine des signaux rétro-diffusés est le problème sous-jacent, et l'utilisation de la rétroaction basée sur le coefficient alpha résout cette préoccupation.

Ces MB dans les muscles ont significativement entravé l'ouverture de la BHE. Dans des expériences réussies (1, 2, 3 et 9), la pression nécessaire pour une ouverture sûre de la BHE variait de 450 à 600 kPa avec notre équipement, ce qui correspond à des pressions allant de 200 à 400 kPa après prise en compte de l'atténuation du crâne (voir Tableau 3.5). Dans ce cas, même avec une pression de 1,0 MPa (en eau libre), l'ouverture de la BHE ne s'est pas produite, et aucun dommage vasculaire n'a été observé par IRM. Il est très probable que les MB présentes dans les muscles temporaux du singe aient réfléchi une partie substantielle du faisceau ultrasonore émis, diminuant ainsi la pression au point focal (KELLER *et al.* 2019). Ces MB ont probablement provoqué un effet de bouclier acoustique qui aurait été non uniforme, entraînant une distorsion focale et réduisant davantage la pression maximale à l'intérieur.

Cela pose un défi complexe pour l'ouverture de la BHE chez les animaux avec ces caractéristiques. Les algorithmes de contrôle de la cavitation doivent incorporer des outils qui leur permettent de ne pas être aveuglés par le signal significatif rétro-diffusé des MB présentes dans les muscles. De plus, même pour les ouvertures de la BHE avec une pression d'émission fixe et présélectionnée, il est difficile de déterminer la pression nécessaire pour la perméabilisation de la BHE. La concentration des MB variera tout au long de l'expérience, et prédire l'effet du bouclier acoustique est actuellement

impossible. De plus, bien que des pressions efficaces puissent être trouvées après de nombreuses expériences, ces pressions ne seront valables que pour des animaux de poids et de morphologie crânienne très similaires, et avec un positionnement du transducteur proche les uns des autres. En effet, les muscles temporaux ne sont pas uniformément épais sur l'ensemble du crâne du PNH, de sorte que le faisceau ultrasonore passera à travers une épaisseur musculaire variable selon sa position.

Les métriques proposées dans l'article de [MAIMBOURG et al. 2018](#) ont été testées sur nos données. Le ratio des ultra-harmoniques n'est pas applicable dans notre cas car les composantes ultra-harmoniques ne sont pas détectées à chaque tir, entraînant des valeurs aberrantes dans de tels cas. En ce qui concerne le ratio des harmoniques, il est en effet possible de différencier la cavitation cérébrale de la cavitation musculaire, mais avec moins de marge qu'avec le coefficient alpha. Dans leur expérience, les ultrasons émis n'étaient pas alignés avec l'axe du PCD, ce qui pourrait causer des différences significatives en raison de la réflexion des ultrasons sur le crâne.

Pour explorer davantage l'ouverture de la BHE chez les PNH avec des muscles temporaux épais, il serait intéressant de reproduire les mêmes expériences mais avec des limites de pression maximale plus élevées. Dans le cas de tirs à haute pression, plusieurs scénarios peuvent se présenter pour la cavitation à l'intérieur du crâne :

- La cavitation cérébrale est détectée sur la base du coefficient alpha, indiquant l'ouverture de la BHE associée à la cavitation intracrânienne.
- Si aucune cavitation cérébrale n'est détectée même avec des pressions très élevées, deux possibilités émergent :
 - Si la BHE est perméabilisée sans signal acoustique et avec un faible coefficient alpha, alors le signal des MB présentes dans les muscles est trop important pour distinguer le signal provenant de la tache focale.
 - Si aucune ouverture de la BHE n'est observée, il est probable que les MB présentes dans les muscles temporaux agissent comme des réflecteurs acoustiques, empêchant une pression suffisante au point focal du transducteur pour les ouvertures de la BHE.

Dans le cas de tirs à pression élevée (> 1 MPa), diverses conséquences de la cavitation inertielle dans les muscles peuvent se produire. La pression dans le muscle lors de l'expérience 10 était suffisante pour induire la cavitation inertielle. Des pressions plus élevées présentent un risque de causer des dommages tissulaires dans les muscles à l'intérieur du faisceau ultrasonore. Ces dommages pourraient aller d'effets mineurs tels que des ecchymoses, qui pourraient se résoudre après le traitement, à des résultats plus importants. Ces derniers pourraient entraîner une incapacité à augmenter la pression à de telles magnitudes, pour éviter de tels effets.

Nos résultats indiquent que nous pouvons discriminer la cavitation musculaire de la cavitation cérébrale en utilisant le PCD. Ces résultats contribuent à l'amélioration de notre algorithme de contrôle de la cavitation, lui permettant de converger vers une pression où l'ouverture de la BHE se produit tout en ignorant le bruit large bande du signal provenant des muscles temporaux.

Aucun dommage visuel ou détectable par IRM n'a été observé dans les muscles temporaux du PNH. Cependant, il est possible qu'à des pressions plus élevées, la cavitation dans les muscles puisse entraîner des hémorragies ou des hématomes. Enfin, ces résultats mettent en évidence un cas très spécifique où la cavitation se produit en dehors du crâne.

Les muscles temporaux présents chez les humains ne poseront pas un problème similaire car leur épaisseur est plus faible comparée à celle des PNH (environ 10 mm) ([KATSUKI et al. 2021](#) ; [STEINDL et al. 2020](#)). De plus, il est possible de les éviter avec le faisceau ultrasonore car leur positionnement est beaucoup plus localisé (quelques centimètres carrés ([EIJDEN et al. 1996](#))) comparativement aux PNH, où ils recouvrent presque la totalité du crâne.

3.4.4 Conclusion partielle

Au travers de ce chapitre, j'ai décrit une grande partie des expériences *in vivo* auxquelles j'ai pris part durant mon doctorat. L'ensemble de ces expériences a permis de faire évoluer l'algorithme que nous utilisons. Cela a également permis d'engranger de nombreuses données de cavitation *in vivo* chez plusieurs modèles animaux.

Ces données se révèlent à posteriori très importantes, celles chez le PNH ont permis de faire la discrimination entre la cavitation cérébrale et musculaire. Ces données n'avaient pas été acquises avec cet objectif initialement mais se sont révélées cruciales pour l'étude sur le coefficient α . Cette étude permet de mieux appréhender les problèmes qui peuvent apparaître lors de tirs aux travers de muscles épais. L'utilisation d'une boucle de rétro-contrôle utilisant le coefficient α est une proposition de solution pour éviter la pollution du signal rétrodiffusé par la cavitation musculaire.

Enfin j'ai aussi présenté les expériences qui font le lien entre les expériences *in vitro* réalisées au chapitre 2 et la mise en place de l'algorithme effectuant un contrôle par FPGA au sein des tirs ultrasonores du chapitre 4. En effet dans le chapitre suivant, des tirs de formes triangulaires seront utilisés avec un contrôle ultra-rapide de la cavitation pour permettre d'adapter la pression à chaque paquet de MB excité.

Chapitre 4

Contrôle de la cavitation intra-tir

Grâce aux FPGA, il est possible d'implémenter des boucles de rétroaction extrêmement rapides ($<200\ \mu\text{s}$) qui permettent la mise en place de contrôle au sein des tirs ultrasonores en étudiant les signaux temporels par décomposition en fenêtre glissante. Ce chapitre présente les différents contrôles de la cavitation qui ont été mis en place durant cette thèse avec un contrôle intra-tir. Des expériences *in vitro* et *in vivo* ont été réalisées pour tester et évaluer ces algorithmes.

Les fonctions de base du FPGA ont été programmées par Corentin Cornu. Les fonctions supplémentaires du FPGA ont été imaginées, implémentées et testées par moi-même. L'intégralité des expériences *in vitro* a été réalisée et analysée par moi-même.

Pour les expériences chez le rongeur, Erwan Selingue m'a à nouveau aidé pour la gestion des animaux, leur rasage, leur installation dans l'IRM, les injections et le lancement des séquences IRM. La préparation du transducteur, du ballon d'eau et la création et le lancement des séquences ultrasonores ont été réalisées par moi-même. J'ai également analysé les signaux acoustiques et les images IRM.

Sommaire

4.1	L'algorithme de contrôle de la cavitation	95
4.1.1	FPGA utilisé et fonctionnement de l'algorithme	95
4.1.2	Fonctions de base du FPGA	95
4.1.2.1	Doubles mémoires	96
4.1.2.2	Fenêtrage	96
4.1.2.3	Transformée de Fourier et calcul des différentes composantes fréquentielles	97
4.1.2.4	Commande de sortie	98
4.1.3	Fonctions ajoutées	98
4.1.3.1	Rampe de tension	98
4.1.3.2	Détection d'événements	100
4.1.3.3	Compensation du délai d'analyse	101
4.1.3.4	Coupure des tirs en cas de détection tardive d'événements	102
4.2	Expériences <i>in vitro</i>	103
4.2.1	Méthode	103
4.2.2	Résultats	105
4.2.3	Discussion	107
4.3	Validation <i>in vivo</i>	109
4.3.1	Méthode	109
4.3.2	Résultats	110
4.3.3	Discussion	111
4.3.3.1	Efficacité de l'algorithme	111

4.3.3.2	Détérioration de l'état des microbulles	112
4.3.3.3	Importance de la qualité du couplage et du PCD	114
4.3.3.4	Tirs sous forme de rampe, excitation différente des microbulles	115
4.4	Conclusion	115

4.1 L'algorithme de contrôle de la cavitation

4.1.1 FPGA utilisé et fonctionnement de l'algorithme

Durant cette thèse, j'ai programmé et piloté via LabVIEW une carte FPGA PXIe-7971R de National Instrument®. Cette carte est dotée d'un module NI-5783, qui permet d'avoir 4 entrées et 4 sorties analogiques. Pour notre application, seule une entrée et une sortie ont été utilisées.

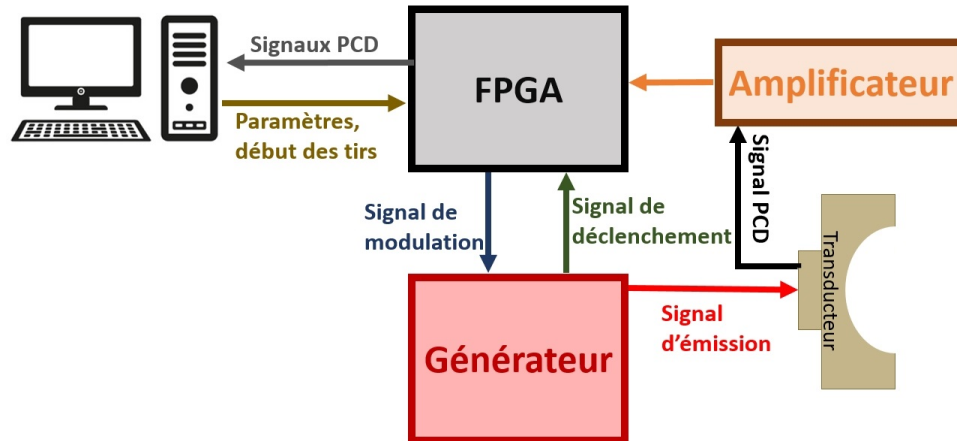


FIGURE 4.1 – Figure représentant les différents échanges d'informations et de puissance entre les éléments du dispositif. Les signaux du PCD sont enregistrés à chaque tir par le FPGA qui ne transmet que l'ensemble des signaux PCD une fois les tirs terminés.

Les connexions étaient les suivantes : l'ordinateur était relié par un port PCI (de l'anglais *Peripheral Component Interconnect*) au FPGA, il communiquait également avec le générateur et amplificateur radio-fréquence au travers d'une connexion USB (cf figure 4.1). A l'émission, le générateur émettait des tirs ultrasonores de pression fixe, de fréquence 1,5 MHz et de durée 15 ms. Ces tirs étaient modulés par le générateur (Image Guided Therapy®, Pessac, France) avec une enveloppe triangulaire. Le générateur possède une carte proposant une entrée externe qui module le signal généré. Sur cette entrée était branchée la sortie analogique du FPGA, après passage par un amplificateur pour obtenir une tension entre 0 et 5 Volts. Le FPGA, synchronisé au générateur, avait donc la possibilité de moduler instantanément la pression émise par le transducteur. Par ailleurs, le signal provenant du PCD était recueilli par le FPGA à une fréquence d'échantillonnage de 100 MHz et une bande passante de 40 MHz. Le signal du PCD était préalablement amplifié (20 dB, Tabor electronics®, Nesher, Israel).

Le principe de base de mon algorithme réside dans l'idée d'atteindre une pression personnalisée pour chacun des tirs ultrasonores de 15 ms. En général, les algorithmes conventionnels de contrôle de la cavitation visent à converger vers une pression supposée sans danger et permettant d'ouvrir la BHE le plus efficacement possible. Toutefois, de nombreux paramètres seront variables entre chaque tir comme le caractère stochastique de la cavitation ainsi que la variabilité inhérente en concentration, position et état des MB présentes au niveau de la tache focale. La pression doit donc être adaptée pour chaque tir. Pour répondre à cette problématique, une possibilité d'algorithme consiste en une augmentation progressive de la pression ultrasonore dans le tir. Le FPGA permet d'analyser avec une excellente discrimination temporelle les indices de cavitation et de stopper immédiatement l'augmentation de la pression après détection d'événements de cavitation non stable.

4.1.2 Fonctions de base du FPGA

Le fonctionnement du FPGA suit des tics d'horloge. Ces tics permettent de synchroniser l'ensemble des calculs faits par les différents blocs logiques du FPGA. En effet les différents blocs per-

mettent de faire des opérations plus ou moins complexes (additions, soustractions, FFT, moyenne, liste, ...) dont les durées associées sont plus ou moins longues (en tics d'horloge). Il est donc nécessaire de prendre en compte les temps de calculs de chacun des blocs utilisés. Le fonctionnement du FPGA est un fonctionnement cyclique avec l'entièreté des blocs logiques utilisés qui effectuent en permanence le calcul qui leur est assigné avec les données qu'ils reçoivent. Il faut donc faire les opérations avec les données adéquates en entrées pour ne pas dérégler l'entièreté du processus.

Le script LabVIEW que j'ai utilisé a été dérivé d'une version initialement construite par Corentin Cornu, post-doctorant au sein du laboratoire. Dans son script, l'algorithme avait pour fonction d'émettre des tirs à des pressions définies au préalable avec la possibilité durant chacun de ces tirs de couper l'amplitude en cas de détection d'événements de cavitation indésirables intra-tirs (NOVELL et al. 2020). L'indice intra-tir était calculé à chaque fenêtre. Les parties d'enregistrement du signal, de lecture de mémoire, des FFT et de modulation de l'amplitude avaient donc déjà été implémentées. Sur la base de ce script, j'ai légèrement modifié certaines de ces fonctions et ajouté mon algorithme entre la FFT et la modulation d'amplitude, qui a modelé l'enveloppe des signaux selon mes souhaits et mis en place un rétro-contrôle sur des indices spécifiques.

4.1.2.1 Doubles mémoires

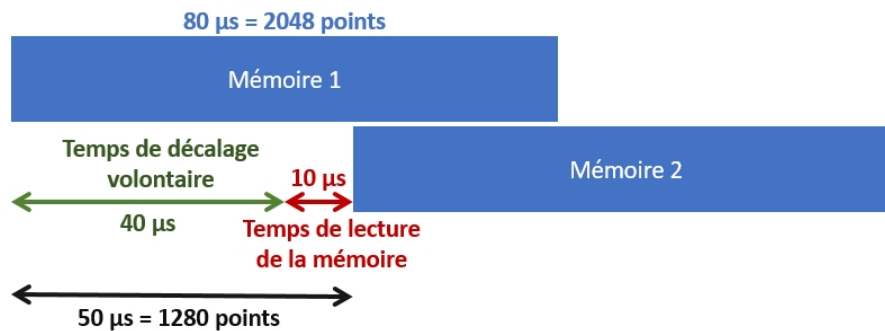


FIGURE 4.2 – Figure représentant les deux mémoires du FPGA et les délais entre leur début d'enregistrement. Le décalage de $40\ \mu\text{s}$ est volontaire, suivi d'un décalage de $10\ \mu\text{s}$ qui est un délai imposé par le temps de lecture de la mémoire avant de pouvoir transférer l'entièreté des données dans les différents traitements du FPGA.

La lecture des données fonctionne sur un système de double mémoire de 2048 valeurs. Ces mémoires vont stocker en parallèle ce qui est lu en sortie du convertisseur analogique-numérique (CAN) avec un décalage de 1280 valeurs. Les données sont enregistrées en parallèle pendant les 2048 tics et lorsque l'une des mémoires est remplie, les données en sont transférées depuis la mémoire vers la suite du traitement. Cette lecture empêche le stockage de nouvelles données et dure environ $10\ \mu\text{s}$, c'est pourquoi il est nécessaire d'avoir 2 mémoires pour n'avoir aucune perte dans les données enregistrées (cf figure 4.2). De plus, cette redondance est particulièrement utile pour éviter d'atténuer trop fortement certaines parties du signal lors du fenêtrage.

4.1.2.2 Fenêtrage

Une fois les données enregistrées, chaque fenêtre temporelle de 2048 points est multipliée par une fonction de fenêtre de pondération. Cette fonction agit comme un masque mathématique qui réduit progressivement l'amplitude des échantillons situés aux bords du jeu de données (apodisation), tandis que ceux au centre gardent leur amplitude d'origine. Cela permet de minimiser les effets de bord et de mieux représenter le contenu fréquentiel réel du signal, ce qui améliore la précision des

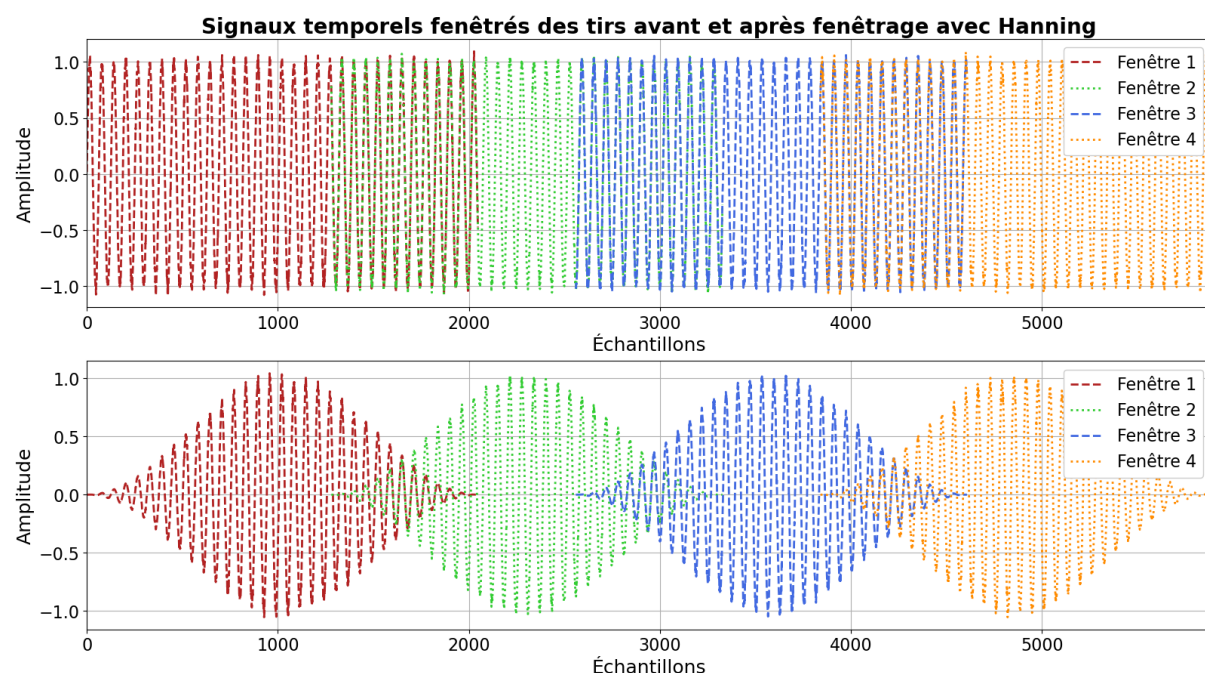


FIGURE 4.3 – Haut : signal découpé par fenêtre de 2048 points avec un décalage de 1280 points entre les fenêtres. Bas : représentation des signaux temporels après multiplication par les fenêtres de Hanning.

analyses ultérieures. Des fenêtres de type Hanning sont utilisées dans ce projet (visible sur la figure 4.3).

Des fenêtres Hannings ont été utilisées et non des fenêtres flat-top, en effet les fenêtres Hannings existent nativement dans Labview et après plusieurs essais, la différence entre ces 2 fenêtres au niveau des indices produits n'est pas du tout significative.

4.1.2.3 Transformée de Fourier et calcul des différentes composantes fréquentielles

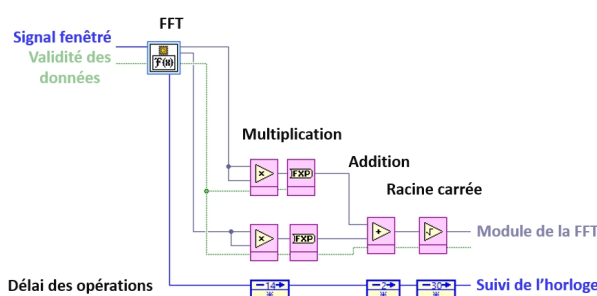


FIGURE 4.4 – BLoc LabVIEW pour effectuer la FFT des différentes fenêtres ainsi que le calcul de la racine carrée de la somme des carrés des parties réelles et imaginaires de la FFT. Les blocs situés au-dessous correspondent au retard à prendre en compte associé aux différentes opérations.

Une fois ce découpage effectué, chacun des tirs ultrasonores de 10 ou 15 ms est décomposé en un nombre de fenêtres différent (250 ou 360) dont chacune est composée de 2048 valeurs (soit 80 μ s). La FFT est alors appliquée sur chacune de ces fenêtres. Le module est ensuite calculé en prenant la racine carrée de la somme des carrés des parties imaginaire et réelle. Avec les transformées de Fourier commence à apparaître les problématiques de temps de calcul. En effet, les opérations comme les transformées de Fourier, les multiplications, additions ou racines carrées vont entraîner des décalages entre l'arrivée des valeurs d'entrées et l'obtention d'un résultat correct. Ici la multiplication

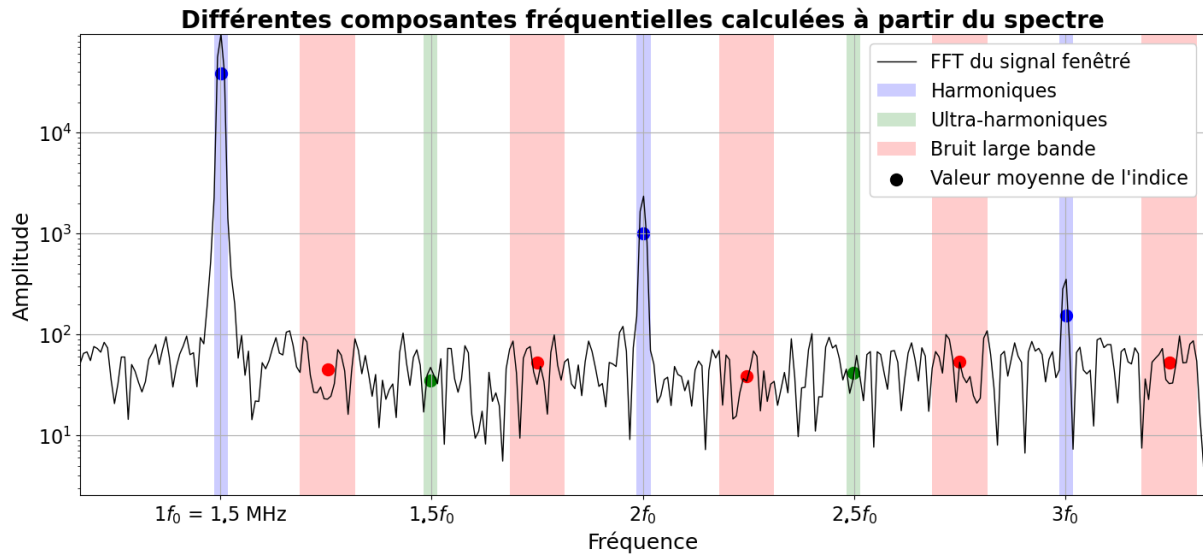


FIGURE 4.5 – Figure représentant les différentes composantes fréquentielles calculées par le FPGA à partir d'une moyenne glissante sur la FFT des fenêtres du signal. La moyenne glissante est calculée sur une plage de 48 kHz pour les harmoniques et ultra-harmoniques et 183 kHz pour le bruit large bande.

pour le carré entraîne par exemple un retard de 14 tics, l'addition un retard de 2 tics et la racine carrée 30 tics (visible sur la figure 4.4). Il est important de prendre en compte ces retards afin d'obtenir des résultats corrects. Cela permet aussi d'expliquer le temps entre l'acquisition des signaux et les modulations de pression générées par le FPGA. En effet, l'acquisition, le traitement du signal et le temps de propagation vont créer plusieurs fenêtres entre la mesure d'un événement et l'observation de la réaction du FPGA. Ce temps de réaction sera plus longuement détaillé dans la partie discussion.

Une fois le spectre obtenu, les indices correspondant aux différentes composantes fréquentielles sont alors calculables. Pour calculer les indices harmoniques et ultra-harmoniques, le spectre est moyenné sur des plages de fréquentielles de largeur 48 kHz centrées sur chacune des composantes. Le fondamental, les 3 premiers harmoniques et les 2 premiers ultra-harmoniques seront calculés selon cette méthode (cf figure 4.5).

Pour le bruit large bande, les moyennes seront effectuées sur 5 plages fréquentielles de largeur 183 kHz. Ces bandes fréquentielles seront choisies en dehors des bandes de fréquences des harmoniques et ultra-harmoniques. Elles sont centrées sur les fréquences 1,725, 2,475, 3,225, 3,975 et 4,725 MHz (cf figure 4.5).

4.1.2.4 Commande de sortie

Enfin, le FPGA possède une sortie analogique dont la tension évolue entre -0,5 et 0,5 Volt. Cette sortie est connectée à un amplificateur opérationnel permettant de transformer la plage de tension -0,5/0,5V en 0/5V. Cette plage de tension permet de moduler l'enveloppe des signaux émis par le générateur, permettant alors de faire varier la pression toutes les 50 µs pendant les tirs ultrasonores. L'amplitude de modulation n'est modifiée qu'après que chaque fenêtre ultrasonore soit traitée.

4.1.3 Fonctions ajoutées

4.1.3.1 Rampe de tension

Une des fonctions qui avait déjà été implémentée mais qui a nécessité quelques refontes est la rampe de pressions. Une rampe avait déjà été construite pour des tirs trapézoïdaux afin d'augmenter progressivement la pression au début de chaque tir. Cette fonctionnalité permettait d'éviter les

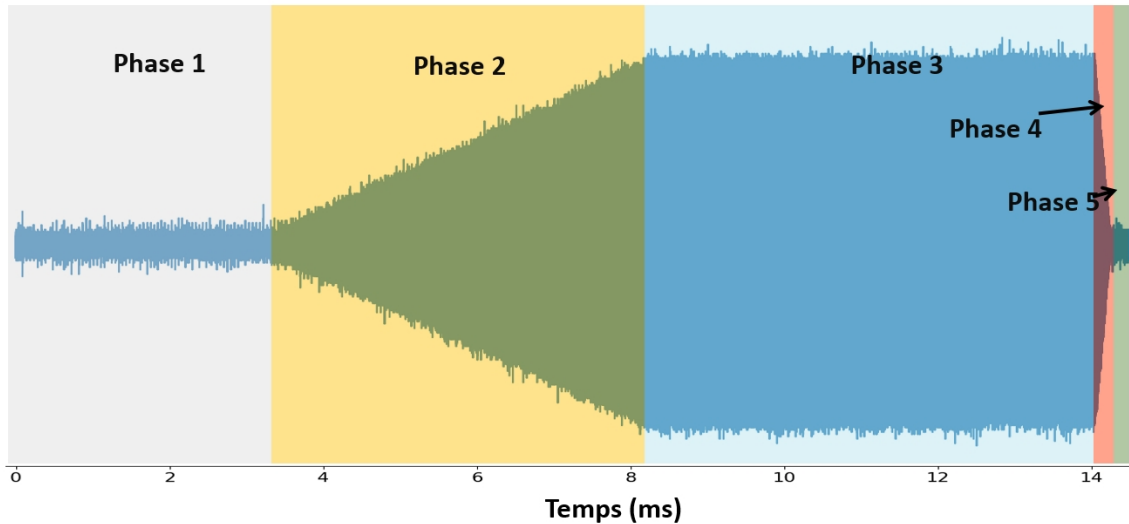


FIGURE 4.6 – Figure présentant les 5 phases du signal émis par le générateur et dont l'enveloppe de modulation est contrôlée par le FPGA. La phase 1 correspond à une enveloppe nulle, la phase 2 correspond à l'augmentation linéaire de l'amplitude acoustique. La phase 3 correspond au maintien de la pression une fois des événements de cavitation non stable détectés. Enfin dans la phase 4, la pression décroît rapidement avant la phase 5 où l'enveloppe est à nouveau nulle.

dépassements de la consigne qui peuvent apparaître avec notre électronique pour des signaux de type échelon. Cette rampe a nécessité une refonte totale pour permettre des fonctions plus avancées : contrôle simple de la pente (en $V_{\mu s}^{-1}$), possibilité d'arrêt de la rampe à chaque fenêtre et l'ajout d'une deuxième rampe à la fin de chaque tir. La rampe de fin de tirs permet d'éviter des discontinuités trop importantes dans le signal de modulation qui peuvent créer des distorsions dans les signaux générés par le générateur.

En effet, le concept de mon algorithme repose sur une augmentation linéaire (rampe) de la pression acoustique jusqu'à la détection d'événements ultra-harmoniques ou de cavitation inertielle. La rampe est alors stoppée dès qu'un tel événement est détecté. Le choix de la pente est un critère important à considérer. Une variation trop rapide de la pression peut rapidement entraîner des effets indésirables et une inefficacité de l'algorithme alors qu'une variation trop lente conduira à une perméabilisation sous-optimale de la BHE. Il a aussi été nécessaire de prendre en compte le retard entre les résultats mesurés et la prise en compte de la commande de pression (ce point sera développé dans des sections suivantes).

Pour effectuer cette rampe avec ces fonctionnalités, l'enchaînement de blocs suivants (cf figure 4.7) a été implémenté. Quatre sélecteurs ont été mis en série, chacun permettant de mettre en place l'état associé à la phase du tir en cours (cf figure 4.6). Les sélecteurs permettent à partir d'un signal logique de déterminer laquelle de leurs 2 entrées sera reliée à la sortie. L'enchaînement des sélecteurs crée une boucle qui par défaut va maintenir en sortie la même amplitude qu'à la fenêtre précédente. Pour la phase 1, le sélecteur 4 permet d'initialiser la valeur de sortie à 0. Pour la phase 2, le sélecteur 1 va être activé, il incrémentera la valeur de l'amplitude d'un pas fixé à partir du coefficient de pente voulu. Lors de la détection d'événements de cavitation non stable, le sélecteur 1 basculera dans son état par défaut et l'amplitude sera à nouveau maintenue constante. Une combinaison de 2 sélecteurs permettra ensuite de gérer la phase 4 et la phase 5. Le sélecteur 2 va se lancer une fois la fin du tir enclenchée, il fera un basculement entre la phase 4 et 5. Il décrémentera l'amplitude d'un pas fixe (de valeur 20 fois plus importante que celle de début de tir) jusqu'à atteindre 0 puis maintiendra l'amplitude à 0 une fois cette valeur atteinte. Le sélecteur 3 aura pour fonction d'appliquer l'effet du sélecteur 2 ou de simplement transmettre la valeur de d'amplitude précédente.

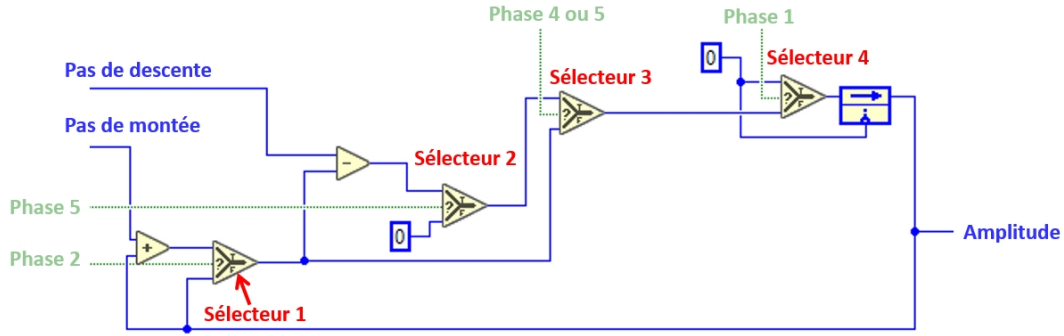


FIGURE 4.7 – Figure présentant le schéma bloc en LabVIEW permettant de construire l'enveloppe pour les différentes phases du signal émis. Les liens en bleu correspondent à des valeurs entières, ceux en vert correspondent à des signaux logiques qui sont souvent des combinaisons de conditions entre des délais et des temps de référence permettant de déterminer dans quelle phase la fenêtre actuelle est.

4.1.3.2 Détection d'événements

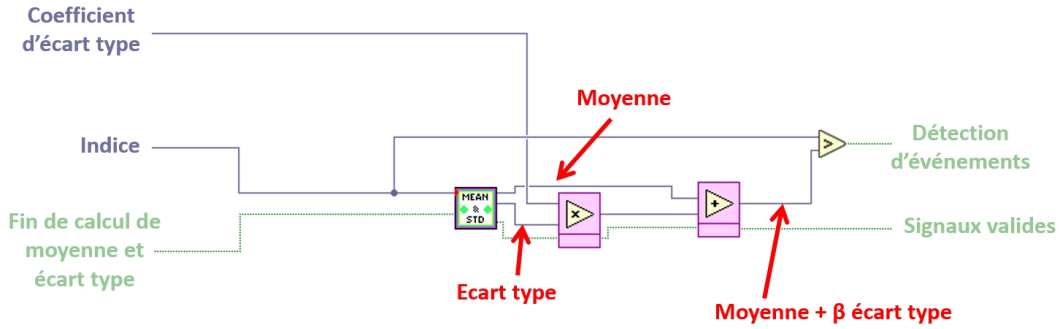


FIGURE 4.8 – Figure présentant le schéma bloc en LabVIEW permettant de détecter les événements de cavitation non stable. L'indice analysé est connecté à un calculateur de moyenne et d'écart type. Le calculateur est construit pour uniquement renvoyer une valeur lorsque suffisamment de données sont en mémoire. Une fois que le signal de fin de calcul est envoyé, les valeurs de moyenne et d'écart type sont maintenues constantes jusqu'à la fin du tir. Ensuite des blocs de multiplication et d'addition permettent de calculer le seuil pour chaque indice. L'indice est ensuite comparé avec le seuil pour déterminer la présence de cavitation non stable.

Les différents indices sont analysés pendant le tir, fenêtre après fenêtre, pour tenter de détecter de la cavitation non stable. Les indices surveillés sont 2 ultra-harmoniques ($1,5f_0$ et $2,5f_0$) et le bruit large bande. Ces indices ont été choisis parce qu'ils sont ceux présentant le meilleur RSB dans les expériences *in vitro* et *in vivo*. Pour détecter les événements, un seuil personnalisé sera associé à chacun des indices. Ce seuil sera construit à partir des 3 premières millisecondes du signal pour lesquelles il n'y a pas d'émission d'ultrasons, à partir du signal provenant de ces fenêtres de référence, la moyenne et l'écart type sont calculés pour chacun des indicateurs. Les seuils sont ensuite calculés :

$$seuil_{UH} = moyenne(UH_{phase1}) + \beta \times std(UH_{phase1}) \quad (4.1)$$

$$seuil_{BB} = moyenne(BB_{phase1}) + \beta \times std(BB_{phase1}) \quad (4.2)$$

Pour cela j'ai construit un bloc permettant de sauvegarder un certain nombre de valeurs d'indice dans une liste de taille définie et d'en calculer la moyenne et l'écart type. Dans le détail, ce bloc calcule ces valeurs uniquement pour les 40 premières fenêtres de chaque tir et renvoie ces valeurs pour la suite du tir. Pour garder le résultat fixe après les 40 premières fenêtres, un signal logique est fourni

au bloc lui précisant si de nouvelles valeurs doivent être ajoutées à cette liste. Une fois la liste remplie, l'écart type, la moyenne et le seuil sont calculés pour chacun des indices (cf figure 4.8). La comparaison de l'indice à son seuil permet d'obtenir le signal logique du sélecteur 2, qui va donc stopper l'incrément des amplitudes pour maintenir sa valeur constante.

4.1.3.3 Compensation du délai d'analyse

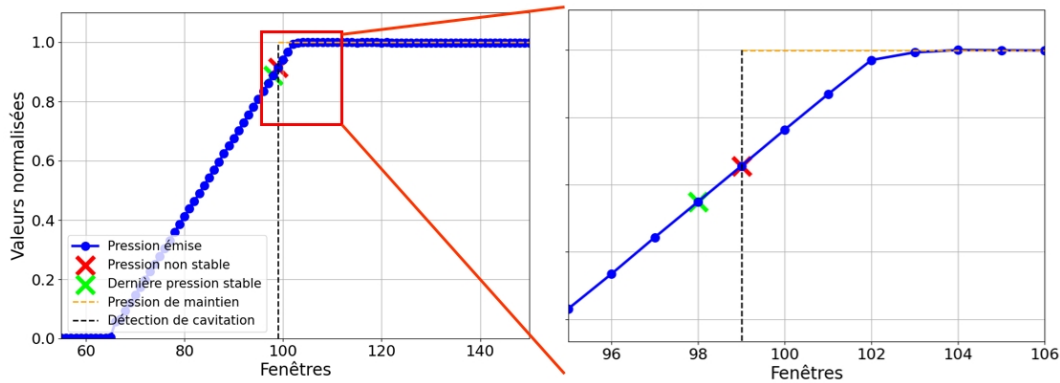


FIGURE 4.9 – Exemple de tir avec contrôle de cavitation. Lors de la fenêtre 99, un événement de cavitation non stable est détecté car un des indices contrôlés a dépassé son seuil préalablement fixé. La pression est alors stabilisée dans les fenêtres suivantes. En l'absence de contrôle, la pression continuerait d'augmenter jusqu'à la fenêtre 160. Sur l'agrandissement de la partie où la cavitation devient instable (figure de droite), le délai de 3 fenêtres ($150 \mu s$) entre la détection de l'événement et le maintien de la pression est observable.

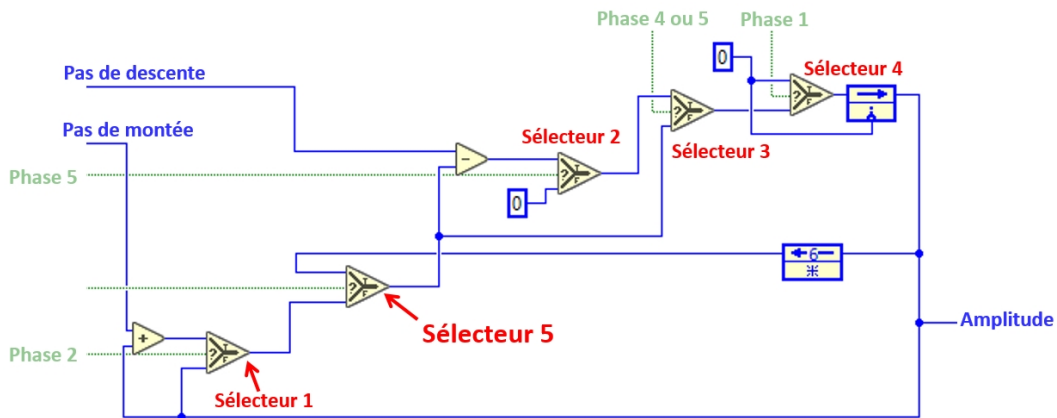


FIGURE 4.10 – Figure présentant le schéma bloc en LabVIEW permettant de construire l'enveloppe pour les différentes phases du signal émis. La différence avec le schéma 4.7 est l'ajout d'un cinquième sélecteur permettant de prendre en compte le délai d'application et traitement des signaux.

Une fois ces fonctions mises en place, plusieurs tests *in vitro* ont eu lieu avec le même dispositif expérimental que dans le chapitre 2. A partir de ces tests, un léger décalage de fenêtre entre celle où la détection d'un événement a lieu et celle où la pression devient constante a été observé. Ce décalage était prévisible car il est impossible d'être parfaitement réactif : les données sont analysées une fois une fenêtre terminée, l'analyse a donc lieu pendant que d'autres tirs ultrasonores ont lieu, un retard minimum d'une fenêtre existe. L'ensemble des opérations prend un certain temps. Expérimentalement un retard de 3 fenêtres a été observé (cf figure 4.9). Cela correspond à un retard de $150 \mu s$ (car les fenêtres se succèdent toutes les $50 \mu s$).

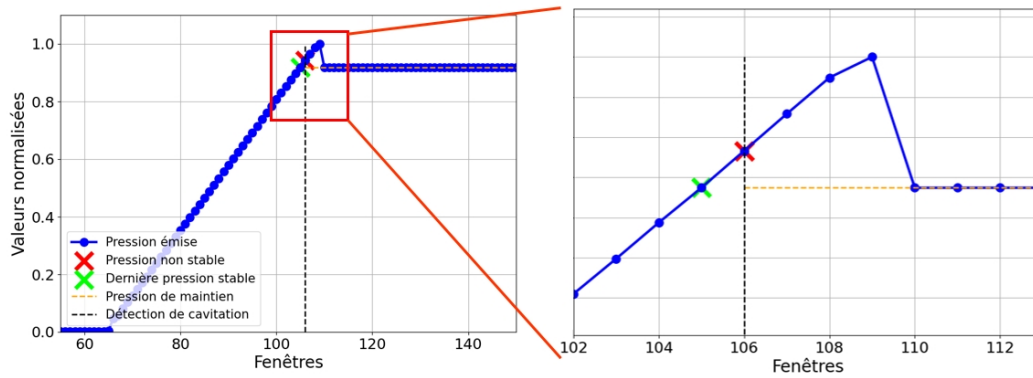


FIGURE 4.11 – Résultat de la correction effectuée permettant de compenser le délai de réaction du FPGA. Après avoir détecté de la cavitation non stable, la pression la plus élevée pour laquelle il n'y avait ni cavitation inertielle ni composante ultra-harmonique est appliquée.

Ce retard doit être compensé, en effet les pressions de maintien sont plus élevées de 3 pas de pression que celle pour laquelle de la cavitation non stable a été détectée. Il est donc pertinent de revenir à une valeur de pression pour laquelle de la cavitation non stable avait été détectée.

Cet algorithme se rapproche de l'algorithme utilisé par l'équipe de l'université de Columbia (KONOFAGOU et al. 2012). Leur algorithme fonctionne sur le même concept mais avec une régulation inter-tirs plutôt que intra-tir. Ils utilisent généralement une pression maintenue valant 50% de la pression pour laquelle la cavitation non stable avait été détectée. Réduire autant la pression leur apporte une sécurité permettant de compenser leur incapacité à réagir rapidement au sein des tirs ultrasonores. Cette forte restriction s'applique au détriment de l'efficacité du traitement. Le FPGA nous autorisant un contrôle intra-tir ainsi qu'une meilleure adaptation de la pression pour chaque paquet de MB excité permet d'envisager de maintenir la pression à des valeurs bien supérieures, soit proche de 95% de celle provoquant de la cavitation non stable.

Pour ce faire, un cinquième sélecteur est rajouté au schéma bloc de la rampe de pression. Ce cinquième sélecteur est placé entre le premier et le second. Il permet lors de la détection de cavitation non stable de revenir à l'amplitude émise 5 fenêtres auparavant (cf figure 4.10). Avec cette fonctionnalité le temps passé à des pressions potentiellement dangereuses ($4 \times 50 \mu s = 250 \mu s$) est minimisé tout en maximisant, et adaptant la pression de chaque tir.

La figure 4.11 présente l'effet de la correction. Lors de la phase à pression constante, celle-ci est immédiatement adaptée à la dernière pression pour laquelle seulement de la cavitation stable avait été détectée.

4.1.3.4 Coupure des tirs en cas de détection tardive d'événements

Lors des premières expériences *in vivo* avec cet algorithme, malgré une convergence de la pression vers une amplitude donnée, la cavitation non stable ne disparaissait pas toujours après le retour à une pression plus faible ou dans de rares cas pouvait aussi réapparaître plus tard pendant le tir. Il était donc nécessaire de pouvoir intervenir dans les tirs ultrasonores après le maintien de la pression lors de l'apparition de cavitation non stable.

Pour ce faire j'ai réutilisé la limite mise en place pour la détection de cavitation. J'ai alors créé une condition : si des événements de cavitation non stable apparaissaient après le maintien de la pression pendant 3 fenêtres consécutives, le tir ultrasonore était alors arrêté prématurément.

Il a été nécessaire de prendre en compte le temps de réponse du FPGA. En effet, n'étant pas instantané, le FPGA va être retardé de plusieurs fenêtres avant d'effectuer la réduction de l'amplitude à une valeur où aucune cavitation non stable n'est détectée. De ce fait il faut considérer la cinétique d'oscillation des MB et temporiser quelques fenêtres pour laisser la cavitation non stable se stabiliser. Le choix a été défini sur 5 fenêtres ($250 \mu s$), entre la réduction de la pression et le début de la comp-

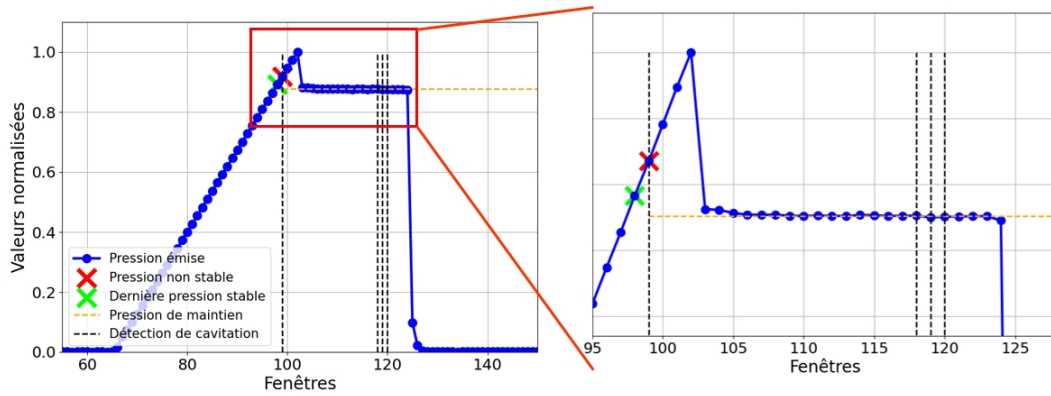


FIGURE 4.12 – Exemple de tir ultrasonore pour lequel des événements consécutifs ont eu lieu après le maintien de la pression. Cela a déclenché une coupure des ultrasons et un arrêt prématuré du tir ultrasonore pour éviter de potentiels dommages tissulaires.

tabilisation des événements consécutifs de la cavitation non stable pour interrompre le tir. Toutefois, dans une majorité de mes expériences, la cavitation non stable se résorbait d'elle-même une fois la pression stabilisée en prenant plusieurs centaines de microsecondes.

La figure 4.12 présente un exemple de tir où du bruit large bande a dépassé la valeur seuil pendant plusieurs fenêtres consécutives après le maintien de la pression. L'amplitude ultrasonore a alors été réduite à zéro par le FPGA pour réduire au maximum les risques de dommages vasculaires.

4.2 Expériences *in vitro*

Dans cette partie sont présentées plusieurs expériences *in vitro* qui ont permis de mettre au point et valider le contrôle présenté précédemment avant de réaliser des expériences *in vivo*.

4.2.1 Méthode

Le même dispositif expérimental que celui utilisé dans le chapitre 2 a été utilisé pour mener des expériences *in vitro*. Ces expériences reproduisent le protocole des expériences *in vivo* inter-tirs et possèdent donc les mêmes étapes (partie 3.2).

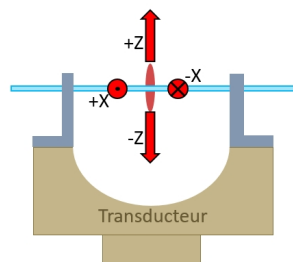


FIGURE 4.13 – Représentation des différents axes dans lesquels il est possible de déplacer très légèrement ($< 1\text{ mm}$) le capillaire en tirant profit de sa raideur. Le déplacement selon Z est moins impactant que selon X du fait de la forme de la tache focale qui est beaucoup plus étirée selon Z que X.

La première étape du protocole est une prévisualisation du signal acoustique obtenu afin de vérifier le couplage ultrasonore. Avec ce tir, il est possible de vérifier les composantes des ultrasons rétro-diffusés lors d'un tir sans MB à l'amplitude maximale envisagée pendant l'expérience. Cela permet aussi de vérifier si la dynamique du signal enregistré est correcte, c'est-à-dire vérifier l'absence de saturation et la présence d'un RSB suffisant. Dans ces expériences *in vitro*, cette étape permet de

s'assurer de l'absence de bulles d'air à l'intérieur du transducteur et aussi à régler avec précision la position du capillaire, dans lequel les MB sont en flux constant à une vitesse de 18 mm.s^{-1} . En effet, le capillaire est positionné au centre de la tache focale grâce à la pièce en impression 3D, il est toutefois possible de le déplacer très légèrement en profitant de sa raideur. L'étape de prévisualisation permet d'exercer des pressions dans les 4 directions sur le capillaire (+X, -X, +Z, -Z, comme décrit dans la figure 4.13) et de choisir la configuration où le signal rétro-diffusé possède l'amplitude maximale.

Une fois l'étape de visualisation du signal effectuée et le capillaire idéalement positionné, des signaux de référence sont émis. Les signaux de référence ne servent pas à normaliser les signaux comme cela peut être fait dans l'algorithme de contrôle inter-tirs. Dans cet algorithme, ces signaux permettent de vérifier une seconde fois la qualité du couplage, peu utile en l'occurrence pour les expériences *in vitro*, et de déterminer les seuils des limites sur les indices que l'on souhaite surveiller. En effet, dans les équations 4.1 et 4.2, les seuls paramètres variables sont β_{UH} et β_{BB} . Les signaux de référence ont été utilisés pour les calculer. Ces signaux de référence sont composés de 100 tirs de 11 ms émis en 10 s. Ces tirs ont une enveloppe correspondant à celle présentée dans la figure 4.6. Tous ces tirs sont les mêmes et l'amplitude atteinte à la fin de la rampe est à chaque fois l'amplitude maximale pour l'expérience. Ces 100 tirs sont chacun décomposés en 270 fenêtres ultrasonores censées contenir aucun événement de cavitation non stable. β_{UH} et β_{BB} sont alors calculés à partir de ces données.

Pour cela, les valeurs de ces indices sont converties en indices relatifs par rapport à l'écart type de leur tir. La moyenne et l'écart type de chaque tir sont alors calculés pendant les 40 premières fenêtres. Chaque tir est ensuite normalisé en lui retirant sa moyenne et en le divisant par son écart type. Des valeurs presque normalisées et centrées sont alors obtenues. Pour obtenir des valeurs de β_{UH} et β_{BB} , les indices obtenus à partir des signaux de référence sont d'abord normalisés par les 40 premières fenêtres de ces tirs. Une fois ceci fait, l'ensemble des indices est trié et les valeurs des 2 indices sont choisies en sélectionnant la dixième valeur dans l'ordre décroissant. Cela revient à considérer que lors des 100 tirs de référence, 20 fenêtres auraient été considérées comme des événements parmi les 27k (10 par l'indice des ultra-harmoniques et 10 pour le bruit large bande). Ce choix du nombre de faux positifs sera discuté dans la partie 4.2.3. Cela représente un faible nombre de faux positifs, un schéma de ce processus est présenté sur la figure 4.14. Ce processus a été utilisé durant ma thèse, toutefois une version plus robuste et reproductible est proposée dans la discussion de cette partie 4.2.3.

Une fois ces paramètres choisis, les tirs en présence des MB dans le capillaire sont émis. Les tirs de traitement durent 2 minutes, ce qui, à raison d'une PRF de 10 Hz, donne environ 1200 tirs (les variations sur le nombre de tirs sont faibles et proviennent d'imperfections dans le maintien de la PRF). Pour chacun de ces tirs, l'algorithme présenté dans la partie 4.1 est effectif. Les 2 valeurs β_{UH} et β_{BB} sont celles qui ont été déterminées après l'acquisition des signaux de référence.

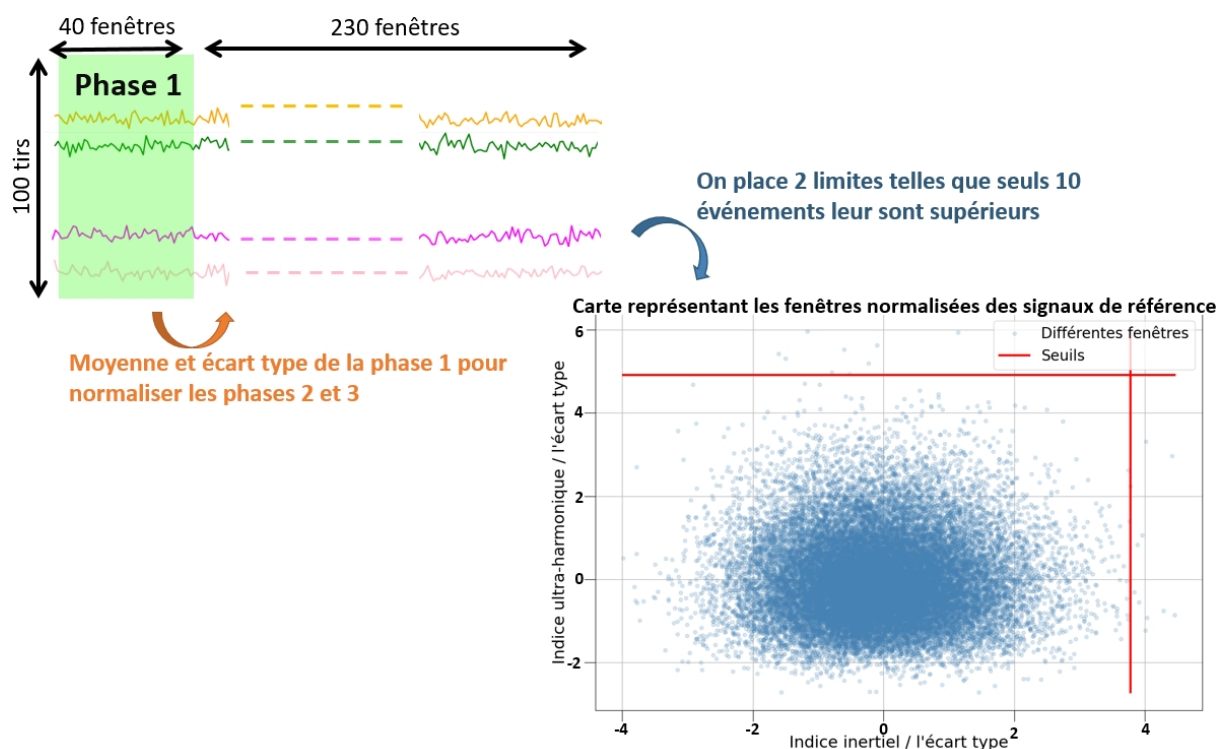


FIGURE 4.14 – Méthode permettant de déterminer β_{UH} et β_{BB} . Pour cela les indices obtenus à partir des signaux de référence sont d'abord normalisés par les 40 premières fenêtres de ces tirs. Une fois ceci fait, l'ensemble des indices est trié et les valeurs des 2 indices sont choisies en sélectionnant la dixième valeur dans l'ordre décroissant.

4.2.2 Résultats

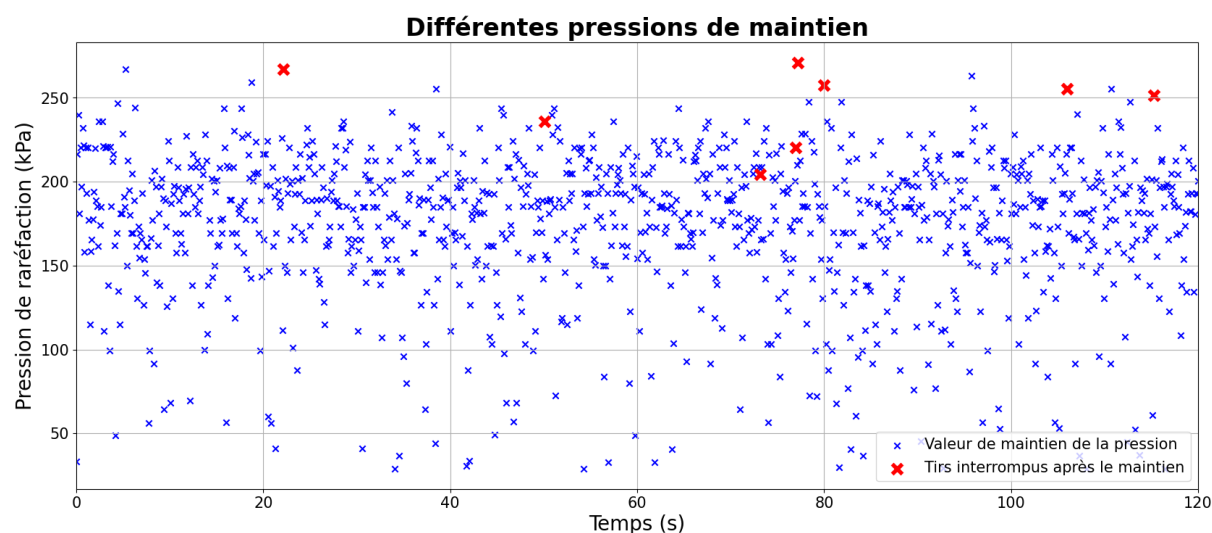


FIGURE 4.15 – Valeurs de pression pour lesquelles l'algorithme de contrôle de la cavitation a stabilisé la pression après une détection d'événement de cavitation non stable. Dans ces expériences tous les tirs ont convergé et 8 d'entre eux ont été interrompus car de la cavitation non stable a continué d'apparaître après le maintien de la pression.

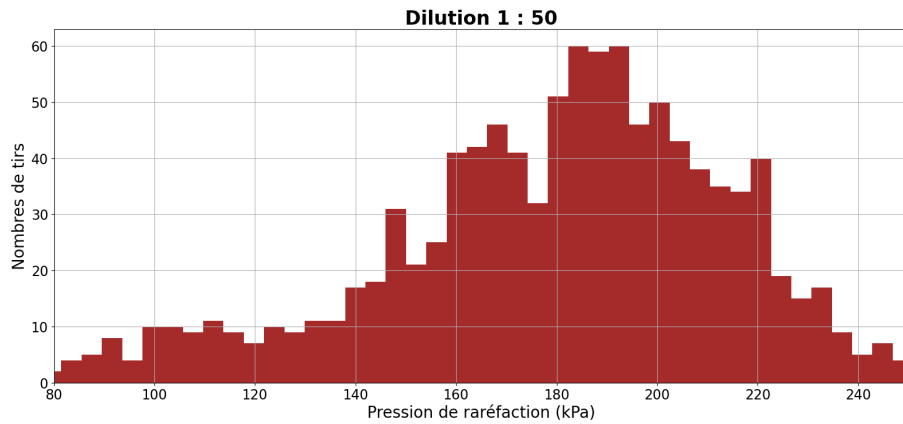


FIGURE 4.16 – Histogramme des valeurs de pression pour lesquelles l'algorithme de contrôle de la cavitation a convergé après une détection d'événement de cavitation non stable. Résultats obtenus avec une dilution des microbulles de 1:50. La pression modale vaut 180 kPa.

Différents graphiques sont affichés, ils permettent de caractériser les expériences de contrôle de cavitation avec mon algorithme. La première métrique est l'affichage chronologique des pressions où l'algorithme a convergé pendant les différents tirs (cf figure 4.15). Sur cette figure, les tirs pour lesquels l'amplitude a été réduite à 0 après le maintien de la pression sont affichés avec des croix rouges. Ici seulement 8 tirs sur 1200 ont été interrompus ce qui représente 0,67%. Cela montre que lorsque la cavitation non stable apparaît, l'algorithme est capable de stopper la rampe de pression ce qui permet de faire refluer la cavitation non stable. Cela permet aussi d'avoir la présence de cavitation stable maximale pendant le reste du tir. La pression maximale autorisée dans cette expérience était 400 kPa, la pression n'a dans ces expériences n'a jamais dépassé 275 kPa.

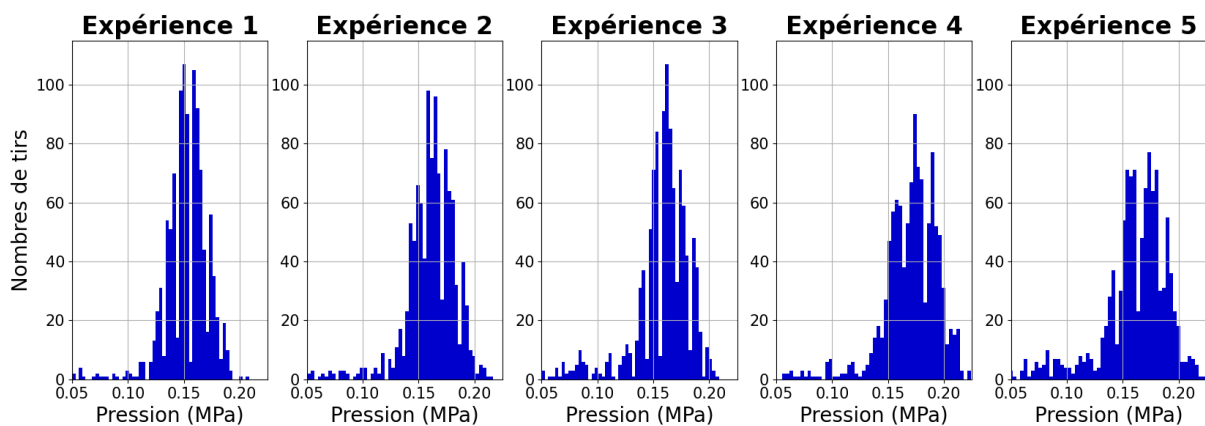


FIGURE 4.17 – Histogramme des valeurs de pression pour lesquelles l'algorithme de contrôle de la cavitation a convergé après une détection d'événement de cavitation non stable. Résultats obtenus pour 5 expériences successives avec une dilution des microbulles de 1:25. Une forme de gaussienne est observable avec une pression modale qui évolue de 150 à 180 kPa.

Cet affichage temporel (figure 4.15) permet de bien observer la stabilité des MB circulant dans le capillaire car il n'est pas possible d'y discerner un lien avec le temps. Les MB sont dans un état globalement similaire du début à la fin de l'acquisition, contrairement aux expériences *in vivo* où les variations sont très importantes. Ce qui peut être plus suggestif pour observer la convergence des pressions est le graphique 4.16 dans lequel sont affichées les pressions de maintien sous forme d'un histogramme. Dans cette expérience avec une dilution des microbulles d'un facteur 1:50, une valeur de convergence maximale est observable autour de 185 kPa. La distribution de ces pressions

tend vers une gaussienne asymétrique. L'asymétrie peut s'expliquer par le fait que les pressions sont parcourues de façon croissante et que lors du maintien à une pression donnée, des pressions plus importantes ne seront pas émises.

Enfin la reproductibilité de ces pressions de déclenchement est très bonne. En effet, pour plusieurs tirs effectués avec les mêmes dilutions de microbulles, des résultats complètement reproductibles en termes de pression de convergence sont obtenus si la position du capillaire et les flacons de microbulles restent inchangés. Par exemple dans la figure 4.17 sont présentées 5 expériences de contrôle de cavitation réalisés successivement. Les pressions médianes de convergence de la cavitation sont toutes proches de 160 kPa. Ces expériences ont été réalisées successivement avec un même bécier de microbulles en agitation. La pression modale y passe progressivement de 150 à 180 kPa. De même l'écart type des pressions de maintien augmente progressivement.

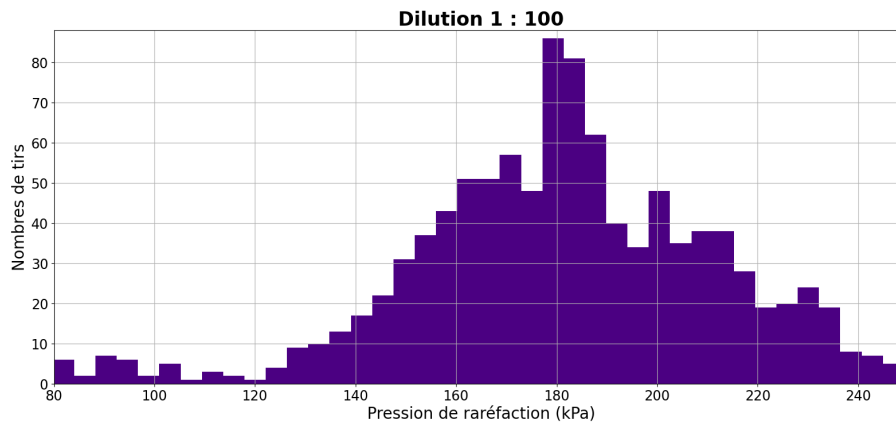


FIGURE 4.18 – Histogramme des valeurs de pression pour lesquelles l'algorithme de contrôle de la cavitation a convergé après une détection d'événement de cavitation non stable. Résultats obtenus avec une dilution des microbulles de 1:100. La pression pour laquelle le plus de tirs ont convergé est de 185 kPa.

Même en changeant la dilution des microbulles par un rapport 2 (1:100) l'histogramme des pressions de maintien obtenu est très proche de celui de la dilution 1:50 (cf figure 4.18).

4.2.3 Discussion

Ces résultats montrent qu'il est possible lors de l'excitation de nuages de MB d'obtenir de la cavitation non stable à des pressions différentes. Cela complète l'observation qui a pu être faite dans la partie 3.3 où des émissions inertielles ou ultra-harmoniques d'intensités très différentes ont pu être enregistrées pour des pressions identiques. L'utilisation de pressions adaptées à chaque paquet de MB permet de les exciter le plus efficacement sans devoir faire de compromis entre la sécurité et l'efficacité.

Plusieurs paramètres sont modifiables : les différents indices sur lesquels effectuer le contrôle ainsi que les 2 seuils β_{UH} et β_{BB} . Ces seuils permettent de choisir d'augmenter l'efficacité ou la sécurité. En effet, dans cette expérience, le seuil choisi est placé de façon à avoir 10 faux positifs de cavitation non stable sur l'ensemble des tirs de référence. Cela permet de n'avoir que quelques tirs qui stabiliseraient sur un contrôle de 1200 tirs ciblant de l'eau sans bulles. C'est donc suffisamment sélectif pour ne pas influencer de façon importante les résultats des tirs si aucune MB n'est présente.

Si le nombre de faux positifs est réduit, l'algorithme sera plus spécifique et réagira plus tard lors de l'apparition de cavitation non stable. La pression considérée comme stable sera plus élevée et la limite avec la cavitation non stable peut être trop élevée, rendant potentiellement dangereuse la phase de traitement.

Augmenter le nombre de faux positifs permettra d'augmenter la sécurité en étant beaucoup plus sensible car le seuil est diminué. Toutefois deux problèmes peuvent alors apparaître. Des déclenchements peuvent se produire par simple effet statistique et non produit par la cavitation. De plus, le seuil de déclenchement est (dans cet algorithme) le même pour le maintien de la pression et l'interruption des tirs. Ainsi, des tirs correctement stabilisés lors de l'apparition de la cavitation non stable risqueraient fortement de se retrouver interrompus par le bruit. Augmenter le nombre de fenêtres consécutives nécessaires pour interrompre le tir pourrait toutefois réduire cet effet.

Méthode plus robuste permettant de choisir β_{UH} et β_{BB}

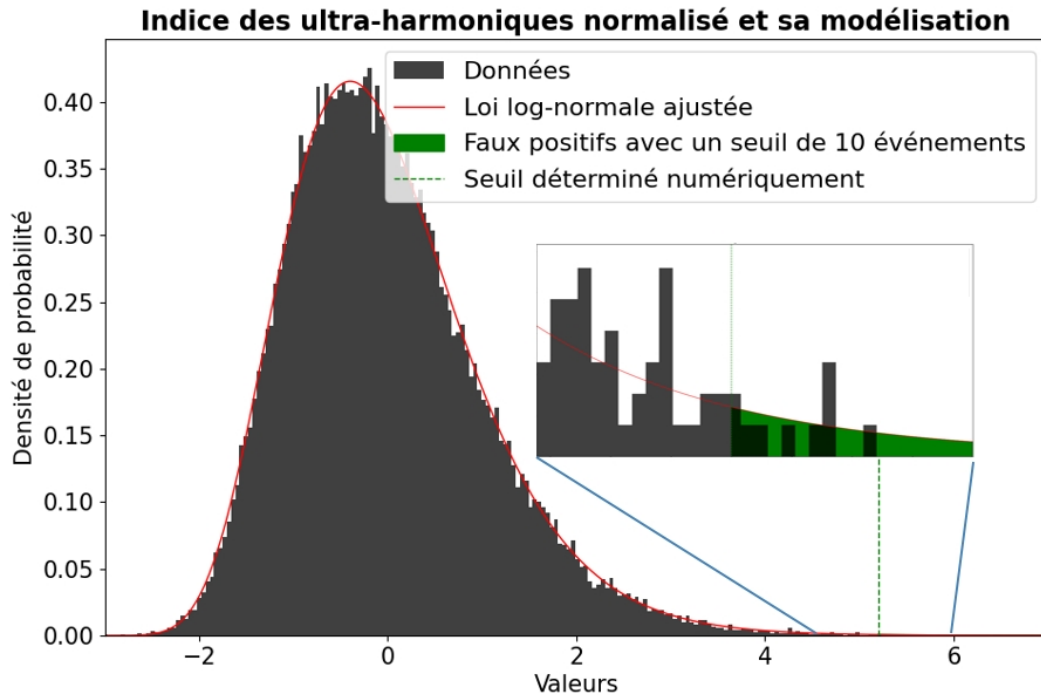


FIGURE 4.19 – Modélisation des indices de l'ensemble des fenêtres des tirs de référence par une loi log-normale. Une fois normalisé par la moyenne et leur écart type, un modèle de loi log-normale est utilisé pour modéliser l'ensemble des indices et ainsi calculer notre limite de cavitation non stable. Ici le même nombre de faux positifs est utilisé 10 événements pour chacun des indices.

Si la méthode que j'ai utilisée durant ma thèse est efficace et reproductible, il est toutefois possible d'améliorer de façon non négligeable cette dernière. En effet en prenant la dixième valeur de chaque indice de façon décroissante, une variabilité de ces valeurs extrêmes est susceptible d'apparaître et la valeur de la limite de cavitation stable pour chaque indice en être fortement impactée.

Les valeurs des différents indices après avoir été normalisées par la moyenne et l'écart type suivent des lois log-normales (cf figure 4.19). L'utilisation de ce modèle pour calculer la limite à partir d'un taux de faux positifs est alors indépendante des valeurs extrêmes enregistrées pendant les acquisitions des signaux de référence.

Les résultats obtenus avec cette méthode diffèrent peu de ceux obtenus durant ma thèse comme il est possible de l'observer dans le tableau 4.1 où les limites obtenues avec les deux méthodes ont été présentées. Ces valeurs ont été choisies avec des acquisitions répétées dans les mêmes conditions. Un léger décalage entre les moyennes des valeurs obtenues par chaque méthode peut être observé. Ce décalage pourrait être facilement corrigé au besoin. Il est intéressant de constater que les 2 méthodes sont reproductibles bien que la méthode par modélisation soit moins sujette à des variations suite à des valeurs trop extrêmes comme cela est observable pour β_{UH} dans l'expérience 5 ou pour β_{BB} dans

l'expérience 2.

Expérience :	1	2	3	4	5
β_{UH} valeurs extrêmes	4.83	4.86	4.93	4.63	11.8
β_{UH} méthode modélisation	5.09	4.97	5.05	5.05	5.88
β_{BB} valeurs extrêmes	3.73	4.21	3.74	3.71	3.72
β_{BB} méthode modélisation	3.65	3.77	3.67	3.7	3.65

TABEAU 4.1 – Comparaison des valeurs seuils obtenues pour β_{UH} et β_{BB} avec la méthode de calcul utilisée pendant ma thèse (dixième valeur dans l'ordre décroissant) et par modélisation avec une loi log-normale. La méthode utilisant la modélisation par la loi log-normale utilise le même ratio de faux positifs que pour l'autre méthode.

4.3 Validation *in vivo*

Des expériences *in vivo* ont ensuite été réalisées afin de perméabiliser la BHE chez le rongeur avec cet algorithme de contrôle de cavitation. Ces expériences se sont déroulées progressivement avec des améliorations successives de l'algorithme. En effet, lors des premières expériences, certaines fonctionnalités n'avaient pas été intégrées à l'algorithme. La première à avoir été rajoutée fut la réduction de pression pour compenser le délai d'action du FPGA. La seconde implémentation a été la possibilité d'interrompre les tirs lorsque la cavitation non stable apparaissait de façon continue après le maintien de la pression. Le positionnement du transducteur a aussi été défini par un protocole après avoir utilisé un placement latéral plus arbitraire lors des premières expériences. L'historique des différentes expériences avec les différentes implémentations est récapitulé dans le tableau 4.2.

#	Nombre de souris	Interruption des tirs	Réduction de pression pour le maintien	Protocole de positionnement
1	3	Non	Non	Non
2	3	Oui	Non	Non
3	5	Oui	Oui	Oui

TABEAU 4.2 – Historique des différentes expériences avec les différentes améliorations itératives du protocole et de l'algorithme et le nombre d'animaux utilisé dans chaque cas.

4.3.1 Méthode

Les expériences de contrôle de la cavitation ont eu lieu sur des souris uniquement. Les souris étaient des femelles provenant de la souche C57BL/6J, elles étaient âgées d'environ 15 mois lors des expériences et pesaient 30 grammes. Dans ces expériences, le protocole d'anesthésie et de rasage a été le même que celui de la partie 3.3.1. Les souris ont été installées dans le même lit d'IRM avec un positionnement réalisé à l'aide de barres d'oreilles et d'un mors.

Une fois les souris positionnées, le couplage a été réalisé avec un gel composé d'un mélange (de ratio 1:1) d'eau milliQ et de gel échographique. Le gel avait été préalablement centrifugé 5 minutes à 3500 tours/min afin d'en extraire toutes les bulles macroscopiques. Le transducteur était accroché à un système motorisé 3 axes fourni par IGT®. Le système permettait un positionnement manuel ou piloté par ordinateur sur les 3 axes. Les tirs ultrasonores ont tous été effectués dans la même région du cerveau afin d'avoir un maximum de reproductibilité entre les acquisitions. Pour cela, le protocole était le suivant : une pointe (imprimée en 3D) était placée dans le porte-transducteur et positionnée exactement entre les 2 yeux de la souris.

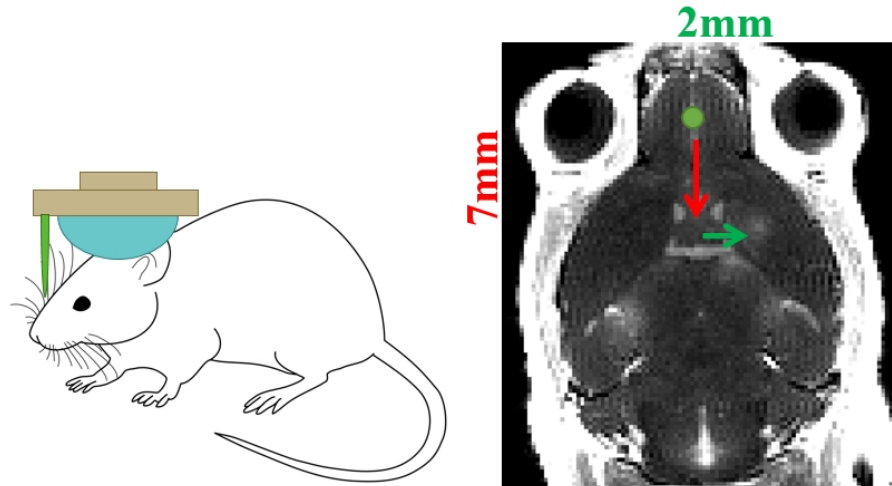


FIGURE 4.20 – Figure présentant le protocole permettant de positionner le transducteur dans les expériences chez la souris. Le positionnement est assuré par une pointe dont la position par rapport au centre du transducteur est connue. La pointe en résine est d'abord positionnée entre les 2 yeux avant d'être reculé de 7 mm vers l'arrière de l'animal et ensuite décalé de 2 mm vers sa droite. Enfin le transducteur est déplacé afin d'être positionné à la place de la pointe (24 mm).

Ensuite les moteurs étaient pilotés pour se déplacer de 7 mm vers l'arrière de la tête puis de 2 mm vers la droite de la tête. Enfin un déplacement de 24 mm venait placer le centre du transducteur au niveau de la pointe (position connue de par la conception du porte-sonde). Ces déplacements sont résumés sur la figure 4.20. Une fois le transducteur correctement positionné, ce dernier était abaissé jusqu'au contact avec la tête de l'animal en veillant à bien écraser le ballon d'eau sur sa tête pour que le couplage soit idéal. Quelques trajets constitués d'allers-retours dans le plan tangent au-dessus du crâne étaient effectués afin d'expulser de potentielles bulles macroscopiques coincées dans le gel entre la peau et la membrane.

Une fois le couplage effectué et le positionnement correct, un premier tir ultrasonore était émis avant l'injection des MB afin de s'assurer de la qualité du couplage. La différenciation entre un couplage correct et incorrect se fait sur la présence de bruit large bande ou d'ultra-harmoniques sur le spectrogramme d'un tir ultrasonore (cf figure 4.21).

Une fois le couplage validé à partir de l'émission d'un unique tir ultrasonore, les tirs de référence permettant de calculer β_{UH} et β_{BB} étaient émis. Dans de rares cas, ces tirs pouvaient aussi mettre en évidence un défaut au niveau du couplage. Le calcul des limites β_{UH} et β_{BB} se faisait alors avec la méthode présentée dans la partie précédente 4.2.1.

4.3.2 Résultats

Lors de contrôle de cavitation avec mon algorithme, toutes les expériences ont été efficaces avec une perméabilisation de la BHE forte et diffuse. Sur toutes les souris traitées, aucun dommage vasculaire (œdèmes / hémorragies) n'a été constaté après les IRM de contrôle effectuées le lendemain du traitement. Des images de plusieurs ouvertures de BHE sont présentées dans la figure 4.22. Toutefois, les séquences IRM ne permettent pas de quantifier la quantité de produit de contraste passé dans les tissus cérébraux uniquement à partir de la taille des régions perméabilisées. Il n'est donc pas possible d'être plus précis sur l'efficacité des ouvertures.

L'algorithme est donc efficace car la BHE est perméabilisée à chaque traitement, sans dommages visibles.

Pour ce qui est des résultats PCD et portant sur la convergence de l'algorithme, les résultats sont

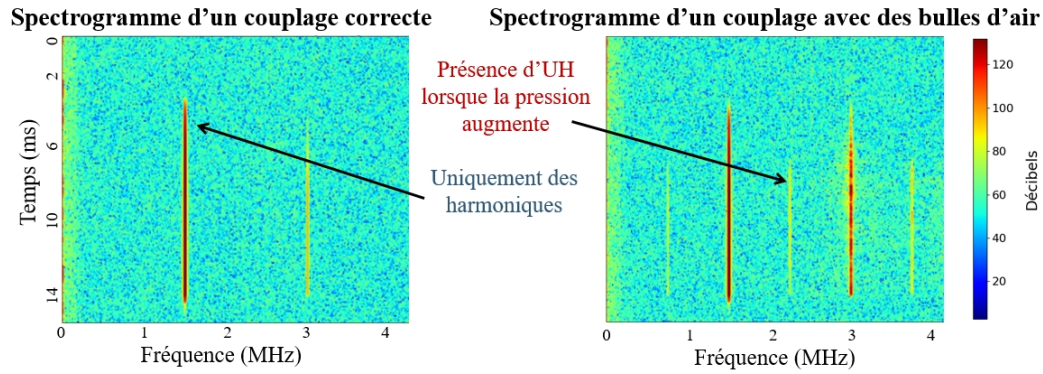


FIGURE 4.21 – Figure où sont affichés 2 spectrogrammes pour 2 couplages différents. Les spectrogrammes représentent les différentes composantes spectrales pour chaque fenêtre d'un signal temporel. Cela permet d'analyser l'évolution des différentes composantes au cours du temps. Le premier est celui d'un couplage correct où seulement des harmoniques sont observables et le second est synonyme d'un couplage incorrect dû à la présence d'ultra-harmoniques.

plus mitigés. En effet, si de belles convergences sont observables sur quelques animaux, (souris A de la figure 4.23), pour d'autres animaux il n'y a pas de convergence et il est presque impossible de détecter la présence des MB et de la cavitation non stable.

Il possible d'observer sur la figure 4.24 un exemple de tir ultrasonore où la pression maximale a été atteinte et où de la cavitation non stable est apparue dans la suite du tir. L'indice du bruit large bande augmente très fortement peu après 8 ms et ne diminue pas. Il s'agit donc d'un tir où de la cavitation non stable apparaît en milieu de tir. La composante fondamentale décroît soudainement 10 fenêtres après l'apparition de la cavitation non stable, ce qui indique que l'algorithme a réagi en interrompant le tir. Dans cet exemple l'indice du bruit large bande est apparu pendant 11 fenêtres ce qui correspond à 550 μ s. Il y a 7 fenêtres pour le temps de réaction car il faut soustraire les 3 fenêtres consécutives d'apparition de l'indice.

Il faut donc, après la détection de la cavitation inertielle, 7 fenêtres pour que les informations soient lues depuis la mémoire, que le spectre et les indices soient calculés. De plus, le temps que la commande soit effective et que les ultrasons se propagent rajoute pour chaque phénomène une fenêtre de délai.

Il s'agit du cas le plus extrême de présence de cavitation inertielle. En effet, il ne suffit que de 3 fenêtres consécutives pour entraîner une interruption du tir. Or, dans la très grande majorité des tirs, lorsque de la cavitation non stable est détectée, il s'agit d'une apparition intermittente qui disparaît sans modification de la pression.

4.3.3 Discussion

4.3.3.1 Efficacité de l'algorithme

L'algorithme de contrôle de la cavitation est efficace. Il limite au maximum l'apparition de la cavitation inertielle lors de perméabilisation de la BHE. Il adapte en plus de cela la pression pour chaque tir lorsque le signal est suffisant pour permettre la rétroaction. Les expériences chez le rongeur ont toujours été réussies avec un passage du produit de contraste dans les tissus cérébraux. De plus, aucun dommage vasculaire n'a été observé en IRM sur l'ensemble des expériences réalisées.

Cet algorithme est un exemple concluant sur la possibilité de contrôler la pression au sein de chaque tir ultrasonore et de faire fonctionner une boucle de rétroaction intra-tir à partir du signal rétro-diffusé par les MB. Des algorithmes plus complexes peuvent évidemment être imaginés ainsi que des améliorations de celui-ci, considérant notamment la diminution de la concentration des MB

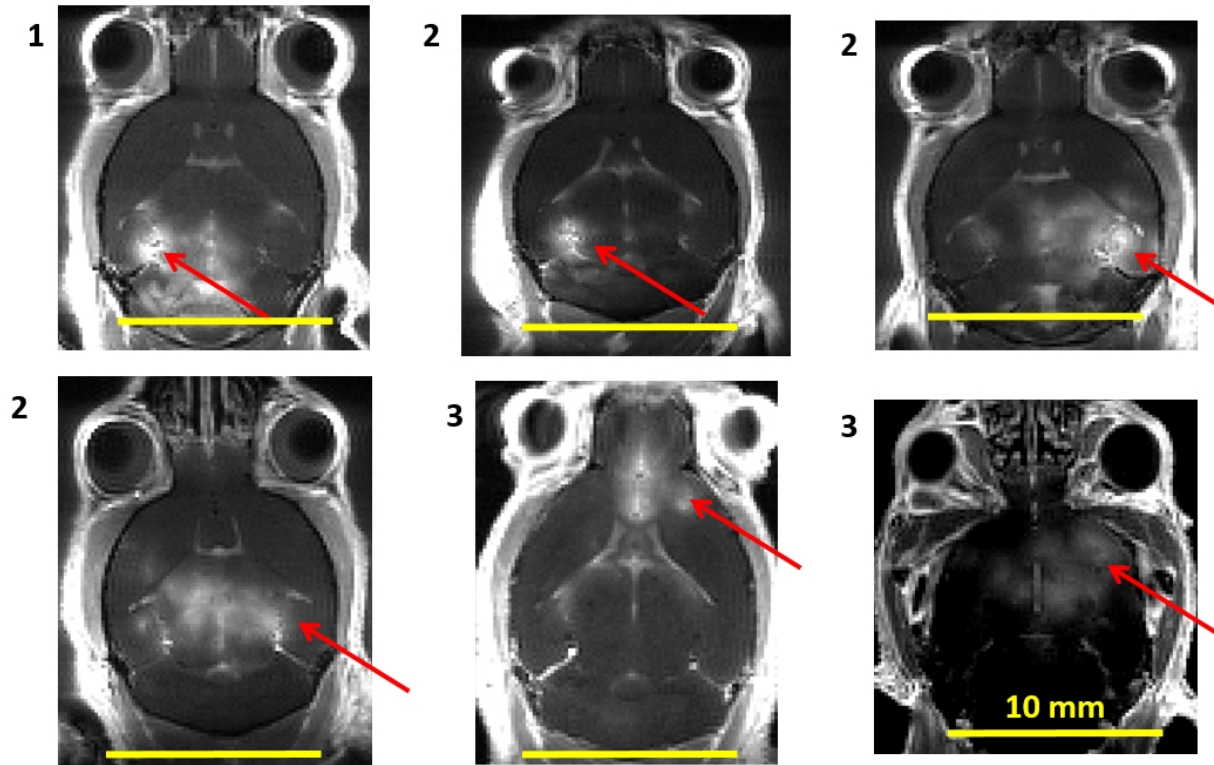


FIGURE 4.22 – Figure présentant diverses ouvertures de BHE chez les souris constatées par IRM. Un hypersignal T1 est observable aux endroits où l'agent de contraste IRM est passé dans les tissus cérébraux. Le numéro à côté de chaque image correspond à chaque version du protocole décrite dans le tableau 4.2. Pour les souris avec les protocoles 1 et 2, le positionnement était encore variable ce qui explique les ouvertures dans les 2 hémisphères du cerveau.

ou l'utilisation de PCD plus sensibles ou plus nombreux. Ces différents points seront détaillés dans les paragraphes suivants.

4.3.3.2 Détérioration de l'état des microbulles

Dans toutes les expériences où l'algorithme a correctement fonctionné, après une certaine durée (entre 10 et 60 secondes) la cavitation non stable n'est plus détectée dans une très grande majorité des tirs. Il en résulte un maintien de l'amplitude à la valeur maximale autorisée par l'algorithme. Il semble donc que dans les expériences *in vivo*, la concentration des MB décroît suffisamment pour que la diminution de l'amplitude des indices rétro-diffusés en devienne imperceptible par le PCD. Selon les expériences, cette durée varie malgré un volume de MB injecté invariable (10 μ L) en début d'expérience. Le couplage avec la tête de l'animal ainsi que la transmission au travers du crâne doivent engendrer ces variations.

On détecte un rehaussement des pressions de maintien dans chaque expérience juste avant que l'algorithme n'atteigne l'amplitude maximale autorisée. Ce phénomène est observable sur la souris A de la figure 4.23. Pour moi, cela ne signifie pas que les MB nécessitent une pression plus élevée pour être déstabilisées mais plutôt que du fait du nombre décroissant de MB excitées par le transducteur, la somme des signaux émis par ces dernières décroît. L'algorithme a donc de plus en plus de mal à conserver son fonctionnement nominal à cause de la diminution du RSB. Comme schématisé dans la figure 4.25, il s'agirait d'une compensation de la décroissance de la concentration des MB qui crée cette augmentation de la pression de maintien.

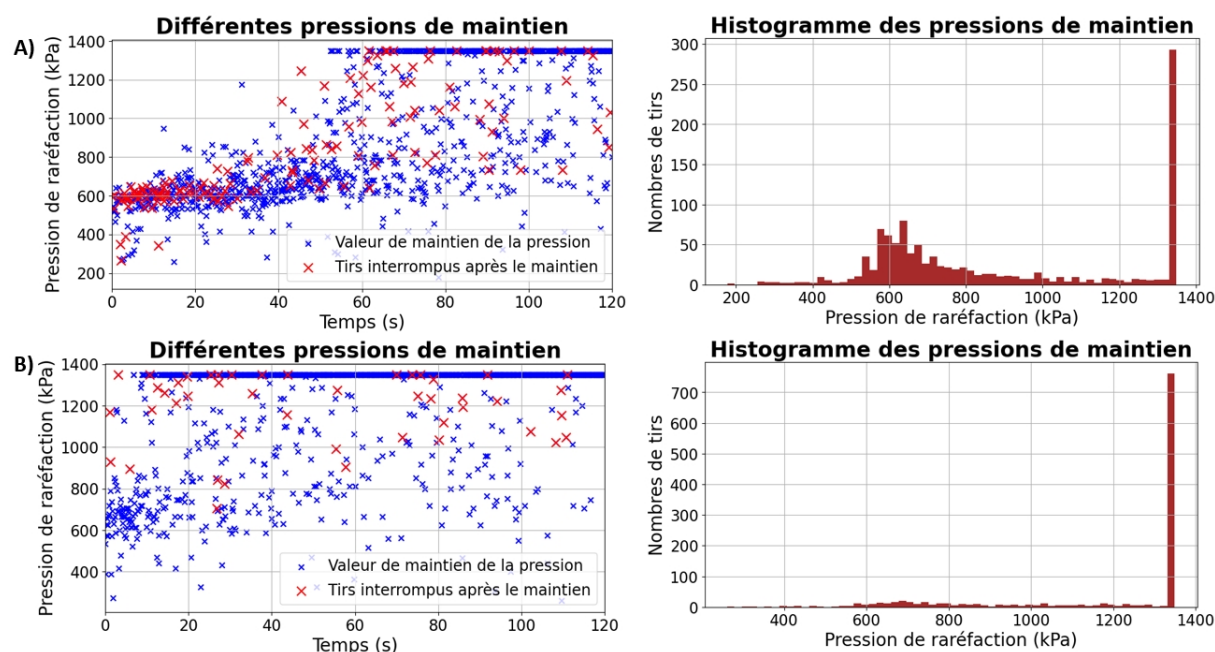


FIGURE 4.23 – Pression de maintien obtenues avec l'algorithme de contrôle de la cavitation. On observe chez la souris A) une convergence efficace sur 100% des tirs au début de l'expérience. Au-delà de 60 secondes d'expérience, le signal devient plus faible et la pression maximale est atteinte sans contrôle de la part de l'algorithme. Pour la souris B) le maintien fonctionne uniquement pendant les 5 premières secondes, ensuite la saturation est quasiment systématique.

Pour remédier à cette diminution du signal, un contrôleur avec 2 états serait implémentable. Il serait possible de diminuer la pression maximale de l'algorithme, à partir d'un certain moment, afin d'éviter des pressions trop importantes. L'algorithme fonctionnerait exactement de la même façon dans le deuxième état que dans le premier, la seule différence serait une diminution de la pression maximale atteignable. L'algorithme fonctionnerait donc normalement en cas de détection de cavitation non stable avant le nouveau maximum de pression. Cette nouvelle pression maximale serait une moyenne des valeurs atteintes pendant le premier état.

Différents articles de la littérature utilisent des contrôles de ce type. Dans l'article de [McDANNOLD et al. 2020](#) après un tiers de l'expérience, le contrôleur est bloqué et les pressions de tir restent constantes. Le temps entre l'arrêt du contrôleur et l'observation du bolus des MB est de 15 secondes.

Dans l'article de [H. LEE et al. 2022](#), des tirs de faibles amplitudes sont transmis avant les séquences thérapeutiques. Ces tirs précoces sont utilisés pour calculer une variation de la concentration en MB à partir du 3^{ème} harmonique. Ainsi, le contrôle de l'algorithme est arrêté dès que la concentration en MB (ou le signal reçu par le PCD) diminue de 30%, ce qui d'après les figures de leur article correspond à environ 50 secondes.

Pour mon algorithme, une première option simple consisterait à définir un temps de contrôle fixe à partir duquel la pression maximale est fixée à la valeur moyenne de maintien des premiers tirs. Ce temps serait très court comparé aux autres algorithmes car il n'y a pas de rampe de montée progressive, tir après tir, dans notre algorithme. En 10 secondes, il est déjà possible d'avoir 100 valeurs de pression pour lesquelles l'algorithme a convergé. Une deuxième option plus complexe consisterait à détecter ce léger rehaussement de la pression ou l'apparition de plus en plus fréquente de tirs qui atteignent la borne maximale de la pression pour enclencher cette réduction de la pression maximale. La valeur de pression maximale pourrait être la moyenne des premiers tirs qui n'ont ni saturé ni été interrompus.

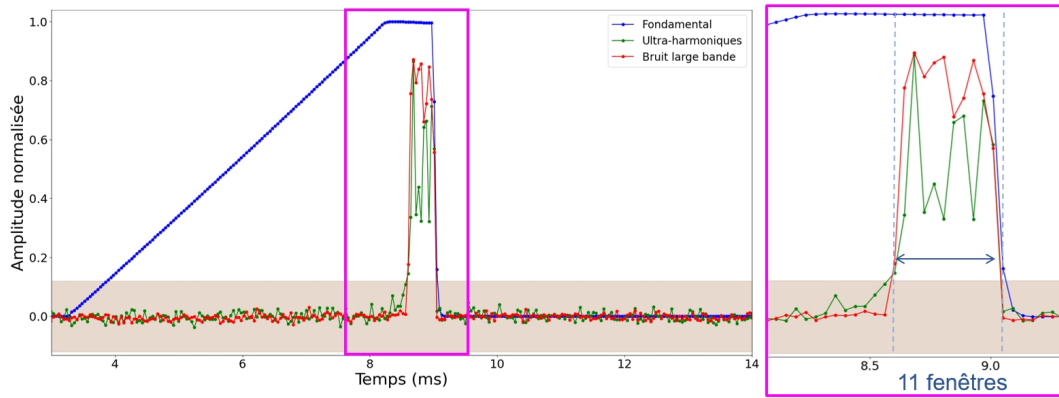


FIGURE 4.24 – Figure présentant la réactivité de l’algorithme lors de l’apparition de cavitation inertielle soutenue pendant une phase où la pression est stable. Il y a donc eu 10 fenêtres pour la réaction de l’algorithme à la présence de cavitation non stable. La cavitation inertielle est donc présente pendant 11 fenêtres durant ce tir, ce qui correspond à 550 μ s. Le temps de traitement des données et d’émission / propagation des ultrasons prend donc 7 fenêtres.

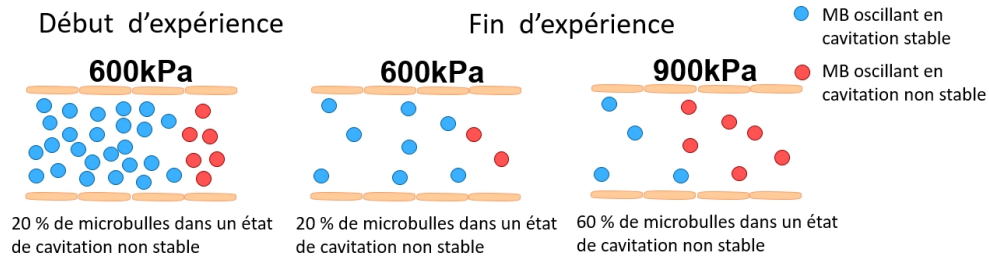


FIGURE 4.25 – Hypothèse d’explication de l’augmentation de la pression pendant les expériences de contrôle de cavitation. Lors de l’expérience de contrôle de cavitation, la concentration en MB diminue rapidement. Avec pour hypothèse que l’état des MB ne change pas, le pourcentage de MB déstabilisées pour une pression donnée ne change que faiblement. Toutefois, la concentration diminuant, pour obtenir une même intensité de signal, une augmentation de la pression est nécessaire afin de déstabiliser plus de MB.

4.3.3.3 Importance de la qualité du couplage et du PCD

Une observation importante sur ces expériences est l’absence flagrante de signal PCD correct dans le cas de certaines ouvertures. En effet, dans un nombre conséquent d’expériences (6) pour un total de 12 expériences, plus de 95% des tirs n’ont pas eu de réel contrôle car la pression a atteint la valeur maximale autorisée par l’algorithme. Cela conduit à des expériences en pseudo-boucle ouverte car il n’y a presque pas eu d’action de l’algorithme. Toutefois, pour toutes ces expériences, la BHE a bien été perméabilisée. Cela traduit donc que de la cavitation stable a bien eu lieu. L’absence de composantes ultra-harmoniques ou inertielle a cependant empêché l’algorithme de converger. La pression était pourtant au moins trois fois plus forte que ce qui est nécessaire pour perméabiliser la BHE chez des souris de ce poids.

Il n’y a pas d’explication évidente sur les causes de cette absence de signal. Cela peut être dû à un couplage incorrect mais sans présence de bulles. En effet si le ballon d’eau n’est pas correctement écrasé, une variation dans la distance entre le transducteur et le crâne apparaît. Cette variation cause une réduction de la transmission des ultrasons et donc une pression équivalente dans la tache focale réduite. Un positionnement incorrect diminue également le signal reçu par le PCD et alors entraîner une diminution suffisante du RSB empêchant la détection d’événements de cavitation non stable. Une amélioration simple serait d’utiliser des capteurs PCD avec un RSB plus important. Un contrôle

supplémentaire imposant la distance transducteur-crâne pourrait être mis en place. Cette distance est mesurée à partir du temps de vol des ultrasons obtenus avec un tir très court.

4.3.3.4 Tirs sous forme de rampe, excitation différente des microbulles

Un autre point que ces expériences soulèvent est la différence notable des indices calculés à partir du signal rétro-diffusé par les MB entre des tirs avec une enveloppe triangulaire et d'autres plus classiques avec une enveloppe rectangulaire. En effet, le signal obtenu pour des tirs sous forme de rampe à des pressions de 1 à 1,3 MPa contient beaucoup moins de composantes inertielles ou ultra-harmoniques que dans des tirs rectangulaires à des pressions similaires.

Ces différences sont susceptibles de détériorer le bon fonctionnement du contrôle de cavitation de mon algorithme. En effet, ce contrôle a été mis en place suite à l'analyse d'expériences d'ouverture efficaces ou inefficaces sur des rongeurs et primates dans différentes gammes de pressions. L'observation de composantes inertielles et ultra-harmoniques présentes dans l'ensemble des tirs à des pressions de ce type m'a poussé à imaginer cet algorithme. Toutefois du fait de l'utilisation de ces tirs à enveloppes triangulaires, il apparaît d'après les expériences *in vivo* et *in vitro* que les composantes inertielles sont beaucoup moins présentes, soutenues et d'intensité importante.

La dangerosité de tirs ayant des enveloppes sous forme de rampe est alors une question pertinente. En effet, l'absence de composante inertielle dans des tirs à des pressions importantes (supérieures à 1.2 MPa) n'est peut-être pas synonyme de dangerosité moindre. Même si aucun dommage vasculaire n'a été détecté dans cette étude par IRM, il est possible que des microdommages, non visibles par imagerie, soient présents. Une étude comparant des tirs triangulaires et rectangulaires avec des analyses et quantifications histologiques en plus de l'IRM serait très pertinente.

4.4 Conclusion

Dans ce chapitre, j'ai présenté la construction d'un algorithme permettant de contrôler la cavitation des MB. Cet algorithme tire profit de la technologie FPGA permettant de mettre en place des boucles de rétroaction ultra-rapides. Grâce à cela, un algorithme a été implémenté permettant de faire varier la pression ultrasonore au sein même d'un tir à partir des données provenant du PCD.

Cet algorithme fonctionne sur le principe d'une augmentation de la pression et du maintien de la dernière pression pour laquelle aucun indice de cavitation non stable n'était apparu.

J'ai décrit différentes expériences dans lequel cet algorithme était mis en place avec mon dispositif expérimental *in vitro* ainsi que des premières validations sur rongeurs. Ces expériences ont permis de valider le fonctionnement de l'algorithme, son efficacité ainsi que sa sûreté. Toutefois, il reste à comparer ses performances par rapport à d'autres algorithmes de l'état de l'art pour évaluer leur efficacité et sûreté respective.

Chapitre 5

Vers un transfert clinique

Ce chapitre vise à anticiper la translation clinique du contrôle de la cavitation pour la perméabilisation de la BHE. En effet, si le contrôle de la cavitation a été régulièrement expérimenté *in vitro*, peu d'études sont allées jusqu'à mettre en place des algorithmes dans des études cliniques (cf partie 1.4.3). Actuellement le seul contrôle est celui de l'équipe de Columbia University imposant une réduction de la pression de 50% lorsque des composantes ultra-harmoniques sont détectées (ABRAHAO et al. 2019; GASCA-SALAS et al. 2021; MAINPRIZE et al. 2019; PAVLOS ANASTASIADIS et al. 2021; LIPSMAN et al. 2018). Il convient donc après tout le travail présenté dans les chapitres précédents d'essayer de se rapprocher des conditions qui seront rencontrées lors d'essais cliniques. Pour cela le principal élément à prendre en compte reste le passage du crâne dont l'atténuation importante du signal ultrasonore représente un obstacle majeur pour le contrôle de cavitation.

Différents travaux qui visent à mieux comprendre et modéliser la propagation des ultrasons à travers un crâne, la mesure des différents états de cavitation au travers d'un crâne et enfin le contrôle de cavitation avec FPGA au travers d'un crâne sont présentés dans ce chapitre.

Le travail présenté dans la partie 5.2 a été principalement par Célestine Angla avec une participation importante de ma part sur la mise en place de la partie expérimentale. Pour les parties suivantes, j'ai réalisé l'entièreté des expériences et des analyses qui ont suivies.

Sommaire

5.1 Le crâne : un double impact	119
5.2 La propagation des ultrasons au travers du crâne	120
5.2.1 Mesure de champs de pression en eau libre	120
5.2.2 Mesure de champ de pression au travers d'un crâne <i>ex vivo</i>	121
5.3 La mesure de la cavitation au travers du crâne	123
5.3.1 Dispositif expérimental	123
5.3.2 Protocole	125
5.3.2.1 Choix de la concentration en microbulles	125
5.3.2.2 Analyse des signaux rétro-diffusés	125
5.3.3 Résultats	125
5.3.3.1 Différentes composantes des tirs trapézoïdaux	125
5.3.3.2 Cartes de cavitation, tirs trapézoïdaux	127
5.3.3.3 Indices de cavitation pour les tirs trapézoïdaux	130
5.3.3.4 Différents indices normalisés des tirs trapézoïdaux et triangulaires	131
5.3.4 Discussion	132
5.4 Contrôle de la cavitation au travers du crâne	133
5.4.1 Méthode	133
5.4.2 Résultats	133
5.4.2.1 Signaux de référence	133

5.4.2.2	Contrôle en présence de microbulles	135
5.4.3	Discussion	138
5.5	Conclusion	139

5.1 Le crâne : un double impact

La transmission des ultrasons au travers du crâne est un processus complexe influencé par divers mécanismes physiques, dont l'absorption, la diffusion et la réflexion.

Absorption ultrasonore dans l'os : Lorsque les ultrasons se propagent au travers du crâne, une partie de leur énergie est convertie en chaleur par le processus d'absorption. Cette conversion est particulièrement prononcée dans les phases solides du crâne. Contrairement à la diffusion et à la réflexion, l'absorption est un processus irréversible qui entraîne une élévation locale de la température. Toutefois, dans le contexte du contrôle de la cavitation pour la perméabilisation de BHE, les pressions émises ne sont pas aussi importantes que pour d'autres applications et l'utilisation de tirs pulsés évite l'accumulation de chaleur dangereuse dans le tissu osseux.

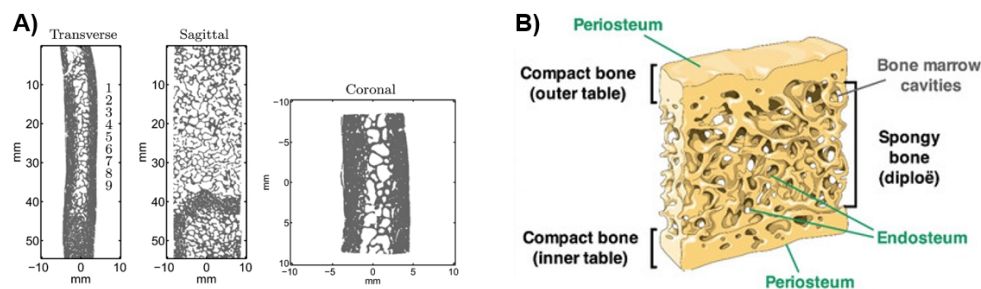


FIGURE 5.1 – Schémas présentant les différentes couches composant le crâne humain. Les 2 tables correspondent aux os durs entourant le diploë qui est un os trabéculaire. La figure A provient de (PINTON *et al.* 2012) et la figure B de (DI PIETRO *et al.* 2020).

Diffusion ultrasonore : Lorsque les ultrasons rencontrent des variations locales dans la microstructure du crâne, ils subissent un phénomène de diffusion, dispersant ainsi leur énergie dans différentes directions. La diffusion est principalement causée par les inhomogénéités du crâne qui se retrouvent dans le diploë qui est un os spongieux (cf figure 5.1). Il a une structure poreuse anisotrope hétérogène. Ses propriétés mécaniques varient fortement entre l'os et la moelle. L'ordre de grandeur de ses pores est de 0,5 à 2 mm avec des parois allant de 50 à 150 μm . La taille des pores est proche de la longueur d'onde d'une onde de fréquence 1 MHz. Il a été montré par PINTON *et al.* 2012 que la majeure partie du coefficient d'atténuation du crâne provient de la diffusion au travers du diploë. En conséquence, il est en général choisi de réduire la fréquence des ultrasons afin de limiter l'atténuation lors de la traversée de l'os grâce à l'augmentation de la longueur d'onde.

Réflexion ultrasonore aux interfaces os-tissu : Lorsque les ultrasons atteignent l'interface entre l'os et le tissu mou, une partie de leur énergie est réfléchi suite à l'importante différence entre les impédances des tissus mous ($1,48 \text{ Pa.s.m}^{-1}$) et de l'os cortical ($7,00 \text{ Pa.s.m}^{-1}$).

Pour exciter les microbulles présentes dans les capillaires cérébraux, les ultrasons doivent traverser le crâne. L'atténuation par le crâne, jouant le rôle de filtre passe-bas, va fortement réduire l'intensité et la cohérence du champ de pression émis par le transducteur.

De plus, les ultrasons rétro-diffusés par les microbulles doivent à nouveau traverser le crâne pour être détectés. Ce signal ultrasonore va donc à nouveau être atténué avec une potentielle altération des composantes fréquentielles.

Il est donc nécessaire de s'assurer de la possibilité de mesurer et contrôler la cavitation au travers d'une barrière physique aussi efficace contre les ultrasons.

5.2 La propagation des ultrasons au travers du crâne

Dans l'optique d'avoir une compréhension maximale de l'atténuation des ultrasons par le crâne, une expérience a été construite en collaboration avec le Département d'Instrumentation Numérique (DIN, LIST, CEA) dans le projet de thèse de Célestine Angla. Son sujet de thèse porte sur la corrélation expérience/simulation de la propagation des ultrasons au travers du crâne.

5.2.1 Mesure de champs de pression en eau libre

Une première expérience a été mise en place pour produire une cartographie du champ de pression émis par le transducteur qui doit être utilisé dans le projet clinique. Ce transducteur a été construit par Imasonic® (Voray-sur-l'Ognon, France), il possède les caractéristiques suivantes :

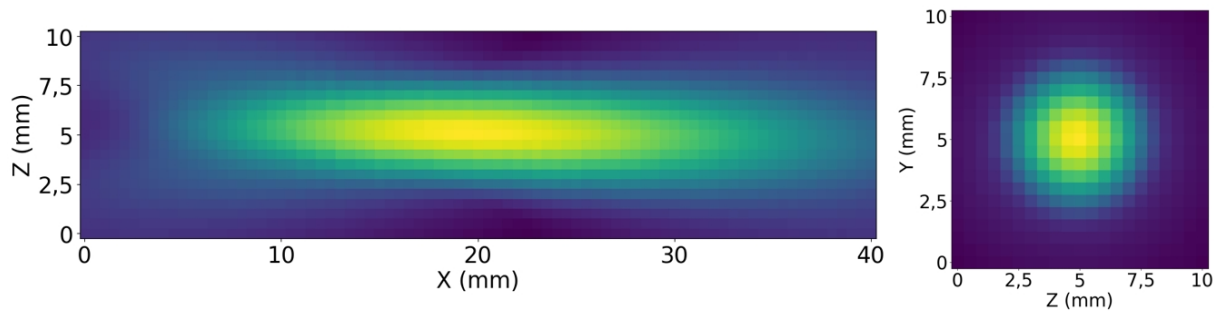
- Fréquence $f = 400$ kHz
- Rayon de courbure $a = 110,65$ mm
- Diamètre actif externe du dernier anneau (diamètre d'ouverture) $D = 110 \pm 2$ mm
- Diamètre actif interne du premier anneau (diamètre de la cavité centrale) de 16 mm

La mesure du champ de pression a été réalisée en positionnant le transducteur dans une cuve de 1 m^3 remplie de 400 L d'eau distillée. La sonde était orientée grâce à un bras robotisé (UR5, Universal Robots®, Odense, Danemark) et restait fixe durant l'entièreté de l'expérience. Pour mesurer le champ de pression, un système 3-axes motorisés permettait de déplacer un hydrophone (modèle HCL0200, ONDA®, Sunnyvale, USA), dans un volume centré sur le point de focalisation de la sonde. L'hydrophone était relié à un oscilloscope numérique (Picoscope 5442B, 15 bits, fréquence d'échantillonnage 31,25 MHz).

Deux programmes distincts contrôlaient l'émission et la réception des ultrasons ainsi que les déplacements de l'hydrophone. Le premier programme contrôlait l'émission des ultrasons avec un générateur (MULTIX++, Eddyfi®, Québec, Canada) et le mouvement du système 3 axes. Les ultrasons étaient émis toutes les 100 millisecondes et l'hydrophone déplacé selon des trajectoires uniformes avec une vitesse de 5 mm.s^{-1} dans des plans orthogonaux à la direction de propagation des ultrasons. Cela correspond à une résolution spatiale de 0,5 mm. L'acquisition du signal mesuré par l'hydrophone était synchronisé uniquement aux signaux de déclenchement émis par le générateur.

Une fois l'ensemble des points enregistré, un processus de traitement des données était appliqué pour obtenir le champ de pression. Ce traitement était composé d'une extraction de l'enveloppe du signal temporel à l'aide d'une transformée de Hilbert et d'un filtre passe bas. La valeur moyenne de l'amplitude de l'enveloppe était ensuite extraite à partir de la partie du tir où le signal n'était pas en régime transitoire. Cette valeur de tension était ensuite convertie en pression à partir des caractéristiques de l'hydrophone et de son bloc d'amplification.

La position des voxels devait ensuite être déterminée. En effet, les acquisitions étant effectuées pendant un déplacement continu de l'hydrophone, un décalage dû au temps de propagation des ultrasons était induit. Ce décalage était aussi en partie produit par un jeu mécanique provenant du système 3 axes. Une loi empirique a été déterminée afin de compenser ce décalage.

FIGURE 5.2 – *Champ de pression généré par la sonde clinique en eau libre.*

Les champs de pression obtenus sont observables sur la figure 5.2. Les dimensions de la tache focale ($L_{6dB} = 9,7\lambda(\frac{F}{D})^2 = 35,9$ mm et $l_{6dB} = 1,4\lambda\frac{F}{D} = 5,2$ mm) ainsi que la distance de focalisation de la sonde ont ainsi pu être vérifiées expérimentalement. Ces mesures étaient préliminaires à des mesures du champ de pression émis au travers du demi-crâne.

5.2.2 Mesure de champ de pression au travers d'un crâne *ex vivo*

L'expérience a été réalisée avec un demi-crâne humain. L'échantillon de crâne a été fourni par le laboratoire d'anatomopathologie du CHU Grenoble Alpes, en collaboration avec le Dr. De Schlichting et le Pr. Chaffanjon. Le crâne étant sec lors de sa conservation, il est nécessaire de réintroduire de l'eau dans la partie spongieuse qu'est le diploé. Pour ce faire le demi-crâne est immergé dans de l'eau dé-ionisée à l'intérieur d'une cloche à vide. La pression a été maintenue à une pression proche de 0 bar pendant 48h avant l'expérience.

Ces mesures ont été réalisées en rajoutant au dispositif précédant le demi-crâne maintenu dans un cadre en aluminium (cf figure 5.3). Ce cadre était solidaire d'une plaque faisant office de support et qui était posée sur le fond de la cuve. Il était possible de repérer la position de 3 points particuliers du cadre afin de connaître sa position relative par rapport à l'hydrophone et à la sonde et permettre ensuite de faire une corrélation expériences-simulation. La cartographie du champ était ensuite reconstruite avec le même processus que lors de l'expérience en eau libre. Trois configurations différentes de positionnement du crâne et de la sonde ont été cartographiées, des représentations de ces positions sont schématisées dans la figure 5.4. Ces 3 positions différentes permettaient de couvrir une grande partie de la surface du crâne.

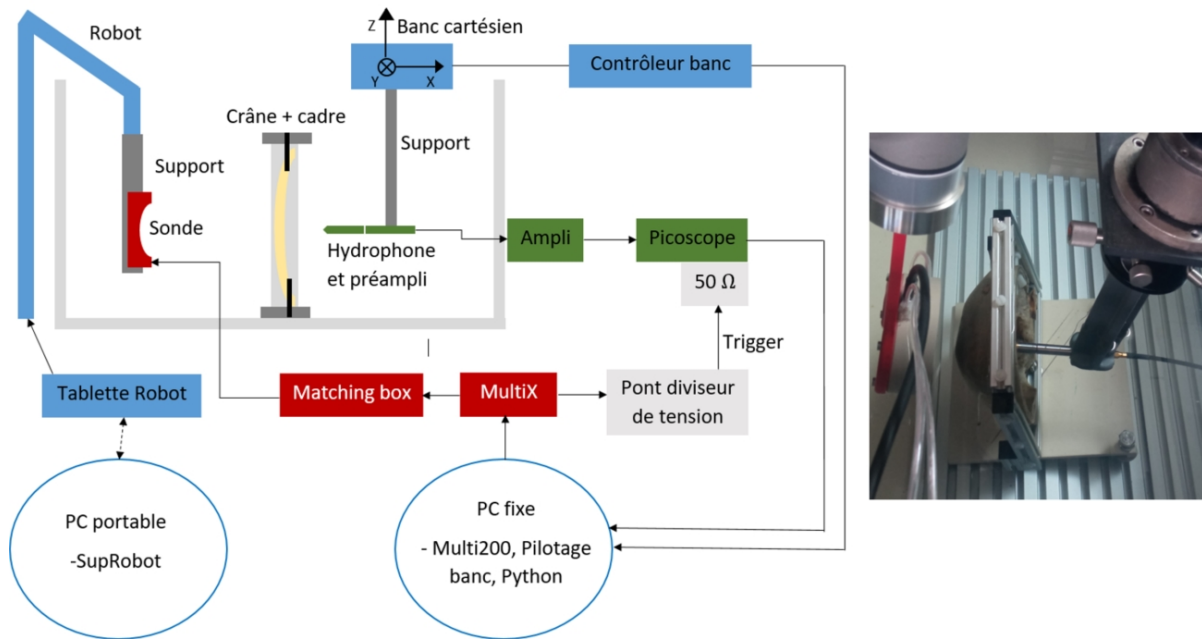


FIGURE 5.3 – Schéma et photographie du dispositif expérimental permettant de mesurer le champ de pression émis par la sonde clinique au travers d'un demi-crâne humain. La figure provient de la thèse de Célestine Angla (CÉLESTINE ANGLA 2023).

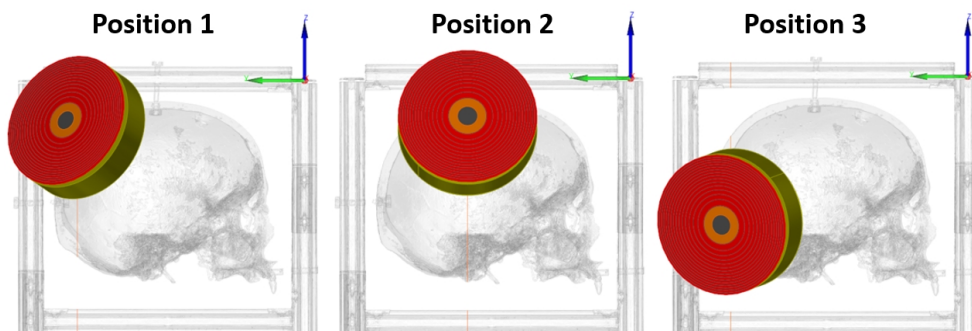


FIGURE 5.4 – Représentation des 3 différentes positions de la sonde par rapport au crâne lors des simulations et expériences de mesure de champs de pression générés au travers du crâne. Figure provenant également de la thèse de Célestine Angla (CÉLESTINE ANGLA 2023).

Le tableau 5.1 résume les valeurs de décalage et d'atténuation observées entre les champs de pression émis en eau libre et ceux après l'introduction du demi-crâne. Les cartographies du champ lors de la position 3 (celle présentant la tache focale la plus distordue et atténuée) sont représentées sur la figure 5.5.

	Position 1	Position 2	Position 3
Décalage du point focal (3D)	4,64 mm	1,73 mm	2,12 mm
Atténuation maximale	-13,12 dB	-13,70 dB	-17,91 dB

TABEAU 5.1 – Décalage du centre de la tache focale et atténuation de celle-ci par rapport à sa position et son intensité lors des différentes configurations de propagation au travers du crâne comparés à la position et pression obtenue lors d'essai en eau libre.

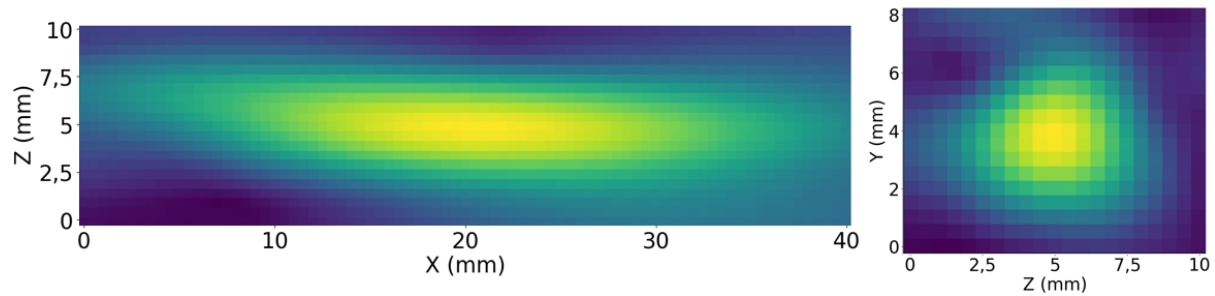


FIGURE 5.5 – *Champ de pression généré par la sonde clinique au travers d'un demi-crâne humain dans la position expérimentale numéro 3.*

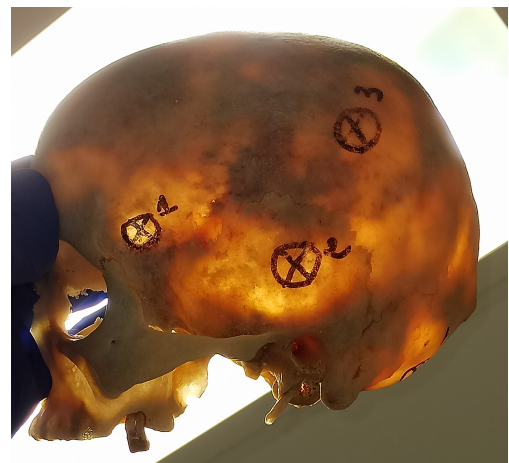
5.3 La mesure de la cavitation au travers du crâne

Afin de vérifier que la cavitation des MB est détectable au travers d'un crâne humain, une expérience a été menée pour mesurer *in vitro* les signaux rétro-diffusés par les MB après atténuation par un crâne humain. L'objectif de cette expérience était de mesurer les mêmes états de cavitation que dans le chapitre 2.

5.3.1 Dispositif expérimental



(a) Demi-crâne utilisé dans l'expérience



(b) Observation visuelle de l'épaisseur du crâne

FIGURE 5.6 – *Demi-crâne utilisé pour mesurer la transmission des signaux ultrasonores rétro-diffusés caractérisant la cavitation des MB. Observation visuelle de l'hétérogénéité de l'épaisseur du crâne par transparence à la lumière.*

L'expérience de mesure de la cavitation a été réalisée sur la deuxième moitié du demi crâne utilisé dans la thèse de Célestine Angla (CÉLESTINE ANGLA 2023) pour les corrélations expérience-simulation. Les mêmes étapes de dégazage du crâne devaient préalablement avoir lieu. Sur ce demi-crâne, plusieurs cibles avaient été placées à des endroits particuliers (cf figure 5.6).

Suite à une première expérience infructueuse, dans laquelle la cavitation avait été mesurée au travers de différentes parties du crâne, les expériences suivantes se sont concentrées sur la cible numéro 2. Cette cible se trouve sur l'os temporal qui est une des parties les plus fines du crâne. Pour mesurer la cavitation, le PCD utilisé est un PCD de fréquence centrale 1 MHz construit par Olympus® (Waltham, MA, USA). Il s'agit d'un piston plan de diamètre 28,6 mm et composé de PZT. Ce PCD a été

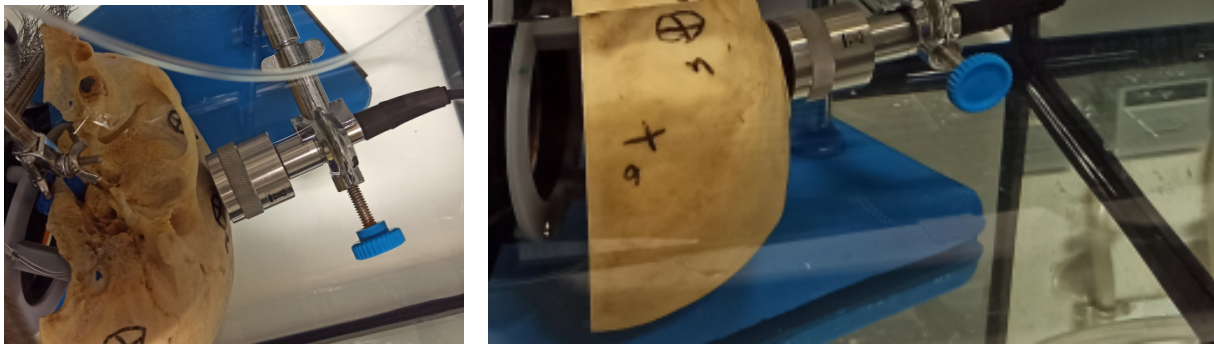


FIGURE 5.7 – PCD positionné en regard de la cible numéro 2, placée au niveau de la fenêtre acoustique de l'os temporal.

placé dans une cuve d'eau dé-ionisée (aquarium de 120 L) remplie aux deux tiers et dégazée préalablement pendant 4h de façon à atteindre un taux d'oxygène dissous inférieur à 30%. Le PCD a été placé au niveau de la cible 2 de façon la plus orthogonale possible à l'os et à une distance d'environ 3 mm (cf figure 5.7).



FIGURE 5.8 – Transducteur ultrasonore utilisé dans l'expérience de caractérisation de la cavitation à travers un demi crâne humain. Le transducteur est encastré dans un porte-sonde sur lequel est attaché la pièce en impression 3D permettant de positionner le capillaire dans la tache focale. Le bras mécanique verrouillable est lié au porte-sonde.

Le transducteur émetteur est celui utilisé lors des expériences sur les PNH. Il est maintenu dans un porte-sonde sur lequel une pièce en impression 3D permet de placer le capillaire (diamètre 0,8 mm) exactement au niveau de la tache focale du transducteur (cf figure 5.8). Ce transducteur est un transducteur focalisé de 14 canaux construit par Imasonic® (Imasonic SAS, Voray sur l'Ognon, France). Il possède une fréquence centrale de 500 kHz, une distance focale de 6 cm et un rayon de 7 cm.

Ce transducteur est positionné grâce au bras mécanique doté de 3 rotules à doigts, verrouillables par une vis manuelle, utilisé lors des expériences sur les PNH. Il est accroché au porte-sonde et permet donc de positionner les MB en cavitation à l'intérieur du capillaire avec une grande liberté de mouvement. Le principal inconvénient de ce dispositif est l'encombrement assez important que représente le porte-sonde équipé de la pièce en impression 3D. L'ensemble ne peut pas rentrer entièrement dans le demi-crâne bloquant de fait certaines positions, en particulier les positions avec les MB les plus proches du crâne. Toutefois, ces régions sont les moins intéressantes à traiter par ultrasons (difficulté de focalisation sans élévation de la température, zones les plus accessibles par chirurgie et nombre plus réduit d'applications).

5.3.2 Protocole

Lors de cette expérience les mêmes tirs ultrasonores que dans le chapitre 2 ont été émis : trapézoïdaux et triangulaires. Ces tirs ont été émis à une fréquence de 500 kHz. Le délai entre les tirs a été choisi à 150 ms afin d'assurer un renouvellement complet du liquide au niveau de la tache focale entre 2 tirs.

5.3.2.1 Choix de la concentration en microbulles

Le liquide circulant dans le capillaire était de l'eau non dégazée ou des dilutions de SonoVue®. Les dilutions des MB ont été choisies afin de reproduire le signal qui pourrait être rétro-diffusé lors d'une injection à la dose clinique conseillée. Il faut donc calculer le rapport entre le volume de sang excité et le volume du capillaire qui est excité avec notre dispositif. Il faut également calculer à combien la dose maximale de SonoVue correspond en termes de dilution du SonoVue dans le sang.

Cette dose correspond à 25 mL pour 5L de sang soit une dilution du SonoVue® d'un facteur 1:200. Dans notre expérience, seule la partie intérieure du capillaire présent dans la tache focale sera excitée. Cela correspond à un cylindre de rayon $r = 0,8$ mm et de hauteur L_{6dB} , la largeur de la tache focale. Son volume correspond à : $V_{vitro} = \pi r^2 L_{6dB}$.

Pour la tache focale dans le cerveau, le volume insonifié sera supérieur (pas de limitation de paroi du tube) et vaut : $V_{tache} = \frac{4}{3} \pi l^2 L$ avec l la largeur de la tache focale et L sa longueur. Il est raisonnable de considérer que 10% du cerveau est remplie de sang, ce qui correspond à 130 mL de sang pour un volume cérébral de 1300 mL. Le volume réel de sang excité correspond donc à $V_{réel\ tache} = 0,1 V_{tache} = \frac{4}{30} \pi l^2 L$.

Les applications numériques (pour ce transducteur) donnent : $V_{vitro} = 8,9 \text{ mm}^3$ et $V_{réel\ tache} = 28 \text{ mm}^3$. Pour obtenir une quantité de MB rétro-diffusant autant de signal que pour une expérience chez l'Homme, avec la dose maximale injectable, une approximation très simple consiste à utiliser une concentration 3 fois plus importante dans l'expérience *ex vivo* que chez l'Homme. La dilution des MB qui correspondrait serait 1:66. Les deux dilutions choisies dans cette expérience sont 1:27 et 1:100 qui permettent d'encadrer cette concentration.

Toutefois, des interactions bulles/bulles et des effets d'atténuation indésirables apparaîtront si la concentration de MB est trop importante.

5.3.2.2 Analyse des signaux rétro-diffusés

Un traitement du signal identique à celui des expériences *in vitro* de caractérisation de la cavitation (cf 2.2.3) a été réalisé. Une fois le spectre de chacune des fenêtres obtenu, les différentes composantes de chaque indice ont été choisies pour ne garder que celles présentant le plus de signal. Pour les harmoniques il s'agissait des composantes H_2 et H_3 . Pour les ultra-harmoniques il s'agissait des composantes SH et UH_1 . Pour le bruit large bande, les composantes sont les deux premières bandes d'intégration centrées sur $1,75f_0$ et $2,25f_0$.

5.3.3 Résultats

5.3.3.1 Différentes composantes des tirs trapézoïdaux

Les différentes composantes de chacun des indices harmoniques, ultra-harmoniques et du bruit large bande sont comparées sur les figures 5.9, 5.10 et 5.11 pour un tir trapézoïdal. Le filtrage passe bas du crâne est largement visible avec des composantes ayant un meilleur RSB plus leur fréquence est faible. La seule exception correspond aux ultra-harmoniques où les composantes SH et UH_1 ont les mêmes valeurs. Dans ce cas le caractère passe-bas du crâne est compensé par la bande passante du PCD, lui-même centré sur 1 MHz.

C'est à partir de ces graphiques que les composantes avec le plus de RSB sont sélectionnées pour chaque indice.

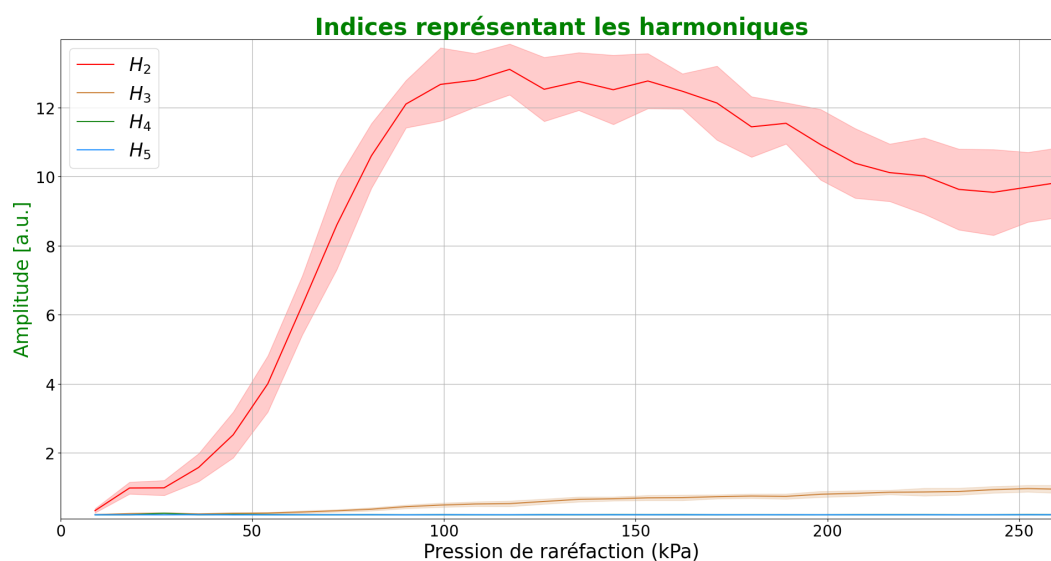


FIGURE 5.9 – Évolution des différentes composantes H_1 , H_2 , H_3 , H_4 qui représentent l'évolution des différents harmoniques mesurées au travers du crâne pour la dilution 1:100. Les composantes H_1 , H_2 sont les plus notables.

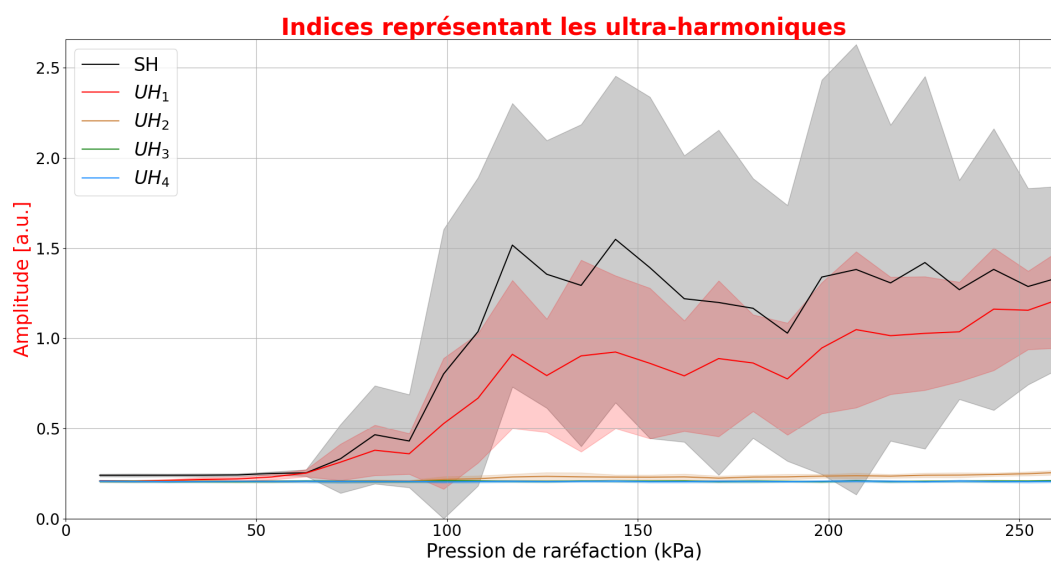


FIGURE 5.10 – Évolution des différentes composantes SH , UH_1 , UH_2 , UH_3 , UH_4 qui représentent l'évolution des différents ultra-harmoniques mesurées au travers du crâne pour la dilution 1:100. Les composantes SH , UH_1 sont les plus importantes.

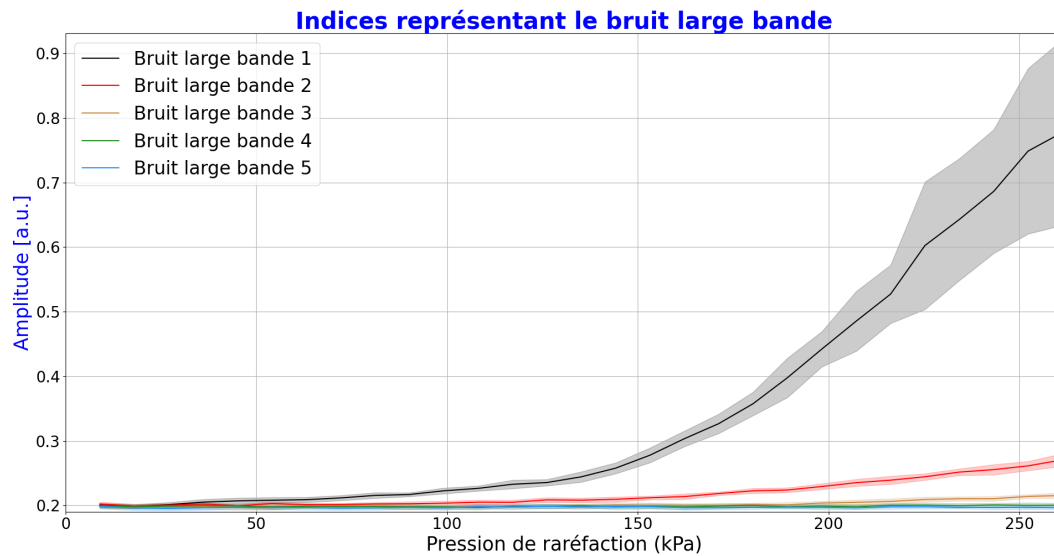


FIGURE 5.11 – Évolution des différentes composantes du bruit large bande mesurées au travers du crâne pour la dilution 1:100. Les deux composantes ayant les plus basses fréquences (centrées sur $1,75f_0$ et $2,25f_0$) sont celles avec le meilleur RSB.

5.3.3.2 Cartes de cavitation, tirs trapézoïdaux

Comme cela a été fait dans le chapitre 2, il est pertinent d’afficher les cartes de cavitation de chaque indice. Cela permet d’observer les apparitions des composantes et leur caractère plus ou moins transitoires.

L’indice représentant les harmoniques est détecté avec plus d’intensité en présence de MB (cf figure 5.12). En l’absence de MB, l’indice est parfaitement stable avec aucune variation durant les tirs. Pour les différentes concentrations de MB, l’indice est de plus en plus transitoire lorsque les pressions atteintes sont suffisantes pour faire apparaître de la cavitation inertielle correspondant à la destruction des MB et la perte du signal rétro-diffusé. L’indice va donc décroître au cours de ces tirs.

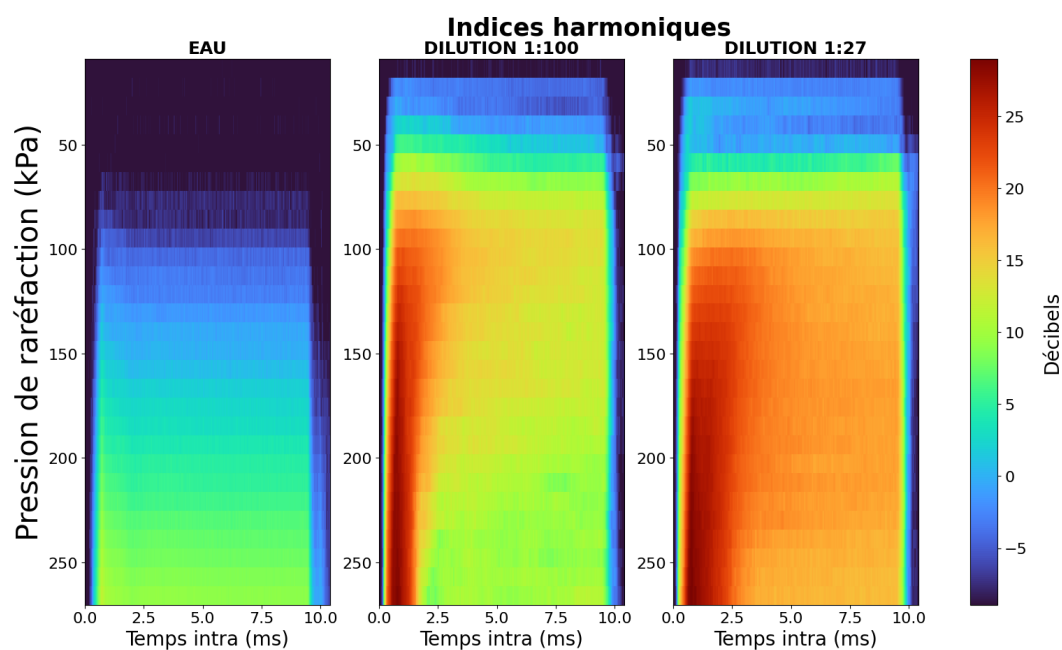


FIGURE 5.12 – Carte de cavitation où est affichée l'évolution des harmoniques mesurés au travers du crâne. Les indices évoluent avec la pression (axe vertical) et le temps au sein du tir (axe horizontal).

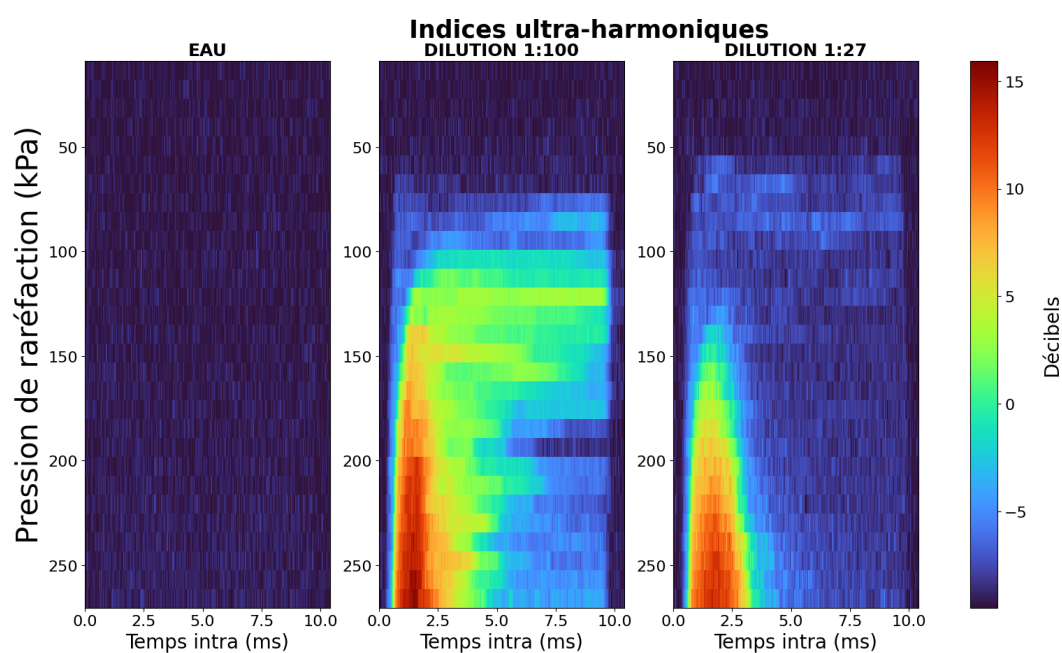


FIGURE 5.13 – Carte de cavitation où est affichée l'évolution des ultra-harmoniques mesurés au travers du crâne. Les indices évoluent avec la pression (axe vertical) et le temps au sein du tir (axe horizontal).

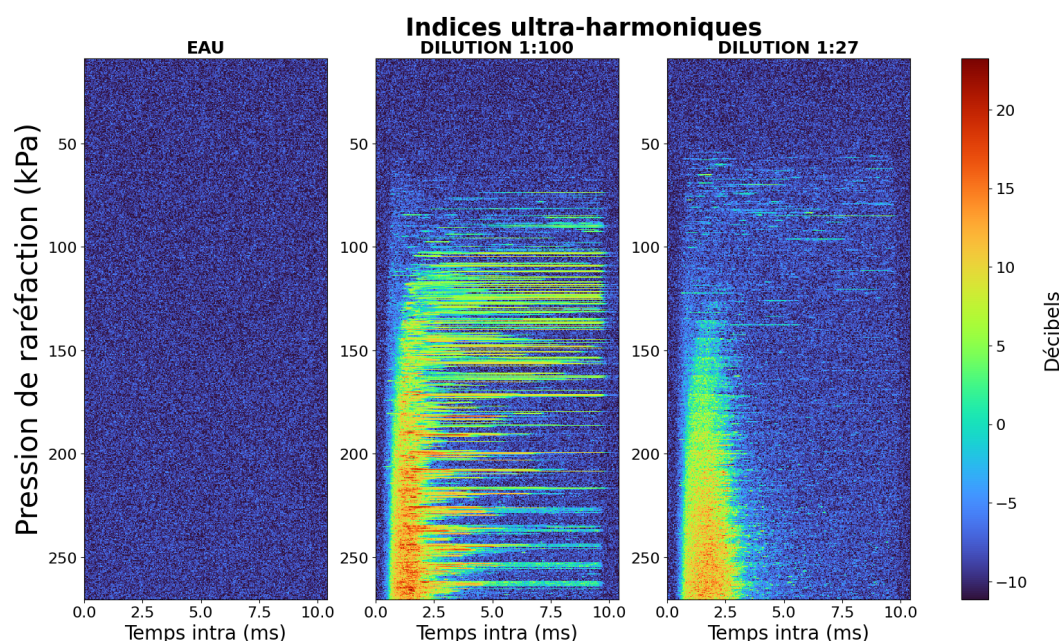


FIGURE 5.14 – Carte de cavitation où est affichée l'évolution des ultra-harmoniques mesurés au travers du crâne. Les indices évoluent avec la pression (axe vertical) et le temps au sein du tir (axe horizontal). Sur cette carte les 20 tirs émis à chaque pression ne sont pas moyennés mais représentés séparément. L'échelle de pression est légèrement trompeuse, du fait de la variation par palier de la pression, et non progressivement comme l'échelle semble l'indiquer.

Pour les ultra-harmoniques (cf figure 5.13), cet indice est détectable qu'en présence de MB. Il apparaît de manière transitoire pour les 2 concentrations de MB. Toutefois un phénomène différencie ces 2 concentrations : pour la dilution 1:100, à une pression proche de 100 kPa, les ultra-harmoniques apparaissent durant l'entièreté du tir. C'est uniquement au-delà de 150 kPa que le régime transitoire est observable avec une apparition uniquement en début de tir. Sur ces cartes, les indices sont moyennés pour les 20 répétitions de chaque pression. Toutefois en l'absence de cette moyenne, il est possible d'observer que les ultra-harmoniques n'apparaissent absolument pas dans certains tirs, seulement sporadiquement dans d'autres et enfin parfois pendant l'entièreté du tir (cf 5.14). Pour la dilution 1:27, ce phénomène est aussi présent mais avec un taux d'apparition beaucoup plus faible, ce qui le rend non détectable après moyennage. Cette expérience n'a été réalisée que deux fois et il est donc important de répéter ces résultats

La figure 5.15 permet d'observer l'évolution temporelle de l'indice du bruit large bande selon la pression et au sein des tirs. Comme attendu, cet indice n'est pas détecté dans l'eau du fait des faibles pressions appliquées. De la même façon que dans le chapitre 2, l'apparition de l'indice de bruit large bande est un phénomène transitoire apparaissant en début de tirs et qui est observable plus longtemps et avec plus d'intensité lorsque la concentration des MB augmente.

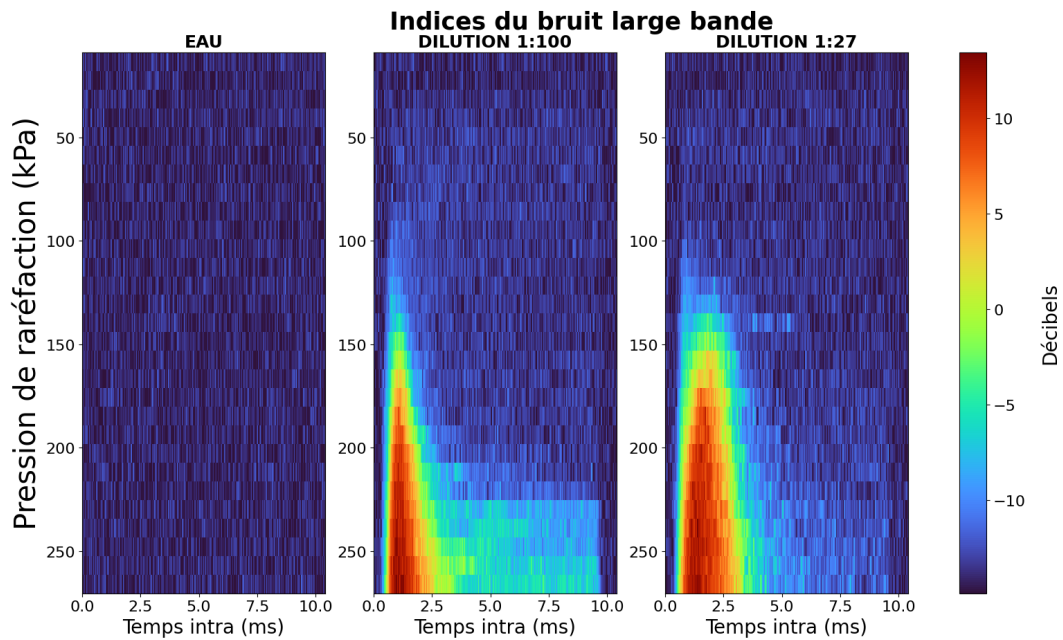


FIGURE 5.15 – Carte de cavitation où est affichée l'évolution du bruit large bande mesuré au travers du crâne. Les indices évoluent avec la pression (axe vertical) et le temps au sein du tir (axe horizontal).

5.3.3.3 Indices de cavitation pour les tirs trapézoïdaux

La figure 5.16 affiche pour chaque indice son évolution selon la pression pour les différentes dilutions de MB. Pour les harmoniques, les indices des 2 dilutions sont extrêmement similaires jusqu'à 80 kPa, pression d'apparition du bruit large bande. À partir de cette pression, l'indice des harmoniques est plus important pour la dilution la plus faible.

Pour l'indice des ultra-harmoniques, l'indice est plus fort pour la concentration la plus faible de MB ce qui est contre-intuitif. Cette différence provient des apparitions des ultra-harmoniques pendant certains tirs, ces apparitions transitoires sont beaucoup moins observées pour la dilution 1:27.

Pour le bruit large bande, les 2 dilutions ont des évolutions et des valeurs extrêmement proches.

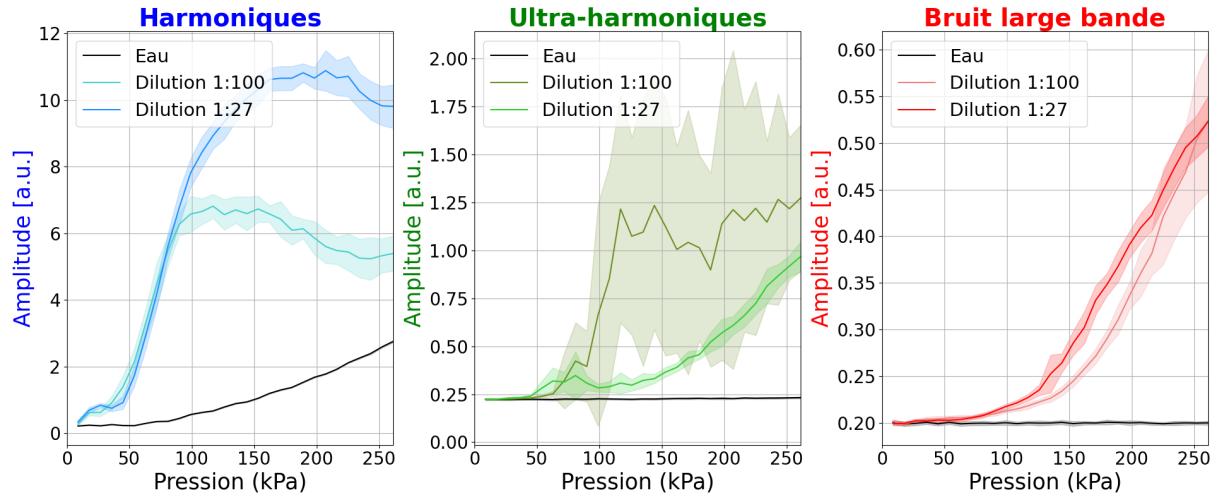


FIGURE 5.16 – Évolution des indices harmoniques, ultra-harmoniques et du bruit large bande mesurés au travers du crâne pour de l'eau et 2 dilutions de MB. Le nuage entourant chacune des courbes représente l'écart type associé. L'indice ultra-harmonique est détectable à partir d'une pression seuil de 54 kPa. L'indice du bruit large bande est observable à partir d'une pression seuil de 81 et 72 kPa pour les dilutions 1:27 et 1:100 respectivement. Ni les ultra-harmoniques ni le bruit large bande ne sont détectables sans la présence de MB.

5.3.3.4 Différents indices normalisés des tirs trapézoïdaux et triangulaires

Dans les sous-parties précédentes, seuls les tirs trapézoïdaux ont été représentés. En effet, les tirs triangulaires présentent des dynamiques d'apparitions moindres que pour les tirs trapézoïdaux, au travers du crâne, cet effet est amplifié. Le choix est fait de ne présenter pour ce type de tir que les indices normalisés pour chaque dilution. Ces représentations donnant un aperçu suffisant des dynamiques d'apparition des différents indices.

Ainsi la figure 5.17 et 5.18 représentent les indices normalisés pour les tirs trapézoïdaux et triangulaires. Les différents seuils d'apparition de chaque indice sont indiqués dans le tableau 5.2

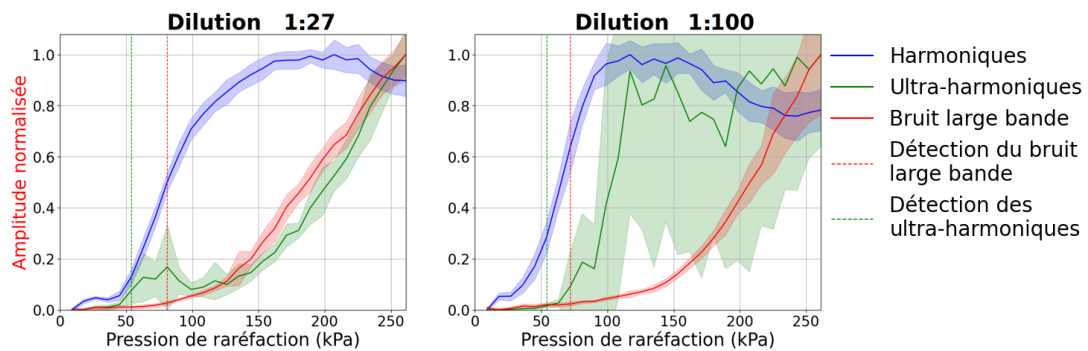


FIGURE 5.17 – Évolution des différents indices de cavitation qui ont été normalisés entre 0 et 1 pour la dilution 1:17 et 1:100 pour les tirs trapézoïdaux. Les ultra-harmoniques apparaissent pour des pressions supérieures à 54 kPa pour les 2 dilutions. Le bruit large bande est détecté à partir de 81 kPa pour la dilution 1:27 et 72 kPa pour la dilution 1:100.

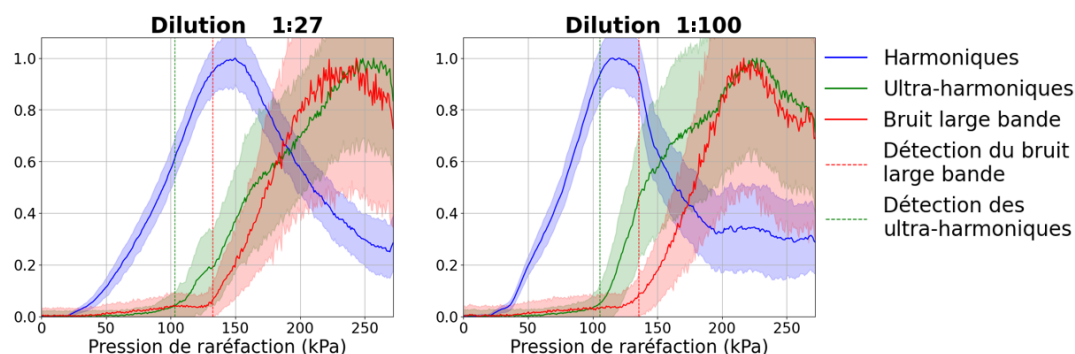


FIGURE 5.18 – Évolution des différents indices de cavitation qui ont été normalisés entre 0 et 1 pour la dilution 1:27 et 1:100 pour les tirs triangulaires. Les ultra-harmoniques apparaissent pour des pressions supérieures à 105 kPa et le bruit large bande est détecté à partir de 132 kPa pour les 2 dilutions.

Dilution	Seuils de pression des ultra-harmoniques		Seuils de pression du bruit large bande	
	1:27	1:100	1:27	1:100
Tirs trapézoïdaux	54 kPa	54 kPa	81 kPa	72 kPa
Tirs triangulaires	103 kPa	105 kPa	132 kPa	136 kPa

TABEAU 5.2 – Seuils de pression d'apparition des composantes ultra-harmoniques et de bruit large bande pour les différentes dilutions et pour chaque forme de tir.

5.3.4 Discussion

Ces mesures de cavitation au travers du crâne permettent de valider la possibilité de mesurer un signal exploitable malgré l'atténuation de l'os. Le filtrage passe-bas fréquentiel produit par le crâne est bien observable lors de l'analyse comparée des différentes composantes d'un même indice. Les composantes dont la fréquence est la plus faible ont un RSB plus important. Chez l'Homme, il est donc pertinent de sélectionner un PCD dont la fréquence centrale n'est pas trop importante afin d'avoir la meilleure sensibilité pour capter les composantes avec les fréquences les plus faibles qui seront celles qui traverseront le crâne avec le meilleur RSB.

Les cartes de cavitation obtenues sont similaires à celles du chapitre 2. L'apparition transitoire du bruit large bande y est observable. L'indice des ultra-harmoniques est détectable pendant l'entièreté ou des parties des tirs, principalement pour la dilution la plus forte, sur une plage de pression avant de devenir transitoire en début de tir au même titre que le bruit large bande.

De plus, les tirs non moyennés permettent de noter une variation de la réponse des MB au cours du temps. Les tirs réalisés en début d'expérience sont plus propices à une apparition prolongée des ultra-harmoniques comparés à ceux émis en fin d'expérience à la même pression. Ce caractère est moins observable dans les expériences réalisées dans le chapitre 2. Cette différence est en partie expliquée par la longueur du capillaire, environ 1 m, entre le béccher en agitation et la tache focale. Cette longueur prolonge la durée de vie et de circulation des MB avant les tirs ultrasonores. L'agrandissement du capillaire est provoqué par les dimensions de la cuve ainsi que de la plus grande complexité du dispositif autour du transducteur.

Les courbes représentant les différents indices moyennés pour l'ensemble des tirs et chaque pression ont des comportements similaires à ceux qui ont été observé sans la présence du crâne. Toutefois, la présence des ultra-harmoniques pendant l'entièreté des tirs dans la plage de pression allant de 100 à 150 kPa, pour la dilution 1:100, résulte en un plus fort indice en comparaison de la dilution 1:27. L'absence d'apparitions similaires des ultra-harmoniques pour la dilution 1:27 est plus complexe

à expliquer.

Dans la partie résultats peu de graphiques concernent les résultats pour les tirs triangulaires. En effet, ces tirs avaient été, en l'absence de crâne, peu efficaces à faire apparaître les composantes ultra-harmoniques et inertielles. Dans ces tirs avec un RSB dégradé, les résultats ont été très proches, de ce obtenu sans la présence d'un crâne, avec encore une apparition très tardive des différents indices de cavitation non stable. Ce constat est flagrant sur la figure 5.18 et le tableau 5.2.

L'indice des ultra-harmoniques est détecté à des pressions inférieures à celles l'indice du bruit large bande pour l'ensemble des tirs et des formes des tirs. Cela est particulièrement intéressant dans l'optique d'avoir un contrôle permettant de détecter de façon précoce l'apparition de la cavitation inertielle. De plus, l'apparition du bruit large bande pour les tirs trapézoïdaux se fait pour un indice mécanique de 0,11. C'est exactement la même valeur que ce qui a été observé pour les expériences sans crâne avec une fréquence d'émission à 1,5 MHz. Les ultra-harmoniques ont pour leur part été détectés à un indice mécanique de 0,08 contre 0,14 dans l'expérience sans crâne.

Dans l'optique d'essais cliniques, il semble donc pertinent de se concentrer sur l'indice des ultra-harmoniques en ayant un PCD possédant la meilleure sensibilité et une fréquence centrale relativement proche de la fréquence d'émission. Dans notre expérience, le PCD avait une surface presque 80 fois plus grande que celle de l'expérience sans crâne (rayon de 28,9 mm contre 3 mm). Cela permet de compenser en partie l'atténuation du signal par le crâne.

5.4 Contrôle de la cavitation au travers du crâne

5.4.1 Méthode

Le contrôle de cavitation a été réalisé avec le même algorithme de contrôle que celui présenté au chapitre 4 pour des tirs triangulaires. Le même taux de faux positifs a été utilisé, 0,037%, pour calculer à partir des signaux de référence les valeurs des paramètres β_{UH} et β_{BB} .

La seule différence a été le choix des bandes d'intégration utilisées pour le contrôle des ultra-harmoniques. Dans le chapitre 4, il s'agissait de UH_1 et UH_2 , au vu des résultats obtenus dans la partie mesure, les 2 composantes des ultra-harmoniques choisies ont été SH et UH_1 afin d'optimiser le signal traversant le crâne.

Un total de 4 expériences a été réalisé avec le même dispositif que pour les mesures de la cavitation de la partie précédente. Toutefois, la configuration matérielle a varié car l'expérience a dû être remontée. Deux dilutions différentes de MB ont été utilisées : 1:27 et 1:100. Pour chaque dilution, 2 contrôles ont été effectués à quelques minutes d'intervalle.

5.4.2 Résultats

5.4.2.1 Signaux de référence

Les signaux de référence permettent de choisir les seuils encadrant les valeurs des indices normalisés lors de l'absence de cavitation. La figure 5.19 permet de visualiser pour les expériences 2 (dilution 1:27) et 3 (dilution 1:100), une représentation de ces indices et des seuils associés. Les valeurs de seuils qui ont été calculées pour β_{UH} et β_{BB} au cours des 4 expériences sont répertoriées dans le tableau 5.3.

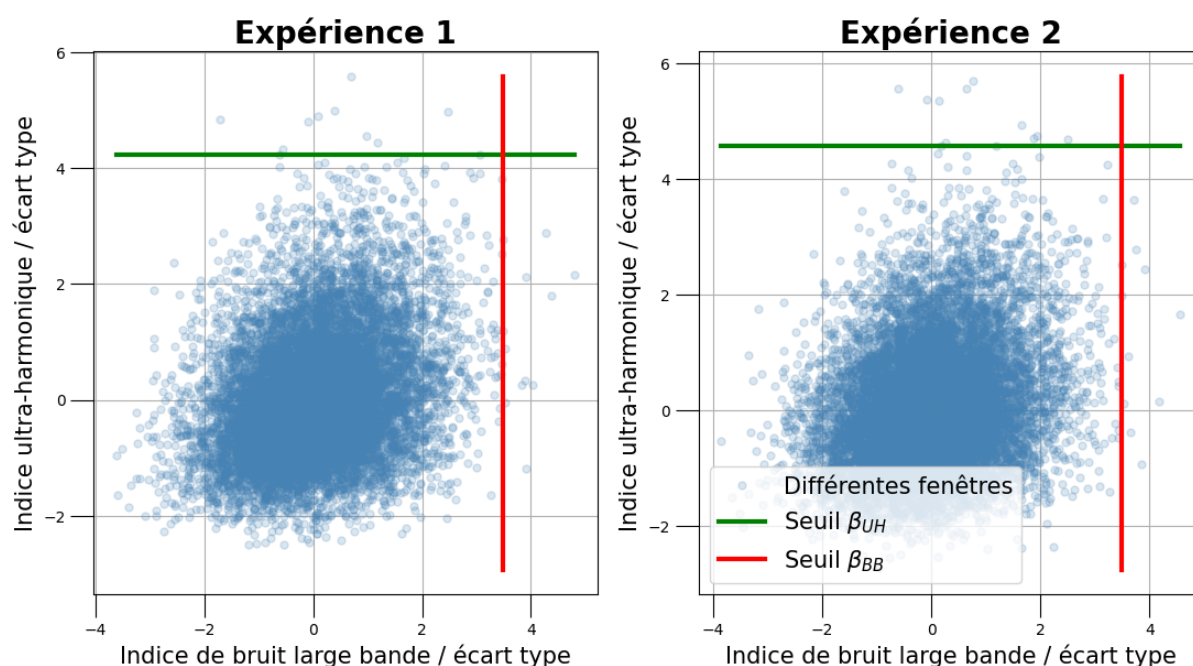


FIGURE 5.19 – Représentation des différents indices normalisés obtenus pour chaque fenêtre de chaque tir de référence. Les seuils calculés à partir de ces indices sont représentés en vert pour les ultra-harmoniques et en rouge pour le bruit large bande. Pour les expériences 1 et 2, 10 faux positifs ont été choisis pour le calcul des seuils.

Expérience	Dilution	β_{UH}	β_{BB}	Pourcentage de tirs avec maintien	Pourcentage des tirs interrompus
1	1:27	4,7	3,4	100%	4,85%
2	1:27	4,3	3,4	99,2%	3,18%
3	1:100	4,4	3,3	100%	0,84%
4	1:100	4,6	3,4	100%	1,51%

TABLEAU 5.3 – Différentes valeurs de β_{UH} et β_{BB} calculées à partir des signaux de référence pour chaque expérience de contrôle de la cavitation au travers du crâne. Pour chaque expérience, est comptabilisé le pourcentage des tirs détectés des événements de cavitation non stable pendant la rampe de pression ainsi que celui de tirs ayant été interrompus. L'idéal est de tendre vers les 100% de maintien et 0% d'interruption.

5.4.2.2 Contrôle en présence de microbulles

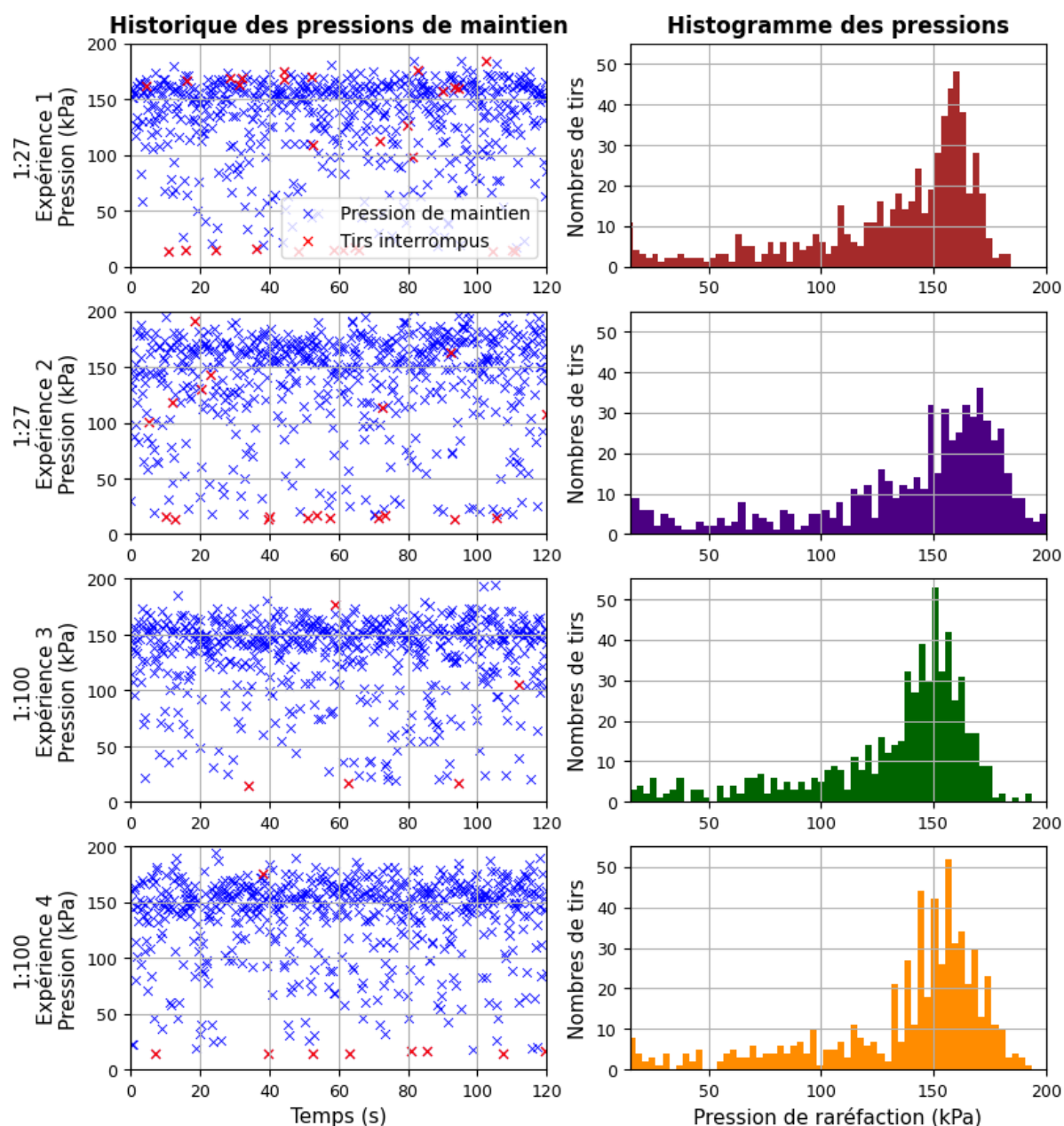


FIGURE 5.20 – Historiques et histogrammes des pressions pour les 4 expériences de contrôle de la cavitation au travers d'un demi-crâne humain. Les dilutions des MB étaient 1:27 pour les expériences 1 et 2, et 1:100 pour les expériences 3 et 4.

La figure 5.20, permet de visualiser les convergences des différentes expériences. La représentation temporelle permet d'observer la stabilité du contrôle ainsi que les différents tirs qui ont dû être interrompus. Les différents contrôles présentent des résultats très similaires. Le tableau 5.3 regroupe l'ensemble des valeurs des tirs ayant convergé vers une pression et de ceux qui ont été interrompus pour chaque expérience. Un seul tir n'a pas convergé dans l'expérience numéro 2 mais cela ne serait pas arrivé si la pression maximale avait été plus élevée.

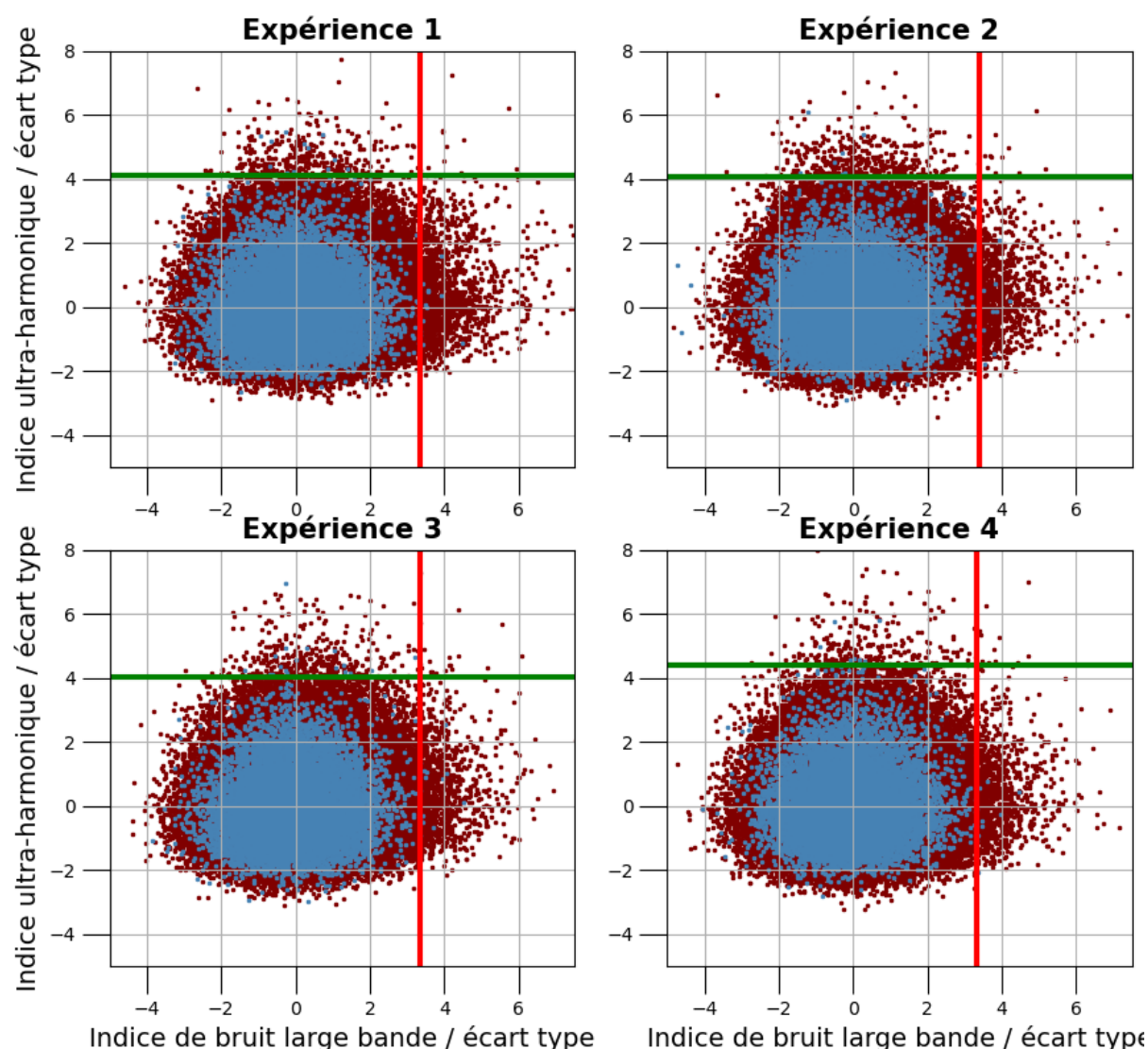


FIGURE 5.21 – Représentation des différentes fenêtres avec les valeurs de chaque indice pour chacune d'entre elles. En bleu sont représentés les indices des tirs de référence et en terre de Sienne ceux du contrôle. Les 4 expériences de contrôle de la cavitation des MB sont représentées avec les tirs de références ayant permis de calculer les valeurs des seuils β_{UH} et β_{BB} . Les dilutions des MB étaient 1:27 pour les expériences 1 et 2, et 1:100 pour les expériences 3 et 4.

Il est possible de superposer sur les nuages de points des tirs de référence, les fenêtres et leurs indices associés lors du contrôle de cavitation en présence de MB (cf figure 5.21). Cette représentation permet d'observer que les indices de bruit large bande dépassent la limite plus fréquemment que celui des ultra-harmoniques. De plus les valeurs atteintes par l'indice du bruit large bande sont un peu plus importantes que celle de l'indice des ultra-harmoniques.

Quelques fenêtres combinent un bruit large bande et des ultra-harmoniques très importants simultanément. Ces fenêtres proviennent de l'interruption des tirs ou de la réduction de l'amplitude. En effet, ces discontinuités produisent dans le domaine fréquentiel du bruit large bande, qui est donc apparent sur les 2 indices surveillés.



FIGURE 5.22 – Évolution temporelle de 2 tirs ultrasonores aux comportements différents. Sur le premier tir, la réduction de l'amplitude est observable après le dépassement de l'indice de bruit large bande. Après la réduction en pression, l'indice de bruit large bande diminue sans revenir à des valeurs aussi faibles que pour la première partie du tir. Dans le deuxième tir, après la réduction de l'amplitude, l'indice de bruit large bande ne diminue pas et le tir est alors interrompu.

La figure 5.22 permet d'observer l'évolution temporelle de 2 tirs ultrasonores lors de la première expérience en présence des MB. Sur les 2 tirs, il est possible d'observer l'augmentation de l'indice de bruit large bande, lors des variations soudaines de l'amplitude, provoquées par la modulation du FPGA.

Sur le premier tir, la réduction de l'amplitude est observable après le dépassement de l'indice de bruit large bande. Après cette réduction en pression, l'indice de bruit large bande redevient inférieur à la limite calculée par le FPGA. Toutefois sa valeur moyenne est légèrement plus importante que lors de la première partie du tir. Durant quelques fenêtres l'indice dépasse la limite. Ces dépassements ne sont pas consécutifs et ils ne déclenchent donc pas l'interruption du tir. Toutefois cela crée des valeurs d'indice de bruit large bande plus importantes durant la partie à pression constante comparé au début du tir. Cela permet d'expliquer le grand nombre de fenêtres où l'indice du bruit large bande dépasse sa limite dans la figure 5.21.

Dans le deuxième tir, après la réduction de l'amplitude, l'indice de bruit large bande ne diminue pas et le tir est alors interrompu. Toutefois le délai avant l'interruption du tir permet d'observer que l'indice de bruit large bande était malgré tout en train de diminuer entre la réduction de pression et l'interruption du tir.

5.4.3 Discussion

Dans cette partie, l'algorithme de contrôle de la cavitation intra-tir a été utilisé pour contrôler la cavitation au travers d'un crâne humain. Ce crâne *ex vivo* est la meilleure reproduction des conditions d'atténuation qui seront rencontrées lors d'essais cliniques. Cette expérience a permis d'observer l'apparition de l'indice de bruit large bande. Pour l'ensemble des tirs, de la cavitation non stable a été détectée lors de l'augmentation de l'amplitude. De plus moins de 5% des tirs ont par la suite été interrompus suite à une réapparition de la cavitation non stable.

Il s'agit de résultats positifs. Premièrement, le fait que l'ensemble des tirs converge signifie que le RSB est suffisant pour détecter la cavitation non stable lors de phases d'augmentation progressive de la pression. Toutefois si ces résultats sont comparés aux résultats obtenus dans le chapitre 4, une différence notable est observable sur le nombre de tirs interrompus. En effet, lors de tirs sans crâne, un peu moins de 1% des tirs sont interrompus contre entre 4% et 1% selon la dilution et en présence du demi-crâne. Dans l'évolution temporelle des tirs, une variation est observable entre la valeur moyenne de l'indice du bruit large bande avant l'apparition de la cavitation non stable et après le maintien de la pression (cf figure 5.22). Cette variation est probablement due à une détection retardée suite à une diminution du RSB. Il est donc probable que la réduction de la pression ne suffise pas à faire entièrement refluer la cavitation inertielle. C'est pourquoi le peu de cavitation inertielle encore présente est capté et conduit à cette augmentation de la moyenne de l'indice de bruit large bande.

Dans une optique d'accroître la sécurité de ce contrôle, l'algorithme serait modifié pour proposer une réduction en pression ajustable. Cette réduction pourrait être adaptée à partir de corrélation entre les mesures de l'épaisseur du crâne et des expériences *in vitro*. Un autre moyen de déterminer une réduction de pression permettant de compenser l'atténuation du signal rétro-diffusé par le crâne serait l'utilisation de simulations de la propagation des ultrasons au travers de l'os du crâne. Les données permettant de faire ces simulations pourraient être obtenues à partir d'images de scanner X.

Le dispositif expérimental utilisé est efficace pour tester *ex vivo* différents algorithmes de contrôle de la cavitation. Toutefois il présente quelques inconvénients. Premièrement le demi-crâne constitue un objet de taille conséquente et le positionnement des différents transducteurs à proximité nécessite une cuve de taille importante (au moins 60 L). Deuxièmement, la forme de demi-sphère du crâne va fortement complexifier le positionnement de plusieurs capteurs qui seraient pointés sur le capillaire.

Une amélioration possible est l'utilisation de morceaux plus petits de ce crâne ou même idéalement de plusieurs fenêtres temporelles, car il s'agit de la section où sont destinés à être placés les PCD. Ces différentes fenêtres pourraient être placées orthogonalement à quelques millimètres des PCD pour produire l'atténuation d'un crâne. Un dispositif permettant de changer facilement la fenêtre temporelle utilisée permettrait alors de tester différents échantillons pour être plus représentatif de la population générale. Cela limiterait aussi l'encombrement et permettra l'utilisation d'un deuxième PCD orienté aussi vers le capillaire, celui-ci sans crâne sur la trajectoire de propagation des ultrasons, afin de mesurer plus précisément l'effet du crâne.

L'amélioration la plus notable à réaliser serait l'utilisation d'un contrôle dissocié selon les différentes bandes fréquentielles du bruit large bande. En effet, au vu des résultats de la partie des mesures, un algorithme utilisant uniquement les 2 premières bandes fréquentielles permettrait d'améliorer le RSB de cet indice. Il n'a pas été possible d'adapter ce paramètre entre les expériences à cause de la nécessité de devoir recompiler le programme du FPGA pour cette modification. Toutefois les résultats attendus avec une telle modification pourraient être nettement meilleurs. En effet, le bruit large bande même moyenné avec des bandes fréquentielles peu sensible était plus sensible que le sous-harmonique pourtant à très faible fréquence.

5.5 Conclusion

Ce chapitre a permis de mettre en évidence que les fondamentaux pour perméabiliser la BHE chez des sujets disposant d'un crâne intact existent. Une première partie peu détaillée mais qui l'a été dans le cadre de la thèse de Célestine Angla (CÉLESTINE ANGLA 2023), montre qu'il est possible de créer des champs de pression suffisamment focalisés et intenses pour perméabiliser la BHE et en particulier avec la sonde envisagée pour le passage à l'Homme. La forme et l'intensité du champ de pression sont estimables avec précision à partir de simulations.

Des algorithmes de contrôle de la cavitation peuvent ensuite être mis en place une fois le transducteur positionné de façon à cibler les régions d'intérêt. Ces algorithmes permettent d'éviter l'apparition de la cavitation non stable et de préserver l'intégrité des tissus cérébraux. Dans ce chapitre, un algorithme a pu être mis en place afin de définir pour chaque tir ultrasonore une amplitude produisant la pression adaptée pour ne pas faire apparaître de cavitation non stable. D'autres algorithmes sont évidemment envisageables, mais la capacité d'obtenir des indices pertinents et significatifs au travers d'un crâne est tout de même démontrée.

Des mesures de cavitation au travers du crâne avec différentes dilutions des MB, forme de tirs et valeurs de pression ont été réalisées. En optimisant les différentes composantes utilisées pour maximiser le RSB des indices, il est possible d'améliorer significativement l'algorithme qui a été ici employé. Ainsi le nombre de tirs qui ont dû être interrompus suite à une non-disparition de la cavitation non stable pourrait être encore réduit même si le résultat est déjà proche de ce qui est fait sans crâne.

Enfin, dans cette expérience, les conditions de mesure étaient optimales avec le capillaire dans l'axe du PCD. Il pourrait être pertinent de déplacer le capillaire et la tache focale pour estimer le volume dans lequel le RSB est suffisant pour permettre un contrôle de la cavitation. L'utilisation de plusieurs PCD (un sur chaque tempe) permettrait d'accroître le volume dans lequel le RSB du signal rétro-diffusé est suffisant pour un contrôle. Adapter légèrement l'orientation du PCD pour cibler la région d'intérêt pourrait aussi être un moyen d'améliorer le signal récupéré par le PCD.

Conclusion générale

Ce travail de doctorat a commencé par un état de l'art exhaustif de l'ensemble des algorithmes utilisés pour perméabiliser la BHE. Les différents algorithmes ont ainsi été classés selon leur principe de fonctionnement. Cela a constitué un point de départ pour la création d'un algorithme de contrôle de la cavitation. Cet état de l'art a aussi permis de comparer les méthodes de calcul des différents indices utilisés dans l'ensemble de ces études. Ces indices constituent la seule source d'information des différents algorithmes pour contrôler la cavitation.

Avant de créer un algorithme de contrôle de la cavitation, plusieurs expériences *in vitro* ont été conduites. Ces expériences ont été réalisées avec un transducteur utilisé chez le rongeur. Une pièce en impression 3D a permis de maintenir un capillaire au centre de la tache focale du transducteur permettant de simuler un flux de MB au niveau de sa tache focale. Cette expérience a permis de mesurer le comportement de différentes concentrations de MB excitées avec une large plage de pressions. Différentes variations sur le calcul des indices de cavitation ont alors été comparées.

En parallèle de ces expériences, une carte FPGA a été mise en fonctionnement pour permettre un contrôle de la cavitation des MB de façon ultra-rapide. Ces électroniques permettent de contrôler la cavitation de façon intra-tirs en effectuant des variations de la pression de tirs entre chaque fenêtre temporelle du signal. Les capacités de contrôle de la cavitation sont alors décuplées du fait de la très grande vitesse de réponse de l'algorithme. Ainsi des variations de pression sont introduites avec une réaction en quelques centaines de microsecondes, alors qu'il était auparavant impossible de faire varier l'amplitude plus rapidement que la fréquence de répétition des tirs.

En plus des mesures *in vitro*, des mesures complémentaires *in vivo* ont été réalisées. Ces mesures visaient à vérifier l'apparition des mêmes indices avec les mêmes comportements dans un réseau vasculaire que dans un capillaire. Toutefois les tirs utilisés lors de ces contrôles étaient des tirs triangulaires, et il est apparu que ces tirs étaient bien moins sujets à faire apparaître les indices de cavitation non stables : les ultra-harmoniques et le bruit large bande. Toutefois ces expériences ont tout de même servi à quantifier les composantes de chaque indice possédant le meilleur RSB. Ces composantes ont été privilégiées dans le calcul des indices pour rendre l'algorithme le plus réactif possible.

Différents indices de cavitation et leurs différentes variations ont été expérimentés au cours de cette thèse. Grâce aux acquisitions *in vitro* et *in vivo*, ils ont été optimisés afin d'être robustes tout en étant les plus sensibles et représentatifs des différents phénomènes de cavitation. Le gain obtenu pour les algorithmes de contrôle de la cavitation n'est pas majeur, mais a été recherché.

En parallèle à ces activités, des expériences chez le PNH étaient régulièrement conduites afin d'accumuler de l'expérience et des données sur l'ouverture de la BHE chez le gros animal. L'ensemble de ces données a été exploité pour créer un indicateur permettant de discriminer la position de la cavitation chez le primate. En effet le primate présente des muscles sur la tête suffisamment épais pour que la cavitation puisse se produire à l'intérieur de ces derniers. Toutefois le signal provenant de ces muscles induit en erreur l'algorithme qui risque de converger à des pressions trop faibles. Il a toutefois été possible d'exploiter le filtrage passe bas fréquentiel du crâne sur le signal de cavitation, pour différencier la cavitation présente dans les muscles de celle présente dans le cerveau. L'algorithme utilisé pour le PNH a été modifié pour être capable d'ignorer le signal rétro-diffusé par les MB pré-

sentes dans les muscles.

Une fois ces expériences réalisées, j'ai entrepris la construction d'un algorithme de contrôle de la cavitation, basé sur une augmentation progressive de la pression ultrasonore au sein de chaque tir. Cette augmentation était interrompue lorsque de la cavitation non stable était détectée. L'apparition de cavitation non stable est détectée en tirant parti des trois premières millisecondes de l'enregistrement acoustique pour lesquelles aucun ultrason n'est émis. La valeur moyenne et l'écart type de chaque indice sont calculés permettant de calculer des valeurs limites d'apparition de la cavitation non stable. L'algorithme a subi plusieurs modifications suite aux résultats lors d'expériences *in vitro*. Plusieurs fonctionnalités ont été ajoutées pour répondre à différentes problématiques apparues lors des expériences.

Tout d'abord, le temps de réaction du FPGA a été considéré pour éviter de maintenir la pression émise à des valeurs supérieures à celles où de la cavitation non stable avait été détectée. Suite à quelques expériences *in vivo*, la nécessité est apparue d'interrompre des tirs pour lesquels de la cavitation non stable continuait d'apparaître après le maintien de la pression. Cette modification permettait d'assurer une apparition de cavitation inertielle la plus courte possible. Des expériences *in vivo* et *in vitro* ont été menées avec cet algorithme pour valider son fonctionnement.

Enfin des expériences avec un crâne humain *ex vivo* ont été menées afin d'estimer la capacité du PCD à capter le signal de cavitation provenant de MB situées à l'intérieur d'un crâne humain. Ces expériences ont été conduites avec différentes concentrations de MB et il a été montré que les indices signifiant la présence de cavitation non stable étaient détectables à travers le crâne. Le caractère passe-bas fréquentiel du crâne entraîne un meilleur RSB sur les composantes avec des fréquences faibles. De ce fait le sous-harmonique est détecté à des pressions plus faibles que le bruit large bande.

Des contrôles de cavitation avec le PCD placé en dehors du crâne ont aussi été menés. Dans ces expériences il a été possible de détecter de la cavitation non stable dans l'ensemble des tirs lors des rampes de pression. Moins de 5% des tirs ont été interrompus suite à ces maintiens. Cela montre que la cavitation non stable reflue bien lors du maintien de la pression par l'algorithme. L'utilisation du sous-harmonique dans le code du FPGA devrait permettre d'avoir une détection plus précoce et réduire encore le pourcentage de tirs interrompus.

Cette thèse a donc permis de construire un algorithme de contrôle de la cavitation en exploitant l'extrême rapidité de l'électronique FPGA. Ce contrôle a tiré parti des expériences précédemment menées *in vivo* et *in vitro* permettant d'utiliser les indices les plus pertinents. Ce contrôle a été testé *in vitro* et *in vivo*. De plus la translation du projet vers la clinique a été envisagée avec une expérience *ex vivo* montrant la possibilité de détecter et réguler la cavitation au travers d'un crâne humain.

De nombreux domaines restent inexplorés et à prolonger suite à cette thèse. Premièrement, si de nombreux tirs ultrasonores ont déjà été réalisés en mouvement, aucun d'entre eux n'avait été effectué avec un algorithme de contrôle de la cavitation, ni même avec un PCD. La translation clinique va pourtant nécessiter à terme des perméabilisation dans des volumes supérieurs aux taches focales des transducteurs utilisés. Si l'option de la focalisation électronique est possible, le déplacement d'un transducteur en émission continue reste une solution inexploitée jusqu'à ce jour. De nombreux travaux de recherche sont possibles : mesurer des signaux de cavitation lors de tirs en déplacements uniforme et ensuite adapter des algorithmes pour obtenir une rétroaction de la pression lors de ces tirs en mouvement.

Deuxièmement, des algorithmes toujours plus complexes sont imaginables en tirant profit de la rapidité des FPGA. Dans cette thèse, le FPGA a été utilisé sans chercher à maximiser à tout prix sa vitesse de calcul et donc de rétroaction. En effet, les 250 μ s de délais étaient déjà extrêmement rapides comparés aux contrôles tirs après tirs. Toutefois, des contrôles plus poussés utilisant pleinement les

capacités de modulation du signal du générateur associé au FPGA contribueraient à produire des algorithmes beaucoup plus efficaces qui pourraient tenter de maximiser la cavitation stable sans simplement chercher à trouver les pressions maximales pour lesquelles aucune cavitation inertielle n'apparaît.

Communications scientifiques

Les projets de cette thèse de doctorat ont donné lieu à plusieurs publications et communications scientifiques.

Publications dans des journaux internationaux

- **P Mondou**, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell and B Larrat, *State of the art on micro-bubble cavitation monitoring and feedback control for blood-brain-barrier opening using focused ultrasound*, Physics in Medicine & Biology, Volume 68, Number 18, 2023
- **P Mondou**, C Morisset, C Cornu, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell, Z Qi, R Aron Badin, J Flament and B Larrat, *Discrimination between intra-cerebral and muscular cavitation for BBB opening in NHP with the spectral content of the backscattered signal*, en préparation
- **P Mondou**, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell and B Larrat, *In vitro characterization of microbubbles cavitation for optimized BBB opening*, en préparation

Publications dans des congrès internationaux

- **P Mondou**, S Mériaux, F Nageotte, J Vappou, A Novell and B Larrat, *In vitro characterization of microbubbles cavitation for optimized BBB opening*, ISTU 2023, Lyon - poster et présentation orale
- C Cornu, A Novell, E Selingue, **P Mondou**, P Agou, S Mériaux and B Larrat, *Ultrafast Intrapulse Feedback Control of FUS-induced BBB Disruption*, ISTU 2022, Toronto - présentation orale
- C Cornu, A Novell, E Selingue, **P Mondou**, P Agou, S Mériaux and B Larrat, *Ultrafast Intrapulse Feedback Control of FUS-induced BBB Disruption*, IEE 2022, Venise - poster

Publications dans des congrès nationaux

- O Ishak, E Breton, P Cabras, **P Mondou**, B Larrat et J Vappou, *Monitoring de la cavitation pendant les thérapies ultrasonores guidées par IRM*, SFRMBM 2023, Paris - poster

Bibliographie

- ABBOTT, N. Joan (mai 2013). "Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery". In : *Journal of Inherited Metabolic Disease* 36.3, p. 437-449. ISSN : 1573-2665. DOI : [10.1007/s10545-013-9608-0](https://doi.org/10.1007/s10545-013-9608-0).
- ABBOTT, N. Joan, Adjanie A. K. PATABENDIGE, Diana E. M. DOLMAN, Siti R. YUSOF et David J. BEGLEY (jan. 2010). "Structure and function of the blood-brain barrier". In : *Neurobiology of Disease* 37.1, p. 13-25. ISSN : 1095-953X. DOI : [10.1016/j.nbd.2009.07.030](https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030).
- ABRAHAO, Agessandro et al. (26 sept. 2019). "First-in-human trial of blood-brain barrier opening in amyotrophic lateral sclerosis using MR-guided focused ultrasound". In : *Nature Communications* 10.1, p. 4373. ISSN : 2041-1723. DOI : [10.1038/s41467-019-12426-9](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12426-9).
- ALAJANGI, Hema Kumari et al. (1^{er} juin 2022). "Blood-brain barrier : emerging trends on transport models and new-age strategies for therapeutics intervention against neurological disorders". In : *Molecular Brain* 15.1, p. 49. ISSN : 1756-6606. DOI : [10.1186/s13041-022-00937-4](https://doi.org/10.1186/s13041-022-00937-4).
- ANGLA, Célestine, Benoit LARRAT, Jean-Luc GENNISSON et Sylvain CHATILLON (fév. 2023). "Transcranial ultrasound simulations : A review". In : *Medical Physics* 50.2, p. 1051-1072. ISSN : 2473-4209. DOI : [10.1002/mp.15955](https://doi.org/10.1002/mp.15955).
- APFEL, R. E. (mars 1982). "Acoustic cavitation : a possible consequence of biomedical uses of ultrasound." In : *The British Journal of Cancer. Supplement* 5, p. 140-146. ISSN : 0306-9443. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2149304/> (visité le 29/09/2022).
- AREVALO-PEREZ, J. et al. (déc. 2015). "T1-Weighted Dynamic Contrast-Enhanced MRI as a Noninvasive Biomarker of Epidermal Growth Factor Receptor vIII Status". In : *AJNR. American journal of neuroradiology* 36.12, p. 2256-2261. ISSN : 1936-959X. DOI : [10.3174/ajnr.A4484](https://doi.org/10.3174/ajnr.A4484).
- ARMULIK, Annika et al. (25 nov. 2010). "Pericytes regulate the blood-brain barrier". In : *Nature* 468.7323, p. 557-561. ISSN : 1476-4687. DOI : [10.1038/nature09522](https://doi.org/10.1038/nature09522).
- ARVANITIS, Costas D., Miriam BAZAN-PEREGRINO, Bassel RIFAI, Leonard W. SEYMOUR et Constantin C. COUSSIOS (nov. 2011). "Cavitation-enhanced extravasation for drug delivery". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 37.11, p. 1838-1852. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2011.08.004](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2011.08.004).
- ARVANITIS, Costas D., Margaret S. LIVINGSTONE et Nathan MCDANNOLD (21 juill. 2013). "Combined ultrasound and MR imaging to guide focused ultrasound therapies in the brain". In : *Physics in Medicine and Biology* 58.14, p. 4749-4761. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/0031-9155/58/14/4749](https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/14/4749).
- ARVANITIS, Costas D., Margaret S. LIVINGSTONE, Natalia VYKHODTSEVA et Nathan MCDANNOLD (24 sept. 2012). "Controlled Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Disruption Using Passive Acoustic Emissions Monitoring". In : *PLoS ONE* 7.9. Sous la dir. d'Arrate MUÑOZ-BARRUTIA, e45783. ISSN :

- 1932-6203. DOI : [10.1371/journal.pone.0045783](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045783). URL : <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0045783> (visité le 08/02/2021).
- ARYAL, Muna, Krisztina FISCHER, Caroline GENTILE, Salvatore GITTO, Yong-Zhi ZHANG et Nathan MCDANNOLD (3 jan. 2017). “Effects on P-Glycoprotein Expression after Blood-Brain Barrier Disruption Using Focused Ultrasound and Microbubbles”. In : *PLoS ONE* 12.1, e0166061. ISSN : 1932-6203. DOI : [10.1371/journal.pone.0166061](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166061). URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5207445/> (visité le 12/05/2023).
- ASAHARA, Masakazu (mars 2013). “Shape variation in the skull and lower carnassial in a wild population of raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*)”. In : *Zoological Science* 30.3, p. 205-210. ISSN : 0289-0003. DOI : [10.2108/zsj.30.205](https://doi.org/10.2108/zsj.30.205).
- BAE, Sua, Keyu LIU, Antonios N. POULIOPOULOS, Robin Ji et Elisa. E. KONOFAGOU (2023). “Real-Time Passive Acoustic Mapping With Enhanced Spatial Resolution in Neuronavigation-Guided Focused Ultrasound for Blood-Brain Barrier Opening”. In : *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. Conference Name : IEEE Transactions on Biomedical Engineering, p. 1-12. ISSN : 1558-2531. DOI : [10.1109/TBME.2023.3266952](https://doi.org/10.1109/TBME.2023.3266952).
- BAEK, Hongchae, Daniel LOCKWOOD, Emily Jo MASON, Emmanuel OBUSEZ, Matthew POTURALSKI, Richard RAMMO, Sean J. NAGEL et Stephen E. JONES (2022). “Clinical Intervention Using Focused Ultrasound (FUS) Stimulation of the Brain in Diverse Neurological Disorders”. In : *Frontiers in Neurology* 13, p. 880814. ISSN : 1664-2295. DOI : [10.3389/fneur.2022.880814](https://doi.org/10.3389/fneur.2022.880814).
- BARZEGAR-FALLAH, Anita, Kushan GANDHI, Shakila B. RIZWAN, Tania L. SLATTER et John N. J. REYNOLDS (19 oct. 2022). “Harnessing Ultrasound for Targeting Drug Delivery to the Brain and Breaching the Blood-Brain Tumour Barrier”. In : *Pharmaceutics* 14.10, p. 2231. ISSN : 1999-4923. DOI : [10.3390/pharmaceutics14102231](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102231).
- BASERI, Babak, James J. CHOI, Yao-Sheng TUNG et Elisa E. KONOFAGOU (sept. 2010). “Multi-modality safety assessment of blood-brain barrier opening using focused ultrasound and definity microbubbles : a short-term study”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 36.9, p. 1445-1459. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2010.06.005](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2010.06.005).
- BAZAN-PEREGRINO, Miriam, Bassel RIFAI, Robert C. CARLISLE, James CHOI, Costas D. ARVANITIS, Leonard W. SEYMOUR et Constantin C. COUSSIOS (10 juill. 2013). “Cavitation-enhanced delivery of a replicating oncolytic adenovirus to tumors using focused ultrasound”. In : *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society* 169.1, p. 40-47. ISSN : 1873-4995. DOI : [10.1016/j.jconrel.2013.03.017](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.03.017).
- BECCARIA, Kévin, Michael CANNEY, Guillaume BOUCHOUX, Carole DESSEAUX, Jacques GRILL, Amy B. HEIMBERGER et Alexandre CARPENTIER (1^{er} juin 2020). “Ultrasound-induced blood-brain barrier disruption for the treatment of gliomas and other primary CNS tumors”. In : *Cancer Letters* 479, p. 13-22. ISSN : 1872-7980. DOI : [10.1016/j.canlet.2020.02.013](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.02.013).
- BELL, Robert D., Ethan A. WINKLER, Abhay P. SAGARE, Itender SINGH, Barb LARUE, Rashid DEANE et Berislav V. ZLOKOVIC (4 nov. 2010). “Pericytes control key neurovascular functions and neuronal phenotype in the adult brain and during brain aging”. In : *Neuron* 68.3, p. 409-427. ISSN : 1097-4199. DOI : [10.1016/j.neuron.2010.09.043](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.043).
- BIAGI, Elena, Luca BRESCHI, Enrico VANNACCI et Leonardo MASOTTI (nov. 2006). “Subharmonic emissions from microbubbles : effect of the driving pulse shape”. In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 53.11, p. 2174-2182. ISSN : 0885-3010. DOI : [10.1109/tuffc.2006.157](https://doi.org/10.1109/tuffc.2006.157).

- (mars 2007). “Stable and transient subharmonic emissions from isolated contrast agent micro-bubbles”. In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 54.3, p. 480-497. ISSN : 0885-3010. DOI : [10.1109/tuffc.2007.272](https://doi.org/10.1109/tuffc.2007.272).
- BING, Chenchen et al. (2018). “Characterization of different bubble formulations for blood-brain barrier opening using a focused ultrasound system with acoustic feedback control”. In : *Scientific Reports* 8.1, p. 7986. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-018-26330-7](https://doi.org/10.1038/s41598-018-26330-7).
- BLAKE, J R et D C GIBSON (1987). “Cavitation Bubbles Near Boundaries”. In : *Annual Review of Fluid Mechanics* 19.1. _eprint : <https://doi.org/10.1146/annurev.fl.19.010187.000531>, p. 99-123. DOI : [10.1146/annurev.fl.19.010187.000531](https://doi.org/10.1146/annurev.fl.19.010187.000531). URL : <https://doi.org/10.1146/annurev.fl.19.010187.000531> (visité le 07/01/2021).
- BOULOS, Paul, Franois VARRAY, Adrien POIZAT, Alessandro RAMALLI, Bruno GILLES, Jean-Christophe BERA et Christian CACHARD (2018). “Weighting the Passive Acoustic Mapping Technique With the Phase Coherence Factor for Passive Ultrasound Imaging of Ultrasound-Induced Cavitation”. In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 65.12, p. 2301-2310. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2018.2871983](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2018.2871983).
- BUNEVICIUS, Adomas, Nathan Judson MCDANNOLD et Alexandra J. GOLBY (1^{er} juill. 2020). “Focused Ultrasound Strategies for Brain Tumor Therapy”. In : *Operative Neurosurgery (Hagerstown, Md.)* 19.1, p. 9-18. ISSN : 2332-4260. DOI : [10.1093/ons/opz374](https://doi.org/10.1093/ons/opz374).
- BURGESS, M. T., I. APOSTOLAKIS et E. E. KONOFAGOU (2018). “Power cavitation-guided blood-brain barrier opening with focused ultrasound and microbubbles”. In : *Physics in Medicine and Biology* 63.6, p. 065009. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/1361-6560/aab05c](https://doi.org/10.1088/1361-6560/aab05c).
- CAMMALLERI, Amanda, Phillip CROCE, Wonhye LEE, Kyungho YOON et Seung-Schik YOO (mars 2020). “Therapeutic Potentials of Localized Blood-Brain Barrier Disruption by Noninvasive Transcranial Focused Ultrasound : A Technical Review”. In : *Journal of Clinical Neurophysiology : Official Publication of the American Electroencephalographic Society* 37.2, p. 104-117. ISSN : 1537-1603. DOI : [10.1097/WNP.0000000000000488](https://doi.org/10.1097/WNP.0000000000000488).
- ÇAVUŞOĞLU, Mustafa et al. (2019). “Closed-loop cavitation control for focused ultrasound-mediated blood-brain barrier opening by long-circulating microbubbles”. In : *Physics in Medicine and Biology* 64.4, p. 045012. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/1361-6560/aafaa5](https://doi.org/10.1088/1361-6560/aafaa5).
- CÉLESTINE ANGLA (20 déc. 2023). “Fast transcranial acoustic simulations for personalized dosimetry in ultrasound brain therapy”. Thèse de doct. Université Paris-Saclay.
- CHAPELON, J. Y. et al. (jan. 2000). “New piezoelectric transducers for therapeutic ultrasound”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 26.1, p. 153-159. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/s0301-5629\(99\)00120-9](https://doi.org/10.1016/s0301-5629(99)00120-9).
- CHAVIGNON, Arthur (1^{er} déc. 2021). “Microscopie par localisation ultrasonore dans les modèles d'accidents vasculaires cérébraux”. These de doctorat. Université Paris sciences et lettres. URL : <https://www.theses.fr/2021UPSLS069> (visité le 11/09/2023).
- CHEN, Hong et Elisa E. KONOFAGOU (juill. 2014). “The size of blood-brain barrier opening induced by focused ultrasound is dictated by the acoustic pressure”. In : *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 34.7, p. 1197-1204. ISSN : 1559-7016. DOI : [10.1038/jcbfm.2014.71](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.71).

- CHEN, Ko-Ting, Kuo-Chen WEI et Hao-Li LIU (15 juill. 2021a). “Focused Ultrasound Combined with Microbubbles in Central Nervous System Applications”. In : *Pharmaceutics* 13.7, p. 1084. ISSN : 1999-4923. DOI : [10.3390/pharmaceutics13071084](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13071084).
- CHEN, Ko-Ting et al. (fév. 2021b). “Neuronavigation-guided focused ultrasound for transcranial blood-brain barrier opening and immunostimulation in brain tumors”. In : *Science Advances* 7.6, eabd0772. ISSN : 2375-2548. DOI : [10.1126/sciadv.abd0772](https://doi.org/10.1126/sciadv.abd0772).
- CHEN, Wen-Shiang, Andrew A. BRAYMAN, Thomas J. MATULA et Lawrence A. CRUM (mai 2003). “Inertial cavitation dose and hemolysis produced in vitro with or without Optison®”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 29.5, p. 725-737. ISSN : 03015629. DOI : [10.1016/S0301-5629\(03\)00013-9](https://doi.org/10.1016/S0301-5629(03)00013-9). URL : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301562903000139> (visité le 07/01/2021).
- CHEN, Yan et Lihong LIU (15 mai 2012). “Modern methods for delivery of drugs across the blood-brain barrier”. In : *Advanced Drug Delivery Reviews* 64.7, p. 640-665. ISSN : 1872-8294. DOI : [10.1016/j.addr.2011.11.010](https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.11.010).
- CHENG, Mouwen, Fan LI, Tao HAN, Alfred C. H. YU et Peng QIN (avr. 2019). “Effects of ultrasound pulse parameters on cavitation properties of flowing microbubbles under physiologically relevant conditions”. In : *Ultrasonics Sonochemistry* 52, p. 512-521. ISSN : 1873-2828. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2018.12.031](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.12.031).
- CHIEN, Chih-Yen, Lu XU, Christopher Pham PACIA, Yimei YUE et Hong CHEN (27 sept. 2022a). “Blood-brain barrier opening in a large animal model using closed-loop microbubble cavitation-based feedback control of focused ultrasound sonication”. In : *Scientific Reports* 12, p. 16147. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-022-20568-y](https://doi.org/10.1038/s41598-022-20568-y). URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9515082/> (visité le 10/10/2022).
- CHIEN, Chih-Yen, Yaoheng YANG, Yan GONG, Yimei YUE et Hong CHEN (26 avr. 2022b). “Blood-Brain Barrier Opening by Individualized Closed-Loop Feedback Control of Focused Ultrasound”. In : *BME Frontiers* 2022. Publisher : Science Partner Journal. DOI : [10.34133/2022/9867230](https://doi.org/10.34133/2022/9867230). URL : <https://spj.sciencemag.org/journals/bmef/2022/9867230/> (visité le 10/10/2022).
- CHITNIS, Parag V., Caleb H. FARNY et Ronald A. ROY (2019). “SVD-Based Separation of Stable and Inertial Cavitation Signals Applied to Passive Cavitation Mapping During HIFU”. In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 66.5, p. 857-866. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2019.2898917](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2019.2898917).
- CHOI, James J. et Constantin-C. COUSSIOS (nov. 2012). “Spatiotemporal evolution of cavitation dynamics exhibited by flowing microbubbles during ultrasound exposure”. In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 132.5, p. 3538-3549. ISSN : 1520-8524. DOI : [10.1121/1.4756926](https://doi.org/10.1121/1.4756926).
- CHOI, James J., Kirsten SELERT, Fotios VLACHOS, Anna WONG et Elisa E. KONOFAGOU (4 oct. 2011). “Noninvasive and localized neuronal delivery using short ultrasonic pulses and microbubbles”. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108.40, p. 16539-16544. ISSN : 1091-6490. DOI : [10.1073/pnas.1105116108](https://doi.org/10.1073/pnas.1105116108).
- CHOI, Y. S., D. W. KIM, S.-K. LEE, J. H. CHANG, S.-G. KANG, E. H. KIM, S. H. KIM, T. H. RIM et S. S. AHN (déc. 2015). “The Added Prognostic Value of Preoperative Dynamic Contrast-Enhanced MRI Histogram Analysis in Patients with Glioblastoma : Analysis of Overall and Progression-Free Survival”. In : *AJNR. American journal of neuroradiology* 36.12, p. 2235-2241. ISSN : 1936-959X. DOI : [10.3174/ajnr.A4449](https://doi.org/10.3174/ajnr.A4449).

- CHU, Po-Chun, Wen-Yen CHAI, Chih-Hung TSAI, Shih-Tsung KANG, Chih-Kuang YEH et Hao-Li LIU (2016). "Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening : Association with Mechanical Index and Cavitation Index Analyzed by Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic-Resonance Imaging". In : *Scientific Reports* 6, p. 33264. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/srep33264](https://doi.org/10.1038/srep33264).
- COBBOLD, Richard S. C. (7 sept. 2006). *Foundations of Biomedical Ultrasound*. Google-Books-ID : Hwb5D60vb5IC. Oxford University Press. 844 p. ISBN : 978-0-19-977512-5.
- CONSTANS, Charlotte, Harry AHNINE, Mathieu SANTIN, Stéphane LEHERICY, Mickael TANTER, Pierre POUGET et Jean-François AUBRY (2020). "Non-invasive ultrasonic modulation of visual evoked response by GABA delivery through the blood brain barrier". In : *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society* 318, p. 223-231. ISSN : 1873-4995. DOI : [10.1016/j.jconrel.2019.12.006](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.12.006).
- CONTI, Allegra, Françoise GEFFROY, Hermes A. S. KAMIMURA, Anthony NOVELL, Nicolas TOURNIER, Sébastien MÉRIAUX et Benoît LARRAT (7 déc. 2022). "Regulation of P-glycoprotein and Breast Cancer Resistance Protein Expression Induced by Focused Ultrasound-Mediated Blood-Brain Barrier Disruption : A Pilot Study". In : *International Journal of Molecular Sciences* 23.24, p. 15488. ISSN : 1422-0067. DOI : [10.3390/ijms232415488](https://doi.org/10.3390/ijms232415488).
- CORNU, Corentin (3 juill. 2018). "Caractérisation et régulation des régimes de cavitation ultrasonore pour la sonoporation cellulaire". Thèse de doct. Université de Lyon. URL : <https://theses.hal.science/tel-02073575> (visité le 21/07/2023).
- CORNU, Corentin, Matthieu GUÉDRA, Jean-Christophe BÉRA, Hao-Li LIU, Wen-Shiang CHEN et Claude INSERRA (avr. 2018). "Ultrafast monitoring and control of subharmonic emissions of an unseeded bubble cloud during pulsed sonication". In : *Ultrasonics Sonochemistry* 42, p. 697-703. ISSN : 1873-2828. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2017.12.026](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.12.026).
- CORNU, Corentin, Anthony NOVELL, Erwan SELINGUE, Paul MONDOU, Pauline AGOU, Sébastien MÉRIAUX et Benoît LARRAT (2 juin 2022). "Ultrafast Intrapulse Feedback Control of FUS-induced BBB Disruption". In : ISTU. Toronto.
- COUSSIOS, Constantin C. et Ronald A. ROY (jan. 2008). "Applications of Acoustics and Cavitation to Noninvasive Therapy and Drug Delivery". In : *Annual Review of Fluid Mechanics* 40.1, p. 395-420. ISSN : 0066-4189, 1545-4479. DOI : [10.1146/annurev.fluid.40.111406.102116](https://doi.org/10.1146/annurev.fluid.40.111406.102116). URL : <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.fluid.40.111406.102116> (visité le 24/11/2020).
- DANEMAN, Richard, Lu ZHOU, Amanuel A. KEBEDE et Ben A. BARRES (25 nov. 2010). "Pericytes are required for blood-brain barrier integrity during embryogenesis". In : *Nature* 468.7323, p. 562-566. ISSN : 1476-4687. DOI : [10.1038/nature09513](https://doi.org/10.1038/nature09513).
- DAUBA, Ambre, Anthony DELALANDE, Hermes A. S. KAMIMURA, Allegra CONTI, Benoît LARRAT, Nicolas TSAPIS et Anthony NOVELL (21 nov. 2020a). "Recent Advances on Ultrasound Contrast Agents for Blood-Brain Barrier Opening with Focused Ultrasound". In : *Pharmaceutics* 12.11, p. 1125. ISSN : 1999-4923. DOI : [10.3390/pharmaceutics12111125](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111125). URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7700476/> (visité le 19/09/2022).
- DAUBA, Ambre, Jordane GOULAS, Laurent COLIN, Laurène JOURDAIN, Benoît LARRAT, Jean-Luc GENNISSON, Dominique CERTON et Anthony NOVELL (oct. 2020b). "Evaluation of capacitive micromachined ultrasonic transducers for passive monitoring of microbubble-assisted ultrasound therapies". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 148.4, p. 2248-2255. ISSN : 0001-4966. DOI : [10.1121/10.0002096](https://doi.org/10.1121/10.0002096). URL : <http://asa.scitation.org/doi/10.1121/10.0002096> (visité le 03/01/2022).

- DEFFIEUX, Thomas et Elisa E. KONOFAGOU (déc. 2010). “Numerical study of a simple transcranial focused ultrasound system applied to blood-brain barrier opening”. In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 57.12, p. 2637-2653. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2010.1738](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2010.1738).
- DELALANDE, Anthony, Spiros KOTOPOULIS, Michiel POSTEMA, Patrick MIDOUX et Chantal PICHON (10 août 2013). “Sonoporation : mechanistic insights and ongoing challenges for gene transfer”. In : *Gene* 525.2, p. 191-199. ISSN : 1879-0038. DOI : [10.1016/j.gene.2013.03.095](https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.095).
- DESJOUY, Cyril, M. FOUQUERAY, C. W. LO, P. MULEKI SEYA, J. L. LEE, J. C. BERA, W. S. CHEN et C. INSERRA (sept. 2015). “Counterbalancing the use of ultrasound contrast agents by a cavitation-regulated system”. In : *Ultrasonics Sonochemistry* 26, p. 163-168. ISSN : 1873-2828. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2014.12.017](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.12.017).
- DESJOUY, Cyril, Adrien POIZAT, Bruno GILLES, Claude INSERRA et Jean-Christophe BERA (août 2013). “Control of inertial acoustic cavitation in pulsed sonication using a real-time feedback loop system”. In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 134.2, p. 1640-1646. ISSN : 1520-8524. DOI : [10.1121/1.4812973](https://doi.org/10.1121/1.4812973).
- DI PIETRO, Lorena et al. (19 juin 2020). “GLI1 and AXIN2 Are Distinctive Markers of Human Calvarial Mesenchymal Stromal Cells in Nonsyndromic Craniosynostosis”. In : *International Journal of Molecular Sciences* 21.12, p. 4356. ISSN : 1422-0067. DOI : [10.3390/ijms21124356](https://doi.org/10.3390/ijms21124356).
- EIJDEN, T. M. van, J. H. KOOLSTRA et P. BRUGMAN (déc. 1996). “Three-dimensional structure of the human temporalis muscle”. In : *The Anatomical Record* 246.4, p. 565-572. ISSN : 0003-276X. DOI : [10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199612\)246:4<565::AID-AR17>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199612)246:4<565::AID-AR17>3.0.CO;2-M).
- EVERBACH, E. C., I. R. MAKIN, M. AZADNIV et R. S. MELTZER (1997). “Correlation of ultrasound-induced hemolysis with cavitation detector output in vitro”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 23.4, p. 619-624. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/s0301-5629\(97\)00039-2](https://doi.org/10.1016/s0301-5629(97)00039-2).
- FAN, Ching-Hsiang, Hao-Li LIU, Chien-Yu TING, Ya-Hsuan LEE, Chih-Ying HUANG, Yan-Jung MA, Kuo-Chen WEI, Tzu-Chen YEN et Chih-Kuang YEH (2014). “Submicron-bubble-enhanced focused ultrasound for blood-brain barrier disruption and improved CNS drug delivery”. In : *PloS One* 9.5, e96327. ISSN : 1932-6203. DOI : [10.1371/journal.pone.0096327](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096327).
- FAN, Ching-Hsiang, Chien-Yu TING, Yuan-Chih CHANG, Kuo-Chen WEI, Hao-Li LIU et Chih-Kuang YEH (mars 2015). “Drug-loaded bubbles with matched focused ultrasound excitation for concurrent blood-brain barrier opening and brain-tumor drug delivery”. In : *Acta Biomaterialia* 15, p. 89-101. ISSN : 1878-7568. DOI : [10.1016/j.actbio.2014.12.026](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.12.026).
- FANT, Cécile, Maxime LAFOND, Bernadette ROGEZ, Ivan Suarez CASTELLANOS, Jacqueline NGO, Jean-Louis MESTAS, Frédéric PADILLA et Cyril LAFON (30 oct. 2019). “In vitro potentiation of doxorubicin by unseeded controlled non-inertial ultrasound cavitation”. In : *Scientific Reports* 9.1, p. 15581. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-019-51785-7](https://doi.org/10.1038/s41598-019-51785-7).
- FELIX, Marie-Solenne et al. (12 août 2021). “Ultrasound-Mediated Blood-Brain Barrier Opening Improves Whole Brain Gene Delivery in Mice”. In : *Pharmaceutics* 13.8, p. 1245. ISSN : 1999-4923. DOI : [10.3390/pharmaceutics13081245](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081245). URL : <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/8/1245> (visité le 09/08/2022).
- FOSTER, F. S., K. A. HARASIEWICZ et M. D. SHERAR (2000). “A history of medical and biological imaging with polyvinylidene fluoride (PVDF) transducers”. In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 47.6, p. 1363-1371. ISSN : 0885-3010. DOI : [10.1109/58.883525](https://doi.org/10.1109/58.883525).

- GABATHULER, Reinhard (jan. 2010). "Approaches to transport therapeutic drugs across the blood-brain barrier to treat brain diseases". In : *Neurobiology of Disease* 37.1, p. 48-57. ISSN : 1095-953X. DOI : [10.1016/j.nbd.2009.07.028](https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.028).
- GASCA-SALAS, Carmen et al. (3 fév. 2021). "Blood-brain barrier opening with focused ultrasound in Parkinson's disease dementia". In : *Nature Communications* 12.1, p. 779. ISSN : 2041-1723. DOI : [10.1038/s41467-021-21022-9](https://doi.org/10.1038/s41467-021-21022-9).
- GERSTENMAYER, Matthieu, Benjamin FELLAH, Rémi MAGNIN, Erwan SELINGUE et Benoit LARRAT (1^{er} nov. 2018). "Acoustic Transmission Factor through the Rat Skull as a Function of Body Mass, Frequency and Position". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 44.11, p. 2336-2344. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2018.06.005](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2018.06.005). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301562918302382> (visité le 09/08/2022).
- GORICK, Catherine M. et al. (déc. 2022). "Applications of focused ultrasound-mediated blood-brain barrier opening". In : *Advanced Drug Delivery Reviews* 191, p. 114583. ISSN : 1872-8294. DOI : [10.1016/j.addr.2022.114583](https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114583).
- GYÖNGY, Miklós et Constantin-C. COUSSIOS (jan. 2010). "Passive spatial mapping of inertial cavitation during HIFU exposure". In : *IEEE transactions on bio-medical engineering* 57.1, p. 48-56. ISSN : 1558-2531. DOI : [10.1109/TBME.2009.2026907](https://doi.org/10.1109/TBME.2009.2026907).
- HOCKHAM, Natalie, Constantin C. COUSSIOS et Manish ARORA (déc. 2010). "A real-time controller for sustaining thermally relevant acoustic cavitation during ultrasound therapy". In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 57.12, p. 2685-2694. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2010.1742](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2010.1742).
- HOOGENBOOM, Martijn, Dylan EIKELENBOOM, Martijn H. den BROK, Arend HEERSCHAP, Jurgen J. FÜTTERER et Gosse J. ADEMA (juin 2015). "Mechanical high-intensity focused ultrasound destruction of soft tissue : working mechanisms and physiologic effects". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 41.6, p. 1500-1517. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2015.02.006](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2015.02.006).
- HUANG, Yuexi, Ryan ALKINS, Michael L. SCHWARTZ et Kullervo HYNYNEN (jan. 2017). "Opening the Blood-Brain Barrier with MR Imaging-guided Focused Ultrasound : Preclinical Testing on a Trans-Human Skull Porcine Model". In : *Radiology* 282.1, p. 123-130. ISSN : 1527-1315. DOI : [10.1148/radiol.2016152154](https://doi.org/10.1148/radiol.2016152154).
- HUANG, Yuexi et al. (26 nov. 2022). "Cavitation Feedback Control of Focused Ultrasound Blood-Brain Barrier Opening for Drug Delivery in Patients with Parkinson's Disease". In : *Pharmaceutics* 14.12, p. 2607. ISSN : 1999-4923. DOI : [10.3390/pharmaceutics14122607](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122607).
- HYNYNEN, Kullervo, Nathan MCDANNOLD, Natalia VYKHODTSEVA et Ferenc A. JOLESZ (sept. 2001). "Noninvasive MR Imaging-guided Focal Opening of the Blood-Brain Barrier in Rabbits". In : *Radiology* 220.3, p. 640-646. ISSN : 0033-8419, 1527-1315. DOI : [10.1148/radiol.2202001804](https://doi.org/10.1148/radiol.2202001804). URL : <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2202001804> (visité le 16/12/2020).
- ILOVITSH, Tali et al. (2018). "Enhanced microbubble contrast agent oscillation following 250 kHz insonation". In : *Scientific Reports* 8.1, p. 16347. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-018-34494-5](https://doi.org/10.1038/s41598-018-34494-5).
- JANGJOU, Ali et al. (21 juin 2021). "The promising shadow of microbubble over medical sciences : from fighting wide scope of prevalence disease to cancer eradication". In : *Journal of Biomedical Science* 28.1, p. 49. ISSN : 1423-0127. DOI : [10.1186/s12929-021-00744-4](https://doi.org/10.1186/s12929-021-00744-4).

- Ji, Robin, Maria E. KARAKATSANI, Mark BURGESS, Morgan SMITH, Maria F. MURILLO et Elisa E. KONOFAGOU (10 sept. 2021). "Cavitation-modulated inflammatory response following focused ultrasound blood-brain barrier opening". In : *Journal of Controlled Release* 337, p. 458-471. ISSN : 0168-3659. DOI : [10.1016/j.jconrel.2021.07.042](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.07.042). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016836592100393X> (visité le 17/08/2021).
- JOHNSTON, Keith, Cecilia TAPIA-SILES, Bjoern GEROLD, Michiel POSTEMA, Sandy COCHRAN, Alfred CUSCHIERI et Paul PRENTICE (déc. 2014). "Periodic shock-emission from acoustically driven cavitation clouds : a source of the subharmonic signal". In : *Ultrasonics* 54.8, p. 2151-2158. ISSN : 1874-9968. DOI : [10.1016/j.ultras.2014.06.011](https://doi.org/10.1016/j.ultras.2014.06.011).
- JONES, Ryan M., Lulu DENG, Kogee LEUNG, Dallan MCMAHON, Meaghan A. O'REILLY et Kullervo HYNENEN (2018). "Three-dimensional transcranial microbubble imaging for guiding volumetric ultrasound-mediated blood-brain barrier opening". In : *Theranostics* 8.11, p. 2909-2926. ISSN : 1838-7640. DOI : [10.7150/thno.24911](https://doi.org/10.7150/thno.24911).
- JONES, Ryan M., Dallan MCMAHON et Kullervo HYNENEN (2020). "Ultrafast three-dimensional microbubble imaging in vivo predicts tissue damage volume distributions during nonthermal brain ablation". In : *Theranostics* 10.16, p. 7211-7230. ISSN : 1838-7640. DOI : [10.7150/thno.47281](https://doi.org/10.7150/thno.47281).
- KABANOV, Alexander V., Elena V. BATRAKOVA et Donald W. MILLER (21 jan. 2003). "Pluronic block copolymers as modulators of drug efflux transporter activity in the blood-brain barrier". In : *Advanced Drug Delivery Reviews* 55.1, p. 151-164. ISSN : 0169-409X. DOI : [10.1016/s0169-409x\(02\)00176-x](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00176-x).
- KAMIMURA, Hermes A. S., Julien FLAMENT, Julien VALETTE, Andrea CAFARELLI, Romina ARON BADIN, Philippe HANTRAYE et Benoît LARRAT (2019). "Feedback control of microbubble cavitation for ultrasound-mediated blood-brain barrier disruption in non-human primates under magnetic resonance guidance". In : *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 39.7, p. 1191-1203. ISSN : 1559-7016. DOI : [10.1177/0271678X17753514](https://doi.org/10.1177/0271678X17753514).
- KAMIMURA, Hermes A. S., Shih-Ying WU, Julien GRONDIN, Robin Ji, Christian AURUP, Wenlan ZHENG, Marc HEIDMANN, Antonios N. POULIOPOULOS et Elisa KONOFAGOU (29 juin 2020). "Real-time passive acoustic mapping using sparse matrix multiplication". In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* PP. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2020.3001848](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2020.3001848).
- KARAKATSANI, Maria Eleni Marilena, Gesthimani Mania SAMIOTAKI, Matthew E. DOWNS, Vincent P. FERRERA et Elisa E. KONOFAGOU (2017). "Targeting Effects on the Volume of the Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening in Nonhuman Primates In Vivo". In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 64.5, p. 798-810. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2017.2681695](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2017.2681695).
- KARTHIKESH, Madhumithra Subramanian et Xinmai YANG (avr. 2021). "The effect of ultrasound cavitation on endothelial cells". In : *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)* 246.7, p. 758-770. ISSN : 1535-3699. DOI : [10.1177/1535370220982301](https://doi.org/10.1177/1535370220982301).
- KATSUKI, Masahito, Norio NARITA, Keisuke SASAKI, Yoshimichi SATO, Yasuhiro SUZUKI, Shoji MASHIYAMA et Teiji TOMINAGA (2021). "Standard values for temporal muscle thickness in the Japanese population who undergo brain check-up by magnetic resonance imaging". In : *Surgical Neurology International* 12, p. 67. ISSN : 2229-5097. DOI : [10.25259/SNI_3_2021](https://doi.org/10.25259/SNI_3_2021).
- KELLER, Sara, Matthew BRUCE et Michalakos A. AVERKIOU (mars 2019). "Ultrasound Imaging of Microbubble Activity During Sonoporation Pulse Sequences". In : *Ultrasound in medicine & biology*

- 45.3, p. 833-845. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2018.11.011](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2018.11.011). URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6690385/> (visité le 24/08/2023).
- KLASEBOER, E. et Boo KHOO (15 nov. 2004). "An oscillating bubble near an elastic material". In : *Journal of Applied Physics* 96, p. 5808-5818. DOI : [10.1063/1.1803925](https://doi.org/10.1063/1.1803925).
- KLEINFELD, D., P. P. MITRA, F. HELMCHEN et W. DENK (22 déc. 1998). "Fluctuations and stimulus-induced changes in blood flow observed in individual capillaries in layers 2 through 4 of rat neo-cortex". In : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95.26, p. 15741-15746. ISSN : 0027-8424. DOI : [10.1073/pnas.95.26.15741](https://doi.org/10.1073/pnas.95.26.15741).
- KONG, Chanhao et Won Seok CHANG (14 fév. 2023). "Preclinical Research on Focused Ultrasound-Mediated Blood-Brain Barrier Opening for Neurological Disorders : A Review". In : *Neurology International* 15.1, p. 285-300. ISSN : 2035-8385. DOI : [10.3390/neurolint15010018](https://doi.org/10.3390/neurolint15010018).
- KONOFAGOU, Elisa E., Yao-Sheng TUNG, James CHOI, Thomas DEFFIEUX, Babak BASERI et Fotios VLACHOS (juin 2012). "Ultrasound-induced blood-brain barrier opening". In : *Current Pharmaceutical Biotechnology* 13.7, p. 1332-1345. ISSN : 1873-4316. DOI : [10.2174/138920112800624364](https://doi.org/10.2174/138920112800624364).
- KUGA, Nahoko, Tadashi HIRATA, Ikuko SAKAI, Yoshihisa TANIKAWA, Huei Yu CHIOU, Takuma KITANISHI, Norio MATSUKI et Yuji IKEGAYA (15 fév. 2009). "Rapid and local autoregulation of cerebrovascular blood flow : a deep-brain imaging study in the mouse". In : *The Journal of Physiology* 587 (Pt 4), p. 745-752. ISSN : 1469-7793. DOI : [10.1113/jphysiol.2008.163253](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.163253).
- LAUTERBORN, Werner et Eckehart CRAMER (16 nov. 1981). "Subharmonic Route to Chaos Observed in Acoustics". In : *Physical Review Letters* 47.20. Publisher : American Physical Society, p. 1445-1448. DOI : [10.1103/PhysRevLett.47.1445](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.47.1445). URL : <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.47.1445> (visité le 17/05/2023).
- LAUTERBORN, Werner et Thomas KURZ (sept. 2010). "Physics of bubble oscillations". In : *Reports on Progress in Physics* 73.10, p. 106501. ISSN : 0034-4885. DOI : [10.1088/0034-4885/73/10/106501](https://doi.org/10.1088/0034-4885/73/10/106501). URL : <https://dx.doi.org/10.1088/0034-4885/73/10/106501> (visité le 17/05/2023).
- LEBOVITZ, Robert M. (1^{er} mai 1970). "A Theoretical Examination of Ionic Interactions between Neural and Non-Neural Membranes". In : *Biophysical Journal* 10.5, p. 423-444. ISSN : 0006-3495. DOI : [10.1016/S0006-3495\(70\)86310-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(70)86310-X). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000634957086310X> (visité le 07/06/2023).
- LEE, Hohyun, Yutong GUO, James L. ROSS, Scott SCHOEN, F. Levent DEGERTEKIN et Costas ARVANITIS (16 nov. 2022). "Spatially targeted brain cancer immunotherapy with closed-loop controlled focused ultrasound and immune checkpoint blockade". In : *Science Advances* 8.46, eadd2288. ISSN : 2375-2548. DOI : [10.1126/sciadv.add2288](https://doi.org/10.1126/sciadv.add2288).
- LEE, P. et al. (18 jan. 2023). "Deep Learning Enables Reduced Gadolinium Dose for Contrast-Enhanced Blood-Brain Barrier Opening". In : *ArXiv*, arXiv :2301.07248v1. ISSN : 2331-8422.
- LEIGHTON, Timothy (1^{er} oct. 1994). "The Acoustic Bubble". In : *Journal of The Acoustical Society of America - JACOUST SOC AMER*. T. 96. Journal Abbreviation : Journal of The Acoustical Society of America - JACOUST SOC AMER. DOI : [10.1121/1.410082](https://doi.org/10.1121/1.410082).
- LIN, Hsiang-Ching, Ching-Hsiang FAN, Yi-Ju HO et Chih-Kuang YEH (2020). "Dual-Frequency Chirp Excitation for Passive Cavitation Imaging in the Brain". In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 67.6, p. 1127-1140. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2020.2964786](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2020.2964786).

- LIN, Yutong, Lizhou LIN, Mouwen CHENG, Lifang JIN, Lianfang DU, Tao HAN, Lin XU, Alfred C. H. YU et Peng QIN (mars 2017). "Effect of acoustic parameters on the cavitation behavior of SonoVue microbubbles induced by pulsed ultrasound". In : *Ultrasonics Sonochemistry* 35 (Pt A), p. 176-184. ISSN : 1873-2828. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2016.09.016](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.09.016).
- LIPSMAN, Nir et al. (25 juill. 2018). "Blood-brain barrier opening in Alzheimer's disease using MR-guided focused ultrasound". In : *Nature Communications* 9.1, p. 2336. ISSN : 2041-1723. DOI : [10.1038/s41467-018-04529-6](https://doi.org/10.1038/s41467-018-04529-6).
- LIU, Hao-Li et al. (avr. 2014). "Design and Experimental Evaluation of a 256-Channel Dual-Frequency Ultrasound Phased-Array System for Transcranial Blood-Brain Barrier Opening and Brain Drug Delivery". In : *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 61.4. Conference Name : IEEE Transactions on Biomedical Engineering, p. 1350-1360. ISSN : 1558-2531. DOI : [10.1109/TBME.2014.2305723](https://doi.org/10.1109/TBME.2014.2305723).
- LIU, Yu, Brett Z. FITE, Lisa M. MAHAKIAN, Sarah M. JOHNSON, Benoit LARRAT, Erik DUMONT et Katherine W. FERRARA (2015). "Concurrent Visualization of Acoustic Radiation Force Displacement and Shear Wave Propagation with 7T MRI". In : *PloS One* 10.10, e0139667. ISSN : 1932-6203. DOI : [10.1371/journal.pone.0139667](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139667).
- LO, Andrea H., Oliver D. KRIPFGANS, Paul L. CARSON et J. Brian FOWLKES (jan. 2006). "Spatial control of gas bubbles and their effects on acoustic fields". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 32.1, p. 95-106. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2005.09.009](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2005.09.009).
- LUO, Huilong et Eric V. SHUSTA (12 nov. 2020). "Blood-Brain Barrier Modulation to Improve Glioma Drug Delivery". In : *Pharmaceutics* 12.11, p. 1085. ISSN : 1999-4923. DOI : [10.3390/pharmaceutics12111085](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111085). URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7697580/> (visité le 09/10/2023).
- LYKA, Erasmia, Christian M. COVIELLO, Catherine PAVERD, Michael D. GRAY et Constantin C. COUSSIOS (2018). "Passive Acoustic Mapping Using Data-Adaptive Beamforming Based on Higher Order Statistics". In : *IEEE transactions on medical imaging* 37.12, p. 2582-2592. ISSN : 1558-254X. DOI : [10.1109/TMI.2018.2843291](https://doi.org/10.1109/TMI.2018.2843291).
- LYNCH, Madelaine, Stefan HEINEN, Kelly MARKHAM-COULTES, Meaghan O'REILLY, Paul VAN SLYKE, Daniel J. DUMONT, Kullervo HYNYNEN et Isabelle AUBERT (2021). "Vasculotide restores the blood-brain barrier after focused ultrasound-induced permeability in a mouse model of Alzheimer's disease". In : *International Journal of Medical Sciences* 18.2, p. 482-493. ISSN : 1449-1907. DOI : [10.7150/ijms.36775](https://doi.org/10.7150/ijms.36775). URL : <https://www.medsci.org/v18p0482.htm> (visité le 05/02/2021).
- MAIMBOURG, Guillaume, Alexandre HOUDOUIN, Mathieu SANTIN, Stéphane LEHERICY, Mickael TANTER et Jean-François AUBRY (2018). "Inside/outside the brain binary cavitation localization based on the lowpass filter effect of the skull on the harmonic content : a proof of concept study". In : *Physics in Medicine and Biology* 63.13, p. 135012. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/1361-6560/aaca21](https://doi.org/10.1088/1361-6560/aaca21).
- MAINPRIZE, Todd et al. (23 jan. 2019). "Blood-Brain Barrier Opening in Primary Brain Tumors with Non-invasive MR-Guided Focused Ultrasound : A Clinical Safety and Feasibility Study". In : *Scientific Reports* 9.1, p. 321. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-018-36340-0](https://doi.org/10.1038/s41598-018-36340-0).
- MARQUET, Fabrice, Tobias TEICHERT, Shih-Ying WU, Yao-Sheng TUNG, Matthew DOWNS, Shutao WANG, Cherry CHEN, Vincent FERRERA et Elisa E. KONOFAGOU (2014). "Real-time, transcranial monitoring of safe blood-brain barrier opening in non-human primates". In : *PloS One* 9.2, e84310. ISSN : 1932-6203. DOI : [10.1371/journal.pone.0084310](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084310).

- MARQUET, Fabrice, Yao-Sheng TUNG et Elisa E. KONOFAGOU (sept. 2010). "FEASIBILITY STUDY OF A CLINICAL BLOOD-BRAIN BARRIER OPENING ULTRASOUND SYSTEM". In : *Nano LIFE* 1.3, p. 309. ISSN : 1793-9844. DOI : [10.1142/S1793984410000286](https://doi.org/10.1142/S1793984410000286).
- MARTINEZ, Payton, Nick BOTTENUS et Mark BORDEN (12 sept. 2022). "Cavitation Characterization of Size-Isolated Microbubbles in a Vessel Phantom Using Focused Ultrasound". In : *Pharmaceutics* 14.9, p. 1925. ISSN : 1999-4923. DOI : [10.3390/pharmaceutics14091925](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091925).
- MCDANNOLD, Nathan, N. VYKHODTSEVA et K. HYNENEN (21 fév. 2006). "Targeted disruption of the blood-brain barrier with focused ultrasound : association with cavitation activity". In : *Physics in Medicine and Biology* 51.4, p. 793-807. ISSN : 0031-9155. DOI : [10.1088/0031-9155/51/4/003](https://doi.org/10.1088/0031-9155/51/4/003).
- MCDANNOLD, Nathan, Natalia VYKHODTSEVA et Kullervo HYNENEN (mai 2008). "Blood-Brain Barrier Disruption Induced by Focused Ultrasound and Circulating Preformed Microbubbles Appears to Be Characterized by the Mechanical Index". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 34.5, p. 834-840. ISSN : 03015629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2007.10.016](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2007.10.016). URL : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301562907005480> (visité le 04/08/2021).
- MCDANNOLD, Nathan, Yongzhi ZHANG, Jeffrey G. SUPKO, Chanikarn POWER, Tao SUN, Natalia VYKHODTSEVA, Alexandra J. GOLBY et David A. REARDON (2020). "Blood-brain barrier disruption and delivery of irinotecan in a rat model using a clinical transcranial MRI-guided focused ultrasound system". In : *Scientific Reports* 10.1, p. 8766. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-020-65617-6](https://doi.org/10.1038/s41598-020-65617-6).
- MCILWAIN, Henry (1^{er} jan. 1968). "Ion Movements in Isolated Preparations from the Mammalian Brain". In : *Progress in Brain Research*. Sous la dir. d'Abel LAJTHA et Donald H. FORD. T. 29. Brain Barrier Systems. Elsevier, p. 273-281. DOI : [10.1016/S0079-6123\(08\)64162-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)64162-X). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007961230864162X> (visité le 07/06/2023).
- MCMAHON, Dallan, Anne LASSUS, Emmanuel GAUD, Victor JEANNOT et Kullervo HYNENEN (déc. 2020). "Microbubble formulation influences inflammatory response to focused ultrasound exposure in the brain". In : *Scientific Reports* 10.1, p. 21534. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-020-78657-9](https://doi.org/10.1038/s41598-020-78657-9). URL : <http://www.nature.com/articles/s41598-020-78657-9> (visité le 04/01/2021).
- MENG, Ying, Christopher B. POPE, Dan BUDIANSKY, Daniel LI, Suganth SUPPIAH, Mary Jane LIM-FAT, James PERRY, Arjun SAHGAL et Nir LIPSMAN (jan. 2022). "Current state of therapeutic focused ultrasound applications in neuro-oncology". In : *Journal of Neuro-Oncology* 156.1, p. 49-59. ISSN : 1573-7373. DOI : [10.1007/s11060-021-03861-0](https://doi.org/10.1007/s11060-021-03861-0).
- MILLER, Douglas L. et Ronald M. THOMAS (1^{er} jan. 1995). "Ultrasound contrast agents nucleate inertial cavitation in vitro". In : *Ultrasound in Medicine and Biology* 21.8. Publisher : Elsevier, p. 1059-1065. ISSN : 0301-5629, 1879-291X. DOI : [10.1016/0301-5629\(95\)93252-U](https://doi.org/10.1016/0301-5629(95)93252-U). URL : [https://www.umbjournal.org/article/0301-5629\(95\)93252-U/abstract](https://www.umbjournal.org/article/0301-5629(95)93252-U/abstract) (visité le 19/11/2020).
- MONDOU, Paul, Sébastien MÉRIAUX, Florent NAGEOTTE, Jonathan VAPPOU, Anthony NOVELL et Benoît LARRAT (27 juin 2023). "State of the art on microbubble cavitation monitoring and feedback control for blood-brain-barrier opening using focused ultrasound". In : *Physics in Medicine and Biology*. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/1361-6560/ace23e](https://doi.org/10.1088/1361-6560/ace23e).
- NOVELL, A. et al. (22 juin 2020). "A new safety index based on intrapulse monitoring of ultra-harmonic cavitation during ultrasound-induced blood-brain barrier opening procedures". In : *Scientific Reports* 10.1, p. 10088. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-020-66994-8](https://doi.org/10.1038/s41598-020-66994-8).
- O'REILLY, Meaghan A. et Kullervo HYNENEN (sept. 2010). "A PVDF receiver for ultrasound monitoring of transcranial focused ultrasound therapy". In : *IEEE transactions on bio-medical engineering* 57.9, p. 2286-2294. ISSN : 1558-2531. DOI : [10.1109/TBME.2010.2050483](https://doi.org/10.1109/TBME.2010.2050483).

- O'REILLY, Meaghan A. et Kullervo HYNYNEN (avr. 2012). "Blood-brain barrier : real-time feedback-controlled focused ultrasound disruption by using an acoustic emissions-based controller". In : *Radiology* 263.1, p. 96-106. ISSN : 1527-1315. DOI : [10.1148/radiol.11111417](https://doi.org/10.1148/radiol.11111417).
- O'REILLY, Meaghan A., Ryan M. JONES et Kullervo HYNYNEN (avr. 2014). "Three-dimensional transcranial ultrasound imaging of microbubble clouds using a sparse hemispherical array". In : *IEEE transactions on bio-medical engineering* 61.4, p. 1285-1294. ISSN : 1558-2531. DOI : [10.1109/TBME.2014.2300838](https://doi.org/10.1109/TBME.2014.2300838).
- O'REILLY, Meaghan A., Aidan MULLER et Kullervo HYNYNEN (nov. 2011). "Ultrasound insertion loss of rat parietal bone appears to be proportional to animal mass at submegahertz frequencies". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 37.11, p. 1930-1937. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2011.08.001](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2011.08.001).
- PARDRIDGE, William M. (juill. 1995). "Transport of small molecules through the blood-brain barrier : biology and methodology". In : *Advanced Drug Delivery Reviews* 15.1, p. 5-36. ISSN : 1872-8294.
- (1^{er} jan. 2002). "Why is the global CNS pharmaceutical market so under-penetrated?" In : *Drug Discovery Today* 7.1, p. 5-7. ISSN : 1359-6446. DOI : [10.1016/s1359-6446\(01\)02082-7](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(01)02082-7).
- (jan. 2005). "The blood-brain barrier : bottleneck in brain drug development". In : *NeuroRx : The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 2.1, p. 3-14. ISSN : 1545-5343. DOI : [10.1602/neurorx.2.1.3](https://doi.org/10.1602/neurorx.2.1.3).
- PARLITZ, U., V. ENGLISH, C. SCHEFFCZYK et W. LAUTERBORN (1^{er} août 1990). "Bifurcation structure of bubble oscillators". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 88.2, p. 1061-1077. ISSN : 0001-4966. DOI : [10.1121/1.399855](https://doi.org/10.1121/1.399855). URL : <https://doi.org/10.1121/1.399855> (visité le 17/05/2023).
- PASCAL, Aurea, Ningrui LI, Kendra J. LECHTENBERG, Jarrett ROSENBERG, Raag D. AIRAN, Michelle L. JAMES, Donna M. BOULEY et Kim Butts PAULY (2020). "Histologic evaluation of activation of acute inflammatory response in a mouse model following ultrasound-mediated blood-brain barrier using different acoustic pressures and microbubble doses". In : *Nanotheranostics* 4.4, p. 210-223. ISSN : 2206-7418. DOI : [10.7150/ntno.49898](https://doi.org/10.7150/ntno.49898).
- PASQUINELLI, Cristina, Lars G. HANSON, Hartwig R. SIEBNER, Hyunjoo J. LEE et Axel THIELSCHER (2019). "Safety of transcranial focused ultrasound stimulation : A systematic review of the state of knowledge from both human and animal studies". In : *Brain Stimulation* 12.6, p. 1367-1380. ISSN : 1876-4754. DOI : [10.1016/j.brs.2019.07.024](https://doi.org/10.1016/j.brs.2019.07.024).
- PATEL, Arpit, Scott J. SCHOEN et Costas D. ARVANITIS (20 nov. 2018). "Closed Loop Spatial and Temporal Control of Cavitation Activity with Passive Acoustic Mapping". In : *IEEE transactions on bio-medical engineering* 66.2022. ISSN : 1558-2531. DOI : [10.1109/TBME.2018.2882337](https://doi.org/10.1109/TBME.2018.2882337).
- PAUL, Shirshendu, Amit KATIYAR, Kausik SARKAR, Dhiman CHATTERJEE, William T. SHI et Flemming FORSBERG (juin 2010). "Material characterization of the encapsulation of an ultrasound contrast microbubble and its subharmonic response : strain-softening interfacial elasticity model". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 127.6, p. 3846-3857. ISSN : 1520-8524. DOI : [10.1121/1.3418685](https://doi.org/10.1121/1.3418685).
- PAVLOS ANASTASIADIS, DHEERAJ GANDHI, YUTONG GUO, ABDUL-KAREEM AHMED, SOREN M BENTZEN, COSTAS ARVANITIS et GRAEME F WOODWORTH (9 sept. 2021). "Localized blood-brain barrier opening in infiltrating gliomas with MRI-guided acoustic emissions-controlled focused ultrasound - PubMed". In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118.37. URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34504017/> (visité le 09/05/2023).

- PAWLIK, G., A. RACKL et R. J. BING (9 mars 1981). “Quantitative capillary topography and blood flow in the cerebral cortex of cats : an in vivo microscopic study”. In : *Brain Research* 208.1, p. 35-58. ISSN : 0006-8993. DOI : [10.1016/0006-8993\(81\)90619-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90619-3).
- PENG, Hsu-Hsia, Chen-Hua WU, Shih-Tsung KANG, Jia-Wei ZHANG, Hao-Li LIU, Wen-Shiang CHEN, Chung-Hsin WANG et Chih-Kuang YEH (2017). “Real-time monitoring of inertial cavitation effects of microbubbles by using MRI : In vitro experiments”. In : *Magnetic Resonance in Medicine* 77.1, p. 102-111. ISSN : 1522-2594. DOI : [10.1002/mrm.26082](https://doi.org/10.1002/mrm.26082).
- PICHARDO, Samuel, Vivian W. SIN et Kullervo HYNENEN (déc. 2010). “Multi-frequency characterization of the speed of sound and attenuation coefficient for longitudinal transmission of freshly excised human skulls”. In : *Physics in Medicine and Biology* 56.1. Publisher : IOP Publishing, p. 219-250. ISSN : 0031-9155. DOI : [10.1088/0031-9155/56/1/014](https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/1/014). URL : <https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/1/014> (visité le 10/02/2022).
- PINTON, Gianmarco, Jean-Francois AUBRY, Emmanuel BOSSY, Marie MULLER, Mathieu PERNOT et Mickael TANTER (jan. 2012). “Attenuation, scattering, and absorption of ultrasound in the skull bone”. In : *Medical Physics* 39.1, p. 299-307. ISSN : 0094-2405. DOI : [10.1118/1.3668316](https://doi.org/10.1118/1.3668316).
- POLIACHIK, S. L. et al. (juill. 1999). “Effect of high-intensity focused ultrasound on whole blood with and without microbubble contrast agent”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 25.6, p. 991-998. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/s0301-5629\(99\)00043-5](https://doi.org/10.1016/s0301-5629(99)00043-5).
- PORTO, Arthur, Leila Teruko SHIRAI, Felipe Bandoni de OLIVEIRA et Gabriel MARROIG (nov. 2013). “Size variation, growth strategies, and the evolution of modularity in the mammalian skull”. In : *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 67.11, p. 3305-3322. ISSN : 1558-5646. DOI : [10.1111/evo.12177](https://doi.org/10.1111/evo.12177).
- POULIOPOULOS, Antonios N., Mark T. BURGESS et Elisa E. KONOFAGOU (23 juill. 2018). “Pulse inversion enhances the passive mapping of microbubble-based ultrasound therapy”. In : *Applied Physics Letters* 113.4, p. 044102. ISSN : 0003-6951. DOI : [10.1063/1.5036516](https://doi.org/10.1063/1.5036516).
- POULIOPOULOS, Antonios N., Caiqin LI, Marc TINGUELY, Valeria GARBIN, Meng-Xing TANG et James J. CHOI (2016). “Rapid short-pulse sequences enhance the spatiotemporal uniformity of acoustically driven microbubble activity during flow conditions”. In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 140.4, p. 2469. ISSN : 1520-8524. DOI : [10.1121/1.4964271](https://doi.org/10.1121/1.4964271).
- POULIOPOULOS, Antonios N., Shih-Ying WU, Mark T. BURGESS, Maria Eleni KARAKATSANI, Hermes A. S. KAMIMURA et Elisa E. KONOFAGOU (jan. 2020a). “A Clinical System for Non-invasive Blood-Brain Barrier Opening Using a Neuronavigation-Guided Single-Element Focused Ultrasound Transducer”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 46.1, p. 73-89. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2019.09.010](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.09.010).
- POULIOPOULOS, Antonios N. et al. (mai 2020b). “Temporal stability of lipid-shelled microbubbles during acoustically-mediated blood-brain barrier opening”. In : *Frontiers in Physics* 8. ISSN : 2296-424X. DOI : [10.3389/fphy.2020.00137](https://doi.org/10.3389/fphy.2020.00137).
- PRIEUR, Fabrice, Arnaud PILLON, Jean-Louis MESTAS, Valérie CARTRON, Patrick CÈBE, Nathalie CHANSARD, Maxime LAFOND et Cyril LAFON (juill. 2016). “Enhancement of Fluorescent Probe Penetration into Tumors In Vivo Using Unseeded Inertial Cavitation”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 42.7, p. 1706-1713. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2016.01.021](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2016.01.021).
- RADEMAKER, Guido, Jürgen W. JENNE, Ralf RASTERT, Daniel RÖDER et Lothar SCHAD (2003). “[Comparison of noninvasive MRT procedures for temperature measurement for the application of medical

- heat therapies]”. In : *Zeitschrift Fur Medizinische Physik* 13.3, p. 183-187. ISSN : 0939-3889. DOI : [10.1078/0939-3889-00166](https://doi.org/10.1078/0939-3889-00166).
- RIEKE, Viola et Kim BUTTS PAULY (fév. 2008). “MR thermometry”. In : *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 27.2, p. 376-390. ISSN : 1053-1807. DOI : [10.1002/jmri.21265](https://doi.org/10.1002/jmri.21265).
- SABRAOUI, Abbas, Claude INSERRA, Bruno GILLES, Jean-Christophe BÉRA et Jean-Louis MESTAS (1^{er} mars 2011). “Feedback loop process to control acoustic cavitation”. In : *Ultrasonics Sonochemistry* 18.2, p. 589-594. ISSN : 1350-4177. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2010.07.011](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.07.011). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417710001318> (visité le 16/09/2023).
- SASSAROLI, Elisabetta et Kullervo HYNENEN (oct. 2007). “Cavitation threshold of microbubbles in gel tunnels by focused ultrasound”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 33.10, p. 1651-1660. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2007.04.018](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2007.04.018).
- SENGILLO, Jesse D., Ethan A. WINKLER, Corey T. WALKER, John S. SULLIVAN, Mahlon JOHNSON et Berislav V. ZLOKOVIC (mai 2013). “Deficiency in mural vascular cells coincides with blood-brain barrier disruption in Alzheimer’s disease”. In : *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)* 23.3, p. 303-310. ISSN : 1750-3639. DOI : [10.1111/bpa.12004](https://doi.org/10.1111/bpa.12004).
- SHEIKOV, Nickolai, Nathan MCDANNOLD, Natalia VYKHODTSEVA, Ferenc JOLESZ et Kullervo HYNENEN (juill. 2004). “Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 30.7, p. 979-989. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2004.04.010](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2004.04.010).
- SHI, W. T. et F. FORSBERG (jan. 2000). “Ultrasonic characterization of the nonlinear properties of contrast microbubbles”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 26.1, p. 93-104. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/s0301-5629\(99\)00117-9](https://doi.org/10.1016/s0301-5629(99)00117-9).
- SIERRA, Carlos, Camilo ACOSTA, Cherry CHEN, Shih-Ying WU, Maria E. KARAKATSANI, Manuel BERNAL et Elisa E. KONOFAGOU (avr. 2017). “Lipid microbubbles as a vehicle for targeted drug delivery using focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening”. In : *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 37.4, p. 1236-1250. ISSN : 1559-7016. DOI : [10.1177/0271678X16652630](https://doi.org/10.1177/0271678X16652630).
- SMITH, Cameron A. B. et Constantin C. COUSSIOS (mai 2020). “Spatiotemporal Assessment of the Cellular Safety of Cavitation-Based Therapies by Passive Acoustic Mapping”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 46.5, p. 1235-1243. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2020.01.009](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2020.01.009).
- STEINDL, Ariane et al. (28 avr. 2020). “Sarcopenia in Neurological Patients : Standard Values for Temporal Muscle Thickness and Muscle Strength Evaluation”. In : *Journal of Clinical Medicine* 9.5, p. 1272. ISSN : 2077-0383. DOI : [10.3390/jcm9051272](https://doi.org/10.3390/jcm9051272). URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7288067/> (visité le 17/07/2023).
- SUN, Sujuan, Yunxue XU, Peng FU, Min CHEN, Suhui SUN, Ranran ZHAO, Jinrui WANG, Xiaolong LIANG et Shumin WANG (1^{er} nov. 2018). “Ultrasound-targeted photodynamic and gene dual therapy for effectively inhibiting triple negative breast cancer by cationic porphyrin lipid microbubbles loaded with HIF1 α -siRNA”. In : *Nanoscale* 10.42, p. 19945-19956. ISSN : 2040-3372. DOI : [10.1039/c8nr03074j](https://doi.org/10.1039/c8nr03074j).
- SUN, Tao, Yongzhi ZHANG, Chanikarn POWER, Phillip M. ALEXANDER, Jonathan T. SUTTON, Muna ARYAL, Natalia VYKHODTSEVA, Eric L. MILLER et Nathan J. MCDANNOLD (2017). “Closed-loop control of targeted ultrasound drug delivery across the blood-brain/tumor barriers in a rat glioma

- model". In : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114.48, E10281-E10290. ISSN : 1091-6490. DOI : [10.1073/pnas.1713328114](https://doi.org/10.1073/pnas.1713328114).
- TRAN, Binh C., Jongbum SEO, Timothy L. HALL, J. Brian FOWLKES et Charles A. CAIN (oct. 2003). "Microbubble-enhanced cavitation for noninvasive ultrasound surgery". In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 50.10, p. 1296-1304. ISSN : 0885-3010. DOI : [10.1109/tuffc.2003.1244746](https://doi.org/10.1109/tuffc.2003.1244746).
- TSAI, Chih-Hung, Jia-Wei ZHANG, Yi-Yi LIAO et Hao-Li LIU (7 avr. 2016). "Real-time monitoring of focused ultrasound blood-brain barrier opening via subharmonic acoustic emission detection : implementation of confocal dual-frequency piezoelectric transducers". In : *Physics in Medicine and Biology* 61.7, p. 2926-2946. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/0031-9155/61/7/2926](https://doi.org/10.1088/0031-9155/61/7/2926).
- TUNG, Yao-Sheng, James J. CHOI, Babak BASERI et Elisa E. KONOFAGOU (mai 2010a). "Identifying the inertial cavitation threshold and skull effects in a vessel phantom using focused ultrasound and microbubbles". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 36.5, p. 840-852. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.009](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.009).
- TUNG, Yao-Sheng, Hao-Li LIU, Chih-Ching WU, Kuen-Cheng JU, Wen-Shiang CHEN et Win-Li LIN (juill. 2006). "Contrast-agent-enhanced ultrasound thermal ablation". In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 32.7, p. 1103-1110. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2006.04.005](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2006.04.005).
- TUNG, Yao-Sheng, Fabrice MARQUET, Tobias TEICHERT, Vincent FERRERA et Elisa E. KONOFAGOU (18 avr. 2011a). "Feasibility of noninvasive cavitation-guided blood-brain barrier opening using focused ultrasound and microbubbles in nonhuman primates". In : *Applied Physics Letters* 98.16, p. 163704. ISSN : 0003-6951. DOI : [10.1063/1.3580763](https://doi.org/10.1063/1.3580763).
- TUNG, Yao-Sheng, Fotios VLACHOS, James J. CHOI, Thomas DEFFIEUX, Kirsten SELERT et Elisa E. KONOFAGOU (21 oct. 2010b). "In vivo transcranial cavitation threshold detection during ultrasound-induced blood-brain barrier opening in mice". In : *Physics in Medicine and Biology* 55.20, p. 6141-6155. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/0031-9155/55/20/007](https://doi.org/10.1088/0031-9155/55/20/007).
- TUNG, Yao-Sheng, Fotios VLACHOS, Jameel A. FESHITAN, Mark A. BORDEN et Elisa E. KONOFAGOU (nov. 2011b). "The mechanism of interaction between focused ultrasound and microbubbles in blood-brain barrier opening in mice". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 130.5, p. 3059-3067. ISSN : 1520-8524. DOI : [10.1121/1.3646905](https://doi.org/10.1121/1.3646905).
- UNEKAWA, Miyuki, Minoru TOMITA, Yutaka TOMITA, Haruki TORIUMI, Koichi MIYAKI et Norihiro SUZUKI (12 mars 2010). "RBC velocities in single capillaries of mouse and rat brains are the same, despite 10-fold difference in body size". In : *Brain Research* 1320, p. 69-73. ISSN : 1872-6240. DOI : [10.1016/j.brainres.2010.01.032](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.01.032).
- VIGNON, Francois, William T. SHI, Jeffrey E. POWERS, E. Carr EVERBACH, Jinjin LIU, Shunji GAO, Feng XIE et Thomas R. PORTER (avr. 2013). "Microbubble cavitation imaging". In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 60.4, p. 661-670. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2013.2615](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2013.2615).
- WAMEL, Annemieke van, Klazina KOOIMAN, Miranda HARTEVELD, Marcia EMMER, Folkert J. ten CATE, Michel VERSLUIS et Nico de JONG (15 mai 2006). "Vibrating microbubbles poking individual cells : Drug transfer into cells via sonoporation". In : *Journal of Controlled Release* 112.2, p. 149-155. ISSN : 0168-3659. DOI : [10.1016/j.jconrel.2006.02.007](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.02.007). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365906000733> (visité le 12/02/2021).

- WEISS, N., F. MILLER, S. CAZAUBON et P.-O. COURAUD (déc. 2009). “[Implication of the blood-brain barrier in neurological diseases : part II]”. In : *Revue Neurologique* 165.12, p. 1010-1022. ISSN : 0035-3787. DOI : [10.1016/j.neurol.2009.04.013](https://doi.org/10.1016/j.neurol.2009.04.013).
- WHITE, P. J., G. T. CLEMENT et K. HYNENEN (1^{er} juill. 2006). “Longitudinal and shear mode ultrasound propagation in human skull bone”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 32.7, p. 1085-1096. ISSN : 0301-5629. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2006.03.015](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2006.03.015). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301562906015687> (visité le 10/02/2022).
- WILDES, Douglas, Richard CHIAO, Chris DAFT, K.W. RIGBY, L. SMITH et Kai THOMENIUS (1^{er} oct. 1997). “Elevation performance of 1.25D and 1.5D transducer arrays”. In : *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on* 44, p. 1027-1037. DOI : [10.1109/58.655628](https://doi.org/10.1109/58.655628).
- WU, Juefei, Feng XIE, Tanmay KUMAR, Jinjin LIU, John LOF, William SHI, E. Carr EVERBACH et Thomas R. PORTER (juill. 2014). “Improved sonothrombolysis from a modified diagnostic transducer delivering impulses containing a longer pulse duration”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 40.7, p. 1545-1553. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2014.01.015](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2014.01.015).
- WU, Sheng-Kai, Po-Chun CHU, Wen-Yen CHAI, Shih-Tsung KANG, Chih-Hung TSAI, Ching-Hsiang FAN, Chih-Kuang YEH et Hao-Li LIU (2017). “Characterization of Different Microbubbles in Assisting Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening”. In : *Scientific Reports* 7, p. 46689. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/srep46689](https://doi.org/10.1038/srep46689).
- WU, Shih-Ying, Christian AURUP, Carlos Sierra SANCHEZ, Julien GRONDIN, Wenlan ZHENG, Hermes KAMIMURA, Vincent P. FERRERA et Elisa E. KONOFAGOU (2018a). “Efficient Blood-Brain Barrier Opening in Primates with Neuronavigation-Guided Ultrasound and Real-Time Acoustic Mapping”. In : *Scientific Reports* 8.1, p. 7978. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-018-25904-9](https://doi.org/10.1038/s41598-018-25904-9).
- WU, Shih-Ying, Yao-Sheng TUNG, Fabrice MARQUET, Matthew DOWNS, Carlos SANCHEZ, Cherry CHEN, Vincent FERRERA et Elisa KONOFAGOU (juin 2014). “Transcranial cavitation detection in primates during blood-brain barrier opening—a performance assessment study”. In : *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 61.6, p. 966-978. ISSN : 1525-8955. DOI : [10.1109/TUFFC.2014.2992](https://doi.org/10.1109/TUFFC.2014.2992).
- WU, Shih-Ying et al. (2018b). “Focused ultrasound-facilitated brain drug delivery using optimized nanodroplets : vaporization efficiency dictates large molecular delivery”. In : *Physics in Medicine and Biology* 63.3, p. 035002. ISSN : 1361-6560. DOI : [10.1088/1361-6560/aaa30d](https://doi.org/10.1088/1361-6560/aaa30d).
- XU, Huan, Longbiao HE, Bo ZHONG, Jianmin QIU et Juan TU (sept. 2019). “Classification and prediction of inertial cavitation activity induced by pulsed high-intensity focused ultrasound”. In : *Ultrasonics Sonochemistry* 56, p. 77-83. ISSN : 1873-2828. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2019.03.031](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.031).
- XU, Shanshan, Dezhuang YE, Leighton WAN, Yujia SHENTU, Yimei YUE, Mingxi WAN et Hong CHEN (2019). “Correlation Between Brain Tissue Damage and Inertial Cavitation Dose Quantified Using Passive Cavitation Imaging”. In : *Ultrasound in Medicine & Biology* 45.10, p. 2758-2766. ISSN : 1879-291X. DOI : [10.1016/j.ultrasmedbio.2019.07.004](https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.07.004).
- YANG, Yanye, Qunying LI, Xiasheng GUO, Juan TU et Dong ZHANG (oct. 2020). “Mechanisms underlying sonoporation : Interaction between microbubbles and cells”. In : *Ultrasonics Sonochemistry* 67, p. 105096. ISSN : 1873-2828. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2020.105096](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105096).
- YANG, Yaoheng, Xiaohui ZHANG, Dezhuang YE, Richard LAFOREST, Jeffrey WILLIAMSON, Yongjian LIU et Hong CHEN (2019). “Cavitation dose painting for focused ultrasound-induced blood-brain barrier disruption”. In : *Scientific Reports* 9.1, p. 2840. ISSN : 2045-2322. DOI : [10.1038/s41598-019-39090-9](https://doi.org/10.1038/s41598-019-39090-9).

- YASUI, Kyuichi (1^{er} fév. 2023). "Origin of the broad-band noise in acoustic cavitation". In : *Ultrasonics Sonochemistry* 93, p. 106276. ISSN : 1350-4177. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2022.106276](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106276). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417722003728> (visité le 17/05/2023).
- ZHANG, Q. Q., F. T. DJUTH, Q. F. ZHOU, C. H. HU, J. H. CHA et K. K. SHUNG (22 déc. 2006). "High frequency broadband PZT thick film ultrasonic transducers for medical imaging applications". In : *Ultrasonics* 44 Suppl 1, e711-715. ISSN : 1874-9968. DOI : [10.1016/j.ultras.2006.05.130](https://doi.org/10.1016/j.ultras.2006.05.130).
- ZHANG, Siyuan et al. (2017). "Inverse effects of flowing phase-shift nanodroplets and lipid-shelled microbubbles on subsequent cavitation during focused ultrasound exposures". In : *Ultrasonics Sonochemistry* 34, p. 400-409. ISSN : 1873-2828. DOI : [10.1016/j.ultsonch.2016.06.017](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.017).
- ZHAO, Yi, Ping YUE, Yao PENG, Yuanyuan SUN, Xing CHEN, Ze ZHAO et Bingjie HAN (déc. 2023). "Recent advances in drug delivery systems for targeting brain tumors". In : *Drug Delivery* 30.1, p. 1-18. ISSN : 1521-0464. DOI : [10.1080/10717544.2022.2154409](https://doi.org/10.1080/10717544.2022.2154409).
- ZHU, Yiyang I., Douglas L. MILLER, Chunyan DOU et Oliver D. KRIPFGANS (2017). "Passive Microlesion Detection and Mapping for Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy". In : *AIP conference proceedings* 1816.1. ISSN : 0094-243X. DOI : [10.1063/1.4976594](https://doi.org/10.1063/1.4976594).

Titre : Contrôle intelligent de la cavitation des microbulles à travers le crâne pour l'optimisation des thérapies ultrasonores **Mots clés :** cavitation, barrière hémato-encéphalique, ultrasons, cerveau, crâne, microbulles

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est la principale interface d'échanges entre le sang et le tissu cérébral. Elle reste à ce jour un obstacle majeur pour la prise en charge thérapeutique des pathologies neurologiques ou cancéreuses du système nerveux central (SNC). En effet, plus de 95% des médicaments ne parviennent pas ou très peu dans les tissus cérébraux ciblés à cause de la BHE. Des approches permettant d'optimiser la délivrance cérébrale de principes actifs doivent être mises au point pour enrichir l'arsenal thérapeutique contre les pathologies du SNC.

Depuis 2001, l'utilisation des ultrasons, combinée à l'injection de microbulles constitue une méthode non-invasive permettant l'ouverture transitoire, locale et répétée de la BHE sans dommage tissulaire. Cette technique requiert un contrôle rigoureux de la dosimétrie ultrasonore *in situ* : les microbulles doivent recevoir suffisamment d'intensité pour agir efficacement (cavitation stable) sans pour autant osciller trop fortement (cavitation inertielle) pour ne pas risquer d'imploser et engendrer localement des effets néfastes. Cette dosimétrie est rendue difficile par la présence de l'os crânien, très hétérogène et différent d'un individu à l'autre.

Il a été montré qu'il était possible de mesurer l'état des oscillations des microbulles (cavitation) à partir des signaux ultrasonores diffusés par ces dernières. Ainsi, des bulles stables renvoient uniquement les harmoniques de la fréquence d'émission, tandis que des bulles en cours d'implosion renvoient un signal large bande caractérisé par une émission à toutes les fréquences. Des algorithmes ont donc été construits afin d'adapter la pression d'émission des ultrasons en temps réel selon les signaux rétro-diffusés par les microbulles. Le présent travail de thèse se focalise sur le contrôle de la cavitation au travers d'algorithmes utilisant différents indices, calculés à partir des spectres des si-

gnaux de cavitation. Ces travaux ont pu profiter d'électroniques ultra-rapides (Field Programmable Gate Array, FPGA) permettant d'accélérer drastiquement le contrôle mis en place. La rétroaction est alors capable d'agir sur l'amplitude des émissions à quelques kHz contre quelques Hz seulement précédemment.

Dans un premier temps, un dispositif expérimental a été construit afin de placer un flux de microbulles à la focale d'un transducteur thérapeutique ultrasonore. Ce dispositif *in vitro* a permis d'enregistrer les signaux ultrasonores émis par les microbulles en oscillations sous différentes pressions acoustiques. L'ensemble des mesures a servi à optimiser le calcul des indices qui caractérisent les différents états de cavitation.

Suite à ces mesures en cuve, des mesures de cavitation ont été réalisées lors d'expériences de perméabilisation de la BHE *in vivo*. Ces résultats ont été comparés aux résultats *in vitro* afin de faire correspondre les différents états de cavitation avec les observations biologiques : présence ou absence de la perméabilisation de la BHE ou de dommages vasculaires.

À partir de ces résultats un algorithme de régulation de la cavitation exploitant la vitesse permise par les FPGA a été construit. Son fonctionnement repose sur une augmentation progressive de la pression acoustique lors de chaque tir ultrasonore avec un maintien de la pression juste en dessous du seuil d'apparition de la cavitation inertielle. Cet algorithme a pu être testé *in vitro* et *in vivo*.

Enfin, dans une démarche translationnelle de mes travaux vers leur utilisation clinique, des mesures de cavitation *ex vivo* ont eu lieu au travers d'un demi-crâne humain. Ces mesures démontrent notre capacité à capter les indices nécessaires au bon fonctionnement des algorithmes de contrôle de la cavitation chez l'Homme dans des conditions où le signal est dégradé par l'épaisseur importante d'os à franchir.

Title : Smart control of microbubble cavitation through the skull for the optimization of ultrasound therapy **Keywords :** cavitation, blood-brain barrier, ultrasound, brain, skull, microbubbles

The blood-brain barrier (BBB) is the primary interface for exchanges between blood and brain tissue. It remains a major obstacle in the therapeutic management of neurological or cancerous pathologies of the central nervous system (CNS), as over 95% of drugs struggle to reach targeted brain tissues due to the BBB. Approaches optimizing the cerebral delivery of active compounds are crucial to enrich the therapeutic arsenal against CNS pathologies.

Since 2001, the use of ultrasound, combined with microbubble injection, has provided a non-invasive method for transient, local, and repeated opening of the BBB without tissue damage. This technique requires rigorous control of *in situ* ultrasonic dosimetry : microbubbles need sufficient intensity for effective action (stable cavitation) without oscillating too strongly (inertial cavitation) to avoid the risk of implosion and local adverse effects. Dosimetry is challenging due to the presence of the cranial bone, which is highly heterogeneous and varies among individuals.

It has been demonstrated that measuring the oscillation state of microbubbles (cavitation) is possible with the ultrasonic signals backscattered by them. Thus, stable microbubbles reflect only harmonics of the emission frequency, while imploding microbubbles reflect a broadband signal characterized by emission at all frequencies. Algorithms have been developed to adjust the ultrasound emission pressure in real-time based on the signals backscattered by microbubbles. This thesis focuses on cavitation control through algorithms using different indices calculated

from cavitation signal spectra. The work benefited from ultra-fast electronics, Field Programmable Gate Array, (FPGA) that drastically accelerated the implemented control.

An experimental setup was initially constructed to place a stream of microbubbles at the focus of a therapeutic ultrasound transducer. This *in vitro* device recorded ultrasonic signals backscattered by oscillating microbubbles under various acoustic pressures. The measurements optimized the calculation of indices characterizing different cavitation states.

Following these tank measurements, cavitation measurements were conducted during BBB permeabilization experiments *in vivo*. These results were compared to *in vitro* results to correlate different cavitation states with biological observations : presence or absence of BBB permeabilization or vascular damage. Based on these results, a cavitation regulation algorithm exploiting the speed provided by the FPGA was constructed. It operates by progressively increasing the acoustic pressure during each ultrasound pulse while maintaining the pressure just below the inertial cavitation threshold. This algorithm was tested *in vitro* and *in vivo*.

Finally, in a translational approach towards clinical application, cavitation measurements were performed *ex vivo* using a human half-skull. These measurements demonstrate our ability to capture the necessary indices for the proper functioning of cavitation control algorithms in humans under conditions where the signal is degraded by the substantial thickness of bone to penetrate.

