



HAL
open science

Contrôle temporel de la cavitation ultrasonore : Application à la thrombolyse ultrasonore extracorporelle

Adrien Poizat

► To cite this version:

Adrien Poizat. Contrôle temporel de la cavitation ultrasonore : Application à la thrombolyse ultrasonore extracorporelle. Acoustique [physics.class-ph]. Université de Lyon; Université Claude Bernard Lyon 1, 2016. Français. NNT: . tel-01294790v1

HAL Id: tel-01294790

<https://theses.hal.science/tel-01294790v1>

Submitted on 29 Mar 2016 (v1), last revised 9 Sep 2016 (v2)

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

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



Numéro d'ordre NNT : 31 - 2016

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

ECOLE DOCTORALE 162
Mécanique, Energétique, Génie Civil, Acoustique

Spécialité de doctorat : GENIE BIOMEDICAL
Discipline : ACOUSTIQUE

Soutenue publiquement le 11/02/2016, par :

Adrien POIZAT

Contrôle temporel de la cavitation ultrasonore :
Application à la thrombolyse ultrasonore extracorporelle

Directeur de thèse : **Jean-Christophe BERA**
Co-directeur de thèse : **Bruno GILLES**
Co-directeur de thèse : **Christian CACHARD**

Devant le jury composé de :

P. DOUEK	PUPH, HCL, Lyon	Président
B. DUBUS	Directeur de Recherche, IEMN, Lille	Rapporteur
F. PATAT	PUPH, Université F. Rabelais, Tours	Rapporteur
S. MENSAH	Maître de conférences, LMA, Marseille	Examineur
J-C. BERA	Professeur, LabTAU, Lyon	Directeur de thèse
C. CACHARD	Professeur, CREATIS, Lyon	Co-directeur de thèse

A Babe, Piggy, Fluffy,
Shaun, Shaun 2, Timmy, Jenny,
Jenny junior, Clara, Stqrship, Laineuse,
Tiffany, Moutonneuse et Samantha...

... morts pour la science.

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie
Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Directeur Général des Services

M. François-Noël GILLY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est - Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud

Charles Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en

Biologie Humaine

M. le Professeur J. ETIENNE

Mme. le Professeur C. BURILLON

M. le Professeur D. BOURGEOIS

Mme. le Professeur C. VINCIGUERRA

M. le Professeur Y. MATILLON

Mme. le Professeur A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques
et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

M. F. DE MARCHI

M. le Professeur F. FLEURY

Mme. C. FELIX

M. H. HAMMOURI

M. le Professeur S. AKKOUICHE

M. le Professeur G. TOMANOV

M. le Professeur H. BEN HADID

M. J-C. PLENET

M. Y. VANPOULLE

M. B. GUIDERDONI

M. le Professeur E. PERRIN

M. G. PIGNAULT

M. le Professeur C. VITON

M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

M. N. LEBOISNE

Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier très chaleureusement mes directeurs de thèse Bruno Gilles, Jean-Christophe Béra et Christian Cachard, pour leur accueil et la confiance qu'ils m'ont témoignée tout au long de cette expérience. Merci donc à Bruno Gilles de m'avoir permis de réaliser mon stage de fin d'école d'ingénieur au sein du LabTAU et de m'avoir permis de continuer l'aventure en thèse ; merci à Jean-Christophe Béra pour toute son aide et ses conseils apportés au quotidien. Leur encadrement et leur disponibilité à tous les deux, ainsi que leurs relectures minutieuses et attentives de mes articles et de mon manuscrit, m'ont beaucoup apporté. Merci enfin à Christian Cachard de m'avoir accueilli au sein du laboratoire CREATIS, de sa confiance et son soutien, même si finalement l'orientation prise par la thèse ne nous a pas permis de beaucoup travailler ensemble.

Je tiens également à remercier Frédéric Patat et Bertrand Dubus d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, ainsi que Serge Mensah et Philippe Douek d'avoir accepté de faire partie du jury.

Un grand merci aux collaborateurs de l'hôpital cardiologique, Stéphane Luong, Philippe Douek et Didier Revel, grâce à qui nous avons pu développer le modèle animal et réaliser tous les tests de thrombolyse in vivo. En particulier, merci à eux d'avoir continué à croire en ce projet, même lorsque les difficultés rencontrées lors des premiers tests auraient pu nous faire renoncer. Merci également à Sébastien Bros, Adva Abergel et Salim Si-Mohamed pour leur aide apportée lors de la réalisation des chirurgies au bloc opératoire.

Je remercie également Cyril Desjouy pour m'avoir formé sur le FPGA lors de mon arrivée au laboratoire, Francois Varray pour l'aide qu'il m'a apportée lors des expériences réalisées avec l'échographe Ula-Op, Jacqueline Ngo pour tous les précieux conseils en biologie et chimie qu'elle m'a donnés, Isabelle Besançon pour s'être occupée du côté administratif, Anthony Chapelon pour ses conseils en informatique, et Soufiane Belabhar pour son aide et sa disponibilité à l'atelier. Mes sincères remerciements également à Pauline Labelle et Corentin Cornu, mes deux "co-bureau", pour toutes les discussions que nous avons eu, à Claude Inserra pour ses aides diverses mais surtout pour toutes les "grandes avancées scientifiques" que nous avons pu réaliser sur un coin de table le vendredi après-midi, et enfin à Paul Boulos qui continue de faire vivre le projet sur la thrombolyse en réalisant sa thèse.

Plus généralement, je remercie chaleureusement tous les membres du LabTAU pour leur sympathie, leur bonne humeur et tous les bons moments passés ensemble, que ce soit aux repas du midi, lors des pauses "scientifiques", de sorties diverses, ou encore lors de la journée du labo.

Je remercie également tous les membres de CREATIS, et en particulier l'équipe "ultrasons", qui m'ont toujours témoigné une grande sympathie.

Merci à Sébastien Olivier et Brigitte Hamzaoui qui m'ont accompagné et soutenu dans la réalisation de mon monitorat au sein de L'IUT GIM de Villeurbanne.

Bien évidemment, je remercie toute ma famille et mes amis pour leur soutien sans faille, ma mère Jocelyne et mon frère Antonin pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail. Une pensée va à mon père Philippe qui, lors de mes 23 premières années, a su me transmettre ses valeurs et son amour de la technique et de la science, qui me caractérisent tant aujourd'hui.

Un immense merci à mon correcteur orthographique, Marion, l'amour de ma vie, pour m'avoir toujours encouragé, soutenu et supporté, et qui chaque jour m'apporte plus que je n'aurais pu l'espérer, rien ne pourra jamais la remplacer.

Enfin, cette thèse n'aurait pas pu voir le jour sans le soutien du LabEx CeLyA ANR-10-LABX-0060 et ANR-11-IDEX-0007 qui a financé cette thèse, et de l'agence nationale de la recherche qui a financé les projets ULysSE ANR-11-JSV5-0008 et SonInCaRe ANR-10-TECS-0003.

Table des matières

Table des matières	i
Introduction générale	1
1 Problématique	3
1.1 Thrombolyse	3
1.1.1 Thrombose vasculaire	4
1.1.2 Techniques de traitement des thromboses vasculaires	5
1.1.2.1 Techniques médicamenteuses	5
1.1.2.2 Techniques chirurgicales	6
1.1.2.3 Méthodes pharmaco-mécaniques	7
1.1.3 Thrombolyse ultrasonore	8
1.2 Thérapie par ultrasons	9
1.3 Cavitation	11
1.3.1 Cavitation ultrasonore	11
1.3.1.1 Nucléation	11
1.3.1.2 Dynamique d'une bulle	12
1.3.1.3 Caractère aléatoire de la cavitation	13
1.3.2 Contrôle temporel de la cavitation	14
1.4 Conclusion	15
2 Régulation temporelle de la cavitation ultrasonore en régime pulsé	17
2.1 Introduction	17
2.2 Régulation : Principe et Réalisation	18
2.2.1 Dispositif expérimental	19
2.2.1.1 Cuve	19
2.2.1.2 Transducteurs	20
2.2.1.3 Hydrophone	21
2.2.2 Spécificités de la programmation FPGA	22
2.2.3 Programme FPGA	23
2.2.4 Génération du signal	24
2.2.5 Acquisition et traitement du signal (Calcul de l'indice de cavitation)	26

2.2.6	Régulation de la cavitation	27
2.3	Caractérisation du système en milieu libre	28
2.3.1	Principe général	28
2.3.2	Optimisation du gain de régulation	29
2.3.3	Résultats et discussion	31
2.3.3.1	Cas à 550 kHz et 7 mgO ₂ /L	31
2.3.3.2	Influence de la fréquence ultrasonore (550 kHz et 1 MHz)	37
2.3.3.3	Influence de la teneur en gaz dissout (3, 5 et 7 mgO ₂ /L)	38
2.4	Conclusion	41
3	Application de la régulation de la cavitation à la thrombolyse in vitro	43
3.1	Introduction	43
3.2	Dispositif expérimental in vitro	44
3.2.1	Transducteurs	45
3.2.2	Hydrophones	45
3.2.3	Fixation du caillot	47
3.2.4	Cuves	48
3.2.5	Eau et NaCl	48
3.2.6	Placement du caillot	49
3.2.7	Balayage du caillot pendant le tir	49
3.2.8	Contrôle des fragment de caillot relargués	49
3.2.8.1	Ombroscopie par camera ultra-rapide	50
3.2.8.2	Compteur de particules	50
3.3	Modèle de caillot sanguin in vitro	51
3.3.1	Préparation des solutions	51
3.3.1.1	Solution d'albumine (SAB)	52
3.3.1.2	Solution de thrombine	52
3.3.1.3	Solution de CaCl ₂	52
3.3.2	Coagulation du sang total	52
3.3.3	Préparation des échantillons pour insonification	53
3.3.4	Déroulement des mesures	53
3.3.5	Détermination d'un critère d'efficacité du tir	54
3.4	Sonolyse de caillots sanguins in vitro	57
3.4.1	Résultats et discussion	58
3.4.1.1	Efficacité de la régulation en thrombolyse in vitro (Cas 550 kHz, régime pulsé 4 Hz - 10%)	58
3.4.1.2	Influence de la fréquence en thrombolyse in vitro (Cas 550 kHz et 1 MHz, régime pulsé 4 Hz - 10%)	60
3.4.1.3	Influence du rapport cyclique des salves en thrombolyse in vitro (Cas 1 MHz, rapport cyclique de 1%)	64

3.4.1.4	Nombre et tailles de fragments relargués	68
3.5	Conclusion	69
4	Application de la régulation à la thrombolyse in vivo	71
4.1	Introduction	71
4.2	Dispositif expérimental in vivo	72
4.2.1	Système de thérapie	73
4.2.1.1	Transducteur	73
4.2.1.2	Hydrophone	75
4.2.1.3	Sondes échographiques	75
4.2.1.4	Ballon de couplage	77
4.2.1.5	Supports	77
4.2.2	Bras robotisé	78
4.2.2.1	Déplacement manuel	78
4.2.2.2	Déplacement automatisé	78
4.2.3	Sonde échographique linéaire	78
4.2.3.1	Système de repérage du caillot	79
4.2.4	Pilotage de l'ensemble des composants du système	79
4.3	Modèle de thrombose in vivo	80
4.3.1	Modèle ovin	80
4.3.2	Déroulement des mesures	82
4.3.3	Détermination de l'efficacité du tir	82
4.3.3.1	Contrôle angiographique	83
4.3.3.2	Contrôle échographique	83
4.3.3.3	Contrôle histologique	84
4.4	Repérage spatial de la cavitation	85
4.4.1	Principe	85
4.4.2	Résultats	87
4.4.3	Décalage de la zone focale dans les tissus	89
4.4.3.1	Positionnement échographique	89
4.4.3.2	Réfraction acoustique	90
4.5	Résultats préliminaires de thrombolyse in vivo	91
4.5.1	Résultats angiographiques de reperfusion	93
4.5.2	Observations histologiques	93
4.5.3	Discussion et perspectives	96
4.6	Conclusion	97
	Conclusion générale	99
	Bibliographie	101

Introduction

Les maladies cardiovasculaires et notamment la formation de caillots sanguins dans le système vasculaire (thrombose) sont responsables d'une part importante des décès dans le monde. L'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral ou encore l'embolie pulmonaire et l'ischémie aiguë de membre constituent les formes les plus graves et les plus redoutées des thromboses vasculaires. Aujourd'hui, différents traitements sont couramment utilisés pour soigner ces pathologies mais ils présentent tous des effets secondaires potentiellement graves. Par exemple, les traitements médicamenteux (anticoagulants et thrombolytiques) induisent de forts risques d'hémorragie chez les patients alors que les traitements chirurgicaux (angioplastie, thrombectomie et pontage) présentent eux des risques liés aux gestes invasifs. D'autres techniques mixtes, dites pharmaco-mécaniques, ont été développées mais ne se démarquent pas suffisamment des techniques précédentes pour être utilisées de manière systématique.

En réponse à ces problèmes, les ultrasons thérapeutiques sont apparus comme une voie intéressante pour le traitement de ces pathologies. Par exemple, ils sont déjà utilisés en clinique pour le traitement mécanique des calculs rénaux (lithotritie par ondes de choc) ou le traitement thermique de tumeurs cancéreuses (ultrasons focalisés de haute intensité HIFU) comme le cancer de la prostate. Différentes approches ultrasonores pour le traitement des thrombi ont déjà été développées ou sont actuellement en phase de recherche. En particulier, des études ont montré que les ultrasons en complément des agents pharmacologiques permettaient d'en augmenter l'efficacité, ou encore qu'ils étaient susceptibles de détruire les thrombi par voie extracorporelle par génération et implosion de bulles de cavitation en régime inertiel. Cette dernière méthode est particulièrement séduisante. D'une part, parce qu'elle est basée sur l'utilisation d'ultrasons focalisés, elle permet de détruire de manière externe des caillots situés en profondeur sans endommager les tissus situés entre la source ultrasonore et la zone traitée. D'autre part, elle permet de s'affranchir des agents pharmacologiques qui présentent des risques importants d'hémorragie. Elle permettrait donc à la fois d'augmenter le bénéfice thérapeutique tout en diminuant les effets secondaires.

Cependant, la génération et l'utilisation du phénomène de cavitation inertielle n'est pas sans poser de problèmes. En effet, c'est un phénomène dynamique complexe (nucléation, non linéarité, interaction entre bulles...) dépendant de très nombreux paramètres physiques et comportant un caractère aléatoire très marqué, qui rend son utilisation extrêmement délicate dans l'élaboration de thérapies efficaces et reproductibles. De plus, ce phénomène est d'autant plus complexe à maîtriser que le traitement doit être délivré en régime pulsé afin de se prémunir des effets thermiques qui seraient susceptibles d'endommager les tissus sains au voisinage de la zone traitée.

L'objectif des travaux présentés dans cette thèse est donc dans un premier temps de développer un système de régulation de l'activité de cavitation en régime pulsé permettant d'avoir accès à des niveaux de cavitation inertielle contrôlés qui faciliteraient l'élaboration de thérapies plus efficaces et plus reproductibles. Ensuite, ce système devra être testé *in vitro* sur un modèle de caillot sanguin afin de démontrer son efficacité et son intérêt pour le traitement des thromboses vasculaires. Enfin, dans la perspective d'une application de cette technique à la thrombolyse ultrasonore en clinique, des essais préliminaires devront être menés *in vivo* afin de démontrer la faisabilité de la méthode.

Le premier chapitre de cette thèse décrit la problématique scientifique de l'étude. Après avoir présenté la thrombose vasculaire, les différentes techniques de thrombolyse actuellement utilisées en clinique mais également en développement seront exposées, et leurs limites discutées. La section suivante, consacrée aux ultrasons thérapeutiques, abordera d'une part leurs principales applications et d'autre part les différents phénomènes physiques mis en jeu par cette modalité. Ensuite, l'un de ces phénomènes, la cavitation acoustique, sera étudié plus en détail. En particulier les problématiques liées à la nucléation, à la dynamique d'une bulle et au caractère aléatoire de la cavitation seront discutées. Enfin, la dernière partie consacrée au contrôle temporel de la cavitation fera état des différentes études menées dans ce domaine.

Le second chapitre présente le dispositif développé à base de FPGA (Field-Programmable Gate Array) pour réguler l'activité de cavitation inertielle en régime pulsé. Après avoir décrit en détail le dispositif expérimental ainsi que les différents éléments le composant, la démarche d'évaluation et de caractérisation de ce système sera présentée. Ensuite, les résultats de la caractérisation du système en milieu libre et en régime régulé seront discutés et comparés aux essais réalisés sans régulation. Enfin, l'influence de la fréquence d'une part et l'influence de la teneur en gaz dissout d'autre part seront présentées et étudiées.

Le troisième chapitre est consacré à l'application du système de régulation à l'étude *in vitro* de la destruction ultrasonore d'un caillot sanguin. Après avoir présenté en détail le dispositif expérimental et le modèle de caillot sanguin utilisé, la démarche mise en place pour effectuer les essais de thrombolyse sera détaillée. Premièrement, les résultats de thrombolyse *in vitro* en régime régulé seront discutés et comparés aux essais réalisés sans régulation. Ensuite, l'influence de la fréquence d'excitation utilisée en thrombolyse sera étudiée. Enfin, le changement de la configuration des paramètres de salves sera exposé et commenté.

Le dernier chapitre présente les premiers résultats de thrombolyse purement ultrasonore par voie extracorporelle effectuée *in vivo*. Premièrement, le dispositif de thrombolyse développé pour la réalisation d'essais *in vivo* sera présenté en détail ainsi que les différents éléments le composant. Deuxièmement, le modèle ovin de thrombose artérielle *in vivo* développé sera détaillé et la démarche suivie pour la réalisation des essais de thrombolyse exposée. Troisièmement, la mise en place d'un système de localisation spatiale de la cavitation sera décrite et commentée. Enfin, les premiers résultats de thrombolyse *in vivo* seront présentés.

Chapitre 1

Problématique

1.1 Thrombolyse

Selon l'OMS, les maladies cardiovasculaires sont responsables d'environ 1/3 des décès dans le monde, soit environ 17,5 millions de personnes touchées en 2012, et sont étroitement liées à la formation pathologique de caillot sanguin dans le système vasculaire (thrombose). Les estimations portent à 23,3 millions le nombre de personnes qui pourraient être victimes de maladies cardiovasculaires d'ici 2030, en raison notamment de l'augmentation des facteurs de risques tels que le mode de vie sédentaire, l'obésité, le tabagisme, le diabète ou encore la pollution de l'air [96].

Selon la zone de développement du thrombus et son état d'avancement, la gravité de la pathologie peut varier d'asymptomatique à fatale. Deux formes de thrombose, très différentes, sont notamment à distinguer selon qu'elles touchent le système veineux ou artériel.

Dans le cas des thromboses veineuses, seule la thrombose veineuse profonde qui résulte de la formation d'un thrombus sur le site d'une veine pathologique, peut présenter des formes graves lorsque des complications apparaissent, la complication la plus fréquente et la plus grave étant l'embolie pulmonaire. Elle se caractérise par la migration d'un caillot sanguin, s'étant formé dans le système veineux, venant obstruer de manière plus ou moins massive le système artériel pulmonaire [52]. Le système veineux étant organisé en "réseau multiple" (possibilité de substitution d'une veine par une autre), les thromboses veineuses ne posent que rarement des problèmes et guérissent dans la grande majorité des cas sans séquelles avec l'administration d'un traitement adapté.

En revanche, dans le cas des thromboses artérielles, le pronostic est tout autre. Par exemple, l'infarctus du myocarde ischémique et l'accident vasculaire cérébral [45, 44] sont le résultat de la formation d'un thrombus respectivement dans les artères coronaires et cérébrales, et sont considérés comme les formes les plus graves de thrombose. D'autres pathologies souvent moins graves, telles que l'embolie pulmonaire [42] ou l'ischémie aiguë de membre qui résultent soit du détachement d'un caillot s'étant formé en amont (embolie sur artère saine), soit d'une thrombose sur le site d'une artère pathologique, peuvent tout de même présenter des formes graves où le pronostic vital est engagé. Dans tous les cas, le système artériel étant organisé en "réseau unique" (impossibilité de substitution d'une artère par une autre à très court terme), les pathologies aiguës liées à la formation ou au détachement

de thrombus dans les artères sont potentiellement très graves et demandent une prise en charge rapide du patient.

Ainsi, considérant le nombre de victimes, le coût élevé des traitements et la prévalence de ces maladies, il apparaît nécessaire de développer des traitements efficaces et présentant le moins possible d'effets secondaires.

1.1.1 Thrombose vasculaire

Il existe de multiples causes à la formation d'un caillot sanguin dans le système vasculaire. Le phénomène de coagulation (hémostase) est une réponse physiologique du corps humain à une lésion vasculaire permettant de stopper les saignements et de favoriser la réparation de l'endothélium. Le phénomène naturel de fibrinolyse (anti-coagulation) permet ensuite de détruire progressivement le caillot à mesure que la cicatrisation avance. Dans ces conditions normales, le thrombus reste confiné au niveau du vaisseau lésé et ne pose que rarement des problèmes d'irrigation de régions critiques. Cependant, dans certaines conditions, des caillots sanguins sont susceptibles de se développer de manière pathologique dans les vaisseaux sanguins, on parle alors de thrombose vasculaire et plus particulièrement de thrombose artérielle lorsque le thrombus se développe dans les artères. Les trois grands facteurs favorisant la thrombose sont la variation hémodynamique (stase, turbulence), le dysfonctionnement ou altération de l'endothélium (plaque d'athérome, dégénérescence des artères) et l'hypercoagulabilité (déficit héréditaire en inhibiteurs de la coagulation, grossesse, cancer). Ces trois facteurs sont connus sous le nom de triade de Virchow [11] et sont en cause dans de nombreuses pathologies cardiovasculaires.

Par exemple, l'accumulation de plaques d'athérome formant le thrombus dans les artères coronaires est communément observée postmortem chez les victimes d'infarctus du myocarde. De plus, bien que cette sténose puisse entraîner une variation du flux sanguin [41], c'est le plus souvent la rupture de cette plaque couplée au phénomène de spasme coronaire qui provoque l'infarctus par obstruction complète de l'artère [20, 68]. La variation de flux sanguin qui engendre des contraintes de cisaillement joue dans ce cas un rôle important dans le détachement de la plaque d'athérome [92]. L'accident vasculaire cérébral ischémique peut résulter, de manière similaire, d'un caillot d'origine cardiaque qui se détache puis migre jusqu'à obstruer complètement une artère cérébrale [1], tout comme, dans l'ischémie aiguë de membre, le caillot vient se loger dans les artères des membres inférieurs ou supérieurs. En outre, la plupart des formes de thrombose vasculaire semblent résulter de multiples facteurs simultanés. Généralement, le patient a d'une part une prédisposition favorisant la coagulation (lésions vasculaire, facteurs génétiques ou expression accrue de procoagulant liée à une autre maladie) et d'autre part une stimulation aiguë supplémentaire (stase liée à l'inactivité ou traumatisme vasculaire) qui provoque la thrombose [48]. Ainsi, la formation du thrombus relève donc d'une interaction complexe entre les trois critères de la triade de Virchow plutôt que de la simple apparition d'un facteur.

D'autre part, les caillots peuvent progresser rapidement ou lentement en fonction de leur site et cause de formation. Ce sont des corps visqueux, semi-solides et de nature spongieuse. Dans le cas d'une progression rapide, le caillot est composé de globules rouges, de plaquettes, de fibrine (issue du fibrinogène sous l'action de la thrombine) et de cellules inflammatoires, soit mélangés entre eux, soit

stratifiés [55]. A plus long terme, une perfusion insuffisante provoque une réorganisation de la structure du caillot qui devient difficile à différencier de la paroi vasculaire. Après plusieurs semaines ou mois, la lumière du vaisseau peut être entièrement occupée par le caillot sanguin, le vaisseau présentant alors une hyperplasie fibreuse et une micro-vascularisation s'étant mis en place pour suppléer le vaisseau thrombosé [89].

Lorsque la croissance des thrombus est lente, les thromboses peuvent être asymptomatiques pendant de longues périodes et ne peuvent être diagnostiquées qu'une fois le remodelage de la paroi vasculaire effectué. A ce moment-là, la caractérisation de l'âge d'un thrombus peut contribuer de manière significative à l'élaboration d'un traitement adapté [21]. Pour cela, l'imagerie échographique s'est révélée être une méthode adaptée pour l'évaluation de la rigidité et de l'âge du caillot sanguin grâce à l'imagerie mode B et l'élastographie [21, 19, 22]. Dans le cas de pathologies aiguës comme l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral ou encore l'ischémie aiguë de membre, le risque pour le patient étant majeur, les traitements doivent être administrés rapidement. En effet, la préservation des fonctions des organes est intimement liée à leur bonne vascularisation, permettant un apport continu en oxygène et glucose. Ainsi, si un organe est privé de sang pendant une trop longue période (ischémie), une partie ou l'ensemble de l'organe est susceptible d'être sujet à une nécrose tissulaire (mort des cellules), entraînant la perturbation voire l'arrêt de sa fonction.

1.1.2 Techniques de traitement des thromboses vasculaires

La thrombolyse est l'action qui consiste à désagréger chimiquement ou mécaniquement un caillot sanguin obstruant partiellement ou totalement un vaisseau sanguin. C'est l'équivalent artificiel du phénomène physiologique de fibrinolyse. Aujourd'hui, les techniques les plus couramment utilisées pour le traitement des thromboses sont d'une part les traitements médicamenteux et d'autre part les traitements chirurgicaux invasifs. En effet, selon l'emplacement, la gravité et l'âge du thrombus, différentes options de traitement des thromboses sont envisagées, notamment l'administration d'anticoagulants [28], de thrombolytiques [83, 61] ou la réalisation de gestes chirurgicaux tel que la thrombectomie par cathéter [80] ou la thrombectomie chirurgicale directe [61], voire une combinaison de ces méthodes. Dans tous les cas, l'objectif du traitement des thromboses est le rétablissement de la perfusion normale des tissus.

1.1.2.1 Techniques médicamenteuses

Les traitements médicamenteux consistent en l'administration d'un médicament permettant de dégrader le caillot sanguin afin de rétablir la circulation sanguine. Il existe deux grands types de médicaments utilisés pour traiter les thromboses, qui sont d'une part les anticoagulants et d'autre part les thrombolytiques.

L'administration d'anticoagulants tels que l'héparine et les anti-vitamines K (AVK) est utilisée lorsqu'il n'est pas nécessaire de dissoudre rapidement le caillot sanguin. Ce type de traitement ne provoque pas à proprement parler de thrombolyse mais favorise plutôt le mécanisme naturel de fibrinolyse, aidant ainsi l'organisme à éliminer le caillot sanguin. Cependant, il est rare que de tels

traitements suffisent à recanaliser entièrement le vaisseau traité même après plusieurs mois [31], en particulier lorsque les caillots sanguins sont composés de plaques d'athérome et non de fibrine. Ces traitements par voie orale sont donc principalement utilisés par les cliniciens pour éviter la prolifération du thrombus lorsque ces pathologies sont asymptomatiques ou peu avancées. En outre, ces médicaments augmentent tout de même le risque d'hémorragie grave pendant leur administration [78].

Les agents thrombolytiques tels que la streptokinase, l'urokinase et l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) sont utilisés pour dissoudre activement le caillot en induisant l'activité de fibrinolyse. En effet, ces médicaments agissent comme l'enzyme naturelle (t-PA) en activant une protéine (le plasminogène) en enzyme (la plasmine normalement sécrétée par le foie), permettant ainsi de lyser les réseaux de fibrine. De par ce mode d'action, ces traitements ne sont pas efficaces sur tous les types de caillots sanguins, car ils ne permettent de briser spécifiquement que les réseaux de fibrine composant le thrombus [34, 58]. Ils sont par exemple peu efficaces pour le traitement de caillots composés essentiellement de plaquettes. Ces médicaments sont utilisés principalement pour le traitement de thromboses aiguës et doivent être administrés rapidement une fois le diagnostic posé, faute de quoi les risques liés aux effets secondaires seront considérés comme trop importants face aux bénéfices [24]. De plus, ces agents thrombolytiques, bien qu'ils soient une alternative avantageuse à la chirurgie en terme de coût et de contrainte, présentent non seulement des risques d'hémorragie encore plus importants que les anticoagulants en raison de leur action massive de destruction des réseaux de fibrine, mais posent également des problèmes d'allergie non négligeables. En raison de ces limitations, les thrombolytiques ne peuvent en pratique être administrés que chez un nombre réduit de patient qui ne présentent pas de contre-indication. Par exemple, l'utilisation de ces traitements n'est pas recommandée pour traiter les patients ayant souffert d'hémorragie digestive ou d'accident vasculaire cérébral hémorragique. Des études montrent qu'en moyenne, dans seulement 20% des cas les agents thrombolytiques peuvent être effectivement utilisés [13, 40, 8]. Ainsi, ces médicaments ne sont pas utilisables comme traitement systématique des thromboses aiguës.

1.1.2.2 Techniques chirurgicales

Une alternative à la thrombolyse par administration de médicament est de réaliser un acte chirurgical permettant d'une part de rétablir la perfusion tissulaire, et d'autre part de traiter tous les types de thrombus. En pratique, les traitements chirurgicaux invasifs ou peu invasifs sont essentiellement utilisés lorsque les techniques médicamenteuses ne suffisent pas ou lorsque le thrombus occlusif est bien installé. Trois techniques sont couramment utilisées : l'angioplastie, la thrombectomie et le pontage.

Premièrement, l'angioplastie par ballonnet consiste à utiliser un ballonnet amené par un cathéter sur la zone sténosée ou obstruée, pour réouvrir mécaniquement la lumière du vaisseau, par gonflement maîtrisé. Afin d'éviter le retour élastique du vaisseau au moment où le ballonnet est dégonflé et retiré, cette chirurgie s'accompagne souvent d'une pose de stent, sorte de cage rigide cylindrique permettant de maintenir le vaisseau ouvert de façon permanente. Ce type de chirurgie est couramment employé dans la désobstruction des artères coronaires, permettant de prévenir et traiter les infarctus du

myocarde.

Deuxièmement, la thrombectomie mécanique par cathéter consiste à fragmenter le caillot puis à aspirer les fragments [80]. Pour réaliser ce geste, il existe différents types de cathéter basés sur des mécanismes d'action allant de l'utilisation d'un dispositif mécanique à l'utilisation d'un dispositif hydraulique pour fragmenter le caillot.

Troisièmement, le pontage consiste à installer une portion de vaisseau artificiel permettant de relayer la portion du vaisseau pathologique contenant le thrombus. Cette technique est très largement la plus invasive, elle est donc réservée au traitement d'obstructions très sévères présentant une longue portion de vaisseau thrombosé ou de multiples caillots. Elle est également utilisée lorsque que les autres thérapies se sont révélées inefficaces.

Par ailleurs, la réalisation d'actes chirurgicaux, certes peu invasifs dans le cadre d'utilisation de cathéter, présente tout de même de nombreux inconvénients. Premièrement, ces gestes ne traitent que la conséquence et non les causes de la thrombose, ce qui implique qu'ils sont souvent associés à la prise de traitements médicamenteux. Ensuite, ils présentent des risques importants d'hémorragie, de lésion vasculaire, de perforation, d'hémolyse, d'infection ou encore de rechute [79, 84]. Enfin, ils peuvent être difficiles à mettre en place, notamment pour le traitement de patient en crise aiguë, et requièrent un plateau technique important et coûteux, qui n'est pas toujours disponible. En raison de ces nombreuses limitations, les cardiologues sont demandeurs de traitements plus sûrs et plus efficaces.

1.1.2.3 Méthodes pharmaco-mécaniques

Afin de mieux cibler le thrombus, les traitements médicamenteux peuvent être administrés de manière plus ciblée, notamment par l'intermédiaire d'un cathéter permettant de réduire au maximum les risques de saignements à distance du thrombus. Il s'agit dans ce cas de techniques dites pharmaco-mécaniques s'appuyant sur une combinaison des deux techniques précédentes. Deux techniques ont particulièrement été étudiées :

La première technique (Pulse Spray) consiste à injecter sous pression, à l'aide d'un cathéter, une solution d'agents thrombolytiques (mélange urokinase héparine) au plus près du thrombus. Cette technique est très efficace car elle permet de traiter la totalité du thrombus en environ 20 minutes. Cependant, l'efficacité de cette technique pourrait n'être liée qu'à l'effet mécanique du jet sous pression qui éroderait le thrombus, rendant inutile voire dangereux l'utilisation d'agents thrombolytiques.

La seconde technique (Lyse and Wait) consiste à injecter, toujours à l'aide d'un cathéter, une solution d'agents thrombolytiques (mélange urokinase héparine) proche du thrombus, puis à attendre que les médicaments fassent effet avant de réaliser une angioplastie par ballonnet. Cette technique donne des résultats voisins de la technique précédente mais présente le désavantage de moins bien contrôler la délivrance ciblée des agents thrombolytiques.

En résumé, ces techniques ne se démarquent pas suffisamment des traitements interventionnels et ne peuvent donc pas être utilisées de manière universelle pour le traitement des thrombi. De plus, malgré l'utilisation d'agents thrombolytiques dirigés, les risques d'hémorragie restent encore importants [54].

1.1.3 Thrombolyse ultrasonore

En réponse aux diverses contraintes des méthodes précédentes, de nombreuses études se sont penchées sur l'utilisation des ultrasons dans le processus de thrombolyse, pour augmenter les effets des agents thrombolytiques ou réaliser des thrombectomies [90, 36]. Trois méthodes ont particulièrement été étudiées : premièrement, la thrombolyse mécanique avec contact direct (cathéters et transducteurs miniaturisés) ; deuxièmement, l'augmentation des effets des agents thrombolytiques grâce aux ultrasons ; et troisièmement, la thrombolyse ultrasonore par voie extracorporelle [71], avec ou sans injection d'agent de contraste.

Dès 1976, plusieurs équipes, Trubestein et al. en premier, ont utilisé un cathéter rigide comme guide ultrasonore afin de réaliser une thrombectomie sans utilisation d'agent thrombolytique [90, 85, 5]. Cependant l'utilisation de ce type de cathéter crée un fort risque de perforation vasculaire. Plus récemment, un autre type de cathéter, composé d'un transducteur miniaturisé fixé à son extrémité, a également été utilisé pour la réalisation de thrombectomies [81]. Cependant, ces techniques ultrasonores ne se démarquent pas réellement des techniques chirurgicales de thrombectomie classique, et présentent globalement les mêmes risques et contraintes [62].

Depuis, les techniques ultrasonores n'ont cessé d'évoluer, étant soit combinées avec des techniques chirurgicales ou médicamenteuses existantes, soit utilisées seules pour la destruction de caillots sanguins. A partir de 1989, plusieurs équipes ont montré *in vitro* que l'utilisation d'ultrasons permettait d'augmenter les effets des agents thrombolytiques (tPA) [87, 39]. Depuis, l'accent a souvent été mis sur l'aspect synergique d'une association entre les ultrasons de faible intensité et les agents thrombolytiques. En effet, les ultrasons permettraient d'augmenter la pénétration des thrombolytiques au sein du caillot, accélérant ainsi son processus de dissolution [23, 17]. Par exemple, il a été montré *in vitro* que l'utilisation d'ultrasons combinés à un agent thrombolytique permettait de diviser par 6 le temps nécessaire à la lyse d'un caillot par rapport à une thérapie n'utilisant qu'un agent thrombolytique [82]. En outre, l'utilisation d'ultrasons couplés à une faible dose d'agents thrombolytiques serait plus efficace que l'utilisation d'une dose importante d'agents thrombolytiques seule. Une autre approche développée plus récemment est l'utilisation d'ultrasons combinés avec des micro-bulles chargées en agents thrombolytiques [2]. Dans ce cas-là, l'interaction des ultrasons avec les micro-bulles permet de générer des recirculations au voisinage du caillot sanguin, permettant ainsi de délivrer plus efficacement les médicaments. D'autres études complémentaires montrent que la cavitation ultrasonore pourrait jouer un rôle important dans l'augmentation de l'efficacité des agents thrombolytiques soumis aux ultrasons. Il a notamment été montré que ce serait la cavitation stable qui jouerait un rôle majeur dans l'augmentation de l'efficacité des agents thrombolytiques [16], alors que dans le cas d'agents encapsulés (micro-bulles) ce serait la cavitation inertielle qui jouerait un rôle prédominant [65].

Plus récemment, des études ont montré qu'il était possible de détruire rapidement des thrombi par ultrasons sans utiliser d'agents thrombolytiques, grâce à l'utilisation d'ultrasons focalisés de forte intensité [91, 70]. Cette technique présente non seulement l'avantage d'être rapide (quelques minutes) [70] par rapport au temps qu'il faut pour reperfusionner un vaisseau après l'injection d'un médicament (plusieurs heures) [10, 3], mais elle permet également de supprimer les risques liés à l'utilisation d'agents

thrombolytiques. Ces études s'appuient très largement sur l'utilisation des effets mécaniques de la cavitation inertielle ultrasonore. Cependant, la cavitation inertielle étant un phénomène dynamique complexe, dépendant de très nombreux paramètres physiques et comportant un caractère aléatoire marqué, trois directions ont été explorées et sont toujours à l'étude pour développer des thérapies plus reproductibles. Les premières études se sont focalisées sur l'utilisation d'agents de contraste permettant d'initier beaucoup plus facilement la cavitation inertielle [64, 7]. D'autres études se sont tournées vers l'utilisation d'ultrasons pulsés de très forte amplitude permettant de déclencher à coup sûr la cavitation : il s'agit de l'histotritie [56, 57, 94, 97]. Enfin, d'autres études ont proposé l'utilisation de champs ultrasonores multifréquentiels permettant d'abaisser de manière significative le seuil d'apparition de la cavitation [73, 86]. Il a en particulier été montré que l'utilisation d'ultrasons pulsés était beaucoup plus efficace que l'utilisation d'ondes de choc ou d'ultrasons continus [91], ce qui a été confirmé par de nouvelles études [70, 76], qui ont également montré que l'effet thérapeutique des ultrasons dans le cadre de la thrombolyse augmentait avec l'intensité acoustique, la durée d'exposition, la fréquence de répétition du régime pulsé, et diminuait avec la fréquence.

Dans toutes ces études, l'intérêt majeur est de réaliser une thrombolyse rapide et non invasive par ultrasons focalisés extracorporels, qui permette non seulement de pallier aux effets secondaires des gestes interventionnels in situ et médicamenteux mais également d'augmenter la sécurité tout en améliorant le résultat clinique. Toutes ces nouvelles techniques, encore largement en développement, s'intègrent dans une démarche plus globale ayant débuté il y a une centaine d'années et qui est basée sur l'utilisation des ultrasons à des fins thérapeutiques. Cependant, malgré une très nette avancée de ces techniques depuis une trentaine d'année, la physique des ultrasons et notamment celle des phénomènes de cavitation ultrasonore utile pour les applications de thrombolyse extracorporelle reste complexe. Ainsi, de nombreuses pistes de recherche restent à explorer et de nombreuses problématiques restent à résoudre avant de pouvoir espérer tester cliniquement un dispositif de thrombolyse purement ultrasonore par voie extracorporelle. Afin de mieux comprendre les verrous qu'il reste à lever et les différentes voies qu'il convient d'étudier, un bref historique des mécanismes mis en jeu en thérapie ultrasonore sera exposé dans la SECTION 1.2, puis les phénomènes physiques liés à la cavitation ultrasonore seront détaillés dans la SECTION 1.3.

1.2 Thérapie par ultrasons

Depuis les années 1880, avec la découverte par Pierre et Jacques Curie de l'effet piézoélectrique direct [15] puis, un an plus tard, de l'effet inverse, la thérapie par ultrasons a pu progressivement se développer. Dès 1922, alors qu'il développe un système de détection des sous-marins qui deviendra le SONAR, Paul Langevin se rend compte de l'effet destructeur des ultrasons lorsqu'il observe des poissons morts qui remontent à la surface. Cet effet létal des ultrasons sera d'ailleurs étudié quelques années plus tard par Woods et Loomis [93, 29] sur différents organismes vivants. En 1933, Freundlich utilise les ultrasons pour des traitements antalgiques et anti-inflammatoires par chauffage des tissus. Dans les années 1940, avec l'apparition des transducteurs focalisés apparaît la thérapie par ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU) [53, 26]. Il s'agit dans ce cas d'utiliser les ultrasons pour chauffer

rapidement et localement un tissu afin d'en obtenir la nécrose. A partir des années 50, avec l'intérêt grandissant porté à l'échographie, les ultrasons thérapeutiques sont peu à peu laissés en suspens. C'est dans les années 80 qu'ils susciteront de nouveau l'intérêt des scientifiques suite aux avancées en électronique et informatique, qui laissent présager d'importantes avancées dans le domaine.

Aujourd'hui la thérapie par ultrasons est largement employée en clinique pour les applications suivantes :

- La lithotritie : consistant à utiliser des ondes de chocs pour détruire les calculs rénaux ; cette technique est actuellement utilisée en clinique courante.
- L'hyperthermie : consistant à détruire des tissus par élévation de température, elle est employée dans le traitement de pathologies comme le glaucome ou certains cancers ; cette technique est par exemple utilisée cliniquement de façon courante pour l'ablation de la prostate par voie endorectale.

De plus, la thérapie par ultrasons est également en développement dans le cadre des applications suivantes :

- La transfection : consistant à transférer du matériel génétique à l'intérieur d'une cellule eucaryote.
- La délivrance localisée de médicaments : consistant à libérer de manière localisée des molécules actives encapsulées.
- La thrombolyse, notamment à travers l'utilisation de la cavitation ultrasonore.

L'ensemble de ces applications repose sur les phénomènes induits par l'excitation ultrasonore, qui peuvent être thermiques, mécaniques ou chimiques.

Les effets thermiques résultent du fait que tout milieu absorbe une partie de l'énergie du faisceau ultrasonore qui le traverse, on parle alors d'absorption acoustique, cette dernière jouant un rôle majeur dans le phénomène physique d'atténuation acoustique. Il existe plusieurs phénomènes physiques jouant un rôle dans ce phénomène d'atténuation : la diffusion lié aux hétérogénéités du milieu, la divergence du faisceau, le transfert d'énergie du mode longitudinal vers d'autres modes vibratoires (modes transverses, cisaillement) et enfin l'absorption acoustique qui se traduit par un échauffement du milieu. En pratique, les zones irradiées sont chauffées par des phénomènes de frictions entre les atomes du milieu. Ainsi, les applications s'appuyant sur les effets thermiques des ultrasons utilisent les pertes par dissipation de chaleur pour élever localement la température du milieu à traiter.

Les effets mécaniques résident dans la nature même de l'onde ultrasonore, qui met en jeu des phénomènes de compression, de dilatation ou autres contraintes, qui vont avoir différents effets selon la nature du milieu irradié. Différents phénomènes sont utilisés dans les thérapies ultrasonores, tels que les ondes de chocs ou encore les phénomènes de cavitations ultrasonores qui seront détaillés dans la suite de ce chapitre, et qui peuvent eux-mêmes engendrer des effets thermiques, mécaniques ou chimiques sur le milieu irradié. Ainsi, l'oscillation de bulles de cavitation peut avoir de multiples modes d'actions sur les tissus irradiés :

- formation de lésions thermiques dans les tissus liée à l'augmentation de l'absorption du milieu en présence de bulles (utilisée pour la destruction de tissus malades) [33],
- induction de microcourants liés à l'oscillation des bulles (utilisée pour améliorer l'assimilation

de médicaments ou favoriser la transfection de substances chimiques et de gènes dans les cellules par sonoporation) [49, 77, 88],

- génération de micro-jets liée à l'implosion des bulles de cavitation en régime inertiel (utilisée pour fragmenter les calculs et caillots sanguins ou détruire les cellules) [91, 70, 75].

Les effets chimiques, quant à eux, sont essentiellement la production de radicaux libres ou la modification des mécanismes réactionnels résultant de la présence de cavitation.

Ainsi, les ultrasons sont aujourd'hui de plus en plus utilisés dans le domaine de la thérapie, en parallèle des techniques d'imagerie par ultrasons telle que l'échographie, pour leur avantage certain de permettre la réalisation de traitements non invasifs ou peu invasifs et peu coûteux.

1.3 Cavitation

D'un point de vue strict, la cavitation est un phénomène physique qui, pour un liquide pur (ne contenant aucun germe), correspond à la nucléation de bulles de vapeur [47] dans un liquide due à un abaissement de la pression à température constante. Elle est thermodynamiquement proche de l'ébullition, qui consiste en la nucléation de bulles de vapeur dans une phase liquide due à une augmentation de la température à pression constante. En théorie, la cavitation se forme donc lorsque la pression diminue suffisamment pour passer en-dessous de la ligne spinodale (ligne au-delà de laquelle l'eau se transforme inévitablement en vapeur). Le terme "cavitation" est utilisé pour décrire aussi bien la naissance, l'oscillation que l'implosion des bulles de gaz dans un liquide soumis à une dépression suffisamment forte. De manière générale, cette dépression peut être liée essentiellement à deux phénomènes, le premier consistant en l'écoulement de liquide à très forte vitesse et correspondant donc à une faible pression, c'est la cavitation hydrodynamique découverte en 1917 par Lord Rayleigh, le deuxième phénomène étant lié à une phase de forte dépression d'un liquide soumis à une onde acoustique, c'est la cavitation ultrasonore. On ne s'intéressera dans la suite de ce chapitre qu'à la cavitation ultrasonore.

1.3.1 Cavitation ultrasonore

1.3.1.1 Nucléation

En théorie, trois types de bulles peuvent se former par cavitation acoustique, les bulles de vide, les bulles contenant la vapeur du liquide constituant le milieu, et les bulles gazeuses remplies d'un gaz dissout dans le liquide. En pratique, seul les deux derniers types de bulles sont observables en cavitation ultrasonore, il s'agit d'ailleurs souvent d'une combinaison de ces deux mécanismes. De plus, la nucléation de bulles de cavitation est souvent initiée à partir d'un germe (microbulles gazeuses), constituant le centre de développement de la cavité et permettant de ne pas avoir à descendre en-dessous de la ligne spinodale. Deux types de germes sont à distinguer. Premièrement, lorsque l'agitation thermique du milieu est suffisante, il peut se former spontanément des micro-cavités qui, soumises à une dépression suffisante, sont susceptibles de croître vers des régimes de cavitation, il s'agit de la nucléation homogène (nécessite une dépression de l'ordre de 100 MPa [35]). Deuxièmement, lorsque

des éléments solides ou simplement des impuretés sont présents dans le milieu liquide, ils peuvent fixer à leur surface des micro-bulles de gaz à partir desquelles peuvent émerger des bulles de cavitation, dans ce cas il s'agit d'une nucléation hétérogène qui, en pratique, facilite significativement l'apparition de cavitation (nécessite une dépression de l'ordre de 10 MPa, voire moins si on considère des cas expérimentaux [35]). Ainsi, l'apparition de la cavitation dépend d'un grand nombre de paramètres, tels que la puissance et la forme de l'onde acoustique, la température, la viscosité et la pression à l'intérieur du milieu ou encore la présence d'impuretés et de gaz dissout, ces deux derniers éléments jouant un rôle prépondérant dans la formation de bulles de cavitation acoustique.

Une fois la cavitation initiée, les bulles créées, soumises au champ de pression acoustique, vont évoluer selon différents régimes d'oscillation. L'étude de la dynamique d'une seule bulle va permettre d'identifier quelques éléments du comportement des bulles de cavitation dans un nuage complet.

1.3.1.2 Dynamique d'une bulle

L'équation du modèle le plus simple décrivant la dynamique d'une bulle soumise à un champ acoustique est l'équation de Rayleigh-Plesset simplifiée [63, 9, 47]. Cette équation considère une bulle sphérique dans un liquide incompressible s'étendant à l'infini et pour lequel on néglige tout effet thermique ou visqueux. Le gaz à l'intérieur de la bulle est décrit comme homogène et tous les paramètres sont supposés uniformes à l'intérieur de la bulle. Les évolutions du gaz sont considérées comme des transformations polytropiques de coefficient k , pouvant varier de 1 (évolution isotherme) à γ (évolution adiabatique). De plus, l'équation de Rayleigh-Plesset découle de la combinaison des hypothèses précédentes, de l'équation de conservation de la masse, de l'équation de quantité de mouvement et des conditions aux limites (conservation de vitesse à l'interface et pression reliée à la pression dans la bulle par la loi de Laplace). Elle est la suivante :

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{1}{\rho} \left(P_{vap} + P_0 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3k} - P_\infty - \frac{2\sigma}{R} \right), \quad (1.1)$$

avec ρ la masse volumique du liquide, σ la tension de surface et R_0 , P_0 le rayon et la pression de la bulle pour un état de référence dépendant de la quantité de gaz dans la bulle.

- $R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2$ caractérise la réponse dynamique non linéaire de la bulle.
- $P_{vap} + P_0 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3k}$ correspond à la somme de la pression de vapeur et de la pression de gaz contaminant, qui décrit la pression de gaz à l'intérieur de la bulle.
- $-\frac{2\sigma}{R}$ correspond à la différence de pression entre le liquide et le gaz au niveau de la surface de la bulle, liée à la tension superficielle.
- P_∞ représente, quant à lui, la pression dans le liquide loin de la bulle.

Ainsi, en l'absence d'excitation extérieure ($P_\infty = cste$), la réponse à l'équation donne le rayon d'équilibre R_e de la bulle pour des conditions données.

A faible amplitude, chaque bulle oscille de manière stable [37], c'est le régime non inertiel. A l'intérieur de ce régime, le système peut se comporter de deux manières. Pour les très faibles amplitudes, le système se comporte comme un oscillateur linéaire [66] comportant une fréquence de résonance qui

prend la forme suivante :

$$f_r = \frac{1}{2\pi R_e} \sqrt{\frac{3k}{\rho} \left(\bar{P}_\infty + \frac{3k-1}{3k} \frac{2\sigma}{R_e} \right)}. \quad (1.2)$$

Dans l'eau, en négligeant la tension de surface σ , cette équation est souvent remplacée par l'approximation [47] :

$$f_{r_{eau}} R_{e_{eau}} = 3, \quad (1.3)$$

avec f en MHz et R en μm . Pour de plus fortes amplitudes en revanche, le système se comporte comme un oscillateur non linéaire [66] répondant donc par des composantes fréquentielles harmoniques mais également sous harmoniques [18].

A des amplitudes encore plus élevées, les bulles entrent dans une phase de croissance explosive et grossissent jusqu'à atteindre plusieurs dizaines de fois leur taille d'équilibre avant d'imploser. Ces collapses [14] sont suivis de plusieurs rebonds et engendrent de nombreux effets physiques, chimiques et biologiques. Par exemple, des ondes de chocs [50] sont susceptibles d'être générées par l'implosion des bulles engendrant d'importantes contraintes mécaniques dans le milieu liquide. Des phénomènes de sonochimie, comme la formation de radicaux libres (OH^\bullet et H^\bullet dans le cas de l'eau) très réactifs, peuvent être induits par la cavitation. Enfin, d'autres phénomènes comme la sonoluminescence (émission d'un photon par relaxation d'une molécule de gaz), l'apparition de températures et de pressions localement extrêmes ou encore la génération de micro-jets au pouvoir érodant [60] sont susceptibles d'apparaître avec la cavitation. Ce régime de cavitation est appelé cavitation inertielle [37] et se caractérise par une signature acoustique large bande [51, 25] liée à la brièveté du collapse. C'est a priori ce régime qui est principalement responsable, en l'absence d'agent thrombolytique, de la thrombolyse ultrasonore, sans doute à cause du pouvoir érodant des micro-jets qui se forment au voisinage des parois et qui permettent de détruire le caillot sanguin.

1.3.1.3 Caractère aléatoire de la cavitation

Ainsi, le comportement d'une bulle de cavitation (nucléation, dynamique d'oscillation et implosion) dépend de nombreux paramètres et présente une dynamique devenant vite non linéaire ce qui en fait un phénomène complexe. Ce phénomène est d'autant plus complexe que les paramètres mis en jeu peuvent évoluer significativement lors d'une expérience de cavitation. En effet, la présence de bulles de cavitation peut avoir plusieurs effets sur le milieu, comme le dégazer, créer des germes de cavitation au contact des parois, réchauffer le milieu irradié ou encore dégrader ou dénaturer le milieu notamment lorsqu'il s'agit d'un milieu biologique. De plus, la fréquence de l'onde excitatrice agit également sur l'initiation de la cavitation [67, 4]. En effet, plus la fréquence d'excitation est grande, plus l'amplitude de l'onde doit être importante pour initier la cavitation, la pression nécessaire pour initier la cavitation étant appelée seuil de cavitation. D'autre part, le taux de gaz dissout dans le milieu liquide détermine également largement le niveau du seuil de cavitation. En effet, plus le taux en gaz dissout dans le milieu est important, plus la cavitation sera facile à initier et inversement. De la même manière, plus le liquide présente un nombre important d'impuretés, plus il sera facile d'initier la cavitation et inversement.

De plus, il convient également de prendre en considération l'interaction entre les bulles de cavitation, qui évoluent en pratique sous la forme de nuages de cavitation. Ces nombreuses interactions, fortement non linéaires et complexes, et encore mal décrites par les modèles, sont de nature à amplifier encore plus la sensibilité du phénomène de cavitation en régime inertiel à un nombre de paramètres important [46]. En effet, expérimentalement, pour un jeu de conditions fixées, les régimes de cavitation inertielle peuvent varier énormément, révélant la dépendance du phénomène à d'infimes variations dans les paramètres expérimentaux.

La cavitation ultrasonore, et plus particulièrement la cavitation inertielle, est donc un phénomène dynamique complexe (nucléation, non linéarité, interaction entre bulles...), dépendant de très nombreux paramètres physiques et comportant un caractère aléatoire très marqué. Dans le but de développer des systèmes de thérapies utilisant les phénomènes de cavitation acoustique, il apparaît donc indispensable de mieux contrôler la dynamique des nuages de cavitation ultrasonore afin de quantifier le phénomène et d'obtenir des résultats reproductibles.

1.3.2 Contrôle temporel de la cavitation

Aujourd'hui, plusieurs études ont été menées afin de mettre en place des systèmes de contrôle et de régulation de la cavitation ultrasonore. Sabraoui [72] a développé un système de régulation utilisant une boucle de rétroaction de 5 ms permettant de contrôler la cavitation ultrasonore en régime continu, un temps de rétroaction de 5 ms étant suffisant pour initier et maintenir l'activité de cavitation en régime continu. Hockham [32] a développé un autre système de régulation de la cavitation basé sur un contrôle de la température du milieu insonifié. Cette étude a permis d'établir une relation entre l'activité de cavitation et les variations de température qui en résultent, permettant ainsi de réguler l'activité de cavitation de manière indirecte avec un temps de rétroaction de 50 ms. Bien que plusieurs études se soient concentrées sur le développement de systèmes permettant de contrôler l'activité de cavitation en régime continu, tout reste à faire en régime pulsé, sachant que la plupart des applications in-vivo utilisent aujourd'hui des ondes ultrasonores focalisées et pulsées afin de contrôler les zones de traitement et d'éviter les surchauffes des milieux irradiés. De plus, alors que le contrôle de l'activité de cavitation en régime continu ne pose pas particulièrement de problème une fois le nuage de bulles initié, le problème est tout autre en régime pulsé où il faut potentiellement réinitier le nuage de bulles au début de chaque salve. Pour répondre à ces problèmes, deux approches sont couramment utilisées afin d'utiliser la cavitation ultrasonore dans des systèmes de thérapies. Dans les deux cas, seuls les effets mécaniques de la cavitation sont utilisés, le régime pulsé étant configuré de telle sorte que la dose thermique déposée puisse être considérée comme négligeable.

La première, l'historitrie, consiste à utiliser des ultrasons de très forte amplitude permettant de s'assurer que la cavitation inertielle sera déclenchée à coup sûr. Pour cela, de brèves impulsions (quelques sinusoïdes souvent au voisinage de 1 MHz) de très forte amplitude sont utilisées périodiquement afin de générer et de maintenir le nuage de cavitation. Cette technique est déjà utilisée dans de nombreuses études in vitro [38, 56] et in vivo [69, 43, 57] notamment pour la destruction de tissus pathologiques, car elle présente l'avantage d'être efficace en plus d'être relativement facile à mettre en place. Cependant, le fait d'utiliser des impulsions de très forte amplitude (de l'ordre de 100 MPa) peut poser

des problèmes lors des traitements de zones sensibles comme celles situées à proximité du cerveau. D'autres part, dans différents milieux complexes (biologique notamment), l'utilisation d'impulsions de très fortes amplitudes ne garantit pas que la dynamique de cavitation soit systématiquement la même, ce qui peut poser des problèmes de reproductibilité du traitement.

La deuxième approche consiste à développer des systèmes pour réguler en temps réel la dynamique du nuage de cavitation, permettant ainsi de réaliser des thérapies contrôlées. Pour l'instant, les technologies utilisées dans les dispositifs de régulation permettaient d'obtenir des systèmes fonctionnant avec des temps de rétroaction de l'ordre de 5 ms, ce qui est trop grand pour espérer contrôler de manière fiable la cavitation ultrasonore en régime pulsé. En effet, les temps caractéristiques utilisés dans les études déjà réalisées utilisant la cavitation ultrasonore en régime pulsé sont de l'ordre de quelques millisecondes, et les systèmes de régulation déjà développés ne suffisent donc pas à réguler convenablement. Cependant, l'apparition et le développement récent des circuits logiques programmables (FPGA) permettent d'atteindre des vitesses de calcul très importantes, et donc de concevoir des systèmes capables de réguler la cavitation ultrasonore en régime pulsé avec des temps de rétroaction inférieurs à la milliseconde. Ainsi, le développement d'un système de régulation de la cavitation en régime pulsé devrait permettre de proposer une alternative intéressante à l'histotritie afin de réaliser des thérapies ciblées par voie extracorporelle, adaptées notamment au traitement des caillots sanguins susceptibles de se former dans le système vasculaire.

1.4 Conclusion

Les maladies cardiovasculaires touchent un nombre croissant d'individus dans le monde et apparaissent comme un enjeu majeur de santé publique. En particulier, la formation de thrombi dans le système vasculaire artériel est responsable d'un grand nombre d'accidents cardiovasculaires graves tels que les infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux ou encore les ischémies aiguës de membre. Différentes techniques sont actuellement utilisées pour le traitement de ces pathologies, que ce soit, d'une part, l'administration d'agents médicamenteux tels que les anticoagulants ou les agents thrombolytiques, ou, d'autre part, la réalisation d'un geste chirurgical tel que l'angioplastie, la thrombectomie ou encore le pontage. Quelle que soit la technique employée, de nombreux risques sont inhérents à ces traitements avec notamment un risque accru d'hémorragie lié aux agents médicamenteux et particulièrement aux thrombolytiques, mais également un risque accru de complications liées aux gestes invasifs des chirurgies.

En réponse à ces problèmes, de nombreuses études ont été menées afin de développer des traitements plus efficaces et présentant moins de risque pour les patients. D'abord, des méthodes pharmacomécaniques ont été développées combinant l'utilisation d'agents médicamenteux à la réalisation de gestes chirurgicaux. Mais ces techniques ne se démarquaient pas suffisamment des techniques conventionnelles et présentaient globalement les mêmes risques pour le patient. Actuellement, les techniques ultrasonores paraissent être l'une des voies les plus prometteuses. En effet, les méthodes de thérapies par ultrasons ne cessant d'évoluer depuis ces trente dernières années, elles pourraient permettre de proposer des traitements plus efficaces que les agents médicamenteux ou les chirurgies, en étant non

invasives et en ne présentant que très peu d'effets secondaires. Dans cette optique, plusieurs pistes ultrasonores ont été étudiées comme par exemple la thrombolyse ultrasonore mécanique par contact direct, l'augmentation des effets des agents thrombolytiques grâce aux ultrasons ou encore la thrombolyse par voie extracorporelle basée sur la cavitation ultrasonore. Il en ressort que l'utilisation de la cavitation en régime inertiel serait la voie la plus adaptée au développement d'un système de thrombolyse purement ultrasonore par voie extracorporelle, permettant de traiter le thrombus en seulement quelques minutes.

Cependant, la mise en place d'un tel dispositif pose encore de nombreuses difficultés, la principale étant liée au caractère très aléatoire de la cavitation ultrasonore qui rend difficile le développement de systèmes de traitement reproductibles, notamment à cause de la nucléation du nuage de bulles qui est particulièrement complexe. Cette difficulté apparaît d'autant plus délicate à traiter que la thérapie ultrasonore doit être délivrée en régime pulsé afin de favoriser les effets mécaniques de la cavitation tout en limitant au maximum les effets thermiques susceptibles d'endommager les zones au voisinage du thrombus traité. En effet, ce régime d'insonification (régime pulsé) impose de réinitialiser le nuage de cavitation au début de chaque salve, ce qui suppose non seulement de maîtriser la dynamique du nuage de bulles mais également de maîtriser la nucléation du nuage de bulles. Pour répondre à ce problème, le développement d'une méthode permettant de réguler en temps réel l'activité de cavitation en régime pulsé paraît être une piste de recherche ouvrant de nouvelles perspectives. Elle permettrait, d'une part, de développer un système de thrombolyse ultrasonore en régime pulsé a priori plus efficace et plus reproductible ; d'autre part, elle permettrait aussi d'étudier plus en détail les mécanismes liés à la cavitation ultrasonore et plus généralement d'ouvrir de nouvelles voies à toutes les applications basées sur l'utilisation de la cavitation inertielle.

Les objectifs de la présente thèse sont donc dans un premier temps de développer puis de caractériser un système permettant de réguler l'activité de cavitation inertielle en régime pulsé. Ensuite, le but est de tester la pertinence d'une telle approche sur des essais de thrombolyse in vitro et notamment d'étudier l'intérêt d'utiliser un système de régulation de la cavitation inertielle pour une telle application. Enfin, une dernière étape est de développer un système basé sur ce principe adapté au traitement de thromboses artérielles in vivo.

Chapitre 2

Régulation temporelle de la cavitation ultrasonore en régime pulsé

2.1 Introduction

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, les applications potentielles de la cavitation ultrasonore sont nombreuses ; cependant les phénomènes mis en jeu présentent une dynamique complexe [66] dépendante de très nombreux paramètres [46], ce qui lui donne un caractère aléatoire très marqué et qui pose de nombreux problèmes dans la mise en place de thérapies efficaces et reproductibles. Le contrôle de la cavitation ultrasonore est donc une étape indispensable pour envisager le développement de systèmes extracorporels basés sur la cavitation inertielle comme par exemple le développement d'un dispositif de thrombolyse purement ultrasonore. Comme nous avons pu le voir dans le chapitre précédent, des systèmes de régulation de la cavitation inertielle ont déjà été développés en régime d'insonification continue [72, 32]. Cependant, afin d'éviter d'endommager thermiquement les tissus voisins de la zone traitée, les traitements ultrasonores in vivo doivent être délivrés en régime pulsé, ce qui peut poser des problèmes spécifiques liés au développement du nuage de cavitation à chaque début de salve. Dans ce cas là, les systèmes de régulation déjà développés pour des régimes d'insonification continue sont trop lents (temps de rétroaction supérieur à 5 ms) et ne permettent pas de contrôler convenablement le nuage de cavitation ultrasonore en régime pulsé qui présente une dynamique plus rapide, de l'ordre de la milliseconde. Afin de résoudre ce problème, un dispositif capable de contrôler temporellement la cavitation inertielle en régime pulsé a donc été développé. Il est basé sur la technologie FPGA (Field-Programmable Gate Array) qui consiste à construire un circuit logique dédié reprogrammable à l'infini, et permettant d'exécuter l'algorithme de régulation en "temps réel". Cette technologie permet ainsi d'atteindre des temps de rétroaction de l'ordre de 500 μ s, inférieurs aux temps caractéristiques des événements de cavitation qu'il est souhaitable de contrôler (bouffées de cavitation ou extinctions du nuage de bulle).

La SECTION 2.2 présente le dispositif expérimental utilisé pour réguler la cavitation inertielle, et décrit précisément le dispositif de régulation développé. La SECTION 2.3 est consacrée à la présentation des résultats expérimentaux avec, outre les résultats concernant une fréquence de 550 kHz et un taux de

gaz de $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$, l'étude de l'influence de la fréquence d'excitation (550 kHz et 1 MHz), puis l'analyse de l'influence de la teneur en gaz dissout (3, 5 et $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$).

2.2 Régulation : Principe et Réalisation

Dans le but de contrôler la cavitation ultrasonore, un dispositif de régulation de la cavitation inertielle a été développé. Il est basé sur un système FPGA programmé et piloté grâce au langage de programmation graphique NI LabVIEW. La photo de la FIGURE 2.1 a) illustre le dispositif FPGA qui se présente sous la forme d'un boîtier constitué d'un PC de contrôle auquel est connecté la puce reprogrammable FPGA et le convertisseur comportant deux entrées et deux sorties analogiques. Ce convertisseur permet d'une part d'acquérir le signal temporel de cavitation, et d'autre part de générer le signal temporel d'excitation. Ce boîtier permet aussi bien de construire le circuit logique dédié et de lancer son exécution que d'échanger des données avec celui-ci. Afin de générer le champ ultrasonore, le système utilise indifféremment l'un des deux transducteurs focalisés, résonant soit à 550 kHz soit à 1 MHz, présentés en SECTION 2.2.1.2, le transducteur choisi étant immergé dans une cuve d'eau filtrée et dégazée. Grâce à la carte FPGA couplée au module convertisseur numérique-analogique, un signal pulsé sinusoïdal, de fréquence 550 kHz ou 1 MHz et d'amplitude variable $u(t)$, est généré puis amplifié par un amplificateur de puissance avant d'être envoyé au transducteur. Une fois le champ ultrasonore généré par le transducteur, l'activité de cavitation est quantifiée par un hydrophone passif. Le signal de l'hydrophone est préamplifié et converti en signal numérique par le module convertisseur analogique-numérique avant d'être traité par le module FPGA pour en extraire un indice de cavitation $ci(t)$ (PARAGRAPHE 2.2.5) caractérisant l'activité de cavitation en régime inertiel.

En boucle ouverte, sans régulation, l'amplitude $u(t)$ est fixée ($u(t) = U$) pendant l'ensemble du tir afin de réaliser les essais témoins. En revanche, en boucle fermée, avec régulation, l'amplitude $u(t)$ est adaptée en "temps réel" par l'algorithme de régulation par comparaison de l'indice de cavitation

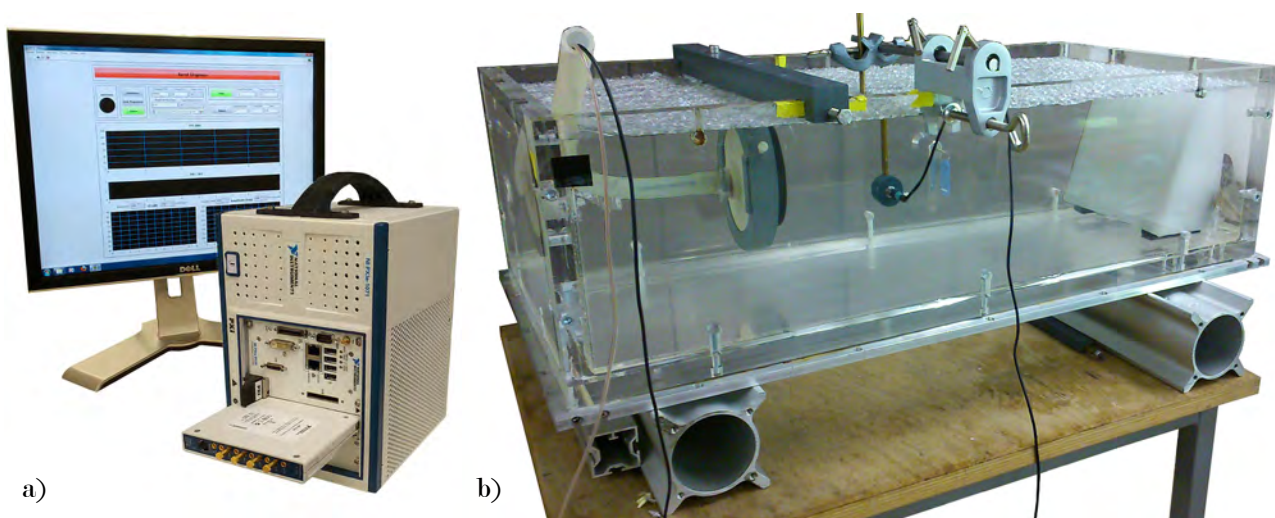


FIGURE 2.1 – Photos du dispositif expérimental : a) système FPGA et b) cuve d'insonification.

instantané avec l'indice de cavitation cible souhaité.

Le dispositif expérimental et les programmes FPGA (Génération du signal, Acquisition du signal temporel de cavitation et Algorithme de régulation) composant ce système de régulation sont détaillés dans la suite de cette section.

2.2.1 Dispositif expérimental

Un dispositif expérimental simple de cavitation ultrasonore a été développé pour mettre en œuvre la régulation de la cavitation. Le schéma de ce dispositif est présenté sur la FIGURE 2.2.

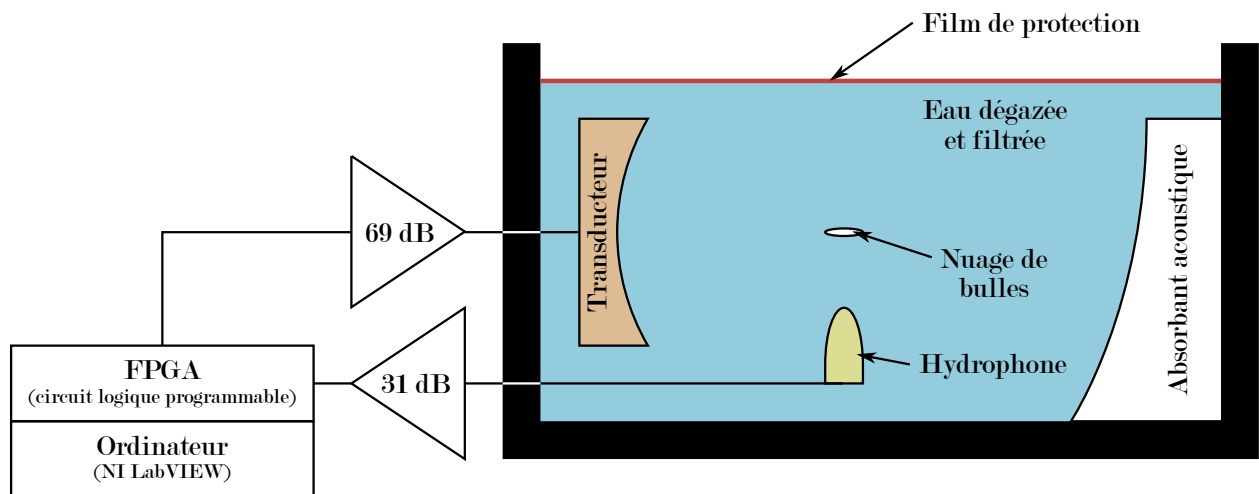


FIGURE 2.2 – Schéma du dispositif expérimental.

Il est constitué d'une cuve d'eau dégazée, dans laquelle est immergé un transducteur générant un nuage de cavitation au voisinage de son foyer. L'hydrophone permettant l'écoute passive de la cavitation est placé à 90° , et un absorbant acoustique placé en fond de cuve permet de limiter les échos. Tous ces éléments sont présentés et détaillés dans les sous-sections qui suivent. A titre illustratif, une photo de la cuve dans laquelle sont placés un transducteur, l'hydrophone et l'absorbant acoustique est présentée sur la FIGURE 2.1 b).

2.2.1.1 Cuve

La cuve utilisée pour les tests du système de régulation est une cuve en PVC transparent parallélépipédique d'environ 45 L, de dimensions intérieures $800 \times 350 \times 210$ mm ($L \times l \times h$) et de parois d'épaisseur 20 mm. Cette cuve a été choisie de grande dimension car cela permet d'avoir un champ ultrasonore propagatif plutôt que stationnaire qui ne serait pas représentatif des milieux in vivo dans lesquels l'absorption des tissus biologiques limite l'impact des réflexions. De plus, dans le but d'atténuer au maximum les réflexions susceptibles d'avoir lieu à l'arrière de la cuve et qui pourraient perturber la mesure du champ acoustique rayonné par les bulles de cavitation, un absorbant acoustique est utilisé. Il est disposé à l'extrémité de la cuve, en regard du transducteur. Cet absorbant est composé d'un bloc

de paraffine de 2,5 kg ($185 \times 340 \times 50$ mm) qui est un très bon absorbant acoustique aux fréquences utilisées, notamment grâce à son impédance, qui est très proche de l'eau ($Z_{paraffine} = 1,8 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et $Z_{eau} = 1,5 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). En raison de sa densité plus faible que l'eau ($927 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$), le bloc de paraffine a été lesté à l'aide d'inserts en laiton afin d'éviter sa flottaison.

D'autre part, toutes les expériences sont réalisées dans l'eau parce que c'est le milieu le plus simple à utiliser et le plus proche des tissus biologiques en terme d'impédance acoustique. Cependant, la nucléation de bulles de gaz et l'évolution de ces dernières étant très dépendantes des propriétés du milieu, il est important de contrôler le mieux possible les caractéristiques de l'eau qui servira à remplir la cuve. L'eau utilisée est donc dé-ionisée, filtrée puis dégazée. Le dé-ioniseur permet d'obtenir une eau avec une conductivité d'environ $14 \mu\text{S}$. L'eau passe ensuite dans trois filtres successifs jusqu'à être filtrée à $5 \mu\text{m}$. L'eau en sortie des filtres présente une concentration en oxygène dissout d'environ $8 \text{ mgO}_2/\text{L}$ et peut être plus ou moins dégazée grâce à une colonne à vide jusqu'à un taux d'oxygène dissout d'environ $2 \text{ mgO}_2/\text{L}$. De plus, afin de minimiser les échanges gazeux avec le milieu extérieur et ainsi garder un taux de gaz dissout stable, un film plastique à bulles est déposé sur la surface de l'eau. Le film est composé d'une face lisse mise en contact avec l'eau sous laquelle les bulles sont systématiquement retirées et d'une face "à bulles" en contact avec l'air permettant la bonne flottaison du film de protection. Ainsi, l'eau est non seulement préservée d'échanges gazeux trop importants mais le film permet également d'éviter que des poussières viennent se mélanger au milieu. Un oxymètre optique (sonde LDO101-01, HACH LANGE) est utilisé afin de contrôler la concentration en oxygène dissout tout au long des expériences réalisées. Pour chaque série d'expériences présentée dans la SECTION 2.3 de ce chapitre, la concentration en gaz dissout est mesurée au début et à la fin de chaque expérience permettant ainsi de vérifier que la concentration souhaitée est maintenue à $3 \pm 0,5 \text{ mgO}_2/\text{L}$, $5 \pm 0,5 \text{ mgO}_2/\text{L}$ ou $7 \pm 0,5 \text{ mgO}_2/\text{L}$.

2.2.1.2 Transducteurs

Comme nous l'avons déjà vu dans le chapitre précédent, l'utilisation de basses fréquences favorise l'apparition de la cavitation inertielle. Cependant plus la fréquence du transducteur est basse, plus sa focalisation est mauvaise. Une première fréquence de 550 kHz est utilisée pour réaliser les essais de référence, cette fréquence correspondant à celle déjà utilisée pour réaliser des tests de thrombolyse in vitro [73].

Une seconde fréquence de 1 MHz, qui a déjà été utilisée en thrombolyse in vivo [57], est également utilisée en prévision de la réalisation d'essais in vivo, car elle permet une meilleure focalisation et une meilleure sélectivité de la zone traitée. Ainsi, afin de tester le système de régulation à 550 kHz et 1 MHz, deux transducteurs piézoélectriques focalisés sont utilisés. Ils ont été réalisés sur mesure par la société IMASONIC. Le premier transducteur résonnant à 550 kHz (FIGURE 2.3 a) est composé d'une calotte sphérique composite de diamètre actif 11 cm et de focal 10 cm. Le second transducteur résonnant à 1 MHz (FIGURE 2.3 c) est conçu pour les expériences de thrombolyse in-vivo. Il est composé d'une calotte sphérique composite focalisée à 8 cm, de diamètre actif 11 cm et évidée en son centre par un trou circulaire de diamètre 4,5 cm. Ce trou, réalisé en prévision des essais de thrombolyse in vivo, permettra de loger tous les composants nécessaires au dispositif de thérapie (sonde échographique,

hydrophone...), tout en gardant un système compact. A titre indicatif, des simulations linéaires des champs de pression ultrasonore normalisés au foyer selon le plan xz perpendiculaire au plan focal xy sont données respectivement sur la FIGURE 2.3 b pour le transducteur 550 kHz et sur la FIGURE 2.3 d pour le transducteur 1 MHz. La cartographie du champ de pression normalisé pour le transducteur 1 MHz, donnée sur la FIGURE 2.3 e, a été mesurée grâce à un banc de déplacement (OWIS PS35) et un hydrophone à aiguille (MULLER-PLATTE NEEDLE PROBE) de sensibilité 1 mV/bar. Les résultats des cartographies mesurées et simulées présentent une très bonne concordance. Ainsi, les dimensions du foyer à -3 dB sont, selon l'axe acoustique z , d'une longueur de 17 mm et d'un diamètre de 2,9 mm pour le transducteur 550 kHz, et d'une longueur de 8,3 mm et d'un diamètre de 1,1 mm pour le transducteur 1 MHz. Le rapport entre les volumes ellipsoïdaux des foyers des transducteurs à 550 kHz et à 1 MHz est de 14 pour un rapport surfacique projeté, dans le plan perpendiculaire à l'axe acoustique des transducteurs, de 7.

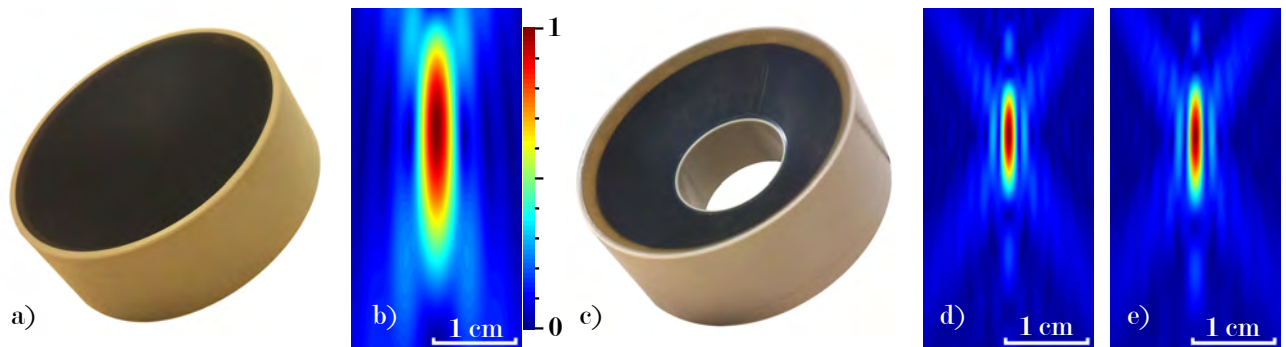


FIGURE 2.3 – **a)** Photo du transducteurs à 550 kHz et **b)** champ de pression simulé. **c)** Photo du transducteur à 1 MHz, **d)** champ de pression simulé et **e)** champ de pression mesuré.

Afin d'alimenter les transducteurs, un amplificateur de puissance (AMPAR 801 PRÂNA) de puissance 800 W est utilisé. Il présente un gain de 2236 (67 dB) à 550 kHz et un gain de 2056 (66 dB) à 1 MHz.

2.2.1.3 Hydrophone

Afin de quantifier l'activité de cavitation inertielle (signature acoustique large bande), un hydrophone passif large bande (ONDA HGL-0400) est utilisé pour mesurer le signal émis par le nuage de bulles pouvant se former au niveau ou proche du foyer du transducteur. Cet hydrophone a pour caractéristiques une sensibilité de -252 ± 2 dB re 1V/ μ Pa sur sa plage d'utilisation entre 100 kHz et 20 MHz et une directivité de 30° à -6 dB. Pour minimiser la contribution du signal d'excitation, l'hydrophone est placé en dehors du champs ultrasonore direct, perpendiculairement à l'axe acoustique et en regard du foyer acoustique du transducteur. Dans le but de garder une cohérence dans les mesures à 550 kHz et à 1 MHz, l'hydrophone est fixé à une distance de 10 cm de l'axe acoustique. Afin d'adapter l'amplitude du signal temporel émis par l'hydrophone à l'entrée du convertisseur analogique-numérique, un pré-amplificateur de 31 dB est utilisé.

2.2.2 Spécificités de la programmation FPGA

Bien que le programme de régulation de la cavitation d'un point de vue algorithmique ne présente pas de réelle difficulté, son intégration sur puce FPGA rend sa programmation plus délicate. Le langage de programmation utilisé sur les FPGA étant le VHDL, le module NI LabVIEW FPGA permet de développer le programme FPGA en langage graphique (spécifique à NI LabVIEW) puis de le convertir ensuite en langage VHDL par compilation. La programmation FPGA étant de relativement bas niveau, elle est assez spécifique.

Tout d'abord, de par l'utilisation du convertisseur analogique-numérique et numérique-analogique, cadencé à 100 MHz, le FPGA doit également être cadencé à 100 MHz. Ainsi, toute la programmation FPGA se fait dans une boucle cadencée, c'est-à-dire que pour réaliser une opération, cette opération devra soit être réalisable à 100 MHz (en 10 ns), soit être découpée en plusieurs sous-opérations, chacune réalisable en 10 ns. Dans certains cas, par exemple pour le calcul d'une transformée de Fourier (FFT), la fonction disponible dans NI LabVIEW FPGA s'adapte automatiquement au cadencement. Ainsi, pour le calcul d'une FFT de 2048 points, le temps de latence est par exemple de 7213 impulsions d'horloge soit 72,13 μ s.

Ensuite, outre l'utilisation de nombres entiers signés ou non-signés 8, 16 ou 32 bits qui ne posent pas de réelles difficultés, l'utilisation de nombres décimaux dans le programme FPGA demande une attention particulière. En effet, les nombres décimaux à virgule flottante n'existent pas dans le module NI LabVIEW FPGA. Il convient alors d'utiliser les nombres décimaux à virgule fixe, beaucoup plus contraignants car c'est à l'utilisateur de définir la longueur du nombre en bits et la longueur de la partie entière du nombre en bits. Ainsi, par exemple, lors du calcul d'une simple addition, il est important de prendre en compte que la somme de deux nombres de longueur 16 bits, donne un résultat sur 17 bits ou encore que la multiplication de deux nombres de longueur 16 bits, donne un résultat sur 32 bits.

Enfin, une des spécificités majeures de la programmation FPGA est que les différentes fonctions mathématiques utilisées, comme le fenêtrage, la FFT ou encore la moyenne, n'utilisent pas en entrée et en sortie des tableaux comme c'est habituellement le cas. En effet, ces fonctions demandent en entrée et donnent en sortie une valeur par impulsion d'horloge. Par exemple, pour donner les 2048 points à la FFT, il faut 2048 impulsions d'horloge. Cette spécificité de programmation demande une rigueur importante car chaque opération doit être synchronisée à l'impulsion d'horloge près avec les autres éléments du programme afin qu'il n'y ait pas de décalage dans les calculs.

De plus, NI LabVIEW FPGA permet d'une part de construire la puce FPGA à partir du "programme FPGA" et d'autre part de réaliser le "programme HÔTE" (interne au PC) qui permet l'utilisation de la puce. La communication entre ces deux éléments présente également quelques particularités. Elle se fait par l'intermédiaire de buffers pour les tableaux ou de ponts pour les scalaires, permettant ainsi l'échange de données. Cependant, le programme FPGA étant un programme temps réel, il est important de contrôler d'une part les temps de transfert entre la partie FPGA et la partie HÔTE du programme, et d'autre part les temps d'exécution du programme HÔTE afin qu'il n'y ait pas de perte de données. Ces pertes de données peuvent avoir lieu dans le cas où le programme HÔTE serait trop lent par rapport au programme FPGA.

2.2.3 Programme FPGA

Afin d'éviter tout ralentissement du programme de régulation lié à la surcharge de la mémoire vive ou aux surcharges des processeurs du PC HÔTE, le programme de régulation a été totalement développé sur la puce FPGA temps réel. En effet, seul l'interfaçage homme machine, c'est à dire la configuration du tir ultrasonore, l'affichage des données en cours et en fin de tir et la sauvegarde des données du tir, est réalisé dans le "programme HÔTE".

Ainsi, le programme de régulation de la cavitation inertielle fonctionne de la manière suivante. La première partie du programme "génération du signal" calcule les valeurs du signal sinusoïdal à une fréquence de 100 MHz afin que le signal, continu ou pulsé, puisse être généré par le convertisseur numérique-analogique pendant toute la durée du tir ultrasonore et cela sans aucune interruption. Cette partie du programme est donc autonome, seule l'amplitude du signal peut être mise à jour par l'algorithme de régulation au cours du tir ultrasonore. Les deux parties suivantes, "Acquisition et traitement du signal de cavitation" et "Régulation de la cavitation", sont quant à elles effectuées l'une après l'autre. En effet, l'acquisition et le traitement du signal sont effectués afin d'obtenir l'indice de cavitation $ci(t)$. Ensuite, en régime régulé, l'algorithme de régulation calcule, à partir du $ci(t)$ obtenu, de la consigne $CI_{consigne}$ et de la valeur de l'amplitude $u(t)$, la nouvelle amplitude du signal

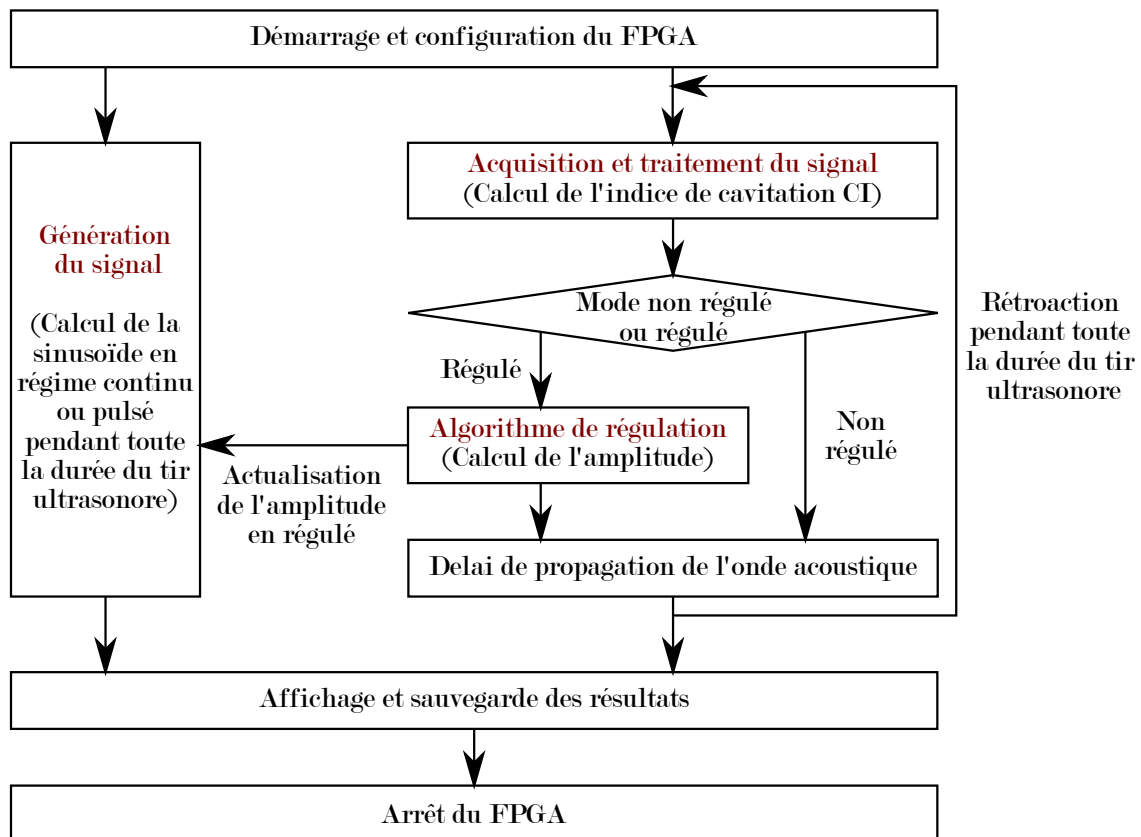


FIGURE 2.4 – Synopsis du fonctionnement du programme FPGA.

$u(t + 1)$ qui doit être appliquée. Cette amplitude est alors mise à jour dans la partie "génération du signal". Une fois l'amplitude mise à jour, afin de prendre en compte le temps de propagation de l'onde acoustique (du transducteur jusqu'au nuage de cavitation puis du nuage à l'hydrophone), un temps de pause correspondant à une distance de 20 cm est marqué avant de relancer le calcul du $ci(t + 1)$. Ce temps de pause correspond, pour une vitesse du son de 1480 m/s, à environ 130 μ s. Une fois le temps de pause marqué, de nouvelles itérations de régulation sont relancées, et ce, jusqu'à la fin du tir ultrasonore. Finalement, le programme régule la cavitation inertielle avec un temps de boucle de rétroaction d'environ 430 μ s, soit une fréquence d'environ 2300 Hz. De plus, les paramètres de tir facilement modifiables en font un programme très polyvalent, pouvant être adapté facilement à différentes problématiques de régulation de la cavitation inertielle.

Le synopsis du fonctionnement du programme FPGA est présenté par la FIGURE 2.4.

Les trois parties principales ("génération du signal", "Acquisition et traitement du signal" et "Régulation de la cavitation") évoquées précédemment sont détaillées dans les paragraphes suivants.

2.2.4 Génération du signal

Afin d'alimenter les transducteurs par l'intermédiaire de l'amplificateur de puissance, l'algorithme de génération du signal permet de calculer, dans le FPGA (circuit logique programmable NATIONAL INSTRUMENTS NI PXIe-7966R), le signal temporel qui sera envoyé en sortie du convertisseur numérique-analogique (NATIONAL INSTRUMENTS NI-5781R, deux sorties 16 bits, 1 Vcc). Le signal généré par le module convertisseur est un signal sinusoïdal pur de fréquence f_{sinus} pouvant varier de 0 Hz à 10 MHz, le signal étant échantillonné à 100 MHz. Ici, la particularité de la programmation FPGA est que le convertisseur numérique-analogique a besoin d'une valeur par impulsion d'horloge pour générer le signal temporel. Pour répondre à cette exigence, plusieurs méthodes étaient envisageables. Les valeurs de la sinusoïde auraient pu être sauvegardées sous forme de tableau dans la mémoire du FPGA puis envoyées tour à tour au convertisseur. Cependant la mémoire du FPGA étant relativement restreinte, il aurait fallu ne sauvegarder que quelques périodes de sinusoïde puis répéter la lecture du tableau, ce qui aurait limité le nombre de fréquences utilisables compte tenu qu'il faut sauvegarder un nombre entier de périodes échantillonnées à 100 MHz pour éviter les problèmes de discontinuité du signal. Finalement, la méthode retenue est de générer en temps réel la valeur instantanée de la sinusoïde par le calcul d'un sinus. Cette méthode permet ainsi de disposer de toutes les fréquences d'excitation envisageables mais demande une attention particulière due au fait que le calcul de la valeur de la sinusoïde doit être faisable en une impulsion d'horloge (1 ns). Dans notre cas, seulement deux fréquences (550 kHz et 1 MHz) seront utilisées, elles correspondent aux fréquences de résonance des transducteurs (fréquences auxquelles les transducteurs présentent les meilleurs rendements). A ce signal peut être multipliée une enveloppe pulsée permettant de passer d'un signal d'excitation continue à un signal d'excitation pulsée, les caractéristiques du signal pulsé (rapport cyclique $RC_{pulsé}$ et fréquence de répétition (PRF) $f_{pulsé}$) pouvant être choisies librement. Afin d'éviter les discontinuités dans le signal émis en début de chaque salve, la sinusoïde est systématiquement réinitialisée pour repartir d'une amplitude de 0 Vcc. Avant d'être envoyé par le FPGA au convertisseur, le signal normalisé en amplitude précédemment calculé est multiplié par l'amplitude $u(t)$ souhaitée qui doit être comprise entre 0 et

1 Vcc. L'amplitude $u(t)$ souhaitée pourra soit être fixée avant le tir ultrasonore (cas non régulé), soit être adaptée en "temps réel" par l'algorithme de régulation (cas régulé).

Le synopsis de l'algorithme de génération du signal est présenté par la FIGURE 2.5.

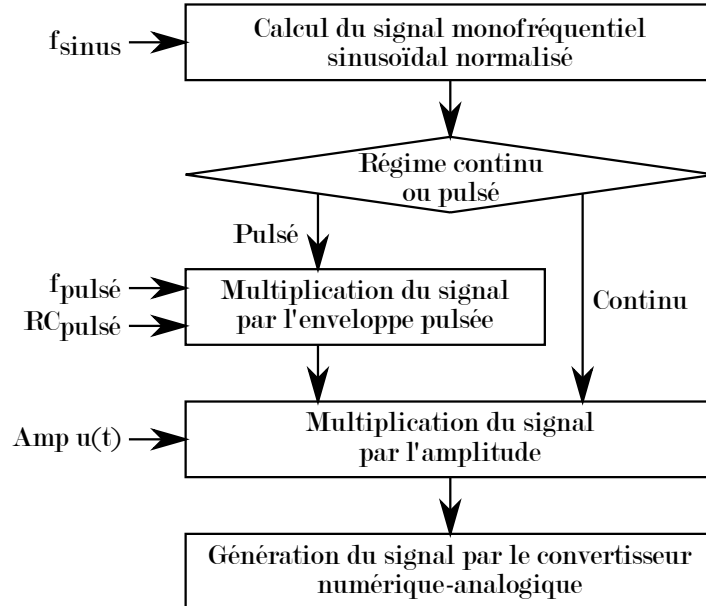


FIGURE 2.5 – Synopsis de l'algorithme de génération du signal.

Bien que le paramètre permettant de faire varier la puissance acoustique délivrée par les transducteurs soit l'amplitude du signal émis en sortie du convertisseur $u(t)$, afin de quantifier cette puissance de manière plus parlante, cette dernière sera exprimée en terme d'intensité acoustique au foyer ($\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$). L'intensité acoustique au foyer ne pouvant pas être mesurée facilement en présence d'un nuage de cavitation, elle sera estimée par extrapolation des mesures effectuées à plus basse amplitude. Ce n'est donc pas l'intensité acoustique réellement atteinte au foyer qui est utilisée mais plutôt une puissance acoustique émise par les transducteurs, exprimée en terme d'intensité acoustique. Cette intensité acoustique correspond néanmoins physiquement à l'intensité de chauffage que recevrait un tissu biologique si la totalité de l'énergie était convertie en chaleur. De plus, en thérapie ultrasonore, c'est l'unité de mesure la plus couramment utilisée pour exprimer la quantité d'énergie apportée au milieu.

A 550 kHz, la tension en sortie de l'hydrophone (MULLER-PLATTE NEEDLE PROBE) placé au foyer du transducteur est proportionnelle à la tension délivrée par le convertisseur du FPGA. Le coefficient de proportionnalité est donné par la relation suivante :

$$u_{hydro} (V_{eff}) = \frac{1,48}{2\sqrt{2}} u_{FPGA} (V_{cc}) \cdot \quad (2.1)$$

De même, dans le cas où l'excitation est à 1 MHz, le coefficient de proportionnalité est donné par la relation suivante :

$$u_{hydro} (V_{eff}) = \frac{2,10}{2\sqrt{2}} u_{FPGA} (V_{cc}) \cdot \quad (2.2)$$

La sensibilité de l'hydrophone S_{hydro} étant de 1,138 mV/bar, l'équation (2.3) permet de déterminer la valeur de la pression acoustique efficace au foyer des transducteurs.

$$P_{acoustique} \text{ (MPa)} = \frac{u_{hydro} \text{ (Veff)}}{10 S_{hydro}} \quad (2.3)$$

A partir de la pression acoustique, est calculée l'intensité acoustique grâce à la relation suivante :

$$I_{acoustique} \text{ (W.cm}^{-2}\text{)} = \frac{P_{acoustique} \text{ (Pa)}^2}{10000 \rho_{eau} c_{eau}}, \quad (2.4)$$

avec ρ_{eau} la masse volumique de l'eau et c_{eau} la vitesse du son dans l'eau.

Finalement, en prenant $\rho_{eau} = 1000 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ et $c_{eau} = 1480 \text{ m/s}$, le coefficient qui relie directement la tension délivrée par le convertisseur du FPGA à l'intensité acoustique atteinte au foyer du transducteur est donné à 550 kHz par l'équation suivante :

$$i_{acoustique} \text{ (W.cm}^{-2}\text{)} = 143087,41 u_{FPGA} \text{ (Vcc)}. \quad (2.5)$$

A 1 MHz, il est donné par l'équation suivante :

$$i_{acoustique} \text{ (W.cm}^{-2}\text{)} = 287375,78 u_{FPGA} \text{ (Vcc)}. \quad (2.6)$$

2.2.5 Acquisition et traitement du signal (Calcul de l'indice de cavitation)

L'acquisition et le traitement du signal permettent, à partir du signal acoustique diffusé par les bulles de cavitation passivement capté par l'hydrophone et envoyé en entrée du convertisseur analogique-numérique (NATIONAL INSTRUMENTS NI-5781R, deux entrées 14 bits, 2 Vcc), de mettre en place un critère quantitatif précis de l'activité de cavitation inertielle ultrasonore. Il s'agit de l'indice de cavitation $ci(t)$ dont le calcul est détaillé ci-dessous.

La cavitation inertielle se caractérisant acoustiquement par l'apparition d'un bruit large bande, l'algorithme d'acquisition et de traitement du signal a été spécialement conçu pour que ce critère soit représentatif du bruit large bande. A partir du signal échantillonné à 100 MHz par le convertisseur analogique numérique, 20480 points sont enregistrés, ce qui correspond à une durée d'acquisition de 204,8 μs . Par sous-échantillonnage d'un facteur 1/10, seulement 2048 points échantillonnés à 10 MHz sont conservés. Afin d'éviter les problèmes de troncature et pour minimiser l'énergie contenue dans la fréquence fondamentale et les harmoniques, le signal est pondéré par une fenêtre de Blackman-Harris. Le spectre du signal temporel est ensuite calculé pour passer dans le domaine fréquentiel par un algorithme de FFT puis le module de ce spectre est calculé. Un passage en dB permet ensuite de maximiser la contribution large bande caractéristique de la cavitation inertielle tout en minimisant celle des harmoniques et sous harmoniques qui caractérisent quant à eux la cavitation stable. L'indice de cavitation $ci(t)$ est ensuite calculé en effectuant la moyenne du spectre entre 0 et 5 MHz. Ces différents calculs (du sous-échantillonnage à l'obtention du $ci(t)$) réalisés par la puce FPGA prennent environ 100 μs . Ainsi, un temps d'environ 300 μs est nécessaire à l'obtention de la valeur de l'indice de cavitation.

L'indice de cavitation obtenu étant calculé en dB, afin de faciliter la lecture et la compréhension des résultats, l'ensemble de indices de cavitation obtenus ont systématiquement été recalés afin que le bruit électronique de la chaîne de mesure corresponde à $ci(t) = 0$ dB. En outre, le calcul de l'indice de cavitation correspondant à l'extraction du bruit large bande en présence de pics émergents (fondamental et harmoniques) et ce à plusieurs niveaux de cavitation inertielle, toute la dynamique du convertisseur (14 bits) est nécessaire à l'obtention d'un indice de cavitation précis. Ainsi, le préamplificateur du signal de l'hydrophone devra être choisi de telle sorte à utiliser toute la dynamique du convertisseur ($2V_{cc}$) tout en évitant sa saturation.

Le synopsis de l'algorithme d'acquisition et de traitement du signal temporel de cavitation est présenté par la FIGURE 2.6.

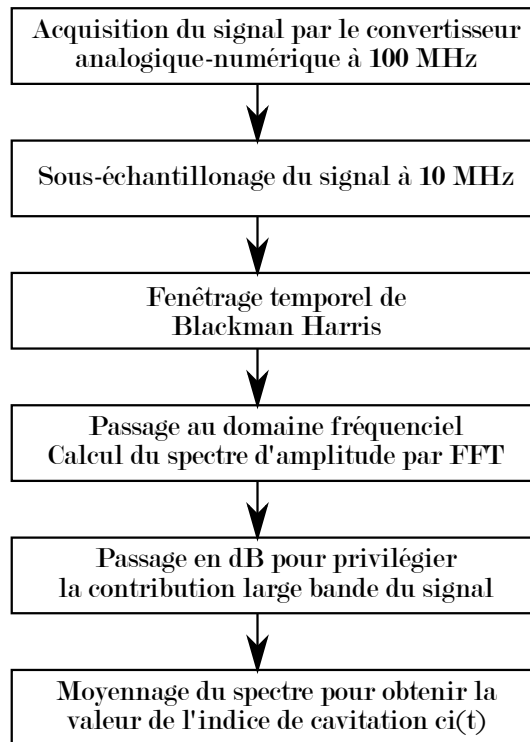


FIGURE 2.6 – Synopsis de l'algorithme d'acquisition et de traitement du signal.

2.2.6 Régulation de la cavitation

En régime non régulé (boucle ouverte), l'algorithme de régulation n'intervient pas, l'amplitude $u(t)$ est fixée à une valeur donnée ($u(t) = U$) en début de tir ultrasonore et le FPGA calcule simplement le $ci(t)$ en "temps réel".

En régime régulé (boucle fermée), l'algorithme de régulation permet de réguler l'indice de cavitation $ci(t)$ par rapport à l'indice de cavitation consigne $CI_{consigne}$ en jouant sur l'amplitude du signal $u(t)$ envoyé au transducteur. L'amplitude $u(t)$ est alors adaptée en "temps réel" par l'algorithme de

régulation correspondant à l'équation suivante :

$$u(t) = u(t - t_r) + G(CI_{consigne} - ci(t - t_r)), \quad (2.7)$$

où t_r est le délai de rétroaction de la boucle de régulation, $CI_{consigne}$ l'activité de cavitation souhaitée, G le gain ajustable selon le $CI_{consigne}$ cible, et où l'amplitude de départ $u(t = 0)$ est prise égale à 0 Vcc. Il s'agit d'un algorithme de régulation simple, proportionnel à 1 gain, qui a été choisi pour sa facilité d'implémentation. Cependant s'il s'avérait que cet algorithme ne soit pas suffisant pour réguler convenablement l'activité de cavitation ultrasonore, d'autres algorithmes plus complexes pourraient être implémentés.

Dans les deux cas, l'activité de cavitation $ci(t)$ et l'amplitude $u(t)$ sont enregistrées pendant la totalité du tir. De plus, afin d'utiliser l'amplificateur de puissance uniquement dans sa gamme linéaire, une limite en amplitude a été implémentée dans l'algorithme de régulation et fixée à $u(t)_{max} = 0,35$ Vpp.

2.3 Caractérisation du système en milieu libre

Les expériences réalisées en cavitation ultrasonore permettant de caractériser le dispositif FPGA mis en place sont présentées dans la suite de cette section. Après une brève explication du principe général concernant les expériences de cavitation inertielle qui suivront, une première série d'expériences a été réalisée afin de déterminer le gain G de l'algorithme de régulation à utiliser. En effet, le gain de l'algorithme étant le seul paramètre modifiable, pour des conditions expérimentales données, il est important de déterminer à quel point la régulation est dépendante de ce paramètre et à quelle valeur il doit être fixé. Ensuite, le cas où la cavitation est la plus facile à générer (550 kHz et 7 mgO₂/L), sera étudié en détail notamment afin de bien cerner l'intérêt de la régulation. Enfin, l'influence de la fréquence ainsi que l'influence du taux de gaz dissout seront étudiés, d'une part pour tester une fréquence plus élevée, mieux adaptée à la réalisation des tests de thrombolyse in vivo précis, et d'autre part car le taux de gaz dissout peut être très différent suivant le milieu biologique considéré.

2.3.1 Principe général

Afin de caractériser le système de régulation FPGA développé, des expériences de cavitation inertielle ont été réalisées. Le programme a été testé d'une part sans régulation, afin d'apporter un état de référence à la dynamique d'un nuage de bulles en régime pulsé (rapport cyclique de 10% et PRF de 4 Hz), pour différentes configurations (différentes fréquences et différents taux de gaz dissout dans le milieu). D'autre part, afin de quantifier l'avantage qu'apporte le programme de régulation de la cavitation, le système a été testé avec régulation dans les mêmes conditions que les essais de référence.

Des exemples de salves à 550 kHz et 7 mgO₂/L en régime non régulé et régulé sont présentés sur la FIGURE 2.7. En régime non régulé, pour une intensité acoustique SPPA (maximum du pic spatial et moyenne temporelle sur une salve) de 3000 W.cm⁻² fixée, l'activité de cavitation a un caractère très aléatoire (FIGURE 2.7 a). En revanche, en régime régulé, l'activité de cavitation est stable ; même

après l'apparition d'irrégularités, l'activité de cavitation retourne rapidement à la consigne en environ 1/5 de salve (FIGURE 2.7 b), l'intensité acoustique étant adaptée en "temps réel" (FIGURE 2.7 c).

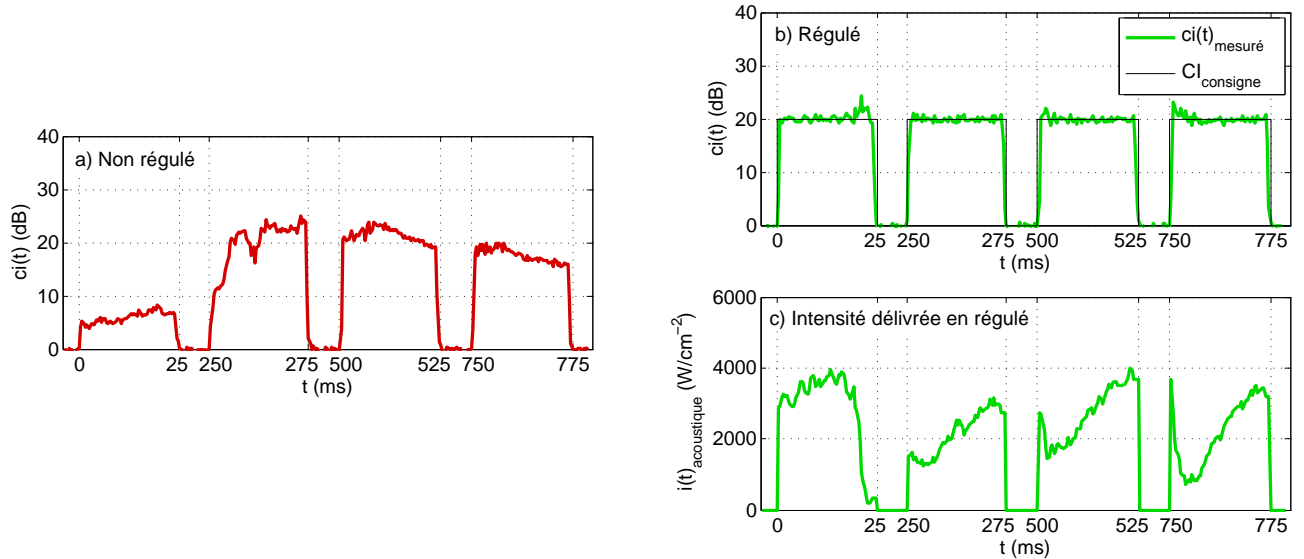


FIGURE 2.7 – Évolution temporelle en régime pulsé de l'indice de cavitation $ci(t)$ **a)** à intensité fixée sans régulation et **b)** avec régulation pour un $CI_{consigne} = 20$ dB (ligne noire) à 550 kHz et 7 mgO₂/L. **c)** Évolution temporelle de l'intensité acoustique SPPA correspondante émise par le transducteur, en régime régulé. (Pour une meilleur lisibilité, les échelles de temps ont été tronquées pendant les périodes entre salves.)

2.3.2 Optimisation du gain de régulation

La détermination de la valeur du gain en régulation est importante, car pour un gain trop faible la régulation est inefficace alors que pour un gain trop fort le système devient oscillant et parfois instable. Plusieurs techniques peuvent être envisagées pour déterminer le gain à utiliser dans un algorithme de régulation. Par exemple, dans un système ayant une dynamique linéaire, le gain optimal peut facilement être déterminé par le calcul. Dans notre cas, la dynamique de la cavitation étant fortement non linéaire, une approche purement expérimentale a été adoptée ; pour cela, des essais préliminaires ont été effectués pour le cas le plus favorable à 7 mgO₂/L. La démarche suivie est présentée sur la FIGURE 2.8.

Des tirs d'une durée de 20 s en régime régulé pour des $CI_{consigne}$ allant de 0 à 30 dB et pour des gains allant de 50 à 400 Vpp/dB ont été effectués. L'histogramme (FIGURE 2.8 b) de la distribution du $ci(t)$ pendant un tir correspondant aux variations temporelles de l'indice de cavitation (FIGURE 2.8 a) a été calculé et tracé pour chaque paramètre. Les distributions des $ci(t)$ qui correspondent aux différents gains pour un même $CI_{consigne}$ ont été comparées les unes aux autres. Trois critères correspondant au gain optimal pour un $CI_{consigne}$ donné ont été retenus. Ils sont, premièrement, l'accord de la valeur moyenne de la distribution ($CI = \langle ci(t) \rangle$) avec le $CI_{consigne}$, deuxièmement, la hauteur de la distribution qui doit être maximale et, troisièmement, la largeur de la distribution qui doit

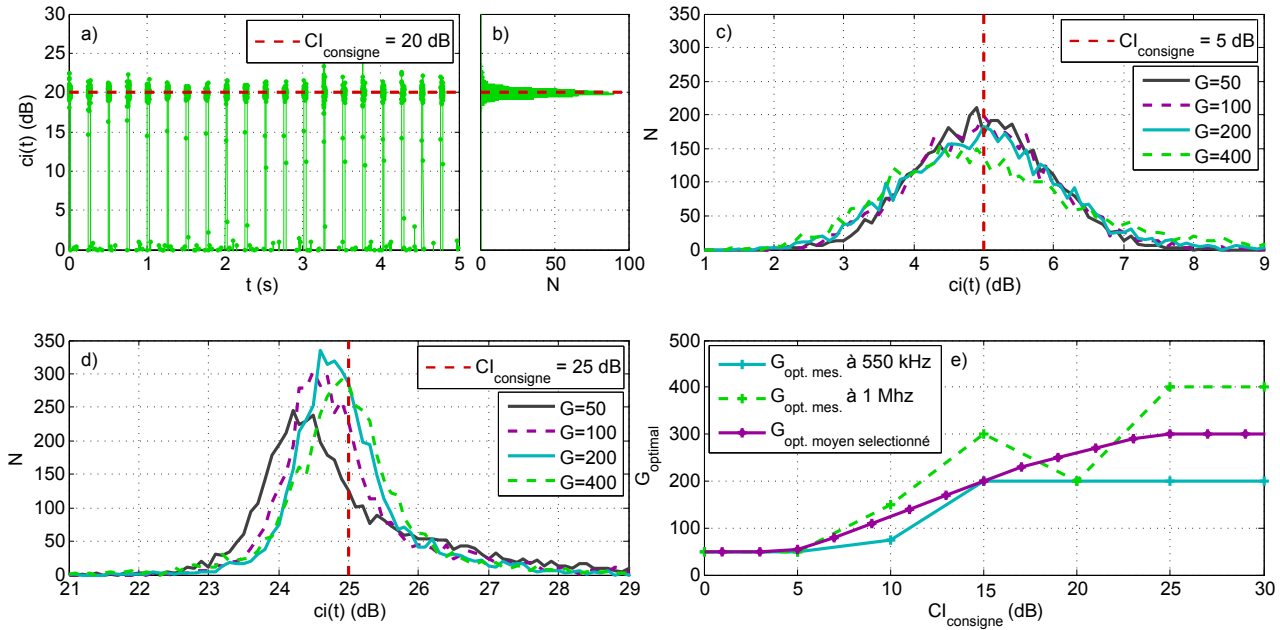


FIGURE 2.8 – **a)** Évolution temporelle en régime pulsé de l’indice de cavitation $ci(t)$ avec régulation (ligne verte) pour un $CI_{consigne} = 20$ dB (ligne rouge), à 550 kHz et $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$ et un gain $G = 200 \text{ Vpp/dB}$. **b)** Histogramme de la distribution correspondante des $ci(t)$ pendant les temps ON durant 5 s. Histogramme de la distribution des $ci(t)$ pendant les temps ON durant 20 s pour différents gains G , à 550 kHz et $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$, **c)** pour un $CI_{consigne} = 5$ dB (ligne verticale) et **d)** pour un $CI_{consigne} = 25$ dB (ligne verticale). **e)** Gain optimal mesuré pour différents $CI_{consigne}$ à 550 kHz (ligne bleue), à 1 MHz (ligne verte) et gain optimal moyen choisi (ligne violette) à $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$.

être minimale. Ainsi sur les exemples à 550 kHz et $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$ pour des $CI_{consigne}$ de 5 et 25 dB (FIGURE 2.8 c-d), les gains optimaux retenus sont respectivement $G = 50 \text{ Vpp/dB}$ pour un $CI_{consigne}$ de 5 et $G = 200 \text{ Vpp/dB}$ pour un $CI_{consigne}$ de 25 dB. Finalement les gains optimaux ont été mesurés pour chaque $CI_{consigne}$ à 550 kHz et 1 MHz (FIGURE 2.8 e). Ainsi, plus le $CI_{consigne}$ ciblé est faible, plus le gain doit l’être également et inversement, plus le $CI_{consigne}$ ciblé est important, plus le gain doit l’être également. Par exemple, dans le cas de la FIGURE 2.8 c), pour un $CI_{consigne}$ de 5 dB bien que le gain de 50 Vpp/dB soit le plus adapté pour la régulation, les gains de 100 et 200 Vpp/dB présentent également de bonnes distributions. En revanche, à partir d’un gain de 400 Vpp/dB, la régulation devient moins efficace avec une distribution qui a tendance à s’étaler et l’accord de la valeur moyenne CI avec le $CI_{consigne}$ qui a tendance à diminuer. De manière similaire, dans le cas de la FIGURE 2.8 d), pour un $CI_{consigne}$ de 25 dB le gain le plus adapté est celui de 200 Vpp/dB mais le gain de 400 Vpp/dB présente aussi une bonne distribution. En revanche, en dessous d’un gain de 100 Vpp/dB la régulation devient moins efficace avec des distributions qui ont tendance à s’étaler et surtout l’accord des valeurs moyennes CI avec le $CI_{consigne}$ qui ont tendance à diminuer, ce qui est particulièrement visible pour le cas d’un gain de 50 Vpp/dB. Finalement, le choix du gain de l’algorithme de régulation est important car il permet d’optimiser la régulation de la cavitation. Cependant le système s’avère être efficace pour

toute une gamme de gains, ce qui d'une part en justifie le choix "grossier" et, d'autre part, justifie le choix d'un même gain optimal moyen pour les deux fréquences d'excitation (cf FIGURE 2.8 e), courbe violette).

2.3.3 Résultats et discussion

Les résultats obtenus pour les différents cas étudiés, à 550 kHz et 7 mgO₂/L en guise de référence ou pour évaluer l'influence de la fréquence, d'une part, et l'influence de la teneur en gaz dissout, d'autre part, sont synthétisés sur les FIGURES 2.9 à 2.18. Afin de faciliter la lecture des résultats, un code couleur consistant à identifier tous les résultats en non régulé (boucle ouverte) par une couleur rouge ou violette et tous les résultats en régulé (boucle fermée) par une couleur verte ou bleu a été respecté dans l'ensemble des figures présentées.

De plus, afin de quantifier la reproductibilité des mesures, toutes les mesures de l'indice de cavitation $ci(t)$ pendant 30s ont été répétées neuf fois pour chaque paramètre étudié. Les résultats concernant les trois cas étudiés sont présentés respectivement dans les trois sections qui suivent.

2.3.3.1 Cas à 550 kHz et 7 mgO₂/L

Les résultats correspondant au cas de référence à 550 kHz et 7 mgO₂/L sont présentés sur les FIGURES 2.9 à 2.13.

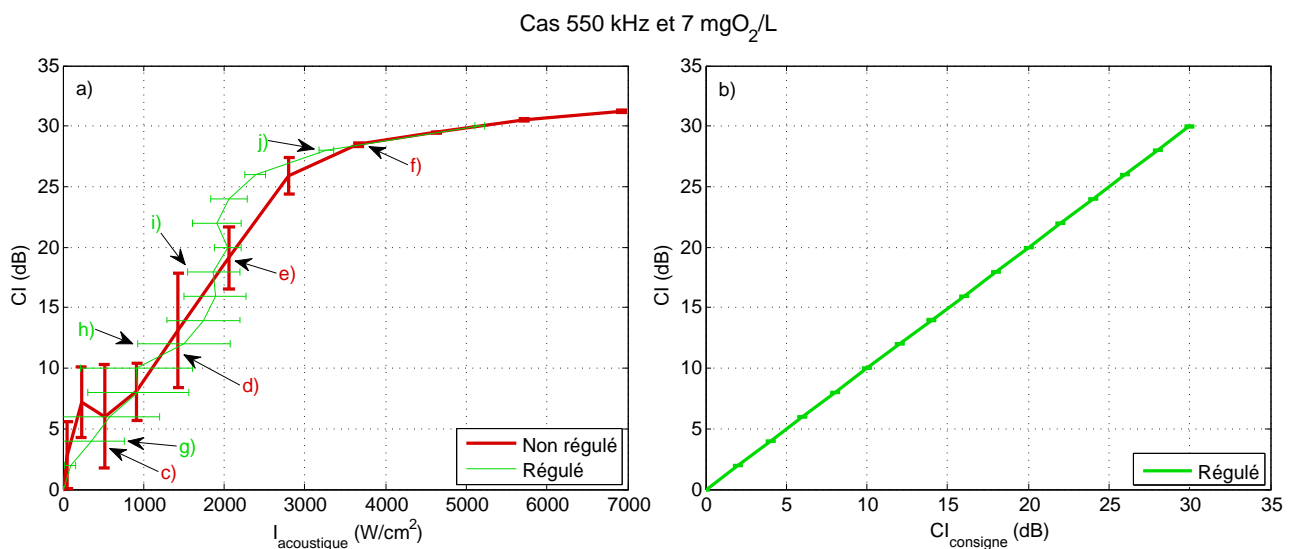


FIGURE 2.9 – Résultats expérimentaux à 550 kHz et 7 mgO₂/L. **a)** Évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique envoyée (courbe rouge) et reproductibilité des mesures (barres d'erreur rouges) en régime non régulé; évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique envoyée (courbe verte) et variation d'intensité moyenne pour atteindre le $CI_{consigne}$ souhaité (barres d'erreur vertes) en régime régulé. **b)** Évolution du CI en fonction du $CI_{consigne}$ souhaité (courbe verte) et reproductibilité des mesures (barres d'erreur vertes), en régime régulé.

Reproductibilité de la cavitation

Dans un premier temps, l’objectif est d’étudier d’une manière globale le comportement du système avec et sans régulation. Pour cela, seul le $ci(t)$ moyen des évolutions temporelles, noté CI ($CI = \langle ci(t) \rangle$) est pour l’instant étudié. A partir de ces moyennes, pour chaque paramètre et ses neuf réalisations, une nouvelle moyenne et son écart-type correspondant sont calculés. Ils permettent de tracer, d’une part, l’évolution du CI mesuré en fonction de l’intensité acoustique envoyée (FIGURES 2.9 a) et, d’autre part, l’évolution du CI mesuré en fonction du $CI_{consigne}$ ciblé (FIGURES 2.9 b). De plus, les barres d’erreur correspondant aux écarts-types des neuf réalisations effectuées dans les mêmes conditions expérimentales permettent de déterminer si, pour une configuration expérimentale donnée, les résultats des mesures sont reproductibles ou non.

Sans régulation, l’évolution du CI en fonction de l’intensité acoustique émise (FIGURE 2.9 a), courbe rouge) montre deux zones de cavitation inertielle distinctes. Une première zone, pour les faibles et moyens CI , jusqu’à $3500 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$, présente une mauvaise reproductibilité avec des écarts-types pouvant aller jusqu’à 10 dB. Une deuxième zone, pour les forts CI , au delà de $3500 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$, présente par contre une bonne reproductibilité avec des écarts-types inférieurs à 0,3 dB. C’est cette gamme de très forte intensité acoustique, présentant une bonne reproductibilité, qui est notamment utilisée en histotritie, car elle permet à coup sûr de générer et d’entretenir le nuage de cavitation.

Avec régulation, l’évolution du $CI(t)$ moyen en fonction du $CI_{consigne}$ souhaité (FIGURE 2.9 b) courbe verte) montre non seulement une excellente reproductibilité des mesures pour l’ensemble

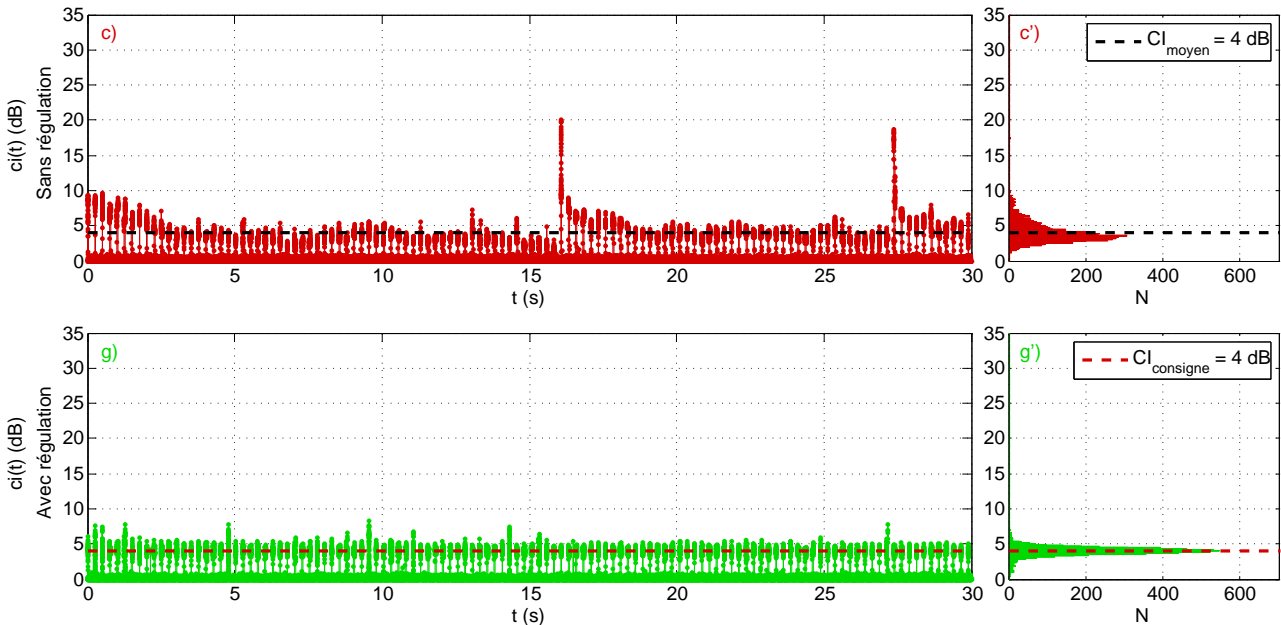


FIGURE 2.10 – Exemple d’évolution temporelle et de distribution du $ci(t)$ durant 30 s à 550 kHz et $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$: **c)** et **c’)** en régime non régulé (courbe rouge et histogramme rouge) pour un $ci(t)$ moyen de 4 dB (lignes pointillées noires) et **g)** et **g’)** en régime régulé (courbe verte et histogramme vert) pour un $CI_{consigne}$ de 4 dB (lignes pointillées rouges).

des $CI_{consigne}$ ciblés, avec des écarts-types inférieurs à 0,02 dB, mais également un écart à la consigne inférieur à 0,06 dB. Le système de régulation permet donc, y compris dans la zone de mauvaise reproductibilité observée sans régulation, d'accéder avec précision et de manière très reproductible à tout les indices de cavitations souhaités (en moyenne). De plus, l'évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique émise en régime régulé (FIGURE 2.9 a), courbe verte) montre une dynamique identique à celle observée en non régulé (courbe rouge), les deux courbes étant globalement superposées. Cependant, la régulation présente l'avantage de convertir l'incertitude sur l'indice de cavitation moyen en non régulé (barres d'erreurs rouges verticales) en incertitude sur l'intensité acoustique moyenne envoyée en régulé (barres d'erreurs vertes horizontales).

Stabilité temporelle de la cavitation

Dans un deuxième temps, le système de régulation ayant montré son intérêt de manière globale (en moyenne), l'objectif est d'étudier plus en détail son comportement temporel, c'est à dire en regardant l'évolution du $ci(t)$ instantané en fonction du temps, notamment afin de contrôler la stabilité temporelle du système de régulation.

Pour cela, premièrement, la FIGURE 2.10 présente un exemple d'évolution temporelle du CI avec et sans régulation pour des indices de cavitation faibles, repérés par les flèches c) et g) sur la FIGURE 2.9 a).

Sans régulation, l'évolution temporelle du $ci(t)$ en fonction du temps (FIGURE 2.10 c) et l'histogramme de sa distribution (FIGURE 2.10 c') montrent une relativement bonne stabilité temporelle

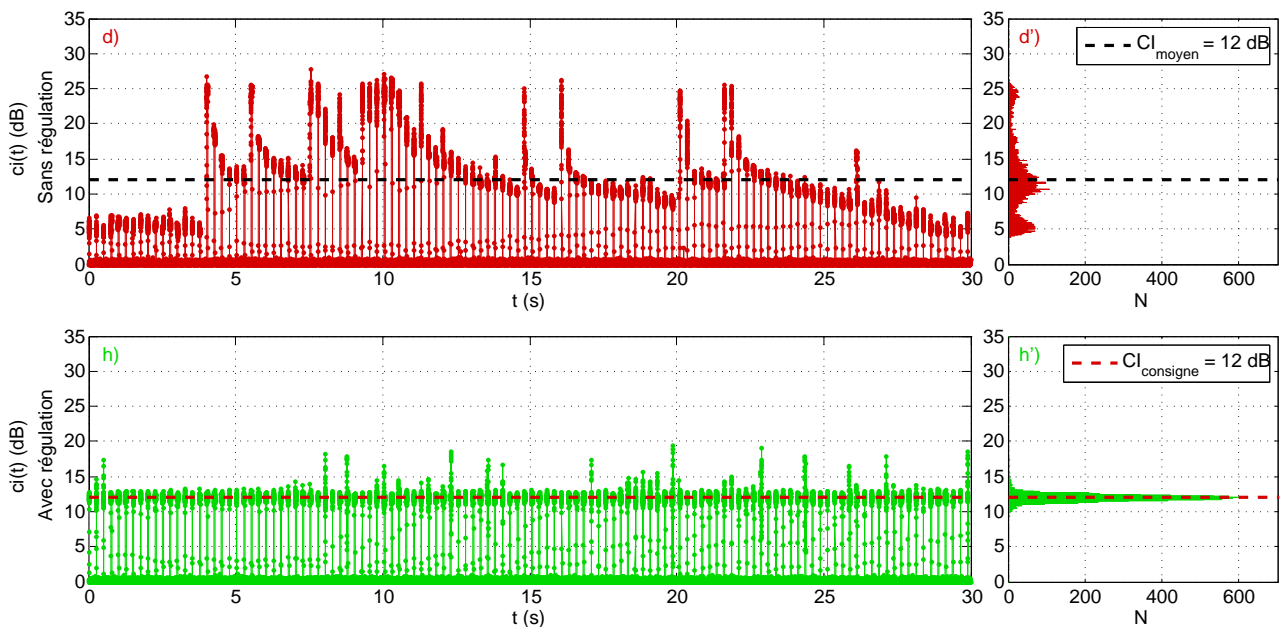


FIGURE 2.11 – Exemple d'évolution temporelle et de distribution du $ci(t)$ durant 30 s à 550 kHz et $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$: **d)** et **d')** en régime non régulé (courbe rouge et histogramme rouge) pour un $ci(t)$ moyen de 12 dB (lignes en pointillés noirs) et **h)** et **h')** en régime régulé (courbe verte et histogramme vert) pour un $CI_{consigne}$ de 12 dB (lignes en pointillés rouges).

autour d'un $ci(t)$ moyen de 4 dB, avec notamment une distribution relativement étroite (largeur à mi hauteur d'environ 3 dB) et haute ($N_{max} = 300$). Cependant, des bouffées de cavitation pouvant aller jusqu'à des $ci(t)$ de 20 dB sont observées et sont susceptibles de poser des problèmes importants (destruction non contrôlée de tissus ou de cellules...) pour des applications in vivo.

Avec régulation, l'évolution temporelle du $ci(t)$ en fonction du temps (FIGURE 2.10 g) et l'histogramme de sa distribution (FIGURE 2.10 g') montrent une excellente stabilité temporelle autour du $CI_{consigne}$ de 4 dB, avec notamment une distribution très étroite (largeur à mi hauteur d'environ 1 dB) et très haute ($N_{max} = 560$). De plus, la régulation permet d'éliminer totalement l'apparition de bouffées de cavitation, ces dernières étant stoppées aux maximum à un $ci(t)$ de 7 dB.

Deuxièmement, la FIGURE 2.11 présente un exemple d'évolution temporelle du CI avec et sans régulation pour des indices de cavitation intermédiaires, repérés par les flèches d) et h) sur la FIGURE 2.9 a).

Sans régulation, l'évolution temporelle du $ci(t)$ en fonction du temps (FIGURE 2.11 d) et l'histogramme de sa distribution (FIGURE 2.11 d') montrent une très mauvaise stabilité temporelle autour d'un $ci(t)$ moyen de 12 dB, avec notamment une distribution très irrégulière qui s'étale sur une gamme de $ci(t)$ allant de 4 à 26 dB. Ici, des bouffées de cavitation apparaissant de manière intermittente sont toujours observées, et peuvent atteindre des $ci(t)$ de 27 dB. De plus, à ce taux en gaz dissout, en dehors de l'apparition brutale et aléatoire des bouffées de cavitation, la dynamique de la cavitation semble évoluer assez lentement et continûment.

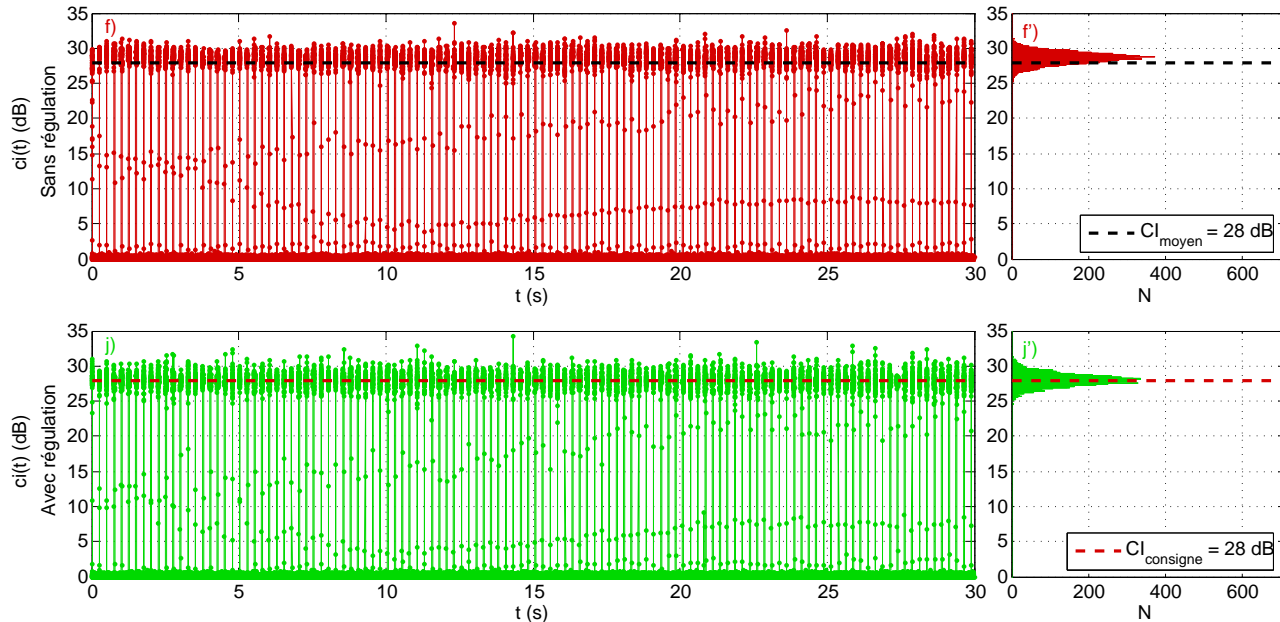


FIGURE 2.12 – Exemple d'évolution temporelle et de distribution du $ci(t)$ durant 30 s à 550 kHz et 7 mgO₂/L : **f**) et **f'**) en régime non régulé (courbe rouge et histogramme rouge) pour un $ci(t)$ moyen de 28 dB (lignes en pointillés noires) et **j**) et **j'**) en régime régulé (courbe verte et histogramme vert) pour un $CI_{consigne}$ de 28 dB (lignes en pointillés rouges).

Avec régulation, l'évolution temporelle du $ci(t)$ en fonction du temps (FIGURE 2.11 h) et l'histogramme de sa distribution (FIGURE 2.11 h') montrent en revanche une excellente stabilité temporelle autour du $CI_{consigne}$ de 12 dB, avec toujours une distribution très étroite (largeur à mi hauteur d'environ 1 dB) et très haute ($N_{max} = 600$). Comme dans le cas précédent, la régulation permet d'éliminer totalement l'apparition de bouffées de cavitation, ces dernières étant stoppées aux maximum à un $ci(t)$ de 19 dB et la consigne étant retrouvée en un temps inférieur au temps d'un pulse (25 ms). Cette très bonne efficacité du système de régulation basé sur un algorithme simple et non prédictif peut probablement s'expliquer par la dynamique de la cavitation, qui comme nous l'avons vu, semble évoluer assez lentement et continûment.

Troisièmement, la FIGURE 2.12 présente un exemple d'évolution temporelle du CI avec et sans régulation pour des indices de cavitation élevés, repérés par les flèches f) et j) sur la FIGURE 2.9 a).

Ici, pour des indices de cavitations élevés (28 dB), les évolutions temporelles du $ci(t)$ en fonction du temps, sans régulation (FIGURE 2.12 f) et f') et avec régulation (FIGURE 2.12 j) et j'), d'une part, montrent une stabilité temporelle relativement bonne, et d'autre part, sont très proches l'une de l'autre. En effet, dans les deux cas, la distribution des $ci(t)$ est relativement étroite (largeur à mi hauteur d'environ 3 dB) et haute ($N_{max} = 350$). Pour ces indices de cavitations élevés, l'utilisation du système de régulation plutôt qu'un système sans régulation ne présente pas d'intérêt en terme de stabilité temporelle, mais permet cependant d'accéder plus facilement au $ci(t)$ moyen souhaité.

Afin de pouvoir analyser la stabilité temporelle et comparer plus facilement les distributions des $ci(t)$ pour différents indices de cavitation, la FIGURE 2.13 reprend les histogrammes vu précédemment

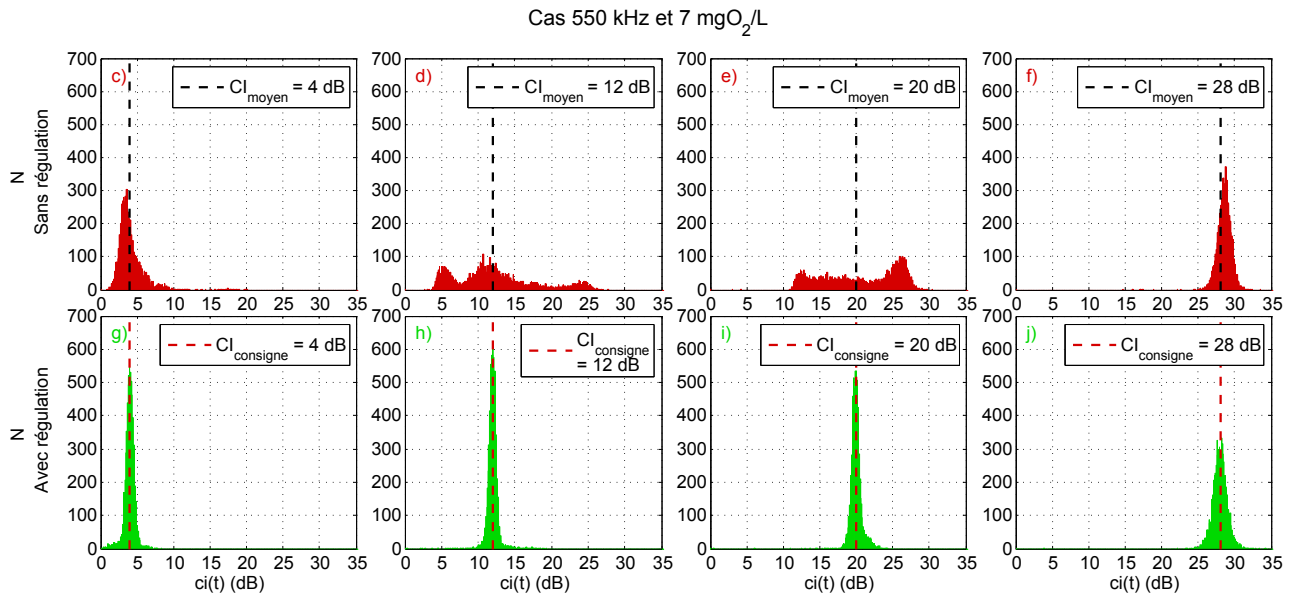


FIGURE 2.13 – Résultats expérimentaux à 550 kHz et 7 mgO₂/L. **c-f)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime non régulé (histogrammes rouges) pour des $ci(t)$ moyen de 4, 12, 20 et 28 dB (lignes en pointillés noirs). **g-j)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime régulé (histogrammes verts) pour des $CI_{consigne}$ de 4, 12, 20 et 28 dB (lignes en pointillés rouges).

(FIGURE 2.13 c), d), f), g), h) et j) et présente deux histogrammes supplémentaires pour un indice de cavitation intermédiaire de 20 dB (FIGURE 2.13 e) et i), repérés par les flèches e) et i) sur la FIGURE 2.9 a)

Sans régulation, la distributions pour un indice de cavitation de 20 dB (FIGURE 2.13 e) confirme l'émergence de deux comportements distincts avec, pour les faibles et fortes activités de cavitation (4 et 28 dB), une stabilité temporelle relativement bonne, et pour les activités de cavitation intermédiaires (12 et 20 dB), une très mauvaise stabilité temporelle avec des distributions très étalées. En revanche, avec régulation, quel que soit l'indice de cavitation ciblé, le système permet d'obtenir une excellente stabilité temporelle avec des distributions très étroites et hautes.

Finalement à 550 kHz et 7 mgO₂/L le système de régulation permet d'accéder à tous les indices de cavitation souhaités avec une excellente reproductibilité des *CI*, avec un écart à la consigne négligeable et avec une excellente stabilité temporelle des *ci(t)*, en particulier pour les activités de cavitation intermédiaires qui, sans régulation, présentent une mauvaise reproductibilité et une très mauvaise stabilité temporelle.

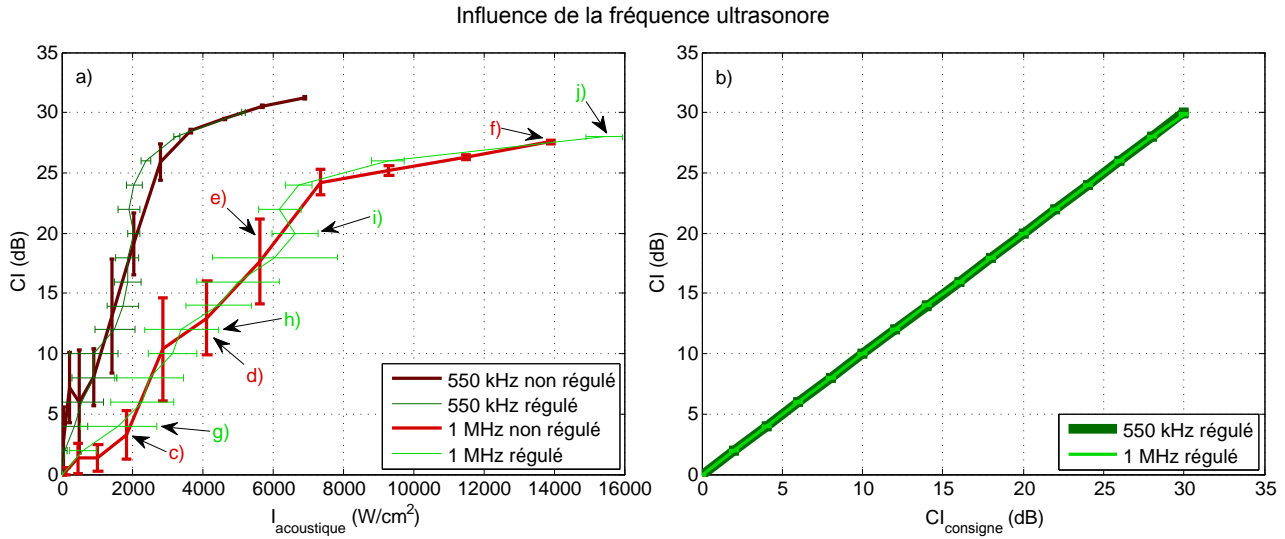


FIGURE 2.14 – Résultats expérimentaux à deux fréquences ultrasonores de 550 kHz et 1 MHz à 7 mgO₂/L. **a)** Évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique envoyée (courbes rouges) et reproductibilité des mesures (barres d'erreur rouges) en régime non régulé ; évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique envoyée (courbes vertes) et variation d'intensité moyenne pour atteindre le $CI_{consigne}$ souhaité (barres d'erreur vertes) en régime régulé pour 550 kHz (rouge et vert foncé) et 1 MHz (rouge et vert clair). **b)** Évolution du CI en fonction du $CI_{consigne}$ souhaité (courbes vertes) et reproductibilité des mesures (barres d'erreur vertes), en régime régulé pour 550 kHz (vert foncé) et 1 MHz (vert clair).

2.3.3.2 Influence de la fréquence ultrasonore (550 kHz et 1 MHz)

Les résultats obtenus concernant la reproductibilité des mesures, pour des fréquences d'excitation de 550 kHz et 1 MHz, et pour des taux de gaz dissout de 7 mgO₂/L, sont comparés sur la figure FIGURE 2.14.

L'évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique émise (FIGURE 2.14 a) montre deux phénomènes physiques importants liés au changement de fréquence. Premièrement, l'intensité nécessaire pour obtenir un même CI est plus importante pour une fréquence élevée, ce qui s'explique par la plus grande difficulté à générer de la cavitation acoustique à haute fréquence [67, 4, 47]. Ce phénomène a pour effet, à haute fréquence, de décaler vers les plus fortes intensités l'évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique émise. Deuxièmement, le CI maximum atteint semble diminuer avec l'augmentation de la fréquence : les propriétés du nuage de bulles en termes de tailles et de propriétés de diffusion ne sont pas les mêmes à 550 kHz et à 1 MHz, ce qui peut expliquer cette différence.

D'ailleurs, ce dernier phénomène illustre une des limites à l'utilisation de l'indice de cavitation $ci(t)$, car, de par sa nature, le $ci(t)$ présente un caractère non absolu, sa valeur étant relative aux conditions expérimentales considérées. En particulier, deux phénomènes physiques jouent un rôle déterminant dans le caractère relatif de l'indice de cavitation. Premièrement, il dépend des propriétés même du nuage de cavitation, comme par exemple ses propriétés de diffusion à une fréquence donnée ou sa directivité. Deuxièmement, il dépend des propriétés du milieu traversé (du transducteur au nuage puis du nuage à l'hydrophone) et notamment de l'absorption de ce milieu. En particulier, dans le cas d'essais

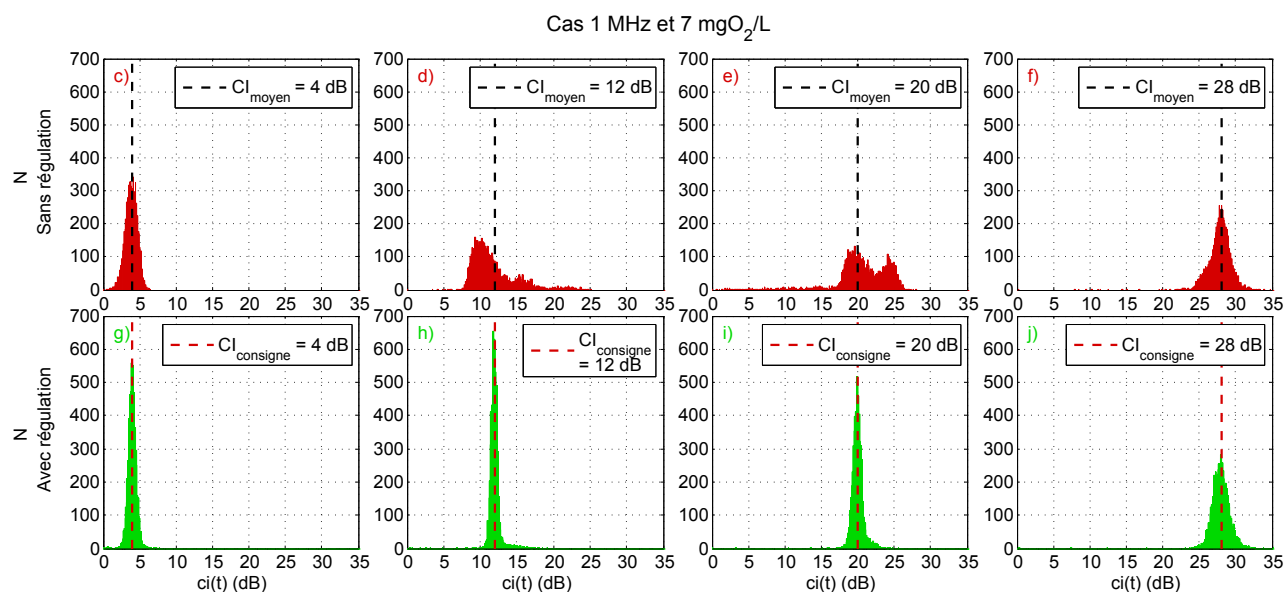


FIGURE 2.15 – Distributions des $ci(t)$ à la fréquence ultrasonore de 1 MHz à 7 mgO₂/L. **c-f)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime non régulé (histogrammes rouges) pour des $ci(t)$ moyen de 4, 12, 20 et 28 dB (lignes en pointillés noirs). **g-j)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime régulé (histogrammes verts) pour des $CI_{consigne}$ de 4, 12, 20 et 28 dB (lignes en pointillés rouges).

in vivo par exemple, le $ci(t)$ sera très dépendant des propriétés du tissu biologique traversé (épaisseur et absorption du tissu). Ces deux phénomènes sont assez contraignants, car pour chaque configuration expérimentale différente, il sera nécessaire de calibrer le système de régulation en réalisant des essais sans régulation, afin de pouvoir déterminer quels $CI_{consigne}$ peuvent être ciblés.

En termes de reproductibilité (FIGURE 2.14) et de stabilité temporelle (FIGURE 2.15), le comportement à 1 MHz est similaire à celui à 550 kHz, avec notamment en régime régulé une excellente reproductibilité des mesures pour l'ensemble des CI ciblés, un écart à la consigne négligeable et une stabilité temporelle nettement améliorée, par rapport au cas non régulé.

Finalement à 1 MHz et 7 mgO₂/L, comme pour le cas 550 kHz et 7 mgO₂/L vu précédemment, le système de régulation s'avère être très efficace, le changement vers une plus haute fréquence demandant simplement une intensité acoustique plus importante pour obtenir un même niveau de cavitation.

2.3.3.3 Influence de la teneur en gaz dissout (3, 5 et 7 mgO₂/L)

Les résultats obtenus concernant la reproductibilité des mesures et correspondant à l'étude de l'influence de la teneur en gaz dissout pour des teneurs en oxygène de 3, 5 et 7 mgO₂/L et une fréquence d'excitation de 550 kHz sont présentés sur la FIGURE 2.16.

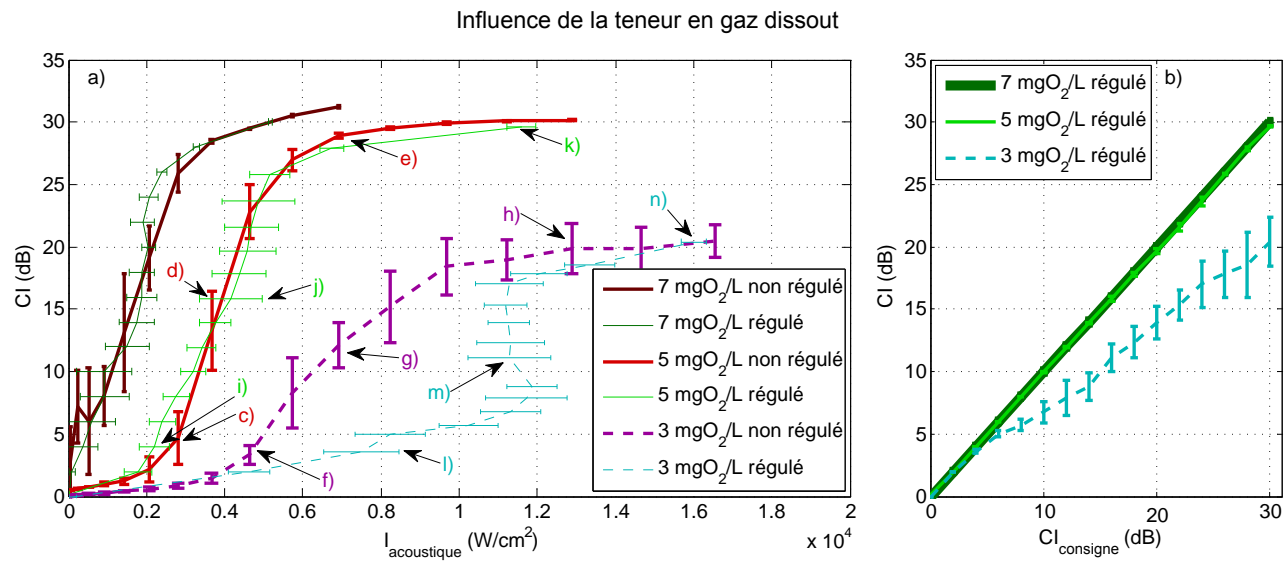


FIGURE 2.16 – Résultats expérimentaux à trois différentes teneurs en gaz dissout de 3, 5 et 7 mgO₂/L à 550 kHz. **a)** Évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique envoyée (courbes épaisses) et reproductibilité des mesures (barres d'erreur épaisses) en régime non régulé; évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique envoyée (courbes fines) et variation d'intensité moyenne pour atteindre le $CI_{consigne}$ souhaité (barres d'erreur fines) en régime régulé pour 7 mgO₂/L (rouge et vert foncé), 5 mgO₂/L (rouge et vert clair) et 3 mgO₂/L (violet et bleu). **b)** Évolution du CI en fonction du $CI_{consigne}$ souhaité et reproductibilité des mesures (barres d'erreur), en régime régulé pour 7 mgO₂/L (vert foncé), 5 mgO₂/L (vert clair) et 3 mgO₂/L (bleu).

L'évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique émise (FIGURE 2.16 a) montre l'impact important du changement de la teneur en gaz dissout. Plus la teneur en gaz dissout est faible, plus il est difficile de générer la cavitation acoustique. Ce phénomène a pour effet, pour les plus faibles teneurs en gaz, de décaler vers les plus fortes intensités l'évolution du CI en fonction de l'intensité acoustique émise et donc de décaler de la même manière le seuil d'apparition de la cavitation inertielle. En effet, le seuil d'apparition de la cavitation qui était négligeable à $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$ est déplacé à environ $0,2 \times 10^4 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ à $5 \text{ mgO}_2/\text{L}$ et à environ $0,4 \times 10^4 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ à $3 \text{ mgO}_2/\text{L}$.

En termes de reproductibilité (FIGURE 2.16) et de stabilité temporelle (FIGURE 2.17 c-e i-k), le comportement à $5 \text{ mgO}_2/\text{L}$ est similaire à celui à $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$, avec notamment en régime régulé une excellente reproductibilité des mesures pour l'ensemble des CI ciblés, un écart à la consigne négligeable et une stabilité temporelle nettement améliorée.

En revanche, pour le cas à $3 \text{ mgO}_2/\text{L}$, en raison de la limite en amplitude implémentée dans l'algorithme de régulation, le système de régulation ne dispose plus de suffisamment de puissance pour réguler convenablement. Ainsi, au delà du CI de 4 dB , la régulation se retrouve de 10 à 90% du temps, suivant le cas, bloquée à la limite maximale d'amplitude sans que la cavitation acoustique ne démarre. Cette saturation du système a pour conséquence, d'une part, d'utiliser beaucoup d'énergie

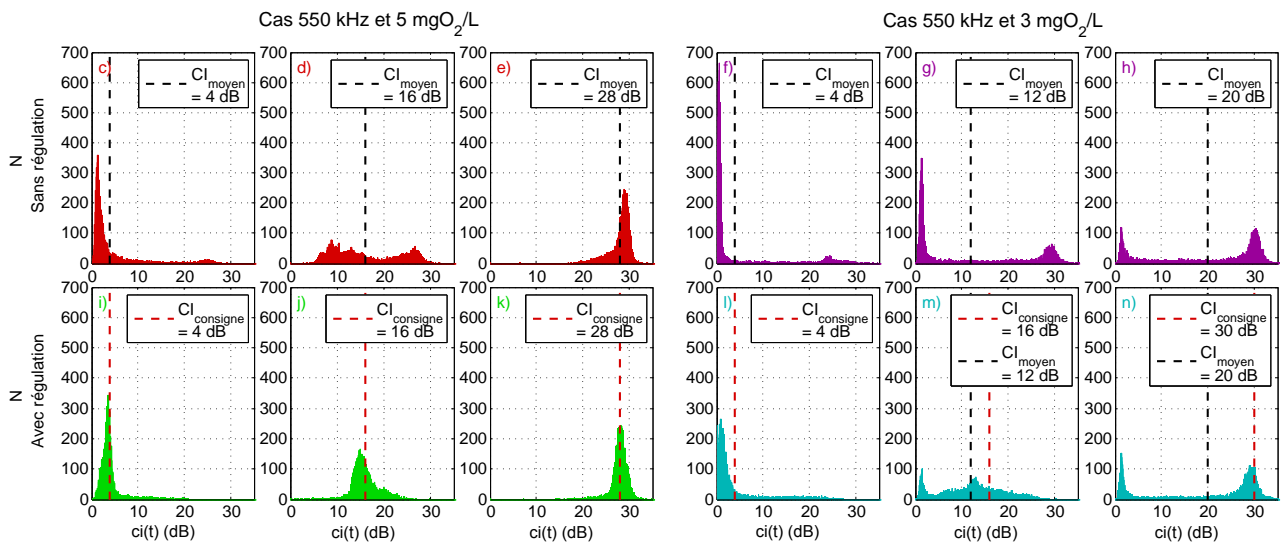


FIGURE 2.17 – Distributions des $ci(t)$ à deux teneurs en gaz dissout de 3 et $5 \text{ mgO}_2/\text{L}$ à 550 kHz . **c-e)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime non régulé à $5 \text{ mgO}_2/\text{L}$ (histogrammes rouges) pour des $ci(t)$ moyen de 4 , 16 et 28 dB (lignes en pointillés noirs). **i-k)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime régulé à $5 \text{ mgO}_2/\text{L}$ (histogrammes verts) pour des CI_{consigne} de 4 , 16 et 28 dB (lignes en pointillés rouges). **f-h)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime non régulé à $3 \text{ mgO}_2/\text{L}$ (histogrammes violets) pour des $ci(t)$ moyen de 4 , 12 et 20 dB (lignes en pointillés noirs). **l-n)** Exemples de distributions des $ci(t)$ durant 30 s en régime régulé à $3 \text{ mgO}_2/\text{L}$ (histogrammes bleus) pour des $ci(t)$ moyen de 4 , 12 et 20 dB (lignes en pointillés noirs) correspondants respectivement à des CI_{consigne} de 4 , 16 et 28 dB (lignes en pointillés rouges).

inutilement (décalage vers les plus fortes intensités de l'évolution du $ci(t)$ moyen en fonction de l'intensité acoustique émise en régime régulé par rapport au régime non régulé (FIGURE 2.16 a)), et, d'autre part, de ne pas atteindre les $CI_{consigne}$ souhaités (FIGURE 2.16 b). Malgré cela, en utilisant un $CI_{consigne}$ plus élevé que celui souhaité (par exemple 16 dB pour obtenir 12 dB), la régulation peut permettre d'obtenir un CI souhaité jusqu'à 20 dB avec un écart à la consigne inférieur 6 dB (FIGURE 2.16 b).

Concernant la stabilité temporelle pour le cas à 3 mgO₂/L (FIGURE 2.17 f-h l-n), la régulation permet d'améliorer significativement les distributions temporelles en accédant aux $ci(t)$ intermédiaires qui, sans régulation, sont totalement inaccessibles. En effet, plus la teneur en gaz dissout est faible, plus les $ci(t)$ intermédiaires sont difficilement accessibles, en particulier la dynamique de cavitation devient plus "binaire" avec des $ci(t)$ qui se répartissent aux extrémités de la plage de CI (2 dB et 30 dB). Ainsi, en plus de la limite en amplitude qui contraint la régulation, c'est la dynamique de cavitation elle-même qui devient beaucoup plus chaotique et difficile à contrôler. La FIGURE 2.18, qui présente les évolutions temporelles des $ci(t)$ correspondant aux encarts g) et m) de la FIGURE 2.17, montre en plus des bouffées de cavitation aléatoire déjà observées, des transitions très brutales et extrêmement rapides entre des régimes de cavitation très forts et très faibles. La dynamique de cavitation, qui jusqu'alors semblait évoluer assez lentement et continûment, semble devenir beaucoup plus rapide et discontinue pour des faibles taux de gaz dissout. Ainsi, pour améliorer la régulation à ces faibles taux,

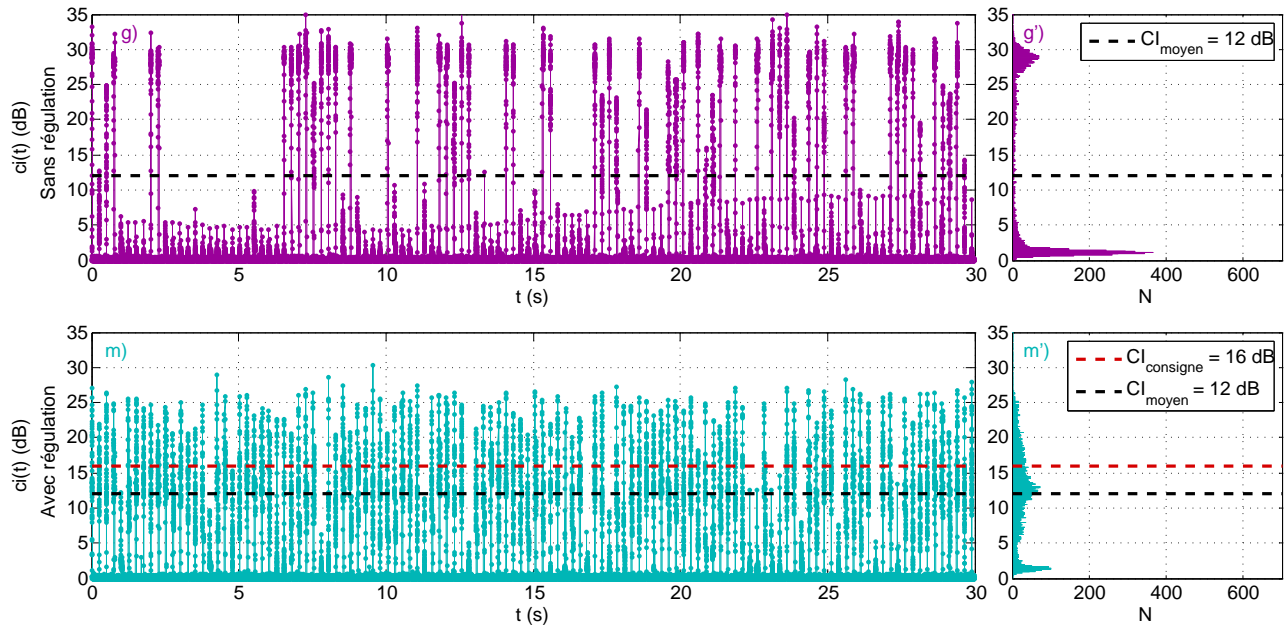


FIGURE 2.18 – Exemple d'évolution temporelle et de distribution du $ci(t)$ durant 30 s à 550 kHz et 3 mgO₂/L : **g)** et **g')** en régime non régulé (courbe rouge et histogramme rouge) pour un $ci(t)$ moyen de 12 dB (lignes en pointillés noirs) et **m)** et **m')** en régime régulé (courbe verte et histogramme vert) pour un $ci(t)$ moyen de 12 dB (lignes en pointillés noirs) correspondant à un $CI_{consigne}$ de 16 dB (lignes en pointillés rouges).

il faudrait sans doute mettre en place un algorithme de régulation plus élaboré, probablement prédictif, basé sur des modèles dynamiques prenant par exemple en compte le développement hystérétique de la cavitation qui est très complexe [59]. Cependant, une telle dynamique ne correspondant pas à celles rencontrées en thrombolyse ultrasonore, ces considérations dépassent donc le cadre de cette thèse et ne seront donc pas étudiés plus avant.

Finalement, pour un taux en oxygène dissout de $5 \text{ mgO}_2/\text{L}$, comme pour le cas à $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$, le système de régulation s'avère être efficace, le passage à un taux de gaz dissout plus faible, demandant simplement une intensité acoustique plus importante pour obtenir un même niveau de cavitation. En revanche, à $3 \text{ mgO}_2/\text{L}$, même si la régulation permet d'améliorer la stabilité temporelle des mesures, la reproductibilité des mesures et l'écart à la consigne ne sont pas satisfaisants. A ce taux de gaz dissout, le système de régulation montre ses limites notamment à cause de la limite en amplitude implémentée, mais également à cause de la dynamique propre au nuage de cavitation qui devient beaucoup plus rapide et aléatoire.

2.4 Conclusion

Un système de régulation de la cavitation inertielle en régime pulsé a été développé et caractérisé. Ce système utilise un transducteur focalisé pour générer le nuage de cavitation, un hydrophone pour écouter la cavitation et une puce FPGA permettant, à partir du signal de l'hydrophone, de calculer un indice de cavitation représentatif de l'activité de cavitation, permettant de réguler cette dernière à une cadence de 2300 Hz .

Afin de tester le système de régulation mis en place, trois séries d'expériences ont été réalisées dans une cuve d'eau en milieu libre. La première a permis de comparer, dans les conditions les plus favorables (fréquence de 550 kHz et taux en oxygène dissout de $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$), les essais réalisés avec le système de régulation aux essais réalisés sans régulation. Ensuite, la deuxième a permis d'analyser l'influence de la fréquence d'excitation (550 kHz et 1 MHz) sur la dynamique de cavitation, et de caractériser l'efficacité de la régulation à une fréquence de 1 MHz . Enfin, la troisième a permis d'étudier l'influence du taux de gaz dissout dans le milieu (taux en oxygène de 3 , 5 et $7 \text{ mgO}_2/\text{L}$) sur l'activité de cavitation et en particulier sur l'efficacité du système de régulation.

Pour les cas $550 \text{ kHz} - 7 \text{ mgO}_2/\text{L}$, $550 \text{ kHz} - 5 \text{ mgO}_2/\text{L}$ et $1 \text{ MHz} - 7 \text{ mgO}_2/\text{L}$, le système développé a permis d'initier et de maintenir une activité de cavitation inertielle avec un écart à la consigne négligeable, une reproductibilité des mesures excellentes et une stabilité temporelle des mesures très nettement améliorée. Le système a en particulier permis d'accéder aux $CI_{consigne}$ intermédiaires (entre 5 et 25 dB) qui présentent une mauvaise reproductibilité et une mauvaise stabilité temporelle en régime non régulé, et qui pourtant sont potentiellement les plus intéressants pour les applications cliniques. En revanche, pour le cas $550 \text{ kHz} - 3 \text{ mgO}_2/\text{L}$ le système de régulation a montré ses limites et n'a pas permis d'accéder aux activités de cavitation ciblées, notamment à cause du manque de puissance du système, mais également à cause de la dynamique de cavitation qui, à ce faible taux de gaz dissout, devient extrêmement rapide.

Le système de régulation de la cavitation inertielle en régime pulsé ayant démontré son efficacité à

générer et à maintenir une activité de cavitation stable et contrôlée, l'objectif est maintenant de tester la pertinence d'une telle approche sur des essais de thrombolyse purement ultrasonore réalisés in vitro. Dans ce but, le CHAPITRE 3 qui suit présente, dans un premier temps, l'adaptation du dispositif expérimental à la problématique de thrombolyse in vitro, puis le modèle de caillot sanguin in vitro utilisé et, enfin, les résultats de sonolyse des caillots.

Chapitre 3

Application de la régulation de la cavitation à la thrombolyse in vitro

3.1 Introduction

La thrombolyse consiste en la désagrégation chimique ou mécanique d'un caillot sanguin obstruant partiellement ou totalement un vaisseau sanguin. Comme cela a été détaillé dans le CHAPITRE 1, actuellement, les techniques couramment utilisées comportent des risques importants, soit d'hémorragies liées aux agents thrombolytiques, soit de complications liées aux gestes chirurgicaux. En réponse aux divers inconvénients des méthodes précédentes, de nombreuses études se sont penchées sur l'utilisation des ultrasons dans le processus de thrombolyse. Il a notamment été montré que les ultrasons focalisés pouvaient permettre de détruire des caillots sanguins [91, 70] en exploitant les effets mécaniques associés à la cavitation acoustique [70], dont le caractère fortement aléatoire reste un obstacle à l'élaboration d'un dispositif thérapeutique. Afin de pallier à ce problème, deux approches ont été étudiées. La première, l'histotritie [56, 94], utilise des ultrasons pulsés de très forte amplitude mais très courts pour déclencher à coup sûr la cavitation sans chauffer. Cependant, cette démarche non contrôlée est susceptible de poser des problèmes, notamment pour le traitement de zones sensibles comme le cerveau. La deuxième approche consiste à utiliser une excitation ultrasonore bifréquentielle [73, 86] permettant d'abaisser significativement le seuil d'apparition de la cavitation. Cependant, bien que cette approche permette de diminuer les intensités acoustiques mises en jeu, elle ne permet pas de contrôler la dynamique de cavitation qui demeure dans ce cas là encore très aléatoire. Afin de répondre à ce problème, une des voies particulièrement intéressante est d'explorer l'intérêt de la régulation de la cavitation pour la thrombolyse ultrasonore. Dans ce but, un système permettant le contrôle temporel de la cavitation en régime pulsé a donc été développé et caractérisé dans une cuve d'eau dégazée (cf CHAPITRE 2). Le présent chapitre présente l'application de ce système de régulation à la thrombolyse in vitro sur un modèle de caillot sanguin humain.

La SECTION 3.2 décrit précisément comment le dispositif expérimental de régulation temporelle de la cavitation a été adapté pour réaliser les essais de thrombolyse in vitro. La SECTION 3.3 présente le modèle in vitro de caillot sanguin utilisé lors des essais de thrombolyse in vitro, avec notamment le

déroulement des mesures et la détermination de l'efficacité du tir. Enfin, la SECTION 3.4 est consacrée à la présentation des résultats expérimentaux. En premier lieu, les essais de référence, à une fréquence de 550 kHz et un rapport cyclique de 10%, permettant de comparer la thrombolyse ultrasonore régulée aux essais de thrombolyse in vitro non régulée sont présentés. Par la suite, outre les résultats correspondant à l'étude de l'influence de la fréquence d'excitation (550 kHz et 1 MHz), l'analyse de l'influence du rapport cyclique utilisé à 1 MHz (10% et 1%) est présentée.

3.2 Dispositif expérimental in vitro

Le dispositif de thrombolyse in vitro utilise le système de régulation de la cavitation qui a été présenté dans le chapitre précédent (CHAPITRE 2). A ce système ont été ajoutés les différents éléments représentés sur le schéma d'ensemble du dispositif de la FIGURE 3.1.

Un caillot sanguin est fixé dans une conduite remplie de NaCl à 0,9%, puis positionné par un système de déplacement 3 axes au foyer du transducteur, à l'aide de deux caméras (2 webcams fixes dans le champ de chacune desquelles est repéré le foyer, comme cela sera détaillé plus loin). Ensuite, pendant le temps du tir de thrombolyse, l'extrémité inférieure du caillot est déplacée au niveau du foyer

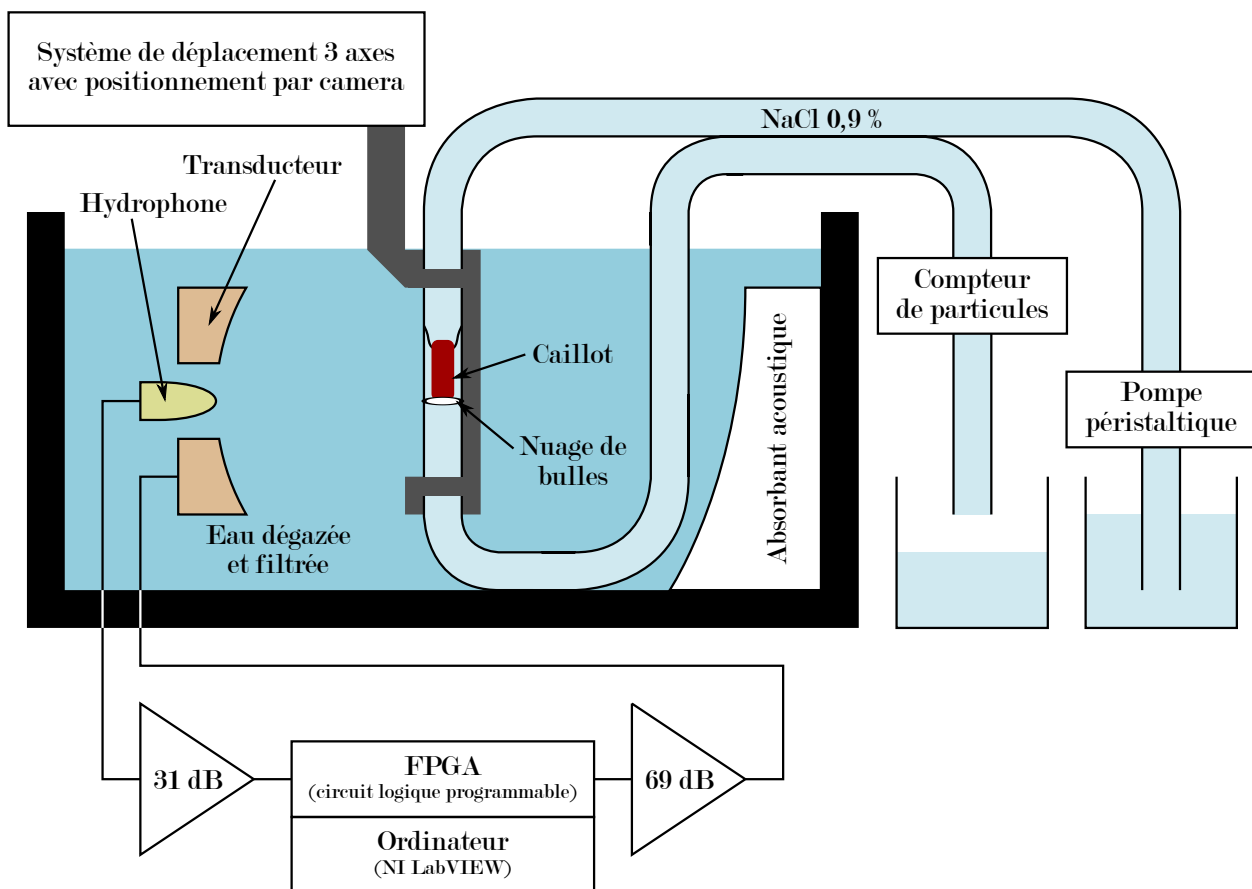


FIGURE 3.1 – Schéma du dispositif expérimental.

du transducteur, où doit se situer le nuage de cavitation afin de contrôler spatialement sa destruction. Enfin, à la fin du tir, un compteur de particules est utilisé afin de compter les fragments relargués par la thrombolyse.

Les différents éléments du dispositif expérimental (transducteurs, hydrophones, cuves, eau et NaCl, fixation, placement et balayage des caillots, ainsi que le dispositif de contrôle des fragments relargués) sont présentés dans les sous-sections qui suivent. A titre illustratif, une photo du dispositif de thrombolyse in vitro est présentée sur la figure FIGURE 3.2.

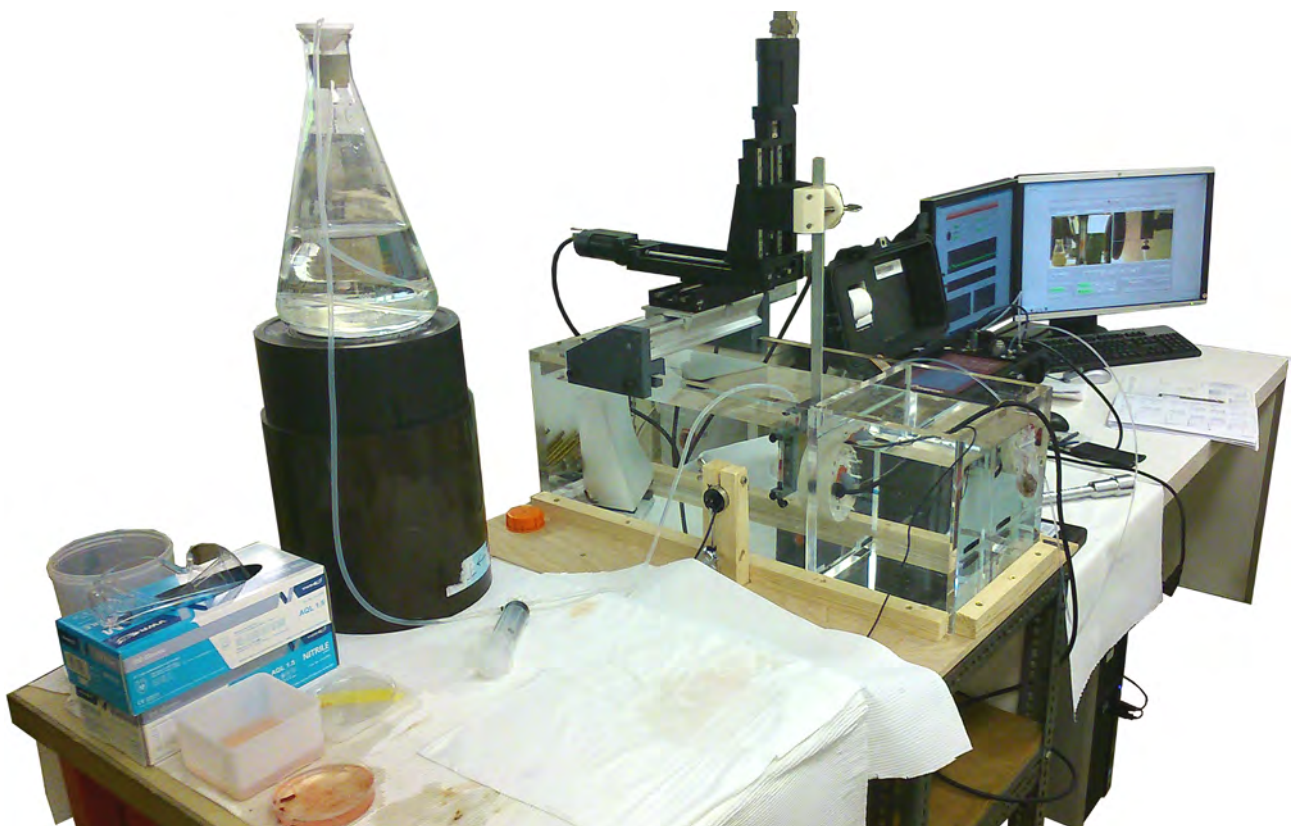


FIGURE 3.2 – Photo du dispositif expérimental.

3.2.1 Transducteurs

Pour les tests de thrombolyse in vitro, deux transducteurs focalisés, l'un de fréquence de résonance 550 kHz et l'autre de fréquence de résonance 1 MHz sont utilisés. Ce sont les mêmes transducteurs que ceux utilisés dans le chapitre précédent (cf CHAPITRE 2).

3.2.2 Hydrophones

Afin de quantifier l'activité de cavitation inertielle, un hydrophone est utilisé pour mesurer passivement le signal émis par le nuage de bulles. En fonction des expériences, deux hydrophones distincts ont été utilisés : le premier hydrophone utilisé est le même que celui utilisé dans le chapitre

précédent (cf CHAPITRE 2). Il s'agit d'un hydrophone (ONDA HGL-0400) ayant pour caractéristiques une sensibilité de -252 ± 2 dB re 1V/ μ Pa sur sa plage d'utilisation entre 100 kHz et 20 MHz et une directivité de 30° à -6 dB. Le second hydrophone utilisé est un hydrophone (ONDA HNC-1500) ayant pour caractéristiques une sensibilité de -238 ± 2 dB re 1V/ μ Pa sur sa plage d'utilisation entre 100 kHz et 20 MHz et une directivité de 15° à -6 dB.

Dans les deux cas, pour minimiser la contribution du signal d'excitation, les hydrophones sont placés en dehors du champ ultrasonore direct. Dans le cas des essais de thrombolyse à 550 kHz, l'hydrophone est placé avec un angle de 45° par rapport à l'axe acoustique du transducteur, à une distance de 15 cm du foyer acoustique et son axe acoustique, pointant vers le nuage de bulles (cf FIGURE 3.5 a). Dans le cas des essais de thrombolyse à 1 MHz, l'hydrophone est placé au centre du transducteur troué, confondu avec l'axe acoustique du transducteur, à une distance de 8 cm du foyer acoustique et son axe acoustique, pointant vers le nuage de bulles (cf FIGURE 3.5 b). Comme nous l'avons déjà vu dans la SECTION 2.2.1.2 du chapitre précédent, le transducteur 1 MHz a été spécialement conçu pour réaliser les essais de thrombolyse in vivo, ce qui explique le choix d'une configuration différente entre les expériences réalisées à 550 kHz et celles réalisées à 1 MHz.

Afin d'adapter l'amplitude du signal temporel émis par l'hydrophone à l'entrée du convertisseur analogique-numérique et d'utiliser au mieux la dynamique de ce dernier, un pré-amplificateur de 37 dB est utilisé avec l'hydrophone passif ONDA HGL-0400. Avec l'hydrophone passif ONDA HNC-1500, un pré-amplificateur de 20 dB est utilisé.

Bien que les indices de cavitation, obtenus à partir des mesures réalisées dans ces différentes configurations (550 kHz et 1 MHz) et avec ces deux hydrophones ne fournissent pas des plages de variation rigoureusement identiques, les différents indices de cavitation obtenus ont été recalés entre eux afin de faciliter la lecture et la compréhension des résultats. Le recalage a été effectué grâce à une série de mesures (FIGURE 3.3) où les deux hydrophones ont été utilisés simultanément pour calculer le *CI*.

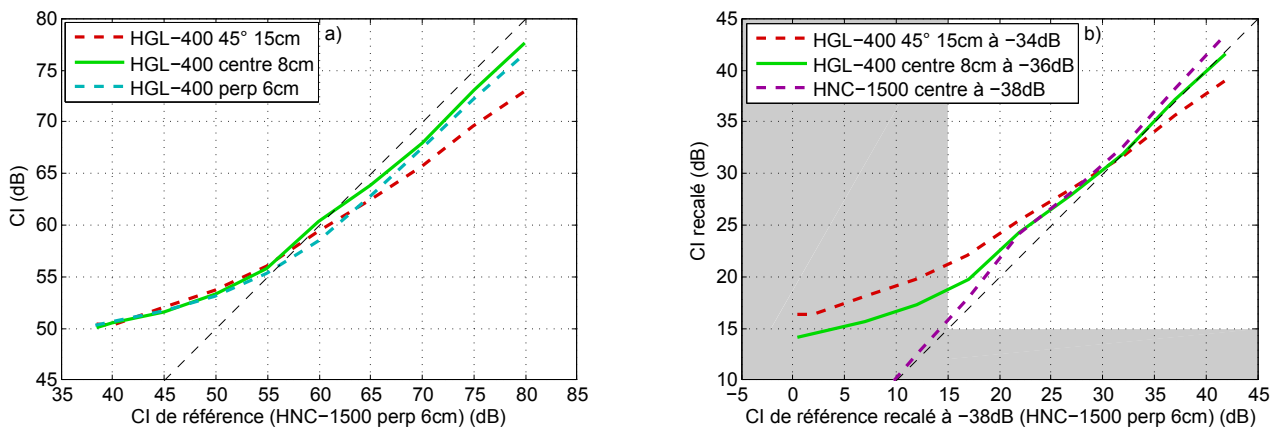


FIGURE 3.3 – **a)** Evolution des *CI* mesurés avec l'hydrophone HGL-400 dans trois positions par rapport aux *CI* mesurés avec l'hydrophone HNC-1500 en position de référence. **b)** Evolution des *CI* recalés qui ont été mesurés avec l'hydrophone HGL-400 dans trois positions par rapport aux *CI* recalés qui ont été mesurés avec l'hydrophone HNC-1500 en position de référence.

Pour cela, l'hydrophone ONDA HGL-400 a été placé dans trois positions différentes : à 45° par rapport à l'axe acoustique du transducteur et à une distance de 15 cm de son foyer, au centre du transducteur troué et à une distance de 8 cm de son foyer et perpendiculaire à l'axe acoustique du transducteur et à une distance de 6 cm de son foyer. L'hydrophone ONDA HNC-1500 étant quant à lui l'hydrophone le plus sensible des deux, il a été utilisé comme référence et placé perpendiculairement à l'axe acoustique du transducteur, à une distance de 6 cm du foyer acoustique et son axe acoustique, pointant vers le nuage de bulles. Le recalage a ensuite été effectué de telle sorte que les courbes d'évolution des CI mesurés avec l'hydrophone HGL-400 par rapport aux CI mesurés avec l'hydrophone HNC-1500 correspondent le mieux à la fonction identité. De plus, le bruit électronique de la chaîne de mesure de l'hydrophone ONDA HNC-1500 de référence a été utilisé pour fixer le $CI = 0$ dB pour toutes les mesures. Après ce recalage, le bruit électronique de l'hydrophone (ONDA HGL-0400) correspond à un CI d'environ 15 dB.

3.2.3 Fixation du caillot

Le caillot sanguin est fixé dans une portion de tube souple, en silicone transparent, lui-même fixé sur un support en PVC auquel est reliée la tubulure du compteur de particules qui permet le comptage des fragments relargués (cf FIGURE 3.4). Le caillot, de dimensions approximatives $20 \times 5 \times 5$ mm ($L \times l_1 \times l_2$, cf PARAGRAPHE 3.3), placé verticalement, est maintenu par l'intermédiaire d'un fil de polyester qui le traverse au niveau de son extrémité haute. Le fil de polyester est quant à lui pincé entre un tube souple et une portion de tube rigide. Le tube souple en silicone transparent, de diamètre interne 6,5 mm et de longueur d'environ 8 cm, est utilisé au niveau du caillot d'une part comme fenêtre optique, afin de pouvoir placer le caillot et observer sa destruction, et d'autre part comme fenêtre acoustique afin de laisser passer les ultrasons. Deux portions de tube rigide fixées à un support en PVC permettent de maintenir verticalement le tube souple contenant le caillot. La conduite, remplie de NaCl à 0,9%, permet d'amener du NaCl propre en amont du caillot et de récupérer les fragments relargués par la thrombolyse en aval du caillot, afin de les amener jusqu'au compteur de particules.

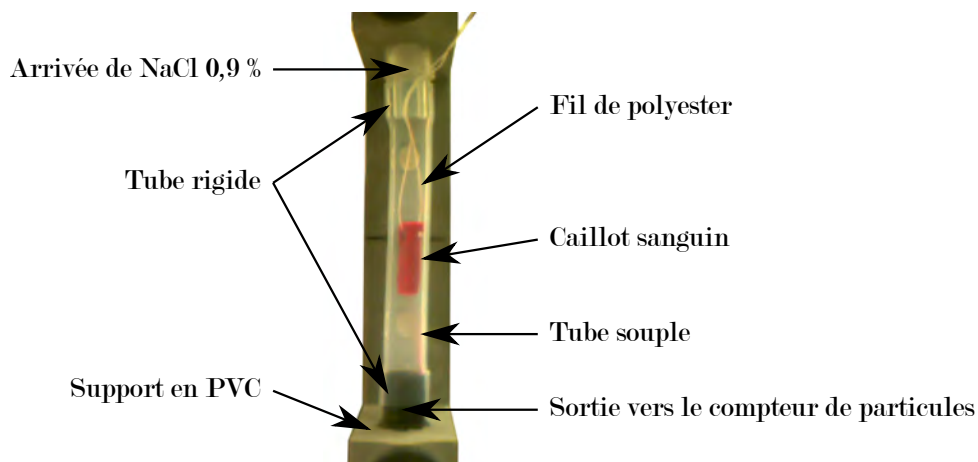


FIGURE 3.4 – Photo de la fixation du caillot dans la conduite pour insonification.

3.2.4 Cuves

Afin de limiter l'incertitude de positionnement des caillots aux foyers des transducteurs, une cuve différente pour chacun des transducteurs (550 kHz et 1 MHz) est utilisée pour réaliser les tests de thrombolyse in vitro. Les deux cuves sont en PVC transparent, parallélépipédiques d'environ 30 L, de dimensions intérieures $50 \times 250 \times 250$ mm ($L \times l \times h$) et de parois d'épaisseur 15 mm. La première est utilisée pour réaliser les essais à une fréquence de 550 kHz (FIGURE 3.5 a) et la deuxième est utilisée afin de réaliser les essais à une fréquence de 1 MHz (FIGURE 3.5 b). Ainsi, les différents éléments utilisés pour les essais de thrombolyse, tels que les transducteurs ou les supports des hydrophones, n'ont pas besoin d'être démontés entre chaque série d'expériences. Toujours dans le but d'atténuer au maximum les réflexions susceptibles d'avoir lieu à l'arrière de la cuve, un absorbant acoustique en paraffine est utilisé.

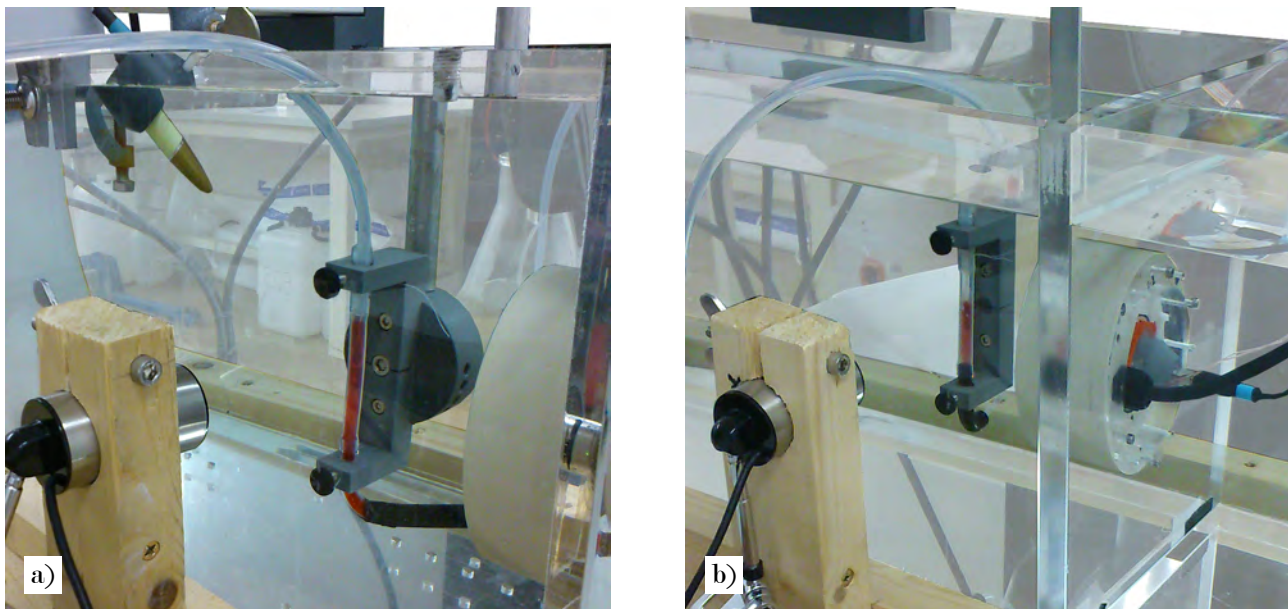


FIGURE 3.5 – Photos des cuves d'insonifications pour la thrombolyse **a)** à 550 kHz et **b)** à 1 MHz.

3.2.5 Eau et NaCl

Afin d'éviter les risques d'éclatement par osmose des cellules sanguines contenues dans le thrombus, la conduite contenant le caillot est remplie de NaCl à 0,9%. De plus, afin de limiter au maximum l'apparition de cavitation au niveau de l'interface extérieur du tube, l'eau utilisée pour remplir la cuve est dé-ionisée, filtrée puis dégazée à environ $2 \text{ mgO}_2/\text{L}$. Pour chaque série d'expériences présentées dans la suite de ce chapitre, la concentration en gaz dissout est mesurée au début et à la fin de chaque expérience : pour l'ensemble des expériences réalisées, la concentration est restée inférieure à $3 \text{ mgO}_2/\text{L}$. Enfin, afin d'éviter le développement de bactéries dans l'eau, la cuve est systématiquement vidée et séchée à la fin de la journée d'expérience.

3.2.6 Placement du caillot

Le placement du caillot au niveau du foyer du transducteur est réalisé d'une part grâce à un système de déplacement 3 axes (OWIS PS35) sur lequel est fixé le support en PVC, maintenant le tube souple qui contient le caillot, et d'autre part par l'intermédiaire de 2 caméras (HAMA WEBCAM). En effet, deux caméras ont été fixées, l'une d'un côté de la cuve et l'autre sous la cuve, afin de repérer tridimensionnellement la zone où devra être placé le caillot à lyser. L'enregistrement des coordonnées du point focal dans le repère des caméras a été effectué en positionnant un hydrophone à aiguille (MULLER-PLATTE NEEDLE PROBE) au foyer acoustique du transducteur. Ainsi, les coordonnées des foyers des transducteurs étant connues dans les deux cuves (à 550 kHz et 1 MHz), les caillots peuvent très facilement être positionnés grâce au système de déplacement 3 axes, avec précision ($\pm 0,25$ mm), au niveau de la zone focale des transducteurs.

3.2.7 Balayage du caillot pendant le tir

L'objectif de destruction du caillot a été fixé pour l'ensemble des expériences de thromolyse in vitro à une longueur de 1 cm. Ainsi, dans l'ensemble des résultats présentés dans la suite de ce chapitre, une destruction d'au moins 1 cm du caillot sera considérée comme une destruction totale. A 550 kHz et 1 MHz le volume de la zone focale des transducteurs étant bien plus petit que le volume de caillot à lyser, le caillot doit être déplacé pendant toute la durée du tir ultrasonore afin que la zone focale du transducteur balaye l'ensemble de la zone de caillot à lyser. En effet, selon la configuration utilisée pour la réalisation des tests de thromolyse, le caillot étant placé perpendiculairement à l'axe acoustique des transducteurs, les dimensions caractéristiques à prendre en compte sont pour le caillot sa longueur ($L = 20$ mm) et sa largeur ($l_1 = 5$ mm) en regard des dimensions transverses de la zone focale des transducteurs. Ainsi, à 550 kHz, le diamètre ellipsoïdal du foyer étant de 2,9 mm, le caillot a seulement besoin d'être balayé selon sa longueur sur 1 cm. En revanche, à 1 MHz, le diamètre ellipsoïdal du foyer étant de 1,1 mm, le caillot a non seulement besoin d'être balayé selon sa longueur sur 1 cm, mais également de manière latérale sur 3 mm. Dans les deux cas, les longueurs des foyers étant supérieures à 5 mm, un balayage selon la troisième direction est inutile. En pratique, les transducteurs étant fixes par rapport à la cuve, c'est plutôt le caillot qui est déplacé grâce au système de déplacement 3 axes au niveau du foyer du transducteur. Ainsi, selon la configuration du tir, le caillot sera déplacé automatiquement, chaque seconde, d'un pas permettant un balayage longitudinal et latéral adéquat.

3.2.8 Contrôle des fragments de caillot relargués

La distribution des tailles des fragments est caractérisée. En effet, ce paramètre est important pour l'application in vivo car relarguer de trop gros fragments dans le système vasculaire induit de forts risques de thrombose des zones en aval du caillot traité. Ainsi, les distributions obtenues in vitro constitueront un critère d'évaluation de la qualité potentielle du traitement. Pour cela, afin d'observer le type de fragments relargués, des essais d'ombroscopie par caméra ultra-rapide ont été réalisés. Ensuite, une fois les fragments mieux classifiés, un compteur de particules a été utilisé pour contrôler la distribution des tailles des morceaux relargués lors des essais de thromolyse.

3.2.8.1 Ombroscopie par camera ultra-rapide

Des tests d'ombroscopie par caméra ultra-rapide ont été effectués afin d'observer le type de fragments relargués par la thrombolyse. A l'aide d'une pompe péristaltique, les fragments détachés du caillot se trouvant dans la conduite sont acheminés jusqu'à une cellule de comptage en verre de section carrée 800 μm . Les fragments sont alors comptés lors de leur passage dans la cellule par ombroscopie : une source lumineuse halogène éclaire la cellule en transmission jusqu'à l'objectif de la caméra (PHANTOM V12.1). Lorsque qu'un fragment passe dans la cellule, l'ombre reporté est alors enregistrée par le capteur de la caméra. L'information récupérée est alors surfacique, la profondeur des fragments n'étant pas observable dans cette configuration.

Les différents types de fragments observés sont présentés sur la FIGURE 3.6, avec sur les encarts a), b), c) et d) les images brutes récupérées par la caméra, et sur les encarts e), f), g) et h) les images binarisées permettant d'effectuer des mesures de forme et de dimension.

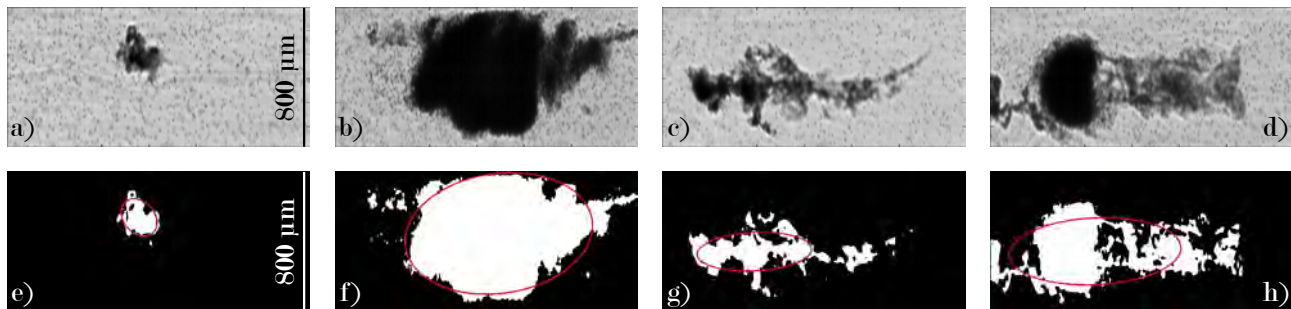


FIGURE 3.6 – **a-d)** Photos d'exemples de fragments relargués par la thrombolyse. **e-h)** Image de la binarisation des fragments et surface ellipsoïdale qu'ils occupent (ellipse rouge).

Parmi les fragments les plus gros, deux types de fragments ont été observés. Premièrement, des morceaux entiers de caillot peuvent se détacher. Dans ce cas, les fragments sont généralement de forme sphérique et apparaissent relativement opaques en ombroscopie. C'est le cas des fragments présentés sur les FIGURE 3.6 a) (fragment $\varnothing \approx 100 \mu\text{m}$) et FIGURE 3.6 b) (fragment $\varnothing \approx 700 \mu\text{m}$). Deuxièmement, dans certaines conditions de destruction des caillots, bien que le caillot soit détruit, un réseau de fibrine subsiste après tir. Des filaments de fibrine sont alors observés. Ils présentent des formes très étirées, filamenteuses, et ressortent en ombroscopie avec relativement peu de contraste. C'est le cas du fragment présenté sur la FIGURE 3.6 c). Enfin, dans d'autres cas, les fragments observés sont une combinaison des deux cas précédents. Un exemple de ce type de fragment est présenté sur la FIGURE 3.6 d). Les très petits fragments, dispersés et visibles dans toute la cellule de comptage, correspondent aux globules rouges ($\varnothing \approx 10 \mu\text{m}$) qui ont été détachés du caillot.

3.2.8.2 Compteur de particules

Afin de contrôler de manière plus systématique la distribution des tailles des morceaux relargués lors des essais de thrombolyse, un compteur de particules (PAMAS S40 HCB-LD-100) a été utilisé. Le compteur disposant de sa propre pompe, les fragments détachés présents dans la conduite sont

acheminés jusqu'à la cellule pour comptage. Le compteur permet de mesurer les tailles de fragments relargués comprises entre $2\ \mu\text{m}$ et $1000\ \mu\text{m}$ selon les distributions souhaitées. La distribution des tailles choisie pour les essais de thrombolyse in vitro est la suivante : $50 - 100\ \mu\text{m}$, $100 - 200\ \mu\text{m}$, $200 - 300\ \mu\text{m}$, $300 - 500\ \mu\text{m}$ et $500 - 1000\ \mu\text{m}$, des fragments inférieurs à $50\ \mu\text{m}$ étant déjà présents dans la solution de NaCl. Ce compteur fonctionne également selon la technique d'ombroscopie. Une frange laser illumine la cellule de comptage de section carrée $1000\ \mu\text{m}$. Lorsque qu'une particule traverse la cellule, l'ombre reportée est captée par le photo-détecteur linéaire. Ainsi, la tension au borne du photo-détecteur étant proportionnelle à la taille de la particule observée, par intégration du signal temporel du photo-détecteur, les fragments sont comptés et répartis selon la distribution des tailles détaillée précédemment.

3.3 Modèle de caillot sanguin in vitro

Afin de réaliser des essais de thrombolyse in vitro, un modèle de caillot sanguin déjà développé au laboratoire a été utilisé [73]. Les caillots sanguins sont réalisés par coagulation d'une poche de sang humain prélevé sur donneur volontaire et anonyme, dans le cadre d'une convention avec l'établissement français du sang (EFS). Dans le but de prévenir les risques de contamination biologique, les poches de sang réceptionnées auprès de l'EFS ont systématiquement subi un contrôle sérologique des maladies transmissibles par le sang (syphilis, hépatites virales B et C, VIH, HTLV). De plus, conformément à la réglementation, l'ensemble des manipulations de produits biologiques (préparation des solutions, coagulation du sang et préparation des échantillons) est systématiquement réalisé sous poste de sécurité microbiologique de type II (PSM II).

Les poches réceptionnées contiennent environ 500 ml de sang, auquel a été ajouté 63 ml d'anticoagulant Citrate Phosphate Dextrose (CPD) afin de prévenir sa coagulation. Les plaquettes contenues dans le sang ayant une durée de vie courte (quelques jours), il est important de coaguler la poche de sang rapidement après réception, d'autant qu'elle a été prélevée il y a déjà 2 ou 3 jours. De plus, les caillots trop récemment coagulés sont peu représentatifs des caillots naturels. En effet, étant trop fragiles, il est nécessaire d'attendre au minimum 3 jours avant de pouvoir les utiliser. Après 3 jours, les caillots peuvent être utilisés pendant une période d'environ 15 jours s'ils ont été correctement conservés au réfrigérateur à $+4\ ^\circ\text{C}$.

3.3.1 Préparation des solutions

Afin de coaguler les poches de sang total, les différentes solutions suivantes sont nécessaires. Une solution de chlorure de calcium permet de désactiver l'anticoagulant Citrate Phosphate Dextrose (CPD) présent dans les poches de sang à réception. Une solution mère d'albumine permet de stabiliser la thrombine. Une solution de thrombine permet d'initier la coagulation du sang. De plus, une solution mère de NaCl à 0,9% stérile est utilisée pour la préparation par dissolution des solutions précédentes. Elle permet de minimiser les risques d'éclatement par osmose des cellules sanguines qui sont très sensibles à l'eau. Pour les mêmes raisons, la quantité de NaCl ajoutée au sang doit être minimale. Les

solutions précédentes sont donc préparées de telle manière que le volume total de NaCl à ajouter au sang soit inférieur à 5% du volume de la poche de sang.

3.3.1.1 Solution d'albumine (SAB)

Afin d'éviter les effets de paroi et pour stabiliser la solution de thrombine, de l'albumine est ajoutée. En effet, l'albumine étant une protéine neutre plus grosse que la thrombine, elle permet de mieux répartir la thrombine dans le sang, évitant ainsi l'agglutination de cette dernière sur les parois. Le mélange de sang et de thrombine étant alors plus homogène, la coagulation est optimale. La solution mère d'albumine est préparée par dissolution de la poudre d'albumine bovine déshydratée à 1%, c'est-à-dire, par exemple, 0,1 g d'albumine pour 10 ml de sérum physiologique (NaCl 0,9%).

3.3.1.2 Solution de thrombine

La thrombine étant l'enzyme précurseur de la cascade de la coagulation, elle est utilisée pour initier la coagulation des poches de sang. Ayant une durée de vie très courte, elle n'est plus présente dans le sang à réception des poches. Il est donc nécessaire d'en ajouter au sang prélevé au moment de la coagulation. La solution de thrombine est préparée par dissolution à 100 UNIH/ml de la poudre de thrombine humaine déshydratée dans la solution mère d'albumine. Pour des raisons pratiques, la thrombine est aliquotée en micro-tubes de 200 μ l contenant 20 UNIH de thrombine et conservée congelée à -25°C . Chaque aliquot, contenant 20 UNIH de thrombine, permettra de coaguler une poche de sang de 500 ml.

3.3.1.3 Solution de CaCl_2

Les poches de sang total (500 ml) contiennent, en plus du sang, 63 ml d'anticoagulant CPD (Citrates Phosphate Dextrose). Afin de coaguler ce sang, l'anticoagulant doit être désactivé par ajout d'un antidote, le chlorure de calcium (CaCl_2). Aux vues des concentrations en anticoagulant, il faut ajouter 20 mM de CaCl_2 par poche de sang pour le désactiver. La solution mère de CaCl_2 à 10 mM/ml est préparée par dissolution de la poudre de chlorure de calcium déshydraté ($M_{\text{CaCl}_2} = 147,01 \text{ g/mol}$), c'est-à-dire, par exemple, 7,34 g de CaCl_2 pour 100 ml de sérum physiologique (NaCl 0,9%). La solution mère de CaCl_2 peut alors être conservée au réfrigérateur à $+4^{\circ}\text{C}$.

3.3.2 Coagulation du sang total

Afin de se rapprocher le plus possible des conditions physiologiques de coagulation, la poche de sang totale est coagulée à 37°C . Ainsi, l'ensemble du matériel, des solutions et du sang utilisés sont préalablement incubés à 37°C . La poche de sang, de 500 ml, est coagulée dans 5 boîtes de Petri de 100 ml chacune. Dans un bécher sont mélangés, avec 100 ml de sang, 4 ml de solution mère de CaCl_2 afin de désactiver l'anticoagulant CPD et 4 UNIH de thrombine permettant la réactivation de la coagulation, puis le tout est transvasé dans une boîte de Petri afin qu'il coagule (cf FIGURE 3.7 a). La boîte de Petri, dont toutes les bulles d'air ont été enlevées, est fermée hermétiquement afin d'éviter

l'oxydation du sang. Le mélange conditionné est alors incubé à 37 °C, le temps que la coagulation soit totale (≈ 30 min), avant d'être conservé au réfrigérateur à +4 °C en attendant d'être utilisé.

3.3.3 Préparation des échantillons pour insonification

La préparation des échantillons (caillots sanguins parallélépipédiques de dimensions $20 \times 5 \times 5$ mm ($L \times l_1 \times l_2$)) pour insonification est réalisée à partir du sang coagulé contenu dans les boîtes de Petri. Le bloc de sang coagulé dans la boîte de Petri n'étant pas homogène dans la hauteur, seule la partie basse, en contact avec le fond de la boîte est utilisée. A l'aide d'un double scalpel (cf FIGURE 3.7 c) dont les lames sont espacées de 5 mm, des bandes de sang coagulé de section carrée de 5 mm sont découpées dans le bloc de sang coagulé. Ensuite ces bandes sont redécoupées en portion de 2 cm de longueur, formant ainsi les caillots utilisés pour les essais de thrombolyse in vitro. Les caillots étant fixés dans le tube souple par l'intermédiaire d'un fil de polyester (cf SECTION 3.2.3), un fil est passé dans chaque caillot au niveau de l'une de ses extrémités à l'aide d'une aiguille de seringue. Les caillots ainsi préparés (cf FIGURE 3.7 b), sont alors stockés dans une boîte de Petri remplie de sérum physiologique et conservés au réfrigérateur à +4 °C en attendant d'être utilisés.

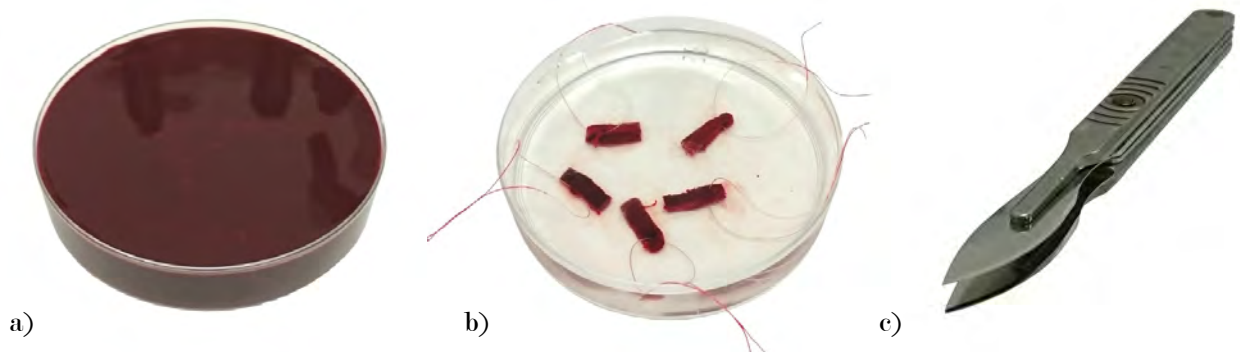


FIGURE 3.7 – **a)** Photo d'une boîte de Petri remplie de sang pour coagulation. **b)** Photo des caillots préparés pour insonification. **c)** Photo du double scalpel utilisé pour la découpe des caillots.

3.3.4 Déroulement des mesures

Les essais de thrombolyse in vitro se déroulent pour chaque caillot selon la démarche expliquée ci-dessous : le caillot est mis en place dans le tube souple puis ce dernier est positionné sur le support fixé au système de déplacement 3 axes. A l'aide de la pompe du compteur de particules, la conduite est purgée des bulles d'air qui ont été introduites au moment de la mise en place du caillot, puis ce dernier est lavé jusqu'à évacuation des traces de sang contenu dans la conduite. Le caillot étant disposé verticalement, l'extrémité basse du caillot est ensuite positionnée, grâce aux caméras et au système de déplacement 3 axes, au niveau du foyer du transducteur. Une photo de référence est alors prise par la caméra frontale avant le tir ultrasonore (cf FIGURE 3.8 a). Elle permettra, avec la photo prise après le tir ultrasonore, de déterminer l'efficacité thrombolytique du tir. Le tir de thrombolyse ultrasonore est

alors réalisé selon la configuration du tir souhaité. A la fin du tir, les fragments détachés sont comptés grâce au compteur de particules, puis la conduite est nettoyée jusqu'à évacuation des dernières traces de sang dans la phase liquide. Une seconde photo, après le tir, est alors prise par la caméra frontale (cf FIGURE 3.8 b). L'essai de thrombolyse étant à présent terminé, un nouveau caillot peut être mis en place afin de réaliser un nouvel essai.

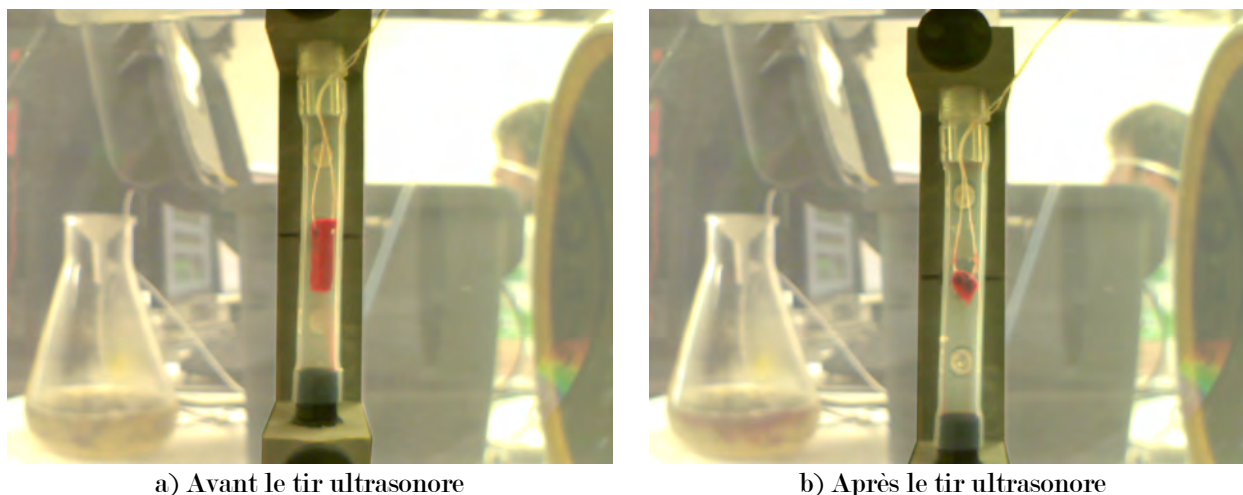


FIGURE 3.8 – Photos d'un caillot prises par la caméra frontale **a)** avant le tir ultrasonore et **b)** après le tir ultrasonore.

L'ensemble de ces étapes est réalisé, quand cela est possible, automatiquement ou avec l'aide d'un ordinateur hôte programmé sous NI LabVIEW. Il permet de contrôler le compteur de particules et sa pompe, les deux caméras, le système de déplacement 3 axes ainsi que le FPGA.

3.3.5 Détermination d'un critère d'efficacité du tir

Afin de pouvoir quantifier l'efficacité du tir ultrasonore qui a été réalisé, un critère quantitatif de destruction du caillot sanguin doit être déterminé. Cette détermination de l'efficacité d'un tir ultrasonore est effectuée par comparaison de la photo prise avant le tir (FIGURE 3.9 a) avec celle prise après le tir (FIGURE 3.9 c). En post-traitement, sous Matlab, les photos sont binarisées afin d'en extraire le caillot, la binarisation étant effectuée selon un critère de couleur rouge caractéristique du caillot, pour la photo avant le tir (FIGURE 3.9 b) et pour la photo après le tir (FIGURE 3.9 d). Ensuite, la détermination de la longueur de caillot détruite est calculée par soustraction de la longueur mesurée sur le caillot avant le tir avec la longueur mesurée sur le caillot après le tir.

Dans la majorité des cas, ce critère permet de quantifier convenablement l'efficacité d'un tir ultrasonore, le caillot soit n'ayant pas du tout été détruit, soit ayant été détruit d'une longueur donnée. Cependant dans environ 20% des cas, la détermination de l'efficacité du tir est plus complexe du fait que le caillot peut être partiellement détruit. En particulier, dans de nombreux cas, il a été observé après le tir la subsistance d'un filament de fibrine dont les autres constituants du thrombus (globules rouges, plaquettes et globules blancs) ont été en grande partie détachés (FIGURE 3.10 A.c).

Dans ces cas-là, le critère d'efficacité mis en place ne permet pas de différencier de telles destructions (FIGURE 3.10 A) de celles où le caillot n'a pas du tout été détruit (FIGURE 3.10 B), alors même que le volume de caillot détruit sur 1 cm avoisine les 90%.

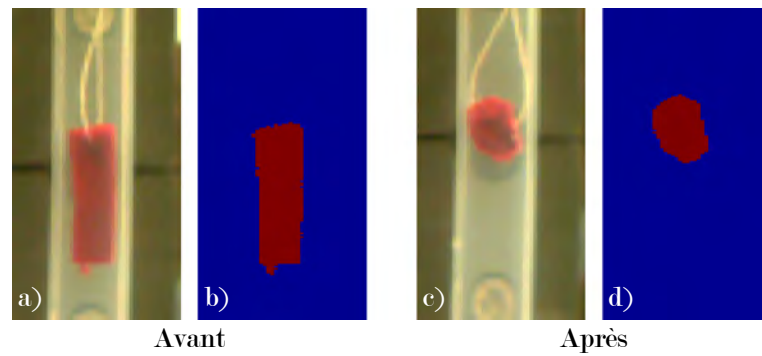


FIGURE 3.9 – Photos d'un caillot **a)** avant le tir ultrasonore et **c)** après le tir ultrasonore qui a totalement été détruit. Images binarisées de ce caillot **b)** avant le tir ultrasonore et **d)** après le tir ultrasonore.

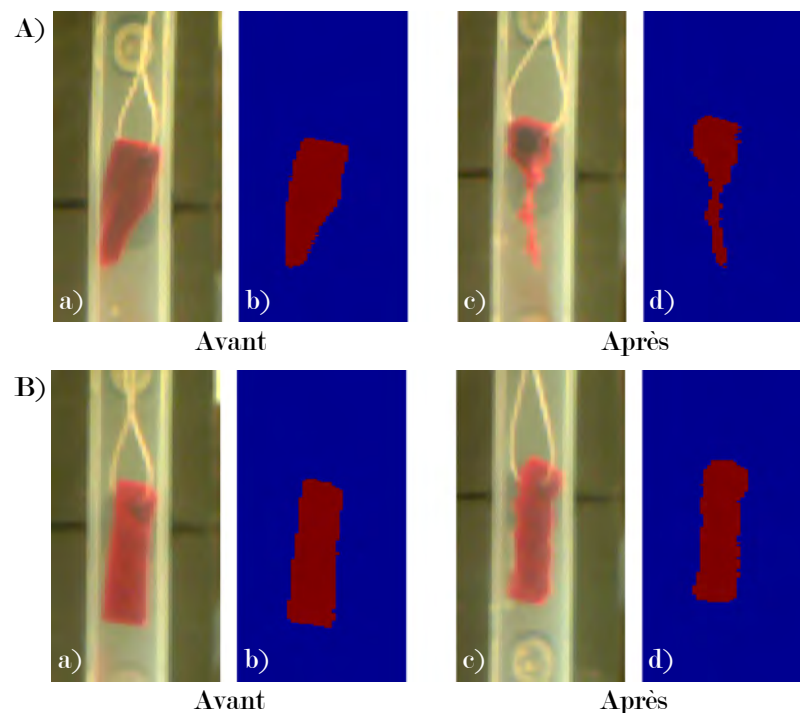


FIGURE 3.10 – Exemples **A)** d'un caillot qui a été détruit avec formation d'un filament de fibrine et **B)** d'un caillot qui n'a pas été détruit. Photos de ces caillots **a)** avant le tir ultrasonore et **c)** après le tir ultrasonore. Images binarisées de ces caillots **b)** avant le tir ultrasonore et **d)** après le tir ultrasonore.

Afin de palier à ce problème, le critère d'efficacité du tir ultrasonore basé sur la différence des longueurs a été adapté pour prendre en compte ce type de destruction partielle (subsistance d'un filament de fibrine) et considérer la destruction comme totale, 90% du caillot ayant été détruit.

Pour cela, avant de mesurer la longueur de caillot restant, les portions de largeurs inférieures à 1/3 de la largeur maximale du caillot ont été retirées (FIGURE 3.11 e), le rapport des largeurs (1/3) ayant été choisi de telle sorte qu'il corresponde à la destruction d'un volume d'environ 90% de la section considérée du caillot. Ainsi, ce critère permet de prendre en compte les destructions partielles de caillot, aussi bien quand les filaments de fibrine subsistent sur toute la longueur de destruction

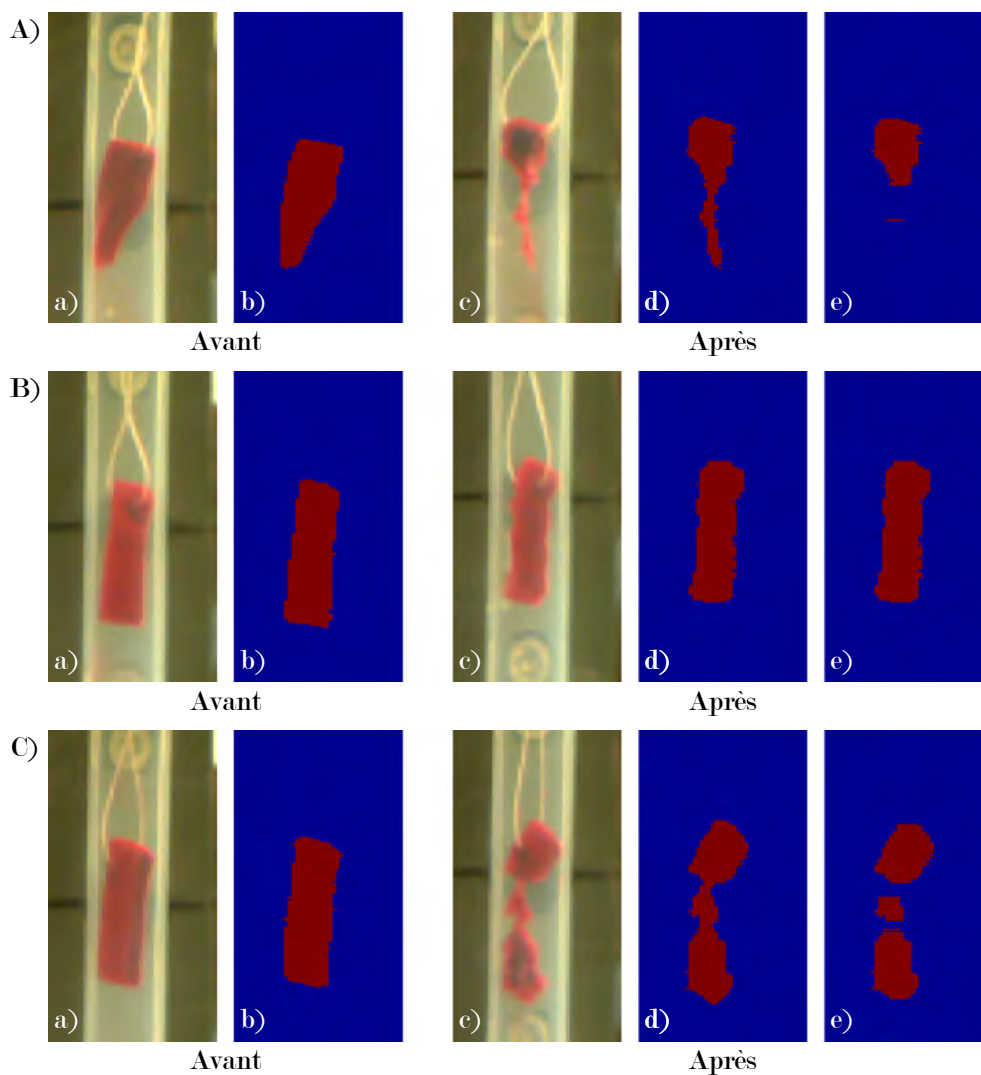


FIGURE 3.11 – Exemples **A)** d'un caillot qui a été détruit avec formation d'un filament de fibrine, **B)** d'un caillot qui n'a pas été détruit et **C)** d'un caillot qui a partiellement été détruit avec formation d'un filament de fibrine. Photos de ces caillots **a)** avant le tir ultrasonore et **c)** après le tir ultrasonore. Images binarisées de ces caillots **b)** avant le tir ultrasonore et **d)** et **e)** après le tir ultrasonore pour deux critères d'efficacité du tir.

(FIGURE 3.11 A) que lorsque qu'il subsistent sur des portions de caillot (FIGURE 3.11 C).

Finalement la longueur de destruction utilisée pour déterminer l'efficacité du tir est définie par la différence entre la longueur mesurée sur le caillot avant le tir (FIGURE 3.11 b) et la longueur mesurée sur le caillot après le tir dont les portions de largeurs inférieures à 1/3 de la largeur maximale du caillot ont été retirées (FIGURE 3.11 e). De plus, la zone de caillot balayée par le foyer du transducteur étant de 1 cm de longueur, l'efficacité du tir sera considérée comme totale lorsque au moins 1 cm de caillot aura été détruit.

3.4 Sonolyse de caillots sanguins in vitro

Plusieurs études de sonolyse de caillots sanguins ont déjà été réalisées in vitro. En 1999, Westermark montre que pour détruire des thrombi, l'utilisation d'ultrasons en régime pulsé est beaucoup plus efficace que l'utilisation d'ondes de chocs ou d'ultrasons en régime continu [91].

En 2000, Rosenschein [70] utilise une fréquence de 500 kHz pour détruire des thrombi cylindriques de sang bovin, de dimensions 40×7 mm ($L \times \varnothing$), qui ont été placés dans une portion fermée d'artère carotidienne bovine disposée horizontalement. En 4 min, grâce à un rapport cyclique de 4% et une PRF de 200 Hz, 91% de la masse des thrombi est lysée, lorsque l'intensité acoustique utilisée est supérieure à $35 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ SPTA. Ensuite, à partir des années 2000, l'histotritie ne cesse de se développer.

En 2009, Maxwell [56] utilise une fréquence de 1 MHz pour détruire des thrombi cylindriques de sang canin, de dimensions 20×4 mm ($L \times \varnothing$), qui ont été placés dans un tube de polyéthylène de longueur 6 mm, disposé verticalement. En 5 min, grâce à un rapport cyclique de 0,7% et une PRF de 1000 Hz, l'intégralité des thrombi est lysée, lorsque l'intensité acoustique utilisée est supérieure ou égale à $41 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ SPTA.

Depuis, d'autres études ont été menées afin d'étudier plus en détail les paramètres optimaux à utiliser en histotritie [94, 95, 97], cependant, les protocoles expérimentaux mis en place dans ces études, étant trop éloignés de celui utilisé dans cette thèse, leurs résultats ne seront pas discutés.

En parallèle du développement de l'histotritie, afin de proposer une alternative à l'utilisation d'ultrasons de très forte amplitude qui peuvent potentiellement poser des problèmes pour la sauvegarde des tissus, notamment pour des applications sur des zones sensibles comme le cœur ou le cerveau, Saletes [73] a développé un système de thrombolyse basé sur l'utilisation de salves longues (plusieurs millisecondes) et de plus faible amplitude. Cette approche permet, grâce à l'utilisation de pulses longs, d'utiliser le *CI* pour mesurer acoustiquement les activités de cavitation utilisées, ce qui n'est pas possible en histotritie. Cette étude, basée sur l'utilisation d'une excitation bifréquentielle permettant d'abaisser le seuil de cavitation ultrasonore, utilise une fréquence de 550 kHz pour détruire des thrombi cylindriques de sang humain, de dimensions 10×10 mm ($L \times \varnothing$). Les caillots ont été placés dans des nacelles (tubes cylindriques) de même dimension que les thrombi, disposées verticalement et fermées grâce à une membrane de latex faisant office de fenêtre acoustique. En 5 min, grâce à un rapport cyclique de 10% et une PRF de 4 Hz, 91% de la masse des thrombi est lysée, lorsque l'intensité acoustique utilisée est supérieure à $90 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ SPTA en bifréquentiel et $150 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ SPTA en monofréquentiel.

Cette étude montre le potentiel de cette approche; cependant plusieurs problèmes restent à résoudre. Premièrement, même en bifréquentiel, l'intensité acoustique nécessaire à la lyse des caillots sanguins reste trop importante pour envisager des tests in vivo. Deuxièmement, le régime de cavitation utilisé reste aléatoire et non contrôlé, donnant lieu à une incertitude importante sur l'efficacité thrombolytique.

Dans ce cas, l'utilisation du système de régulation de la cavitation pourrait permettre de résoudre ces problèmes, d'une part en maintenant une activité de cavitation stable et contrôlée dans le temps, et d'autre part en optimisant dans le temps l'intensité acoustique délivrée.

3.4.1 Résultats et discussion

Les expériences de sonolyse de caillots sanguins que nous avons réalisées in vitro, permettant de caractériser et d'optimiser le système ultrasonore de régulation de la cavitation inertielle mis en place, sont présentées dans la suite de cette section. Tout d'abord, l'efficacité du système de régulation appliqué à la thrombolyse sera comparé à des essais réalisés sans régulation, en utilisant les mêmes paramètres que ceux déjà étudiés en thrombolyse in vitro par Saletes (550 kHz, régime pulsé 4 Hz - 10%) [73]. Ensuite, l'influence de la fréquence sera étudiée afin de déterminer si le passage à une fréquence plus élevée (1 MHz), offrant une plus grande précision spatiale au traitement, permet d'avoir une bonne efficacité thrombolytique. Enfin, la configuration des salves, avec notamment l'abaissement du rapport-cyclique, sera étudiée afin d'optimiser le processus de thrombolyse pour, d'une part, diminuer l'intensité acoustique nécessaire à la lyse et, d'autre part, diminuer en nombre et en taille les fragments relargués par le traitement, tout en gardant une excellente efficacité thrombolytique.

Les résultats obtenus pour ces trois cas étudiés sont synthétisés sur les FIGURES 3.12 à 3.16. Afin de faciliter la lecture des résultats, les histogrammes respectent un code couleur consistant à identifier tous les résultats en non régulé (boucle ouverte) par une couleur rouge et tous les résultats en régulé (boucle fermée) par une couleur verte. De plus, afin de quantifier la reproductibilité des mesures, toutes les mesures ont été répétées plusieurs fois pour chaque paramètre étudié. Le nombre d'essais réalisés sera donc spécifié pour chaque figure présentée.

3.4.1.1 Efficacité de la régulation en thrombolyse in vitro

(Cas 550 kHz, régime pulsé 4 Hz - 10%)

Afin de tester l'efficacité du système de régulation appliqué à la thrombolyse in vitro, des tirs pour des $CI_{consigne}$ de 20, 24, 28 et 32 dB en régime régulé et pour des intensités de 50, 100 et 150 $W \cdot cm^{-2}$ en régime non régulé ont été réalisés dans les mêmes conditions que celles habituellement réalisées au laboratoire sans régulation. Les caillots ont été déplacés sur 1 cm pour des temps de tir de 60, 120 et 300 s. Chaque tir a été répété 12 fois, sur plusieurs jours et sur 4 poches de sang différentes (252 caillots). Les résultats obtenus sont présentés par la FIGURE 3.12.

Sans régulation, lorsque l'intensité acoustique et la durée du tir sont suffisamment élevées, la destruction des thrombi est totale. En pratique, ce cas est observé pour une seule configuration, pour une intensité acoustique SPTA de 150 $W \cdot cm^{-2}$ et un temps de tir de 300 s (FIGURE 3.12 b).

En effet, dans les autres cas, soit la longueur de caillot détruit n'atteint pas 1 cm, soit les écarts-types (représentés sur les histogrammes par des barres d'erreurs et correspondant à la reproductibilité des mesures) sont trop importants pour considérer que le traitement est efficace et reproductible. On retrouve ainsi le résultat qui avait été trouvé dans la même conditions de tir par Saletes en monofréquentiel [73].

Avec régulation, de la même manière, la destruction des thrombi est totale lorsque le CI et la durée du tir sont suffisamment élevées. C'est le cas pour une durée de balayage de 120 s aux CI de 28 et 32 dB et également pour une durée de balayage de 300 s aux CI de 24, 28 et 32 dB (FIGURE 3.12 a). De plus, pour ces 5 cas en régime régulé (efficaces et reproductibles), l'intensité acoustique SPTA nécessaire à la lyse totale des caillots est comprise en moyenne entre 50 et 80 $W \cdot cm^{-2}$, avec des écarts-types allant de 10 $W \cdot cm^{-2}$ pour les valeurs minimales à 50 $W \cdot cm^{-2}$ pour les valeurs maximales (FIGURE 3.12 c).

Ainsi, le système de régulation de la cavitation inertielle appliqué à la destruction de caillots sanguin présente plusieurs intérêts. D'abord, il permet d'assurer la destruction totale des caillots sanguins en réduisant significativement l'intensité acoustique nécessaire à cette lyse. En effet, sans régulation, pour détruire les caillots de manière efficace (longueur de caillot détruit systématiquement supérieure à 1 cm), il faut une intensité acoustique SPTA de 150 $W \cdot cm^{-2}$ pour un temps de tir de 300 s. A

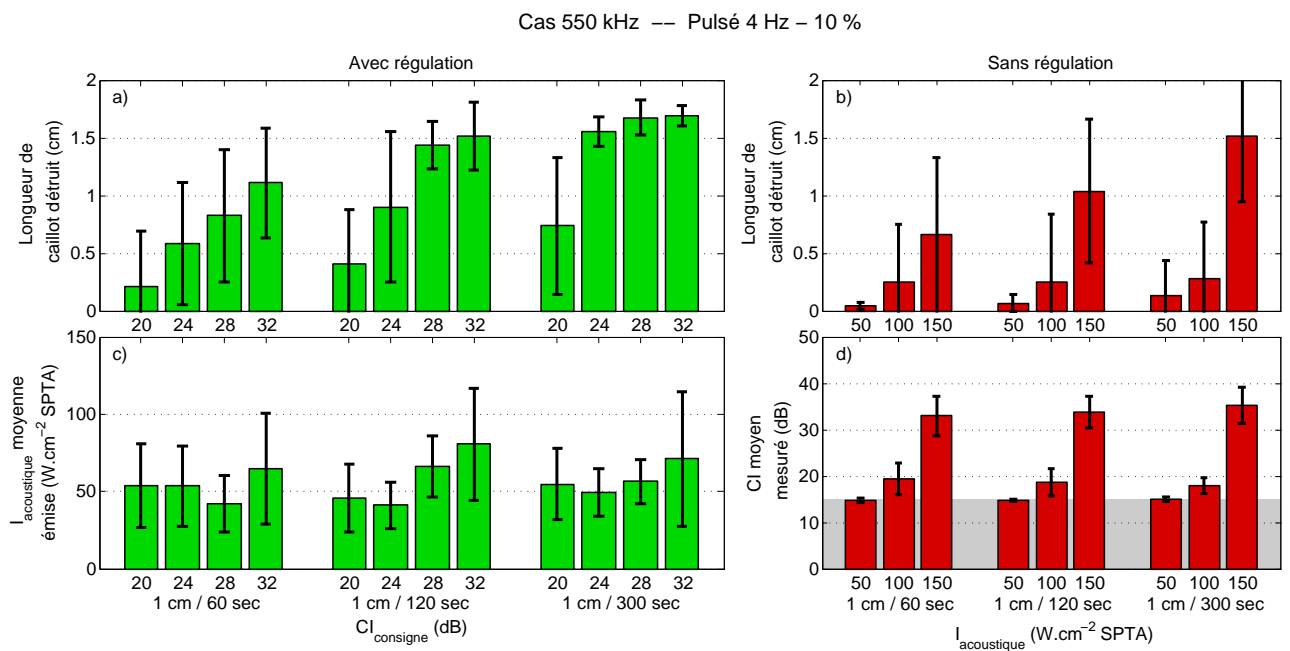


FIGURE 3.12 – Efficacité de la régulation en thrombolyse in vitro pour une fréquence d'excitation de 550 kHz, une PRF de 4 Hz et un rapport cyclique de 10%. Moyenne et écart-type de la longueur de caillot détruit, à différentes vitesses de balayage, **a)** pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé et **b)** pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé. **c)** Moyenne et écart-type de l'intensité acoustique SPTA moyenne émise, à différentes vitesses de balayage, pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé. **d)** Moyenne et écart-types du CI mesuré, à différentes vitesses de balayage, pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé.

contrario, avec régulation, dans le cas le plus favorable (CI de 24 dB, pour un temps de tir de 300 s) et pour détruire les caillots efficacement (longueur de caillot détruit systématiquement supérieure à 1 cm), l'intensité acoustique moyenne SPTA est de $50 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$. Le système de régulation permet donc de diviser par 3 l'intensité acoustique nécessaire à la destruction des caillots sanguins, ce qui confirme d'une part, le rôle prépondérant de la cavitation dans la lyse des caillots et d'autre part, l'intérêt de la régulation pour cette lyse. Grâce à l'adaptation en temps réel de l'intensité acoustique envoyée par le transducteur pour maintenir une activité de cavitation régulière, le système de régulation permet ainsi d'optimiser l'utilisation de l'énergie acoustique au cours du temps. L'élément le plus difficile est d'initier la cavitation inertielle, car une fois initiée, les germes de cavitation restent piégés dans le thrombus et sont réutilisés à la salve suivante pour régénérer le nuage de cavitation. Le système de régulation s'adapte donc dans un premier temps, pour envoyer une forte intensité acoustique nécessaire à l'initialisation de la cavitation en début de traitement, puis dans un deuxième temps pour envoyer une intensité acoustique plus faible permettant de maintenir l'activité de cavitation constante pour le reste du traitement.

Ensuite, le système de régulation permet de détruire de manière plus reproductible les caillots sanguins. Sans régulation, la destruction des caillots présente une reproductibilité médiocre (écarts-types de 0,5 cm pour une destruction de 1,5 cm), alors qu'en régime régulé la reproductibilité de la destruction des caillots est améliorée (écarts-types de 0,3 cm pour le cas le plus défavorable, à 0,1 cm pour le cas le plus favorable). Enfin, il permet d'accéder aux CI entre 20 et 30 dB qui s'avèrent être les plus intéressants (bonne efficacité et reproductibilité pour un tir à faible intensité acoustique), et qui sont totalement inaccessibles sans régulation (FIGURE 3.12 d).

Finalement, à 550 kHz, le système de régulation permet, de manière reproductible, d'assurer la destruction totale des caillots sanguins en divisant par 3 l'intensité acoustique nécessaire à leur lyse ($50 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$), par rapport aux essais réalisés en non régulé ($150 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$). Il permet également d'abaisser l'intensité acoustique nécessaire à la lyse des caillots par rapport aux essais réalisés en bifréquentiel par Saletes [73] et de se rapprocher des intensités mises en jeux par Rosenschein [70], qui utilise un rapport cyclique plus favorable de 4% au lieu de 10%. Notons cependant que même en considérant la différence des PRF, les $35 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ de Rosenschein sont très faible par rapport à nos $150 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ nécessaire à la destruction des caillots en non régulé. Cela peut s'expliquer par une différence dans les paramètres d'expérimentations et plus particulièrement au caillot lui-même qui est sans doute plus frais (utilisation du caillot dans les 24 heures après coagulation) et donc plus fragile.

3.4.1.2 Influence de la fréquence en thrombolyse in vitro

(Cas 550 kHz et 1 MHz, régime pulsé 4 Hz - 10%)

Dans le but d'optimiser le processus de destruction des caillots sanguins et en particulier d'en améliorer la précision spatiale, l'objectif est de passer d'une fréquence de 550 kHz à une fréquence de 1 MHz. En effet, comme précisé dans la SECTION 2.2.1.2, pour le transducteur à 550 kHz, les dimensions de la zone focale à -3 dB sont d'une longueur de 17 mm et d'un diamètre de 2,9 mm ; à 1 MHz, elles sont respectivement de 8,3 mm et 1,1 mm. Cependant le passage à une fréquence plus élevée implique une plus grande difficulté à générer la cavitation ultrasonore, ce qui pourrait diminuer l'efficacité de

la destruction des caillots. Un compromis permettant de concilier précision et efficacité doit donc être trouvé.

Premièrement, afin de déterminer l'influence du passage de la fréquence ultrasonore en thrombolyse in vitro de 550 kHz à 1 MHz, des tirs de référence à 550 kHz pour des CI_{cible} de 20 à 34 dB en régime régulé et pour des intensités de 50 à 200 $W \cdot cm^{-2}$ en régime non régulé ont été réalisés. Les caillots ont été déplacés sur 1 cm pour des temps de tir de 120 et 300 s. Chaque tir a été répété 2 fois, sur plusieurs jours et sur 2 poches de sang différentes (48 caillots). Les résultats obtenus à 550 kHz, qui complètent ceux obtenus précédemment (FIGURE 3.12), sont présentés par la FIGURE 3.13.

Ces nouveaux tests de référence, réalisés à 550 kHz, montrent les mêmes résultats que ceux déjà obtenus à la SECTION 3.4.1.1. De plus, avec régulation, jusqu'à un CI de 30 dB, l'intensité acoustique nécessaire à la lyse totale des caillots est constante (50 $W \cdot cm^{-2}$), quel que soit le CI ciblé (FIGURE 3.13 c). En revanche, à partir d'un seuil de CI de 32 dB, l'intensité acoustique nécessaire à la lyse totale des caillots augmente brutalement à des valeurs SPTA voisines de 300 $W \cdot cm^{-2}$. Ce comportement confirme donc l'intérêt de la régulation, car elle permet d'accéder aux CI intermédiaires (entre 20 et 30 dB) qui sont totalement inaccessibles en régime non régulé (FIGURE 3.13 d) et qui sont potentiellement les plus intéressants car ils présentent un rapport "efficacité de destruction / intensité acoustique émise" optimal.

Deuxièmement, afin de les comparer aux tirs de référence, des essais à 1 MHz effectués dans les mêmes conditions expérimentales que ceux réalisés à 550 kHz, ont été réalisés. Les résultats obtenus sont présentés par la FIGURE 3.14.

A 1 MHz, sans régulation, la destruction des caillots sanguins est très aléatoire (FIGURE 3.14 b). En effet, pour un temps de tir de 300 s, par exemple, sur nos essais, la destruction des thrombi est totale à une intensité acoustique SPTA de 200 $W \cdot cm^{-2}$ et 400 $W \cdot cm^{-2}$. Cependant entre ces deux valeurs d'intensité, à 300 $W \cdot cm^{-2}$ la destruction s'avère incomplète et non reproductible. Rien ne permet donc d'affirmer qu'à partir d'une certaine intensité acoustique SPTA la destruction des thrombi sera nécessairement totale. Cependant, l'intensité de 200 $W \cdot cm^{-2}$ sera considérée comme l'intensité permettant de détruire efficacement et de manière reproductible les thrombi en régime non régulé à 1 MHz. De plus, sans régulation, pour un temps de tir de 120 s, aucune intensité acoustique n'a permis de détruire les thrombi efficacement et avec une bonne reproductibilité.

Avec régulation, de la même manière, pour un temps de tir de 120 s, aucun CI n'a permis de détruire efficacement et avec une bonne reproductibilité les caillots sanguins, la vitesse de balayage étant visiblement trop élevée (FIGURE 3.14 a). Pour un temps de tir de 300 s, en revanche, à partir d'un CI de 26 dB, la destruction des thrombi est totale et reproductible. Pour ces 4 cas mis en jeu (efficaces et reproductibles), l'intensité acoustique SPTA nécessaire à la destruction totale de caillots est comprise en moyenne entre 110 et 170 $W \cdot cm^{-2}$, avec des écarts-types allant de 10 $W \cdot cm^{-2}$ pour les valeurs minimales à 50 $W \cdot cm^{-2}$ pour les valeurs maximales (FIGURE 3.14 c).

Ainsi, dans les deux cas étudiés (550 kHz et 1 MHz), le système de régulation de la cavitation acoustique permet la destruction totale des thrombi de manière reproductible lorsque le CI et la durée du tir sont suffisamment élevés. Dans ces deux cas, le système a permis de diviser par 3 à 550 kHz et par au moins 2 à 1 MHz l'intensité acoustique nécessaire à la lyse totale des caillots. Comme

attendu, ces tests montrent également que la destruction des caillots sanguins est plus difficile à haute fréquence, car l'intensité acoustique nécessaire à la lyse est plus importante à 1 MHz ($110 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) qu'à 550 kHz ($50 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) et corollairement les CI et le temps de tir nécessaires à la lyse sont plus importants à 1 MHz qu'à 550 kHz. On notera, de plus que la longueur de caillot détruit est plus petite à 1 MHz qu'à 550 kHz. Ce comportement peut s'expliquer par plusieurs raisons. D'abord, la nécessité d'utiliser une plus forte intensité acoustique à 1 MHz qu'à 550 kHz est directement liée à la plus grande difficulté de générer de la cavitation à plus haute fréquence (cf PARAGRAPHE 2.3.3.2). Ensuite,

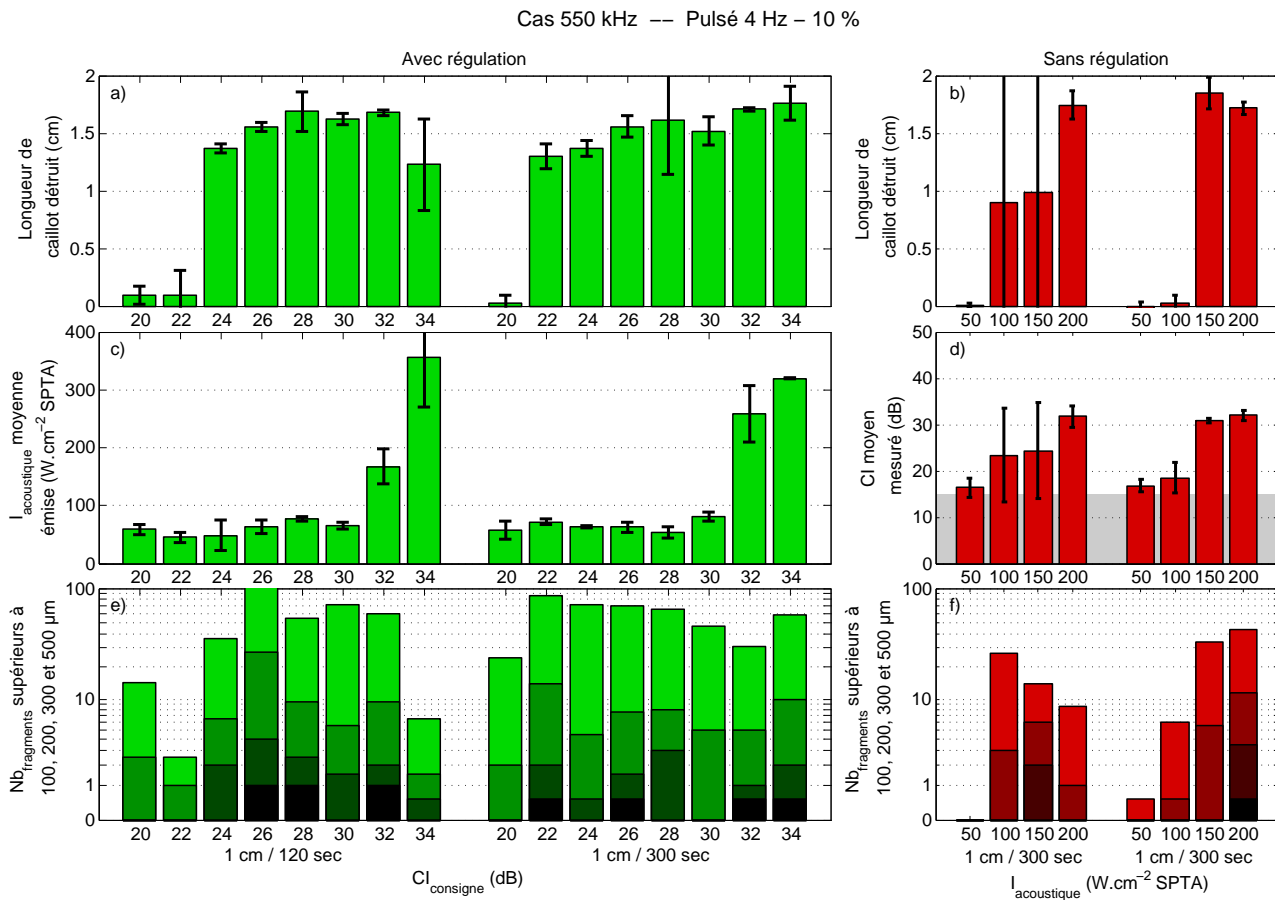


FIGURE 3.13 – Influence de la fréquence en thrombolyse in vitro pour une fréquence d'excitation de 550 kHz, une PRF de 4 Hz et un rapport cyclique 10%. Moyenne et écart-type de la longueur de caillot détruit, à différentes vitesses de balayage, **a)** pour différents CI_{consigne} en régime régulé et **b)** pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé. **c)** Moyenne et écart-type de l'intensité acoustique SPTA moyenne émise, à différentes vitesses de balayage, pour différents CI_{consigne} en régime régulé. **d)** Moyenne et écart-types du CI mesuré, à différentes vitesses de balayage, pour différents CI_{consigne} en régime non régulé. Moyenne du nombre de fragments (du plus clair au plus foncé) $> 100 \mu\text{m}$, $> 200 \mu\text{m}$, $> 300 \mu\text{m}$ et $> 500 \mu\text{m}$, à différentes vitesses de balayage, **e)** pour différents CI_{consigne} en régime régulé et **f)** pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé.

concernant la nécessité d'utiliser un plus fort CI et un temps de tir plus long à 1 MHz qu'à 550 kHz, c'est probablement la taille plus petite de la zone focale à 1 MHz qui en est responsable. En effet, le volume de la zone focale à 1 MHz étant 14 fois plus petite que celle à 550 kHz (cf PARAGRAPHE 2.2.1.2) il faut potentiellement 14 fois plus de temps pour lyser le même volume de caillot en utilisant un même régime de cavitation. En pratique, les longueurs des zones focales à 550 kHz et 1 MHz, étant toutes deux supérieures à la largeur des caillots à lyser, il est plus pertinent de considérer le rapport des surfaces projetées perpendiculairement à l'axe acoustique des transducteurs qui est de 7. Le temps

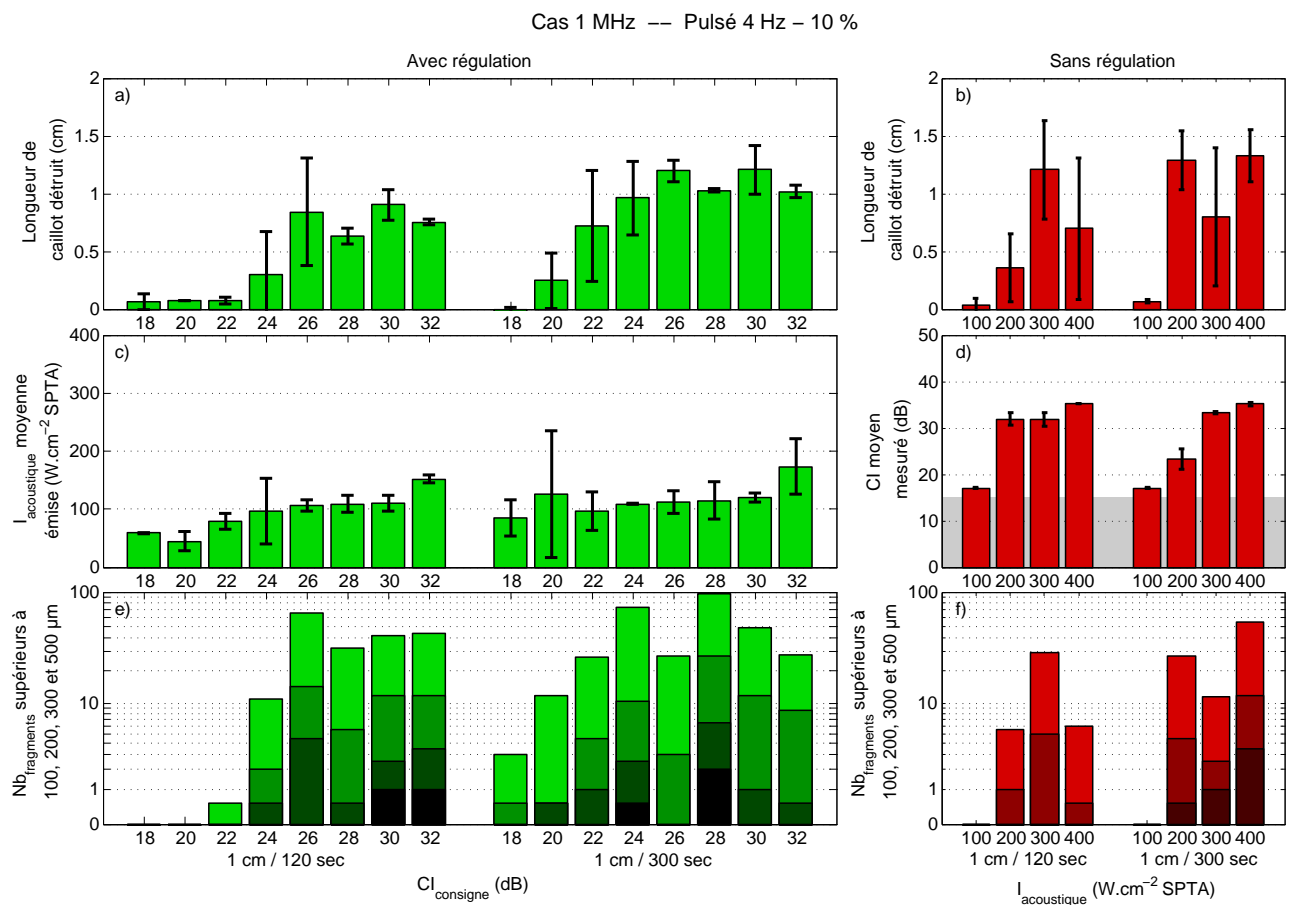


FIGURE 3.14 – Influence de la fréquence en thrombolyse in vitro pour une fréquence d'excitation de 1 MHz, une PRF de 4 Hz et un rapport cyclique 10%. Moyenne et écart-type de la longueur de caillot détruit, à différentes vitesses de balayage, **a)** pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé et **b)** pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé. **c)** Moyenne et écart-type de l'intensité acoustique SPTA moyenne émise, à différentes vitesses de balayage, pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé. **d)** Moyenne et écart-type du CI mesuré, à différentes vitesses de balayage, pour différents $CI_{consigne}$ en régime non régulé. Moyenne du nombre de fragments (du plus clair au plus foncé) $>100\ \mu\text{m}$, $>200\ \mu\text{m}$, $>300\ \mu\text{m}$ et $>500\ \mu\text{m}$, à différentes vitesses de balayage, **e)** pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé et **f)** pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé.

de tir n'ayant pas été multiplié par 7, c'est le CI qu'il est nécessaire d'augmenter pour obtenir une lyse complète des caillots. Enfin, la longueur plus faible de caillot détruit à 1 MHz peut en partie s'expliquer par la taille plus petite de la zone focale à 1 MHz. En effet, bien que dans les deux cas, une zone de 1 cm de caillot ait été balayée, il faut prendre en compte la taille des zones focales, qui ont tendance aux extrémités du caillot à détruire une partie supplémentaire de ce dernier, égale à 2 fois la demi-largeur des surfaces projetées, soit 3 mm à 550 kHz et 1 mm à 1 MHz. En pratique, la différence des longueurs de caillot détruit entre les deux fréquences est trop importante pour n'être liée qu'aux différences de taille des zones focales, et peut probablement s'expliquer par le système d'attache du caillot (fil de polyester) qui offre une certaine souplesse, et qui permet au caillot de se déplacer légèrement verticalement.

Finalement, malgré une plus grande difficulté à détruire le caillot sanguin à une fréquence de 1 MHz, le système de régulation permet d'assurer la destruction totale et reproductible des caillots, tout en améliorant la précision du traitement grâce à un volume focal 14 fois plus petit. Bien que l'intensité acoustique nécessaire à la lyse des caillots ait été divisée par 2 par rapport aux tirs effectués sans régulation, elle demeure élevée ($110 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) pour envisager des tests in vivo.

3.4.1.3 Influence du rapport cyclique des salves en thrombolyse in vitro (Cas 1 MHz, rapport cyclique de 1%)

Dans le but d'optimiser le processus de destruction des caillots sanguins à 1 MHz, et en particulier de diminuer l'intensité acoustique moyenne nécessaire à la lyse totale et reproductible des caillots, l'objectif est de passer à un rapport cyclique plus faible. Le rapport cyclique utilisé dans les tests précédents étant de 10%, il a été choisi de le diviser par 10 et d'utiliser un rapport cyclique de 1% qui peut potentiellement permettre d'abaisser l'intensité acoustique moyenne d'un facteur 10 ($11 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$). De plus, afin de garder des salves suffisamment longues qui permettent à la régulation d'être efficace au sein d'une salve, il a été choisi d'utiliser une PRF de 2 Hz (salve de 5 ms), qui permet au système d'effectuer environ 12 boucles de régulation par salve.

Afin de déterminer l'influence du changement de rapport cyclique de 10% à 1% en thrombolyse in vitro, des tirs à 1 MHz pour des CI_{cible} de 26 à 40 dB en régime régulé et pour des intensités acoustiques SPTA de 15 à $60 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ en régime non régulé ont été réalisés. Les caillots ont été déplacés sur 1 cm pour un temps de tir de 300 s. Chaque tir a été répété 3 fois, sur plusieurs jours et sur 1 poche de sang (36 caillots). Les résultats obtenus sont présentés par la FIGURE 3.15.

Sans régulation, l'intensité acoustique qui permet de détruire totalement les thrombi est de $60 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$, le passage à un rapport cyclique de 1% a donc permis de diviser par 3 cette intensité (FIGURE 3.15 b).

Avec régulation, le système permet toujours, avec un rapport cyclique de 1%, d'assurer la destruction totale et reproductible des caillots sanguins lorsque le CI est supérieur ou égal à 36 dB (FIGURE 3.15 a)). De plus, l'intensité acoustique SPTA correspondante à ces CI est comprise en moyenne entre 38 et $50 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$, avec des écart-types d'environ $15 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ (FIGURE 3.15 c). Ainsi, en divisant par 10 le rapport cyclique, l'intensité acoustique nécessaire à la lyse totale et reproductible des caillots sanguins n'a été divisée que d'un facteur 3, aussi bien en régime régulé que sans régulation.

Ce comportement peut s'expliquer par deux effets liés au changement de la configuration des salves qui a été effectué. D'une part, l'abaissement du rapport cyclique réduit la durée des salves ce qui a pour effet d'augmenter l'intensité acoustique moyenne nécessaire à la lyse des thrombi. En effet, l'initiation de la cavitation en début de salve demande plus d'énergie que le maintien de l'activité de cavitation pendant les salves [59]. La réduction de la durée des salves ne permet donc pas de profiter aussi longtemps de la plus faible énergie nécessaire au maintien de l'activité de cavitation. D'autre part, l'abaissement de la PRF augmente le temps de pause entre les salves, ce qui a également pour effet d'augmenter l'intensité acoustique moyenne nécessaire à la lyse des thrombi. En effet, le caillot

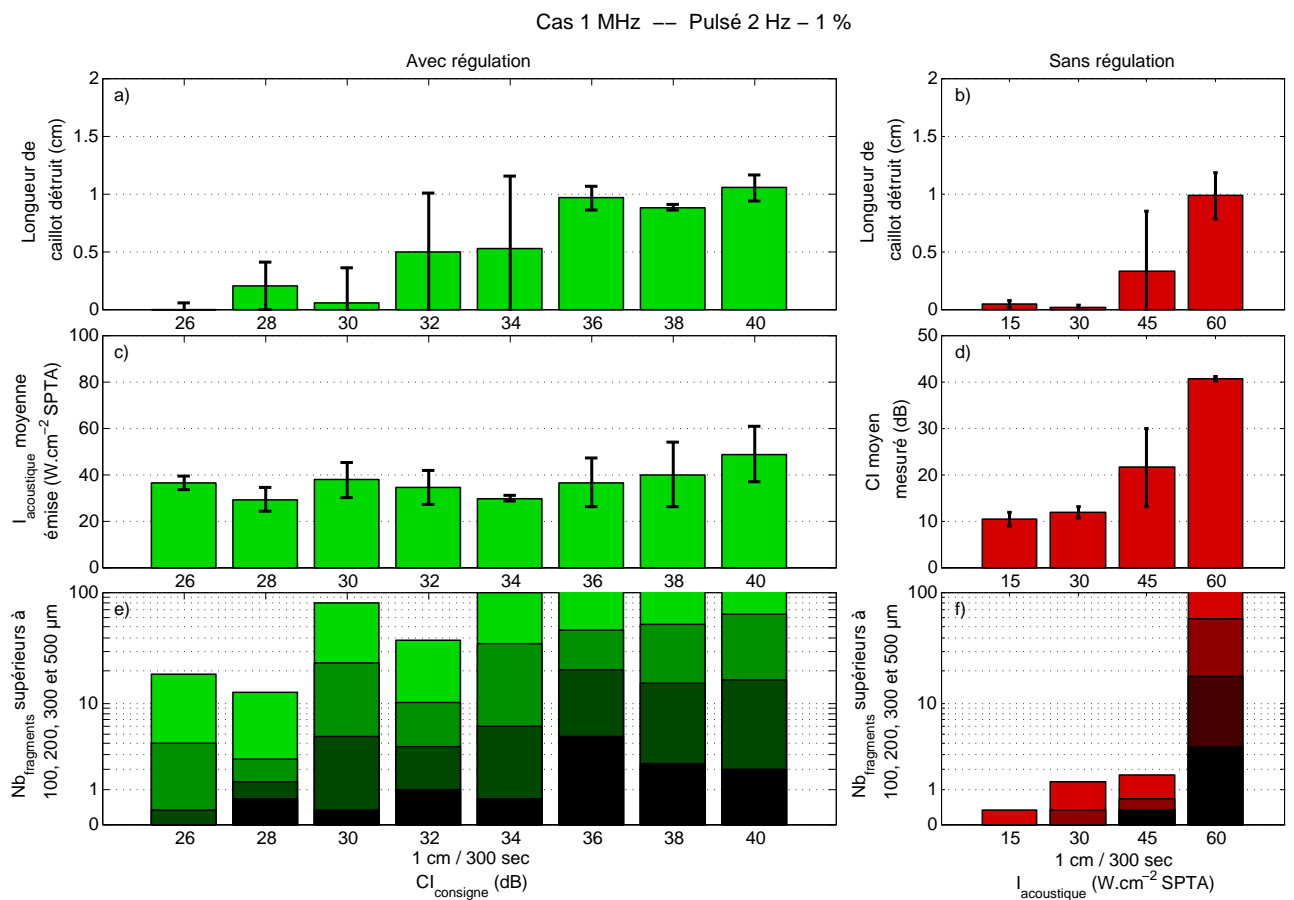


FIGURE 3.15 – Influence de la configuration des salves en thrombolyse in vitro pour une fréquence d'excitation de 1 MHz, une PRF de 2 Hz, un rapport cyclique de 1% et une vitesse de balayage de 1 cm/300 s. Moyenne et écart-type de la longueur de caillot détruit **a)** pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé et **b)** pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé. **c)** Moyenne et écart-type de l'intensité acoustique SPTA moyenne émise pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé. **d)** Moyenne et écart-type du CI mesuré pour différents $CI_{consigne}$ en régime non régulé. Moyennes du nombre de fragments $>100\mu\text{m}$, $>200\mu\text{m}$, $>300\mu\text{m}$ et $>500\mu\text{m}$, **e)** pour différents $CI_{consigne}$ en régime régulé et **f)** pour différentes intensités acoustiques SPTA émises en régime non régulé.

sanguin étant un milieu confiné, de nombreux germes de cavitation sont piégés par celui-ci pendant une salve de cavitation et ils peuvent être utilisés pour faciliter la réinitialisation de la cavitation à la salve suivante. Cependant, ces germes ont tendance à se dissoudre dans le milieu, s'ils ne sont pas utilisés rapidement (quelques milisecondes). L'allongement du temps de pause entre les salves a donc tendance à favoriser la dissolution des germes de cavitation, rendant de plus en plus difficile sa réinitialisation. Ainsi, la diminution du rapport cyclique permet bien d'abaisser l'intensité acoustique nécessaire à la lyse des caillots sanguins mais ne permet pas de prédire naïvement son facteur d'abaissement à partir du facteur de diminution du rapport cyclique, car il dépend d'avantage de la dynamique complexe de la cavitation en régime pulsé.

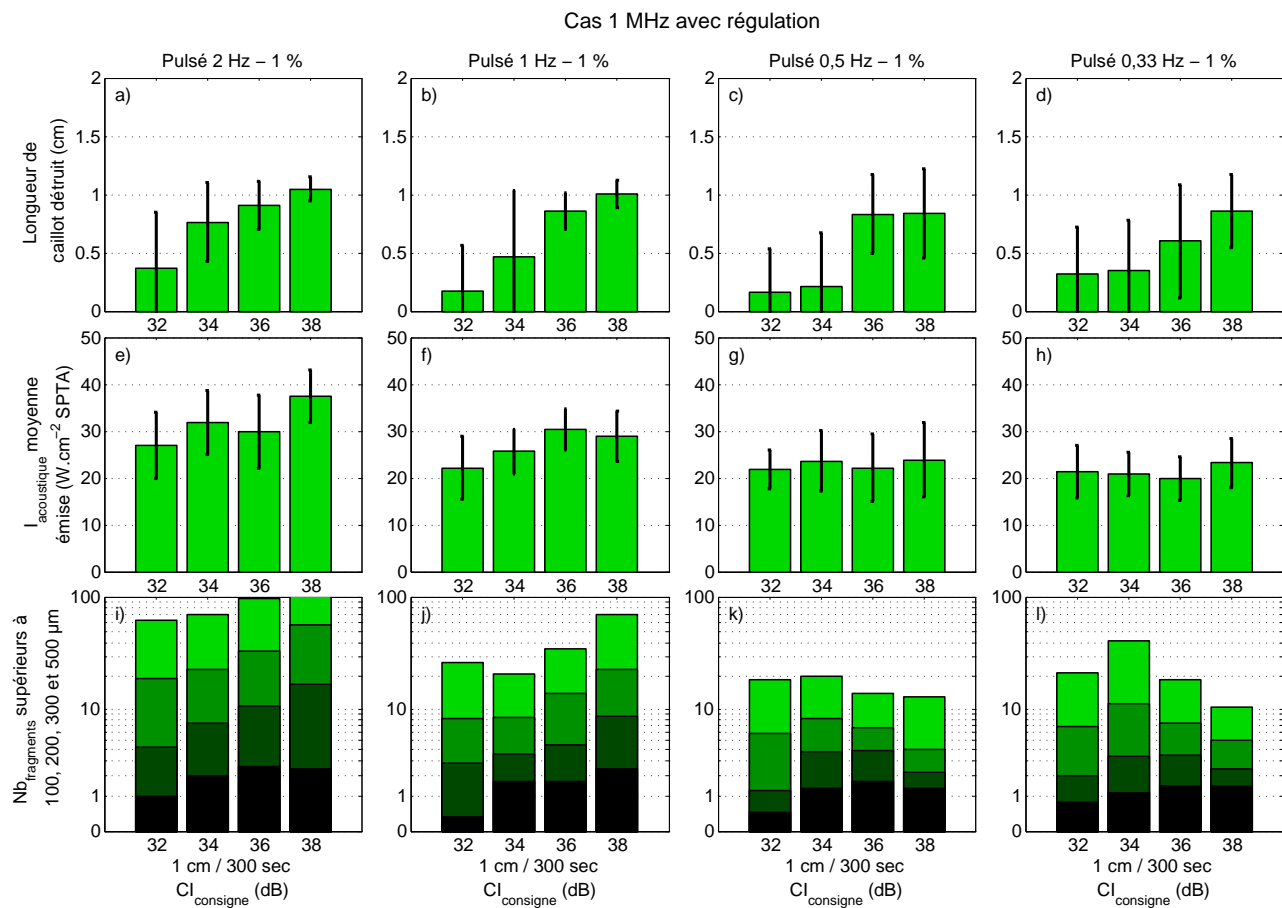


FIGURE 3.16 – Influence, en régime régulé, de la configuration des salves en thrombolyse in vitro pour une fréquence d'excitation de 1 MHz, à une vitesse de balayage de 1 cm/300 s, un rapport cyclique de 1% et différentes PRF (2 Hz, 1 Hz, 0,5 Hz et 0,33 Hz). **a-d)** Moyenne et écart-type de la longueur de caillot détruit pour différents CI_{consigne} et différentes PRF. **e-h)** Moyenne et écart-type de l'intensité acoustique SPTA moyenne émise pour différents CI_{consigne} et différentes PRF. **i-l)** Moyenne du nombre de fragments > 100 μm, > 200 μm, > 300 μm et > 500 μm, pour différents CI_{consigne} et différentes PRF.

Afin d'optimiser encore le processus de destruction des caillots sanguins pour un rapport cyclique de 1%, deux approches basées sur le changement de PRF sont envisageables. Soit la PRF peut être augmentée, ce qui a pour effet de diminuer la durée des salves mais qui permet de rapprocher temporellement les salves les unes des autres et ainsi de favoriser la réutilisation des germes de cavitation d'une salve à l'autre. C'est cette méthode qui est privilégiée par l'histotritie. Soit la PRF peut être diminuée, ce qui a pour effet d'augmenter le temps de pause entre les salves mais qui permet d'augmenter la durée des salves et ainsi profiter du fait que le maintien de la cavitation demande moins d'énergie que l'initiation de la cavitation. En pratique, dans notre cas, seule cette deuxième approche permet de garder une bonne efficacité du système de régulation, en utilisant des salves suffisamment longues pour effectuer au moins 10 boucles de régulation par salve (environ 5 ms). Cependant, la durée des salves ne peut pas être augmentée indéfiniment, car au delà d'une certaine durée il n'est plus pertinent de considérer le traitement comme pulsé, l'énergie apportée par une seule salve devenant trop importante.

Ainsi, afin de déterminer l'influence du changement de la fréquence de répétition (PRF) pour un rapport cyclique de 1% en thrombolyse in vitro, des tirs à 1 MHz pour des CI_{cible} de 32 à 38 dB en régime régulé ont été réalisés pour des PRF de 2, 1, 0,5 et 0,33 Hz. Les caillots ont été déplacés sur 1 cm pour un temps de tir de 300 s. Chaque tir a été répété 9 fois, sur plusieurs jours et sur 3 poches de sang différentes (144 caillots). Les résultats obtenus sont présentés par la FIGURE 3.16.

La diminution de la PRF, en augmentant la durée des salves, permet de diminuer l'intensité acoustique nécessaire à la destruction des caillots (FIGURE 3.16 e-h). Par exemple, pour un même CI de 38 dB, l'intensité acoustique moyenne utilisée est de $40 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ pour une PRF de 2 Hz alors qu'elle est d'environ $20 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ pour une PRF de 0,33 Hz. Cependant, la diminution de l'intensité acoustique s'accompagne d'une diminution de l'efficacité thrombolytique (FIGURE 3.16 a-d). Ainsi, lorsque la PRF est inférieure ou égale à 0,5 Hz, le système ne permet pas de détruire avec une bonne efficacité et une bonne reproductibilité les caillots sanguins. Pour pallier à cette perte d'efficacité, deux paramètres pourraient être modifiés. Le CI pourrait être augmenté afin d'utiliser un régime de cavitation plus intense qui facilite la destruction des caillots. La durée du tir ultrasonore pourrait également être augmentée afin de balayer moins vite la zone de caillot à détruire, ce qui faciliterait sa destruction. Cependant, ces deux changements ne seront pas étudiés plus en détail, l'objectif n'étant pas de diminuer d'avantage l'intensité acoustique mise en jeu.

Finalement, à un rapport cyclique de 1%, les paramètres optimaux qui ont permis de détruire efficacement et de manière reproductible les thrombi sont une PRF de 1 Hz et un CI de 38 dB pour une durée de balayage de 300 s, l'intensité acoustique moyenne mise en jeu étant d'environ $30 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ dans cette configuration. Ainsi, le passage d'un rapport cyclique de 10% à 1% a permis de diviser par un facteur 4 l'intensité acoustique nécessaire à la destruction des thrombi. De plus, le système de régulation de la cavitation inertielle a permis à 1 MHz d'utiliser des intensités acoustiques similaires ($30 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) à celles mises en jeu par Maxwell ($40 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) pour détruire efficacement un caillot sanguin en 5 minutes.

3.4.1.4 Nombre et tailles de fragments relargués

En plus de devoir être efficace et reproductible tout en minimisant l'intensité acoustique mise en jeu, la destruction des caillots sanguins ne doit pas relarguer de fragments de trop grande taille et en trop grand nombre. En effet, in vivo, le relargage de fragments de trop grande taille présente d'importants risques d'embolisation des vaisseaux situés en aval de la zone traitée. Ainsi, afin de d'étudier en taille et en nombre les fragments relargués par les tirs ultrasonore de thrombolyse in vitro, un compteur de particules a été utilisé pour mesurer les distributions des fragments relargués lors des essais précédemment réalisés. Les résultats sont présentés sur les FIGURES 3.13 à 3.16 sous forme d'histogrammes superposés représentant respectivement les fragments supérieurs à 100 μm (vert et rouge clair), supérieurs à 200 μm (vert et rouge foncé), supérieurs à 300 μm (vert et rouge très foncé) et supérieurs à 500 μm (noir).

Dans ces 4 séries de résultats, le nombre de fragments relargués montre une bonne corrélation avec l'efficacité du tir ultrasonore. Ainsi, plus la destruction des caillots est importante, plus le nombre de fragments relargués est important. Dans tout ces tests, le nombre de fragments supérieurs à 500 μm est de l'ordre de l'unité (5 fragments au maximum), le nombre de fragments supérieurs à 200 μm est de l'ordre de la dizaine d'unités (60 fragments au maximum) et le nombre de fragments supérieurs à 100 μm est de l'ordre de la centaine d'unités, ce qui représente une fraction du volume initial inférieure à 1%. De plus, le changement de fréquence de 500 kHz à 1 MHz ne semble pas montrer de différence significative sur le nombre et les tailles de fragments relargués. En revanche, le passage à un rapport cyclique de 10% à 1% semble augmenter le nombre de fragments relargués, en particulier lorsque la durée des salves est courte. Ce comportement peut s'expliquer par le fait que l'utilisation de salves courtes ne favorise pas la recirculation des fragments au niveau du nuage de cavitation. En effet, sous l'effet de la pression de radiation, des micro-courants favorisant la recirculation des fragments au niveau du nuage de bulles sont observés. Cependant, lorsque les salves sont courtes, les phénomènes de recirculation sont très brefs et les fragments ont alors d'avantage de chance de se déposer au fond de la conduite sous l'effet de la gravité que de repasser au niveau du nuage de bulles pour être détruits. Ce comportement semble être confirmé par les résultats à différentes PRF présentés sur la FIGURE 3.16, où le nombre de fragments semble diminuer lorsque la durée des salves augmente. Dans tous ces cas étudiés, étant donné le dispositif expérimental mis en place (caillot fixé dans une conduite disposée verticalement et balayé de bas en haut), le nombre de fragments relargués correspond à un cas intermédiaire entre le cas d'un vaisseau totalement thrombosé qui favorise les recirculations et donc la destruction des fragments (études de Rosenschein [70], Maxwell [56] et Saletes [73]) et le cas d'un vaisseau circulant où les fragments sont systématiquement lavés, empêchant leurs recirculations (étude de Maxwell [56]). En outre, comme l'a montré Maxwell, lorsque des fragments sont relargués dans le système vasculaire, les systèmes extracorporels basés sur la cavitation pour traiter les thrombi peuvent être utilisés en aval de la zone traitée pour détruire lors de leur passage les fragments relargués [56].

3.5 Conclusion

Le système de régulation mis en place (cf CHAPITRE 2) a été testé à travers des essais de thrombolyse in vitro. Le dispositif expérimental précédemment utilisé a été adapté pour permettre de balayer, avec la zone focale des transducteurs, une portion de 1cm de caillot. De plus, un compteur de particules a été utilisé pour contrôler en nombre et en taille les fragments relargués par le traitement ultrasonore.

Afin de tester le système de régulation mis en place, trois séries d'expériences de thrombolyse in vitro ont été menées. La première a permis de comparer à 550 kHz les essais réalisés avec le système de régulation aux essais réalisés sans régulation. Ensuite, la deuxième a permis d'analyser l'influence de la fréquence d'excitation (passage de 550 kHz à 1 MHz) sur la thrombolyse in vitro, et de caractériser l'efficacité de la régulation à une fréquence de 1 MHz. Enfin, la troisième série a permis d'étudier l'influence du rapport cyclique (passage de 10 % à 1 %), à 1 MHz, sur l'efficacité de la thrombolyse et sur les intensités acoustiques nécessaires à cette thrombolyse.

Le système de régulation a ainsi permis de s'assurer de la destruction totale et reproductible des thrombi traités tout en diminuant, dans tous les cas testés, les intensités acoustiques SPTA utilisées en régime régulé par rapport aux mêmes essais réalisés sans régulation. Le passage à une fréquence ultrasonore de 1 MHz a permis d'augmenter la précision spatiale de la thrombolyse a priori d'un facteur 14. De plus, le passage à un rapport cyclique de 1% a permis de diviser par 4 les intensités acoustiques SPTA par rapport au cas avec un rapport cyclique de 10%. Il semblerait également que l'utilisation de salves plus longues permette de diminuer non seulement les intensités acoustiques nécessaires à la lyse des caillot mais également le nombre de fragments relargués.

Le système de régulation de la cavitation inertielle en régime pulsé ayant démontré son efficacité lors de ces tests de thrombolyse purement ultrasonore réalisés in vitro, l'objectif est maintenant de tester cette approche à travers des essais de thrombolyse in vivo, ce qui fera l'objet du CHAPITRE 4 qui suit.

Chapitre 4

Application de la régulation à la thrombolyse in vivo

4.1 Introduction

Comme nous l'avons vu, les maladies cardiovasculaires touchent un nombre important d'individus dans le monde. La formation de thrombi dans le système artériel est la cause d'un grand nombre d'accidents cardiovasculaires graves tels que les infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux (AVC) ou encore les ischémies aiguës de membre. Les ultrasons, notamment à travers la cavitation ultrasonore, présentent un potentiel certain pour le développement de traitements non invasifs n'utilisant aucun agent thrombolytique. Les essais de thrombolyse in vitro réalisés précédemment (CHAPITRE 3) ont permis, d'une part, de montrer la pertinence d'une telle approche, et, d'autre part, de montrer l'intérêt d'utiliser un système de régulation de la cavitation inertielle pour son développement. L'objectif du présent chapitre est donc de tester, sur un modèle d'ischémie artérielle aiguë, cette technique purement ultrasonore en vue de démontrer sa faisabilité in vivo.

En première approche, un modèle d'ischémie artérielle aiguë a été choisi car il est moins délicat à mettre en place que des modèles plus complexes d'infarctus ou d'AVC. Cependant, cette pathologie, de par son apparition soudaine et la nécessité de la traiter rapidement, pose quelques difficultés de traitement spécifiques. D'abord, afin d'éviter la nécrose des tissus en aval du thrombus, le flux sanguin doit être rétabli le plus rapidement possible et seule la réalisation d'un acte chirurgical qui présente des risques le permet actuellement. Ensuite, en l'absence de contre-indication, le patient est placé le plus rapidement possible sous héparinothérapie pour éviter que la thrombose ne s'étende, ce qui pose des problèmes liés aux risques hémorragiques de ce traitement. Enfin, une autre difficulté concerne la réalisation de l'anesthésie nécessaire au traitement du thrombus par chirurgie car les patients, arrivant en urgence à l'hôpital, n'ont pas pu y être préparés. L'utilisation d'un dispositif de thrombolyse purement ultrasonore par voie extracorporelle constitue donc une voie prometteuse pour le traitement de cette pathologie.

La SECTION 4.2 décrit précisément le dispositif expérimental de thrombolyse in vivo qui a été développé. La SECTION 4.3 présente les différents modèles in vivo d'ischémie aiguë artérielle des

membres inférieurs qui ont été développés sur modèles porcin et ovin pour réaliser les tests de thrombolyse in vivo. La SECTION 4.4 est consacrée, d'une part, à la présentation du dispositif préliminaire de repérage spatial de la cavitation qui a été mis en place afin de mieux cibler la zone de développement du nuage de cavitation et, d'autre part, à l'étude des mécanismes susceptibles d'engendrer un décalage de la zone focale dans les tissus biologiques. La SECTION 4.5, quant à elle, est consacrée à la présentation de quelques résultats expérimentaux préliminaires de thrombolyse in vivo réalisée sur modèle ovin.

4.2 Dispositif expérimental in vivo

Le dispositif de thrombolyse in vivo utilise le système de régulation de la cavitation qui a été présenté dans le CHAPITRE 2. Outre ce système de thérapie qui a été développé à partir du système de régulation de la cavitation décrit précédemment, le dispositif comprend des éléments de contrôle et de pilotage indispensables à son fonctionnement, dont notamment un bras robotisé 6 axes qui, couplé

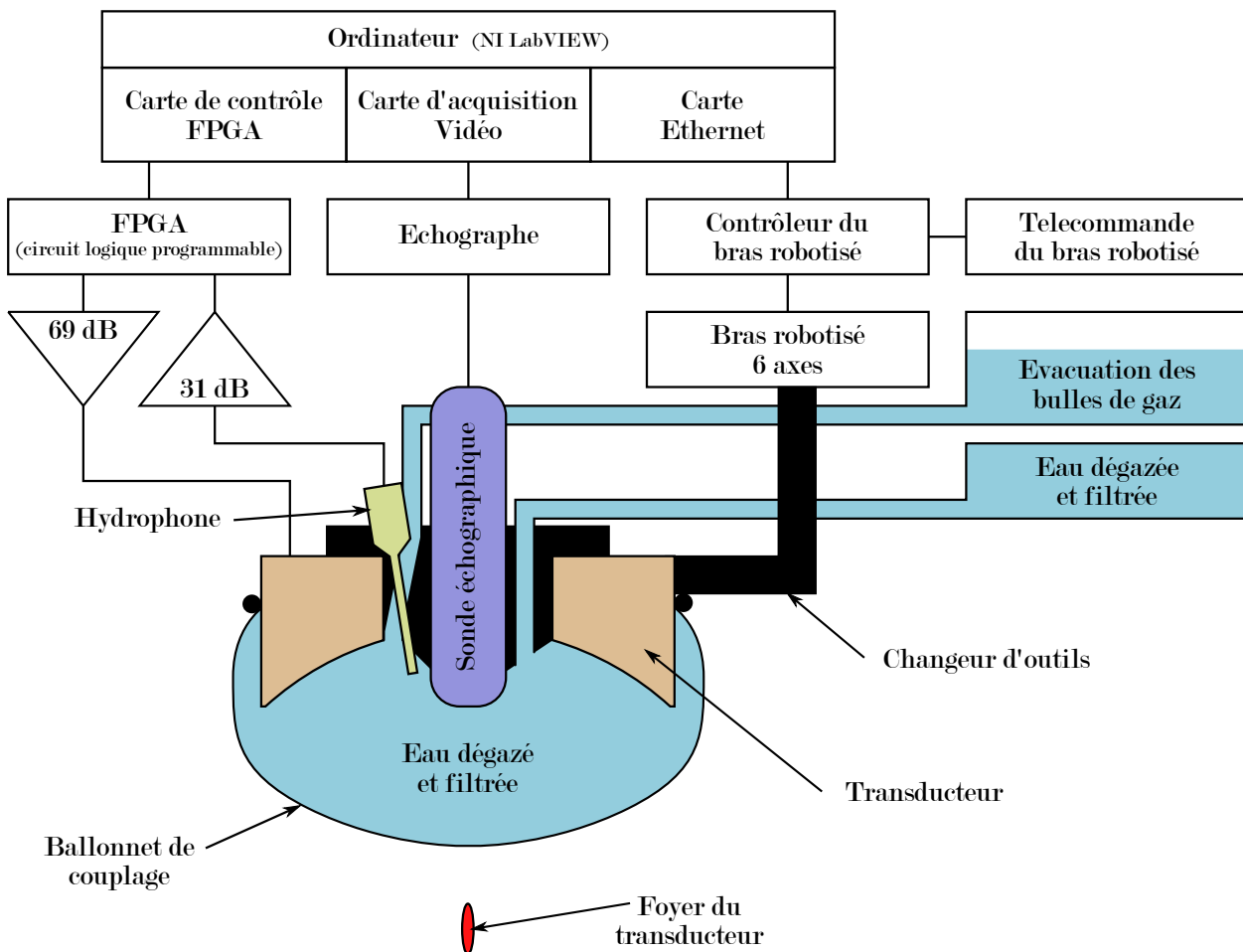


FIGURE 4.1 – Schéma du dispositif expérimental

à un dispositif d'imagerie, permet le positionnement du système de thérapie.

Le schéma du dispositif expérimental de thrombolyse in vivo développé est présenté sur la FIGURE 4.1.

Le transducteur focalisé à 80 mm, résonant à 1 MHz et d'un diamètre actif de 100 mm présente en son centre un trou de 45 mm de diamètre. Il est utilisé pour générer le champ ultrasonore. La carte FPGA couplée au module convertisseur numérique-analogique permet de générer un signal pulsé sinusoïdal, de période de répétition 250 ms, de rapport cyclique 10%, de fréquence 1 MHz et d'amplitude variable ($u(t)$) adaptée en temps réel par l'algorithme de régulation temporelle de la cavitation. Ce signal est ensuite amplifié de 63 dB par un amplificateur de puissance avant d'être envoyé au transducteur. L'activité de cavitation est quantifiée par un hydrophone passif fixé au niveau du trou central du transducteur. Le signal de l'hydrophone est préamplifié de 14 dB et converti en signal numérique par un module convertisseur analogique-numérique avant d'être traité par le module FPGA pour en extraire, d'une part, l'indice de cavitation ($CI(t)$) et, d'autre part, un critère permettant de définir spatialement la zone soumise à la cavitation.

Une sonde échographique fixée au centre du transducteur de thérapie et connectée à un échographe permet de visualiser la zone thrombosée à traiter. Un bras robotisé 6 axes couplé à son contrôleur permet non seulement de positionner manuellement le système de thérapie au niveau de la zone à traiter mais également de balayer automatiquement le caillot sanguin préalablement repéré. Le couplage ultrasonore entre les différents éléments du système de thérapie et le membre thrombosé à traiter est réalisé par un ballon de couplage rempli d'eau filtrée et dégazée. Un système de tubulure intégré au centre du transducteur permet le remplissage, l'évacuation des bulles d'air et la vidange du ballon. L'ensemble de ces éléments constituant le système de thérapie sont contrôlés par un ordinateur hôte. Il permet de piloter la carte FPGA et le bras robotisé en mode automatique et de récupérer l'image échographique par l'intermédiaire d'une carte d'acquisition vidéo.

A titre illustratif, une photo du dispositif de thrombolyse in vivo est présentée sur la figure FIGURE 4.2 a).

4.2.1 Système de thérapie

Le système de thérapie, repéré en rouge sur la FIGURE 4.2 a) est détaillé par son plan de coupe présenté sur la FIGURE 4.2 b). Les éléments composant le système de thérapie que sont le transducteur, l'hydrophone, la sonde échographique, le ballon de couplage et les deux différents supports, sont détaillés dans les sous-sections qui suivent.

4.2.1.1 Transducteur

Pour les tests de thrombolyse in vivo, seul le transducteur (IMASONIC) focalisé de fréquence de résonance 1 MHz est utilisé pour générer les bulles de cavitation inertielle. C'est le même transducteur que celui utilisé dans les chapitres précédents (cf CHAPITRE 2 et 3).

Afin d'alimenter ce transducteur, un amplificateur de puissance (PRÂNA GN 1000) de puissance 1000 W est utilisé. Par rapport à l'amplificateur utilisé pour les expérimentations in vitro (AMPAR

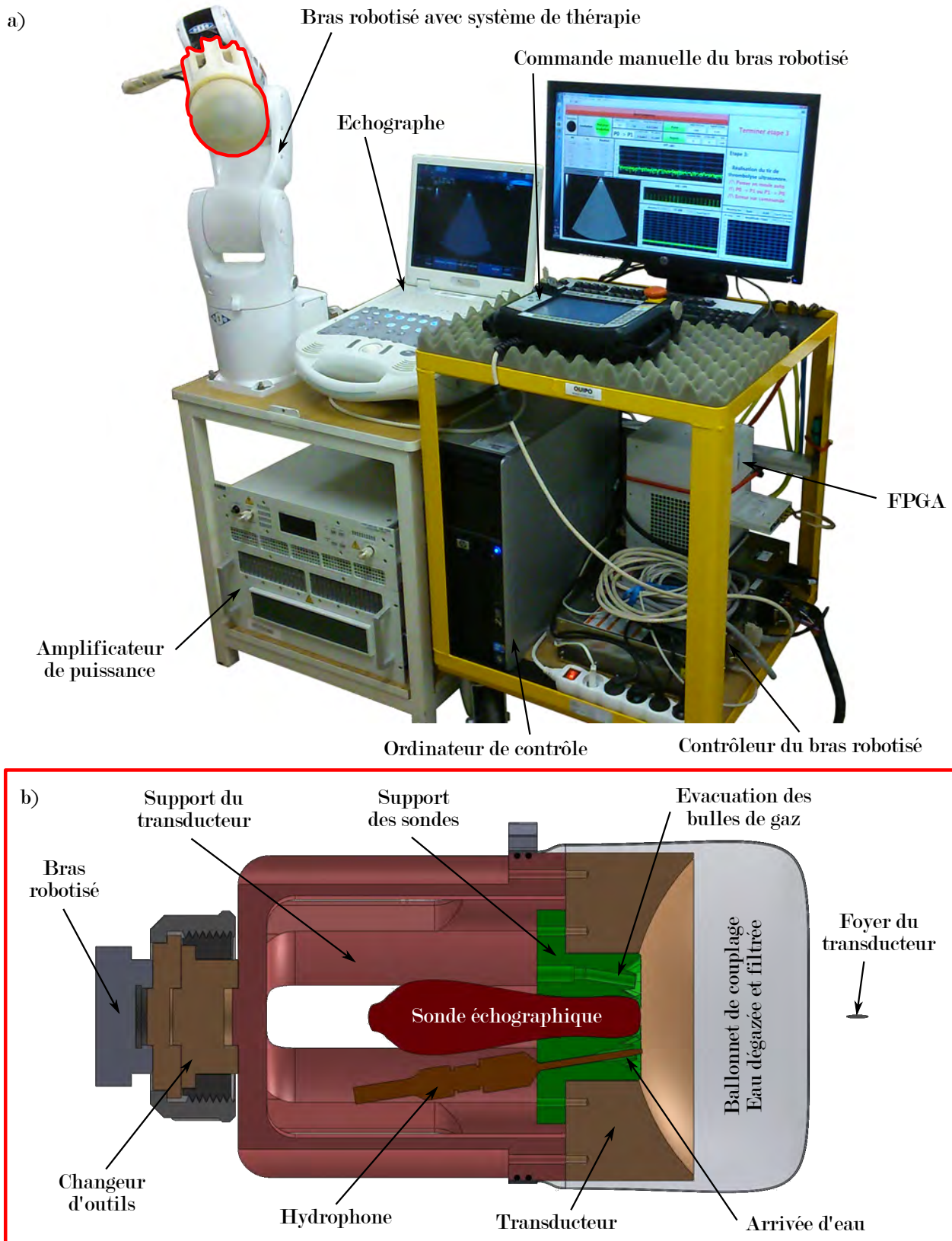


FIGURE 4.2 – a) Photo du dispositif expérimental et b) plan de coupe du système de thérapie.

801 PRÂNA), cet amplificateur permet d'une part d'envoyer un peu plus de puissance au transducteur, et d'autre part d'être plus facilement transportable pour aller réaliser les tests in vivo. Il présente un gain de 1412 (63 dB) à 1 MHz.

De la même manière que dans la SECTION 2.2.4 du CHAPITRE 2, le coefficient qui relie directement la tension délivrée par le convertisseur du FPGA à l'intensité acoustique atteinte au foyer du transducteur a été déterminé et est donné par la relation suivante :

$$I_{acoustique} (\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}) = 175276,10 u_{FPGA} (\text{Vcc}). \quad (4.1)$$

4.2.1.2 Hydrophone

Afin de quantifier l'activité de cavitation inertielle, un hydrophone passif est utilisé pour mesurer le signal émis par le nuage de bulles. Il s'agit de l'hydrophone passif (ONDA HNC-1500), déjà utilisé dans la seconde partie des essais de thrombolyse in vitro (CHAPITRE 3), ayant pour caractéristiques une sensibilité de -238 ± 2 dB re $1\text{V}/\mu\text{Pa}$ sur sa plage d'utilisation entre 100 kHz et 20 MHz et une directivité de 15° à -6 dB.

Pour minimiser la contribution du signal d'excitation, l'hydrophone est placé en dehors du champ ultrasonore direct. Considérant la configuration du système de thérapie, l'hydrophone est inséré au niveau du trou central du transducteur, faisant un angle d'environ 10° avec l'axe acoustique du transducteur, à une distance de 7 cm du foyer acoustique et ciblant le nuage de bulles (cf FIGURE 4.2 b).

De plus, afin d'adapter l'amplitude du signal temporel émis par l'hydrophone à l'entrée du convertisseur analogique-numérique, un pré-amplificateur de 14 dB est utilisé avec l'hydrophone. Afin de ne pas saturer l'entrée du convertisseur analogique-numérique, la préamplification du signal est ici moins importante que dans les cas vus précédemment (CHAPITRE 2 et 3) car une partie du signal émis par le transducteur est directement renvoyée à l'hydrophone par la réflexion qui a lieu à l'interface entre le ballon de couplage et la peau de l'animal.

4.2.1.3 Sondes échographiques

Le placement et le guidage de la sonde de thérapie ultrasonore sont réalisés par échographie.

Une première sonde échographique pédiatrique cardiaque (ESAOTE PA023) couplée à un échographe portable (ESAOTE MYLAB 30 GOLD) a été utilisée. Il s'agit d'une sonde sectorielle de 192 éléments, de fréquence 7,5 à 10 MHz et de bande passante 4 à 11 MHz. Elle a été choisie, d'une part, pour ses caractéristiques permettant a priori d'imager un vaisseau sanguin à une profondeur de 6 cm avec une résolution suffisante, et, d'autre part, pour sa compacité lui permettant d'être insérée au centre du transducteur, dans le trou de 4,5 cm de diamètre. En effet, la sonde échographique est positionnée de telle sorte que son axe acoustique est confondu avec celui du transducteur. De cette manière, le foyer du transducteur est compris dans le plan d'imagerie de la sonde à une profondeur d'environ 6 cm le long de son axe acoustique. En pratique, après plusieurs essais, cette première sonde s'est révélée peu satisfaisante. En effet, étant de trop haute fréquence, elle ne permettait pas d'imager

convenablement le thrombus présent dans la zone à traiter. De plus, son positionnement dans le transducteur à 6 cm du foyer pose des problèmes lorsque le traitement doit être réalisé à une profondeur de 3 cm sous la peau. La peau étant en partie réfléchissante pour les ultrasons, par un effet miroir, une partie du faisceau ultrasonore se retrouve focalisé au niveau de la sonde échographique, ce qui, après plusieurs essais, a fini par détériorer de manière irréversible cette première sonde échographique. Un exemple d'image échographique réalisée avec la sonde PA023 d'une artère de brebis est présenté sur la FIGURE 4.3 a).

Pour pallier à ces deux problèmes, la sonde cardiaque a été remplacée au cours de la campagne d'expérimentation par une seconde sonde échographique linéaire (ESAOTE LA332). Il s'agit d'une sonde linéaire de 144 éléments, de fréquence 3,5 à 10 MHz et de bande passante 3 à 11 MHz. Elle a été choisie, d'une part, pour sa large bande de fréquence permettant d'imager un vaisseau sanguin à une profondeur de 8 cm avec une résolution suffisante, et, d'autre part, pour sa compacité lui permettant d'être insérée au centre du transducteur, dans le trou de 4,5 cm de diamètre. Elle a été positionnée de telle sorte que le foyer du transducteur soit compris dans le plan d'imagerie de la sonde à une profondeur d'environ 8 cm le long de son axe acoustique. Ainsi, cette configuration, permet de traiter un thrombus jusqu'à une profondeur de 3 cm sans risque pour la sonde échographique lié à la réflexion partielle du faisceau ultrasonore sur la peau. Un exemple d'image échographique réalisée avec la sonde LA332 d'une artère de brebis est présenté sur la FIGURE 4.3 b).

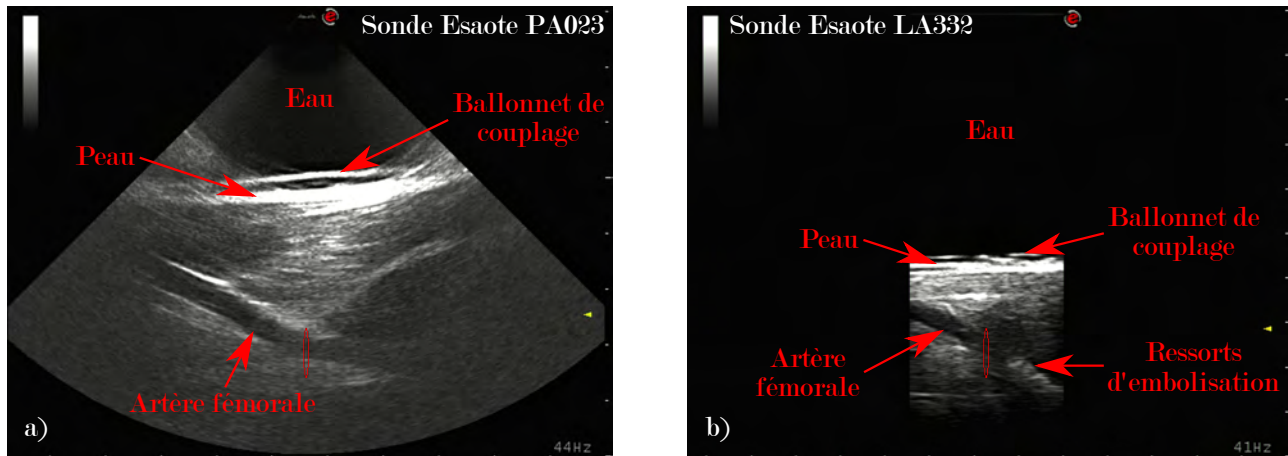


FIGURE 4.3 – Exemples d'images échographiques d'une artère de brebis réalisées **a)** avec la sonde cardiaque PA023 et **b)** avec la sonde linéaire LA332.

De plus, l'échographe n'étant pas interfaçable sur un ordinateur distant, la sortie vidéo de l'échographe (Sortie XGA 1024 × 768 60 ips) est récupérée sur l'ordinateur de contrôle grâce à une carte d'acquisition vidéo (AVERMEDIA DARKCRYSTAL HD). Cela permet, d'une part, de pouvoir enregistrer la séquence échographique pendant le tir de thérapie ultrasonore, et, d'autre part, de pouvoir superposer le foyer du transducteur à l'image échographique, afin de faciliter le ciblage du thrombus à traiter. Le foyer acoustique ellipsoïdal du transducteur à -3 dB a préalablement été repéré grâce à un hydrophone à aiguille (MULLER-PLATTE NEEDLE PROBE) de sensibilité 1 mV/bar. Son

grand axe se situe sur l'image échographique à une profondeur comprise entre 5,76 et 6,66 cm pour la sonde cardiaque et entre 7,73 et 8,63 cm pour la sonde linéaire, son petit axe mesurant 1,1 mm.

4.2.1.4 Ballon de couplage

Afin de réaliser le couplage ultrasonore entre les différents éléments composant le système de thérapie et la peau de l'animal à traiter, un ballon de couplage rempli d'eau (capot de transducteur CIVCO en latex) est utilisé. Le ballon se présentant comme un "grand préservatif", l'étanchéité entre le transducteur et le ballon est réalisée grâce à la partie du ballon qui reste enroulée sur elle-même. En effet, cette partie étant suffisamment élastique et de diamètre inférieur à celui du transducteur, elle permet à la fois de le mettre en place et de réaliser l'étanchéité. Afin d'éviter au maximum que des bulles de cavitation ne soient susceptibles de se former dans le ballon de couplage, celui-ci est dans un premier temps nettoyé, purgé des bulles de gaz qu'il est susceptible de renfermer dans ses pores (par trempage dans un bain d'eau filtrée et dégazée pendant environ 5 min), puis lors du traitement, il est rempli avec de l'eau déionisée, filtrée puis dégazée à 0,5 mgO₂/L.

Afin de faciliter le remplissage et la vidange du ballon de couplage, 2 conduites d'eau ont été réalisées dans le support des sondes qui se situe au centre du transducteur. Elles permettent non seulement de remplir et de vider le ballon mais également de chasser les bulles d'air susceptibles d'avoir été piégées sur la pointe de l'hydrophone, l'une des conduites débouchant autour de ce dernier. De plus, afin d'évacuer les bulles d'air qui subsistent au moment du remplissage, 4 conduites ont été percées et réparties sur le même support. Elles sont placées de telle sorte que lorsque le système de thérapie est positionné verticalement, le transducteur regardant vers le bas, elles permettent d'évacuer les bulles d'air qui viennent s'accumuler à la jonction du transducteur avec le support.

4.2.1.5 Supports

Deux supports composent le système de thérapie. Le premier, le support des sondes, déjà évoqué dans la section précédente, a plusieurs rôles. Premièrement, il permet de maintenir l'hydrophone et la sonde échographique fixes par rapport au transducteur. Ensuite, il permet le remplissage, la vidange et l'évacuation des bulles d'air grâce aux conduites qui ont été percées dedans. Enfin, il permet de réaliser l'étanchéité du système entre le transducteur, l'hydrophone et la sonde échographique. Ce premier support a été réalisé en deux temps. Premièrement, à l'aide d'un scanner 3D (FARO SCANARM), la sonde échographique a été soustraite du support. Puis, dans un deuxième temps, le support a été imprimé en résine grâce à une imprimante 3D (STRATASYS OBJET 30 PRO), cette technique permettant de réaliser des formes complexes d'une grande précision.

Le deuxième support, le support du transducteur, a, quant à lui, un rôle purement mécanique : il permet de maintenir fixé le transducteur au bras robotisé. Il a été imprimé en ABS grâce à une imprimante 3D (STRATASYS UPRINT SE), cette technique permettant de réaliser des formes complexes d'une grande rigidité.

4.2.2 Bras robotisé

Afin de réaliser le placement, le maintien et le déplacement contrôlé du système de thérapie, un bras robotisé 6 axes (DENSO VS050) est utilisé. Il présente l'avantage, grâce à ses 6 degrés de liberté, de pouvoir réaliser tous les mouvements envisageables du système de thérapie (3 translations + 3 rotations). Ce bras robotisé, connecté à son contrôleur (DENSO RC8), peut être piloté soit par une télécommande en mode manuel, soit par l'intermédiaire d'un ordinateur de contrôle en mode automatique.

4.2.2.1 Déplacement manuel

Le mode de déplacement manuel permet, d'une part, de réaliser le placement du système de thérapie. Pour cela, deux repères peuvent être utilisés pour déplacer le système de thérapie. Le premier repère, le repère du robot, permet de commander chaque axe du robot indépendamment, en pratique, il est assez peu utilisé. Le second repère, appelé repère outil, permet de déplacer le système de thérapie selon son propre système d'axe. Le repère outil a été défini de telle sorte que l'axe acoustique du transducteur corresponde à l'axe Z . L'axe X quant à lui correspond à l'axe perpendiculaire à l'axe Z et est contenu dans le plan d'imagerie de la sonde échographique. Enfin, l'axe Y correspond à l'axe perpendiculaire au plan d'imagerie de la sonde échographique. De plus, afin de rendre plus ergonomique l'utilisation des rotations, l'origine du repère outil a été définie comme confondue avec le foyer du transducteur. Ainsi, toutes les rotations s'effectuent autour du foyer du transducteur.

D'autre part, le mode de déplacement manuel permet également de repérer les extrémités du caillot qui sera traité. Pour cela, le système de thérapie est d'abord positionné grâce à l'échographie au niveau d'une des extrémités de la zone à traiter, puis les coordonnées de la position sont sauvegardées. La même démarche est effectuée pour sauvegarder la position de l'autre extrémité de la zone à traiter. Ainsi, les positions étant sauvegardées, il est possible à tout moment de retourner facilement à ces positions de références.

4.2.2.2 Déplacement automatisé

Le mode de déplacement automatisé permet, lors du tir ultrasonore, de réaliser le balayage du caillot de l'une des positions de référence à l'autre. En effet, les positions des extrémités ayant été repérées et sauvegardées en mode manuel, le mode de déplacement automatisé permet de décrire une trajectoire linéaire entre ces deux points à vitesse constante.

4.2.3 Sonde échographique linéaire

Afin de repérer la configuration de la zone où le modèle de thrombose artérielle sera réalisé, une sonde échographique linéaire (ESAOTE LA533) est utilisée de manière conventionnelle. Il s'agit d'une sonde linéaire de 192 éléments, de fréquence 4 à 12 MHz et de bande passante 3 à 13 MHz. Elle a été choisie pour ses caractéristiques permettant d'imager un vaisseau sanguin jusqu'à une profondeur d'environ 4 cm avec une très bonne résolution. Elle permet également de réaliser un contrôle échographique avant et après le tir ultrasonore afin de déterminer si le caillot a bien été détruit.

De plus, la première sonde échographique cardiaque, bien que suffisante pour repérer les grosses structures telles que les artères ou les veines présentes dans la zone de thrombose, ne permettait pas de visualiser convenablement le thrombus présent dans l'artère. Afin de pallier à ce problème, un système de repérage du caillot basé d'une part sur la sonde linéaire qui permet de réaliser de meilleures images, et d'autre part sur le bras robotisé, a été développé. Ce système de repérage est détaillé dans la section suivante.

4.2.3.1 Système de repérage du caillot

Le bras robotisé, permettant d'enregistrer les coordonnées d'une position puis d'y retourner, peut être utilisé pour réaliser un repérage du caillot grâce à la sonde linéaire. En effet, si les extrémités du caillot sont repérées et les coordonnées de celles-ci sauvegardées grâce à la sonde linéaire (1^{er} outil), le foyer du système de thérapie (2nd outil) pourra facilement être repositionné en ces points.

Pour cela, un support spécialement conçu pour fixer la sonde linéaire au bras robotisé a été réalisé en ABS par impression 3D. Il permet donc d'une part de maintenir fixée la sonde linéaire au bras robotisé dans une position bien définie, et d'autre part de permettre sa libération de manière aisée pour qu'elle puisse toujours être utilisée manuellement.

De plus, afin de faciliter le changement des outils (système de thérapie ou support de la sonde linéaire) au niveau du bras robotisé, un changeur d'outil manuel a été fabriqué. Il est composé de deux parties distinctes, une première partie fixée sur le bras robotisé permettant d'accueillir l'un des deux exemplaires de la seconde partie qui sont respectivement fixés sur le système de thérapie et sur le support de la sonde linéaire. Ce système de changeur d'outil est conçu de telle sorte qu'une seule position répétable est possible entre les deux parties. Il est composé de ces deux parties réalisées en ABS par impression 3D et de deux bagues de serrage permettant de les maintenir serrées entre elles.

En pratique, ce système de repérage, bien qu'efficace, a été rendu obsolète par le remplacement de la sonde cardiaque par une sonde linéaire, au cours de la campagne d'expérimentation.

4.2.4 Pilotage de l'ensemble des composants du système

L'ensemble de ces éléments décrits dans la partie précédente sont tous pilotés par l'intermédiaire d'un ordinateur hôte programmé sous NI LabVIEW. Ainsi, le FPGA, connecté à l'ordinateur par l'intermédiaire de la carte de contrôle FPGA, permet de réaliser le tir ultrasonore en régime régulé. L'échographe, connecté à l'ordinateur par l'intermédiaire de la carte d'acquisition vidéo, permet de suivre échographiquement le placement du système de thérapie et le repérage du thrombus. Il permet également d'enregistrer la vidéo du tir ultrasonore à une cadence de 60 images par seconde. Enfin, le contrôleur du bras robotisé, connecté à l'ordinateur par l'intermédiaire d'une carte Ethernet, permet de réaliser le balayage linéaire à vitesse constante du caillot sanguin pendant le tir ultrasonore. L'utilisation d'un ordinateur hôte présente l'avantage de pouvoir contrôler de manière synchrone les différents éléments constituant le dispositif expérimental de thrombolyse in vivo.

4.3 Modèle de thrombose in vivo

L'ensemble des protocoles expérimentaux in vivo mis en place dans cette thèse ont préalablement été examinés et validés par un comité d'éthique. De plus, toutes les expérimentations animales ont été réalisées sur la plateforme NAMSA de Chasse-sur-Rhône en collaboration avec le service d'imagerie diagnostique et thérapeutique du professeur Didier Revel de l'hôpital cardiologique Louis Pradel de Bron.

Dans le but de réaliser des tests de thrombolyse in vivo sur un modèle animal d'ischémie artérielle aiguë de membre, l'objectif a été de sélectionner une espèce animale permettant, d'une part, d'avoir une anatomie proche de celle rencontrée chez l'Homme (artère fémorale de diamètre compris entre 3 et 6 mm et située à une profondeur comprise entre 2 et 4 cm) et d'autre part, de présenter un coût raisonnable. Par conséquent, seules les espèces peu coûteuses de gros animaux pouvaient potentiellement être utilisées car elles présentent les critères requis. De plus, étant donné qu'aucun modèle déjà développé ne correspondait à l'ensemble des critères recherchés, un modèle animal d'ischémie artérielle aiguë de membre inférieur a été développé. En effet, différents modèles de thrombose veineuse avaient déjà été développés sur modèle porcin ou ovin mais aucun modèle de thrombose artérielle n'a été référencé sur gros animal. Le modèle porcin étant le plus couramment utilisé dans le cadre d'expérimentations animales sur thrombose veineuse, il a naturellement été choisi pour le développement du modèle.

Cependant après plusieurs essais sur modèle porcin, cet animal s'est révélé extrêmement fragile d'un point de vue artériel car supportant difficilement les gestes chirurgicaux sous anesthésie. Par exemple, lors de la pose des abords, les artères ont de nombreuses fois disséqué ou encore, lors de la réalisation des gestes de radiologie interventionnelle, les cochons ont de plusieurs fois souffert soit de fragilités cardiaques avec notamment des phases répétées de fibrillation ventriculaire, soit d'arrêts cardiaques.

Finalement, afin de pallier à ces problèmes répétés, il a été décidé de changer d'animal et de réaliser les essais sur modèle ovin, cet animal étant beaucoup plus résistant d'un point de vue cardiovasculaire. Le développement du modèle d'ischémie artérielle aiguë de membre inférieur sur modèle ovin est détaillé dans la section suivante.

4.3.1 Modèle ovin

Le développement d'un modèle d'ischémie artérielle aiguë de membre inférieur sur modèle ovin consiste à mettre au point une technique répétable permettant le développement d'un caillot sanguin de taille contrôlée dans l'artère fémorale d'une brebis. La création du caillot sanguin s'effectue selon la procédure suivante.

La brebis d'environ 60 kg est installée en décubitus dorsal, sous anesthésie générale et respiration artificielle. Les constantes (pulsation cardiaque, saturation en oxygène et température) sont monitorées pendant l'ensemble de l'expérience. Une échographie de contrôle est réalisée pour repérer l'artère fémorale de l'animal et sélectionner la zone propice à la mise en place du caillot sanguin.

Un premier modèle permettant d'utiliser l'une des pattes postérieures pour la mise en place du

caillot et l'autre comme témoin a été étudié. Sous échographie, un abord carotidien est posé. Puis un cathéter (désilet long ARROW 6 F de 90 cm) est mis en place au plus proche de la zone où sera réalisé le caillot, compte tenu de sa longueur. Une angiographie est réalisée pour permettre de repérer en détail la configuration de la zone et notamment les artères collatérales susceptibles de prendre le relais une fois l'artère principale thrombosée. A l'aide d'un cathéter porteur (MPA 5 F de 125 cm), des ressorts d'embolisation (COOK MReye Jackson Coil) de taille adaptée au diamètre de l'artère fémorale (4 à 6 mm de diamètre) sont déposés dans cette dernière afin de ralentir suffisamment le flux sanguin pour permettre le développement spontané d'un caillot sanguin en amont de ceux-ci. De plus, le caillot sanguin se développant entre la première collatérale en amont et les ressorts d'embolisation, ces derniers sont déposés à environ 1,5 cm de la première collatérale. Après 30 minutes d'attente, des contrôles échographiques et angiographiques sont réalisés afin de contrôler la bonne formation du caillot sanguin. Si le caillot est totalement formé, le test de thrombolyse ultrasonore peut alors être réalisé ; sinon, le temps d'attente est renouvelé jusqu'à obtention d'un caillot complètement formé. En pratique, ce premier modèle qui a été testé sur les 6 premières brebis a l'avantage de permettre l'utilisation des deux pattes, soit pour la réalisation d'un témoin, soit pour dupliquer l'expérience de thrombolyse. Cependant ce modèle comporte plusieurs difficultés. Tout d'abord, la pose du cathéter porteur est une étape délicate liée à l'anatomie particulière de la crosse aortique chez la brebis qui, dans le cas de 2 brebis sur 6, ne nous a pas permis de réussir la thrombose (impossibilité de passer la crosse aortique ou bouclage du cathéter dans le cœur). Ensuite, la longueur importante séparant la carotide de l'artère fémorale (environ à 1,2 m) restreint le matériel utilisable, qui n'est alors pas toujours le plus adapté aux gestes que l'on souhaite réaliser, et complexifie la réalisation de ces gestes interventionnels, rendant par exemple difficile la dépose de ressorts d'embolisation dans les artères collatérales que l'on souhaite boucher. Enfin, une fois les ressorts d'embolisation mis en place, une dernière difficulté concerne le développement du caillot sanguin qui est assez aléatoire d'une brebis à l'autre (coagulation spontanée ou mauvaise coagulation même après injection d'un bolus de thrombine). Dans tous les cas, même lorsque la thrombose est réussie, ces nombreuses difficultés rendent le processus de mise en place d'un caillot relativement long (de 2 à 3 heures de manipulation) et ne laissent pas suffisamment de temps pour la réalisation des tirs ultrasonores, les expérimentations étant réalisées sur une demi-journée pour des questions de moyens.

Afin de pallier à ces difficultés, un second modèle, basé sur la réalisation d'un cross-over (réalisation d'un geste sur la fémorale droite par un abord en fémoral gauche ou inversement) a été étudié. Ce modèle présente cependant l'inconvénient d'utiliser les deux pattes postérieures, rendant impossible la réalisation d'un témoin. Un abord chirurgical fémoral (désilet 5 F de 15 cm) est posé sur l'une des deux pattes postérieures de la brebis. Puis un cathéter (TERUMO Cobra 4 F de 80 cm) est mis en place jusqu'à la partie proximale de la zone où sera réalisé le caillot. Une angiographie de contrôle est réalisée pour déterminer la zone de dépose des ressorts d'embolisation. A l'aide du cathéter, des ressorts d'embolisation (COOK MReye Jackson Coil) de taille adaptée au diamètre des artères (4 à 6 mm de diamètre pour l'artère fémorale et 3 à 4 mm de diamètre pour les artères collatérales) sont déposés dans l'artère fémorale et dans les artères collatérales afin de ralentir le flux sanguin. En parallèle, dans une cupule, 100 UNIH de thrombine sont mélangées avec 20 ml de sang prélevé sur la brebis afin de

former un caillot sanguin. Ensuite, des morceaux de caillot sont injectés dans le cathéter, puis déposés contre les ressorts d'embolisation sous contrôle échographique afin de favoriser le développement d'un thrombus. En pratique, grâce à cette technique, le thrombus a tendance à croître d'environ 1 cm toutes les 10 à 15 minutes. Ainsi, une fois la taille de thrombus requise obtenue (environ 2 cm à 3 cm), une injection d'héparine (50 UI/kg) permet de stopper sa croissance et le test de thrombolyse ultrasonore peut alors être réalisé. Ce second modèle, qui a été testé avec succès sur les 4 dernières brebis, ne présente pas de difficulté particulière et a permis, à chaque fois, la mise en place du thrombus en moins d'une heure, laissant de 2 à 3 heures pour la réalisation des tirs de thrombolyse ultrasonore.

Le déroulement d'un tir de thrombolyse ultrasonore est détaillé dans la section suivante.

4.3.2 Déroulement des mesures

Une fois le caillot correctement formé le tir ultrasonore est réalisé selon la procédure suivante.

- Des images d'échographie doppler et d'angiographie sont enregistrées pour servir d'état de référence.
- La sonde linéaire montée sur le bras robotisé est mise en place au niveau de la patte de l'animal afin de repérer puis d'enregistrer les coordonnées des positions des deux extrémités du caillot sanguin à traiter.
- La sonde de thérapie est ensuite connectée au robot en remplacement de la sonde linéaire puis positionnée automatiquement au niveau de l'extrémité proximale du caillot sanguin grâce aux coordonnées enregistrées par l'intermédiaire de la sonde linéaire. Grâce à la sonde échographique intégrée au système de thérapie, les coordonnées des extrémités du caillot peuvent être corrigées si un décalage est observé.
- Une fois les extrémités correctement repérées, un tir d'étalonnage du niveau de cavitation est effectué au niveau de l'extrémité proximale du caillot. Il consiste à réaliser en non régulé, grâce à plusieurs tirs très courts de 2 secondes chacun (8 pulses de 25 ms par tir), la courbe de l'indice de cavitation en fonction de l'intensité acoustique émise. Cette courbe permet de déterminer l'indice de cavitation à utiliser lors du tir de thrombolyse, cet indice de cavitation étant dépendant du milieu dans lequel il est calculé et donc différent d'un animal à l'autre.
- Le tir de thrombolyse est ensuite réalisé : il consiste en un balayage linéaire du caillot à vitesse constante tout en réalisant le tir ultrasonore en régime régulé.
- Une seconde série d'images d'échographie doppler et d'angiographie sont enregistrées pour être comparées aux images de référence.
- L'animal est ensuite sacrifié puis l'artère contenant la zone du caillot traité est prélevée pour analyse histologique.

4.3.3 Détermination de l'efficacité du tir

Afin de déterminer l'efficacité du tir de thrombolyse ultrasonore, trois modalités de contrôle sont utilisées. Il s'agit, en premier lieu, de l'imagerie angiographique, de l'imagerie échographique et du contrôle histologique. Ces modalités sont détaillées dans les trois sections suivantes.

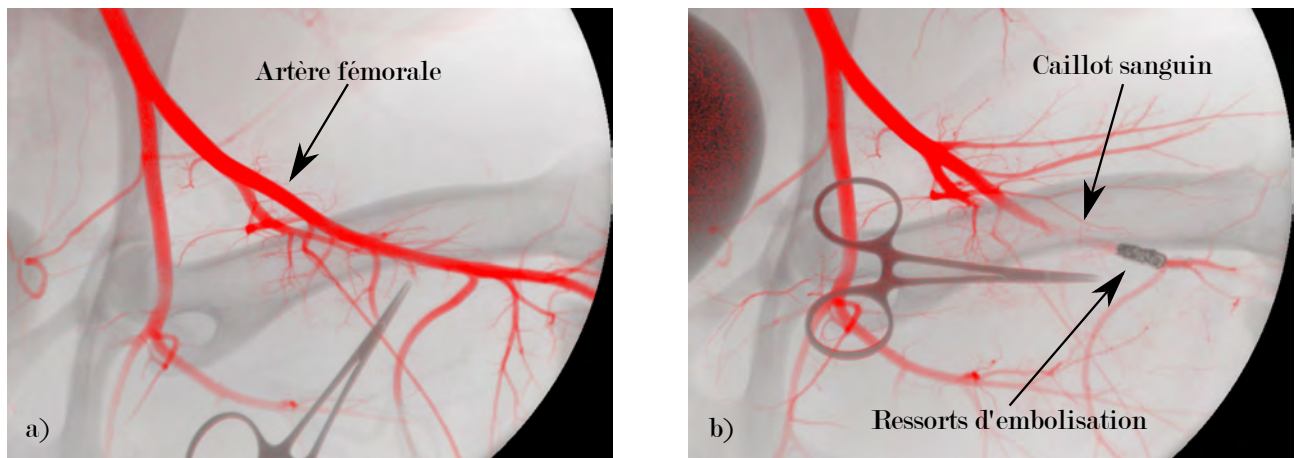


FIGURE 4.4 – Images angiographiques **a)** avant dépose des ressorts d'embolisation dans une artère fémorale de brebis et **b)** après la dépose des ressort d'embolisation et la formation d'un caillot sanguin.

4.3.3.1 Contrôle angiographique

En combinant l'injection d'iode à la réalisation d'une radiographie, l'angiographie permet d'imager le système cardiovasculaire et notamment le système artériel. Elle est particulièrement utilisée par les radiologues pour le diagnostic de pathologies cardiovasculaires telles que les sténoses ou les ischémies, mais elle présente l'inconvénient d'être une technique invasive. Cette technique permet donc, par comparaison d'images prises avant et après le tir de thérapie, de déterminer l'efficacité du tir ultrasonore en calculant la portion de caillot sanguin détruite. Un exemple d'image angiographique d'une artère de brebis saine prise avant la dépose des ressorts d'embolisation est présentée sur FIGURE 4.4 a). La FIGURE 4.4 b) présente quant à elle cette même artère après la dépose des ressorts d'embolisation et après formation d'un caillot sanguin, lequel est visible car non perfusé par l'injection d'iode. L'angiographie est actuellement la technique de référence pour le diagnostic des thromboses vasculaires.

4.3.3.2 Contrôle échographique

Grâce à l'utilisation d'ultrasons, l'échographie permet d'imager de manière non invasive les différentes structures qui composent le corps humain. Elle est notamment utilisée pour imager le système cardiovasculaire et particulièrement le flux sanguin grâce au mode doppler couleur. Cette technique permet donc, d'une part, de visualiser un caillot sanguin qui apparaît légèrement hyper-échogène par rapport au sang circulant (lequel est très hypo-échogène), et d'autre part, d'imager les zones perfusées grâce au doppler couleur. Deux exemples d'images échographiques d'artère saine et d'artère contenant un caillot sanguin sont présentés respectivement sur les FIGURES 4.5 a) et c). Les FIGURES 4.5 b) et d) présentent quant à elles les imageries doppler du flux sanguin s'écoulant dans une artère saine et dans une artère bouchée par un caillot sanguin s'étant formé contre les ressorts d'embolisation. En pratique l'échographie est utilisée en complément de l'angiographie pour aider à repérer et caractériser la zone à traiter car il reste difficile de quantifier la destruction des caillots

sanguin grâce à cette modalité d'imagerie.

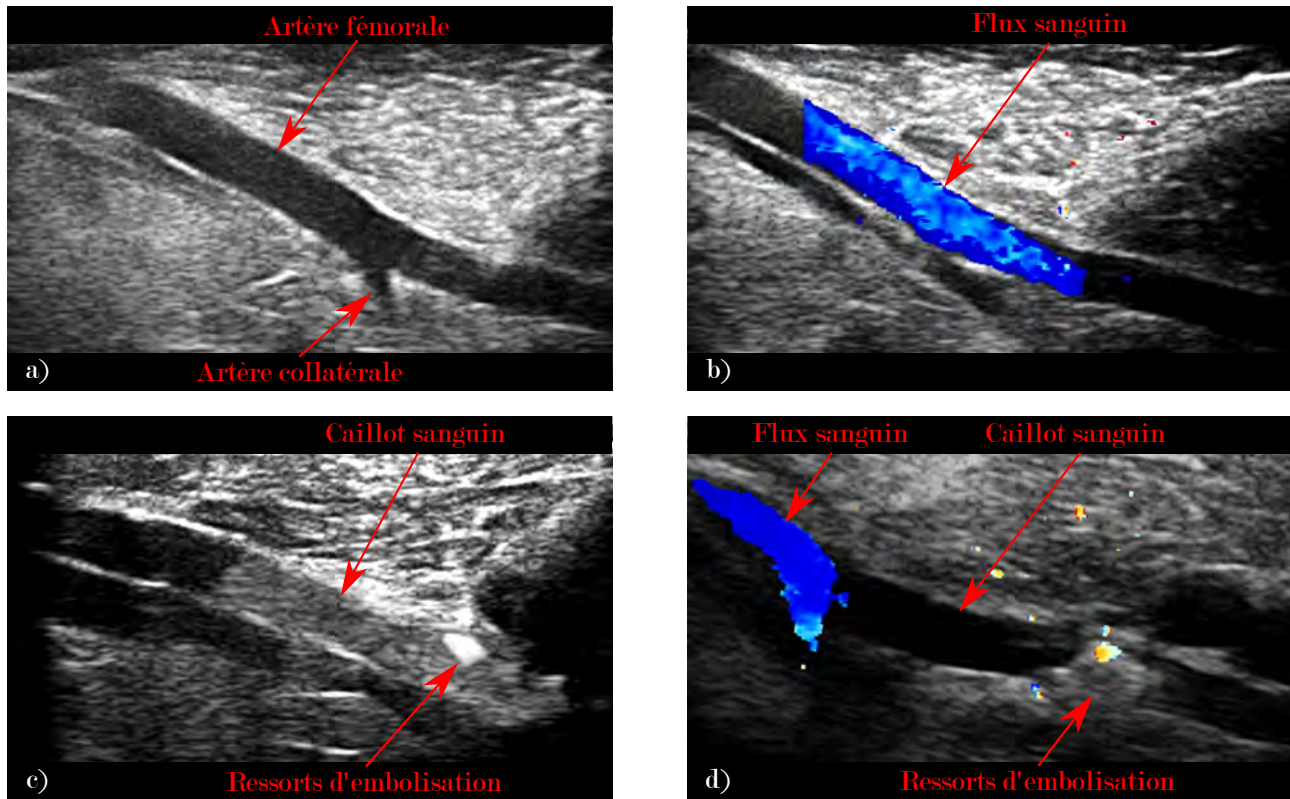


FIGURE 4.5 – Images échographiques **a)** d'une artère fémorale saine de brebis et **c)** d'une artère contenant un caillot sanguin. Doppler couleur **b)** d'une artère fémorale de brebis saine et **d)** d'une artère contenant un caillot sanguin.

4.3.3.3 Contrôle histologique

Après prélèvement, l'analyse histologique du site contenant la zone du tir de thérapie ultrasonore, permet d'une part de contrôler la composition du caillot sanguin, et d'autre part de contrôler l'état

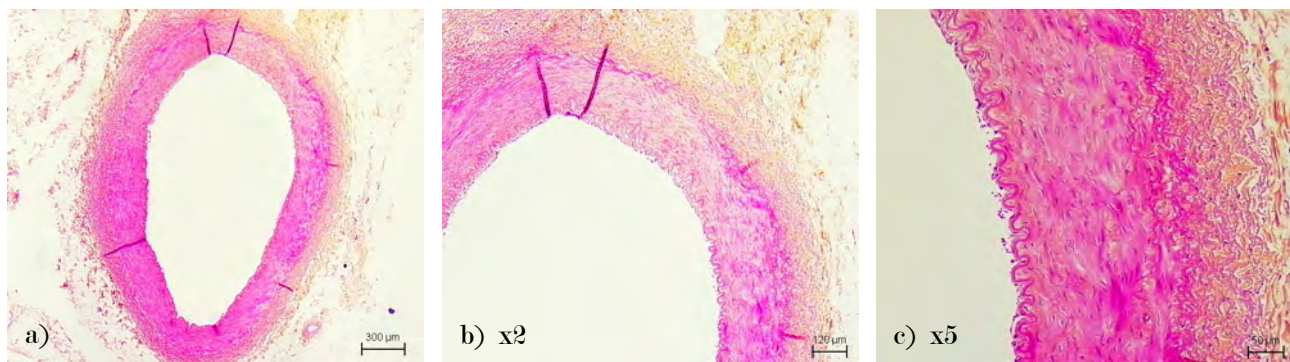


FIGURE 4.6 – Coupe histologique d'une artère saine de brebis observée sous différents grossissements.

de la paroi artérielle afin de s'assurer qu'elle n'a pas été endommagée. Un exemple d'une coupe histologique d'une artère saine de brebis observée sous trois grossissements différents est présentés sur les FIGURES 4.6.

4.4 Repérage spatial de la cavitation

Afin de mieux contrôler le traitement ultrasonore de thrombolyse *in vivo*, une des étapes indispensables est la mise en place d'un système de contrôle spatial de la cavitation qui permette de déterminer, pour chaque salve, la zone de développement du nuage de cavitation inertielle dans le milieu biologique. En effet, bien que le système ultrasonore utilise un transducteur focalisé à 8 cm, le nuage de cavitation est susceptible *in vivo* de se développer à distance du foyer géométrique pour deux raisons. D'une part, des phénomènes de réfraction acoustique sont susceptibles de modifier la position du foyer acoustique et, d'autre part, le nuage de cavitation peut se développer au niveau des lobes secondaires du champ ultrasonore si le milieu, à cet endroit, est plus favorable à la cavitation qu'au niveau du foyer principal. C'est par exemple souvent le problème rencontré lorsque la zone visée par le tir ultrasonore est peu profonde et qu'alors la cavitation se développe davantage dans le ballon de couplage qu'au niveau du foyer acoustique du transducteur. Pour ces raisons, il est important de trouver un moyen de contrôler le bon développement de la cavitation au niveau de la zone à traiter, pour espérer réaliser une thrombolyse efficace et reproductible.

Plusieurs études [74, 27, 30, 12] se sont penchées sur cette problématique de localisation de la cavitation inertielle, mais leur application en thrombolyse *in vivo* reste complexe, demande un investissement important, et fait actuellement l'objet d'une thèse au laboratoire. En particulier, la difficulté principale vient du fait que pendant le tir ultrasonore le signal échographique est brouillé et ne permet donc pas d'imager la cavitation. En parallèle de ces travaux, un système préliminaire d'évaluation de la position de la cavitation, utilisant le signal réceptionné par l'hydrophone, été développé. Cependant, il ne permet pas encore de piloter le traitement ultrasonore. Le principe de fonctionnement de ce système est détaillé dans la SECTION 4.4.1 qui suit.

4.4.1 Principe

Ce système est basé sur la mesure du temps de propagation de l'onde acoustique entre son émission par le transducteur et sa réception par l'hydrophone. Ainsi, le système a besoin de deux références temporelles (l'une liée à l'émission du transducteur, l'autre liée à la réception de l'hydrophone) pour mesurer un temps de propagation, cette mesure pourra donc être réalisée uniquement en début et en fin de chaque salve. Pour cela, la puce FPGA est programmée pour récupérer et enregistrer le signal temporel de début et de fin de salve pendant 0,2 ms (2048 points) correspondant à une distance de propagation de 30 cm (vitesse du son dans l'eau, dans le gel d'agar et dans les tissus prise égale à 1500 m/s). Des exemples de signaux temporels de début de salve et de fin de salve sont présentés respectivement sur les FIGURE 4.7a, 4.8a et 4.9a et les FIGURE 4.7b, 4.8b et 4.9b. Le signal temporel étant récupéré à partir d'un seul hydrophone, l'information spatiale peut seulement être calculée le long de l'axe acoustique. A travers le post-traitement présenté ci-dessous, le signal temporel de début

de salve correspondant au premier écho réceptionné donne une information concernant la distance minimum à laquelle on trouve des bulles de cavitation. A contrario, le signal temporel de fin de salve donne quant à lui une information concernant la distance maximum à laquelle on trouve des bulles de cavitation. Le calcul de la zone soumise à la cavitation est pour le moment réalisé en post-traitement.

A partir du signal temporel enregistré, l'extraction de l'information sur la cavitation s'effectue en calculant 3 paramètres, à l'aide d'une FFT glissante de 128 points. Les évolutions du fondamental f_0 , du premier harmonique $2f_0$ et du bruit large bande duquel a été retranchés les pics à f_0 et $2f_0$ (CI), qui caractérise l'activité de cavitation, sont calculées en fonction de la distance de propagation. Des exemples de ces évolutions de début de salve et de fin de salve sont présentés respectivement sur les FIGURE 4.7c, 4.8c et 4.9c et les FIGURE 4.7d, 4.8d et 4.9d. L'indice de cavitation CI caractérisant l'activité de cavitation et dépendant de la distance de propagation permet de calculer pour chaque salve la distance minimum et maximum de présence du nuage de cavitation. Ces distances correspondent à la zone de forte croissance ou de forte décroissance de l'indice de cavitation CI et sont déterminées automatiquement lorsque la moitié de l'amplitude de variation totale est atteinte.

Pour caractériser le système d'évaluation de la position de la cavitation, deux essais ont été effectués dans l'eau et dans un gel d'agar à 4%, le système de thérapie étant complètement immergé dans une

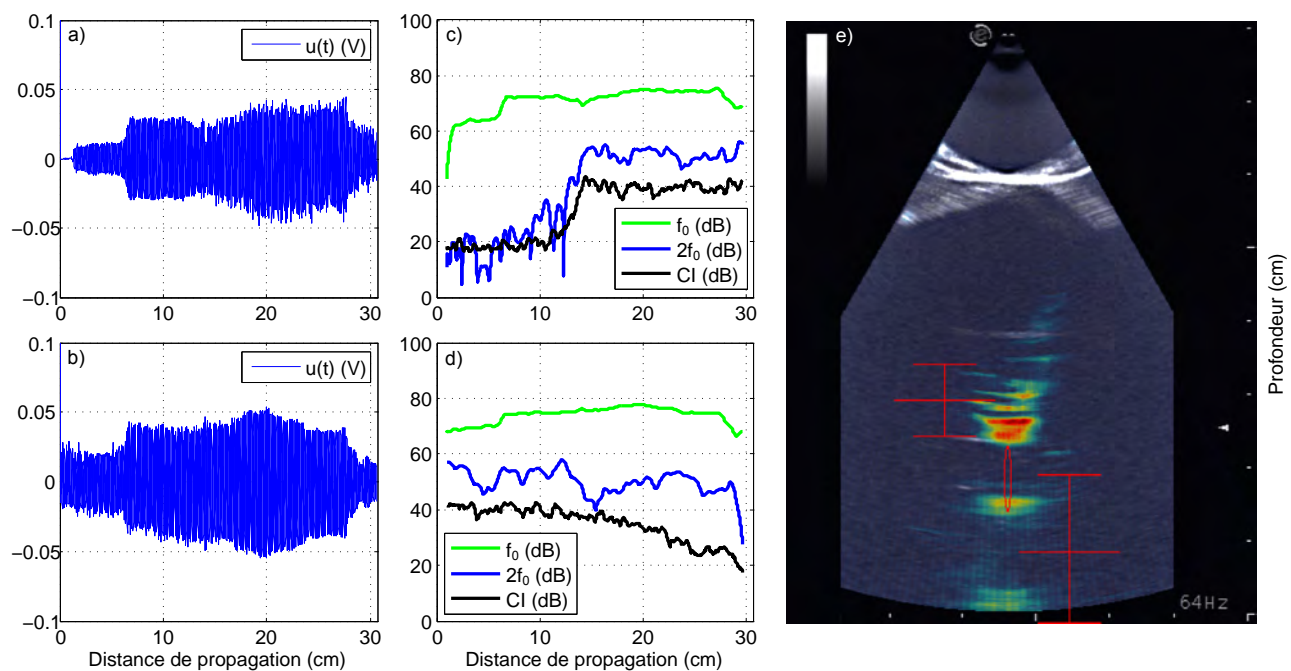


FIGURE 4.7 – Repérage spatial de la cavitation dans l'eau. Exemple d'évolution du signal temporel en fonction de la distance de propagation **a)** en début de salve et **b)** en fin de salve. Exemple d'évolution de f_0 , $2f_0$ et du CI en fonction de la distance de propagation **c)** en début de salve et **d)** en fin de salve. **e)** Image échographique (arrière plan) et cartographie de la cavitation (superposition colorée) de la zone contenant le foyer du transducteur (ellipse rouge). Moyenne et écart-type des distances minimum (tracé de gauche rouge) et maximum (tracé de droite rouge) de développement de la cavitation.

cuve et le ballon de couplage ayant été retiré. Ensuite, afin de tester in vivo le système, un essai sur modèle ovin a été réalisé en présence du ballon de couplage. Les résultats de ces tests sont présentés dans la SECTION 4.4.2 qui suit.

4.4.2 Résultats

La FIGURES 4.7e synthétise les résultats obtenus dans l'eau, la FIGURES 4.8e les résultats obtenus dans le gel d'agar et la FIGURES 4.9e les résultats obtenus dans la brebis.

Les résultats sont présentés superposés sur l'image échographique de la zone contenant la tache focale du transducteur, le foyer acoustique à -3 dB étant repéré par une ellipse rouge. Une cartographie de la cavitation calculée par soustractions successives des images échographiques est superposée à l'image échographique. Enfin, à partir des 40 signaux temporels de début et fin de salves, sont calculés la moyenne et l'écart-type des distances de développement du nuage de cavitation. Ces deux critères sont tracés à gauche pour la distance minimum et à droite pour la distance maximum.

Concernant les résultats dans l'eau, en milieu non confiné, le nuage de cavitation se développe sur une zone très importante de 3 cm de longueur en moyenne, soit environ 3 fois la longueur de la tache

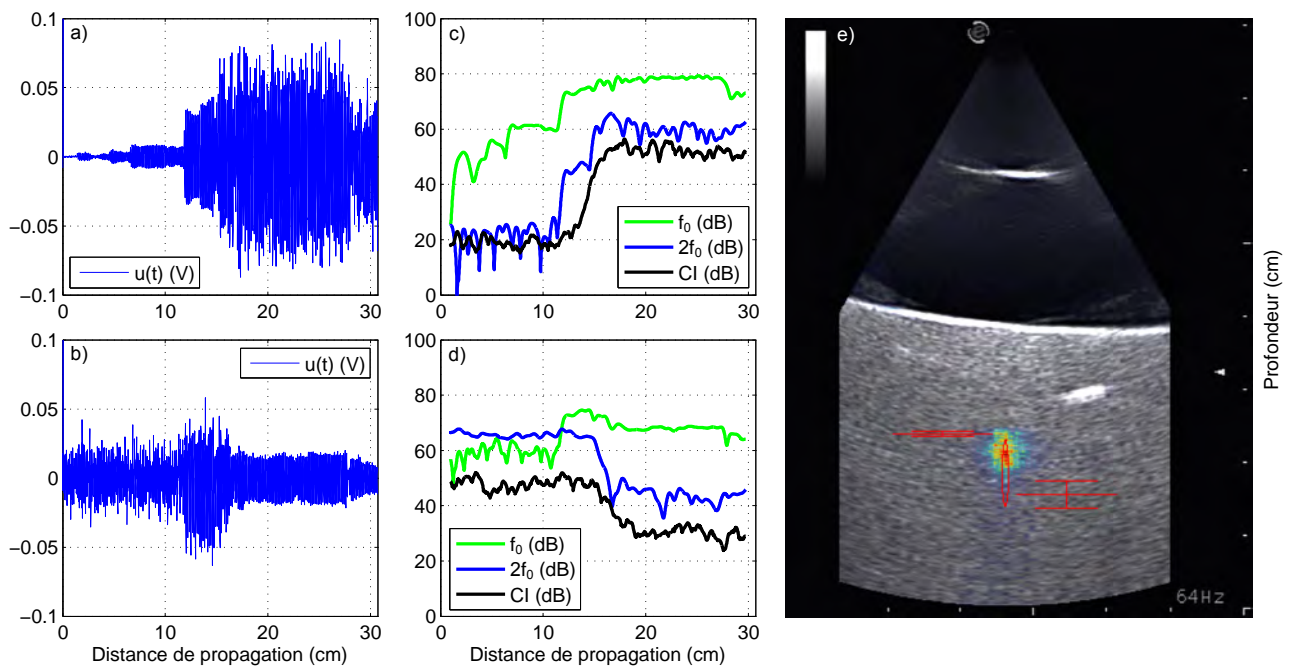


FIGURE 4.8 – Repérage spatial de la cavitation dans le gel d'agar. Exemple d'évolution du signal temporel en fonction de la distance de propagation **a)** en début de salve et **b)** en fin de salve. Exemple d'évolution de f_0 , $2f_0$ et du CI en fonction de la distance de propagation **c)** en début de salve et **d)** en fin de salve. **e)** Image échographique (arrière plan) et cartographie de la cavitation (superposition colorée) de la zone contenant le foyer du transducteur (ellipse rouge). Moyenne et écart-type des distances minimum (tracé de gauche rouge) et maximum (tracé de droite rouge) de développement de la cavitation.

focale. Le nuage étant généré dans un milieu non confiné, la pression de radiation advecte les bulles de cavitation qui évoluent dans une zone importante autour du foyer du transducteur. La pression de radiation ayant tendance à pousser le nuage de bulles, une dissymétrie est observée quant à la zone occupée par les bulles de cavitation : en effet, ces dernières se retrouvent d'avantage en aval qu'en amont du foyer. La cartographie de la cavitation montre quant à elle la zone la plus en amont où sont visibles les bulles de cavitation, les bulles présentes plus loin ayant été écrantées acoustiquement par la partie amont du nuage de cavitation.

Concernant les résultats dans le gel d'agar, en milieu confiné, les bulles de cavitation se développent uniquement au niveau du foyer du transducteur, le nuage de bulles n'étant plus advecté par la pression de radiation. Dans le gel d'agar, les résultats montrent une zone d'évolution du nuage de cavitation très bien définie avec des écarts-types de distance de développement entre salves très faibles en comparaison du cas de l'eau. Comme pour le cas dans l'eau, la cartographie de la cavitation montre uniquement la zone amont du nuage de bulles, le reste du nuage étant écranté.

Pour ce qui concerne les résultats in vivo sur une brebis, les bulles de cavitation se développent en amont de l'ellipse identifiant géométriquement la position du foyer du transducteur, à environ 5 mm de sa partie amont. Ce décalage de la zone de cavitation en amont du foyer géométrique du transducteur

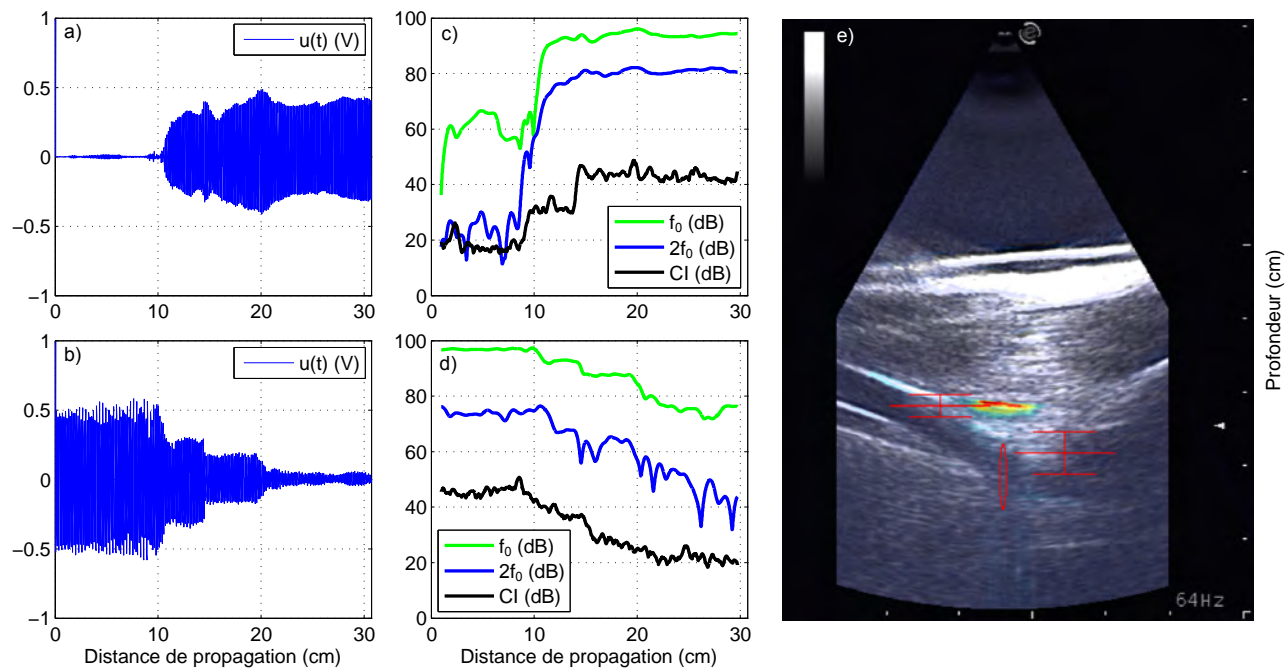


FIGURE 4.9 – Repérage spatial de la cavitation in vivo sur modèle ovin. Exemple d'évolution du signal temporel en fonction de la distance de propagation **a)** en début de salve et **b)** en fin de salve. Exemple d'évolution de f_0 , $2f_0$ et du CI en fonction de la distance de propagation **c)** en début de salve et **d)** en fin de salve. **e)** Image échographique (arrière plan) et cartographie de la cavitation (superposition colorée) de la zone contenant le foyer du transducteur (ellipse rouge). Moyenne et écart-type des distances minimum (tracé de gauche rouge) et maximum (tracé de droite rouge) de développement de la cavitation.

est lié, à la différence de vitesse de propagation de l'onde acoustique entre l'eau (dans le ballon de couplage) et le muscle (dans la brebis). Les mécanismes physiques produisant ce décalage sont détaillés dans la SECTION 4.4.3 qui suit. De plus, les résultats montrent une zone d'évolution du nuage de cavitation bien définie avec des écarts-types de distance de développement entre salves relativement faibles, à l'image des résultats obtenus en milieu confiné dans le gel d'agar. La cartographie de la cavitation montre, quant à elle, uniquement la zone amont du nuage de bulles, le reste du nuage étant écranté.

4.4.3 Décalage de la zone focale dans les tissus

Tissus	Densité ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	Vitesses (m/s)	Impédance acoustique ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
Air	1,2	333	$0,40\cdot 10^6$
Eau	$1,00\cdot 10^3$	1480	$1,48\cdot 10^6$
Graisse	$0,92\cdot 10^3$	1446	$1,33\cdot 10^6$
Muscle	$1,07\cdot 10^3$	1542 – 1626	$1,65 – 1,74\cdot 10^6$
Sang	$1,06\cdot 10^3$	1566	$1,66\cdot 10^6$
Os	$1,38 – 1,81\cdot 10^3$	2070 – 5350	$3,75 – 7,38\cdot 10^6$

TABLE 4.1 – Paramètres acoustiques dans l'air, l'eau et différents organes du corps humain [6].

La vitesse de propagation de l'onde ultrasonore étant dépendante du milieu dans lequel elle se propage (cf TABLE 4.1), deux mécanismes physiques distincts se cumulent et créent un décalage entre la zone d'évolution du nuage de cavitation et la zone où a été préliminairement placé le foyer. Ces mécanismes sont, d'une part, le positionnement fait par l'intermédiaire d'un échographe qui engendre une erreur de positionnement, et, d'autre part, la réfraction acoustique du faisceau ultrasonore qui a tendance à décaler le foyer en amont de la zone ciblée. Ces mécanismes sont détaillés dans les deux sous-sections qui suivent.

De plus, il est important de noter que les résultats de la technique de localisation détaillée précédemment subissent le même biais de décalage que les images échographiques réalisées. Ainsi, la superposition de ces deux modalités reste pertinente et l'interprétation des zones de cavitation par rapport aux repères anatomiques visibles sur l'échographie reste tout à fait juste même si les distances affichées ne correspondent pas aux distances réelles.

4.4.3.1 Positionnement échographique

Le fait d'utiliser la modalité d'échographie pour cibler la zone du thrombus à traiter pose un problème de positionnement lié à la variation de vitesse du son dans les milieux traversés. En effet, le milieu traversé dans la brebis est composé principalement de muscle dans lequel la vitesse du son moyenne est de 1580 m/s, alors que celle utilisée par l'échographe est fixée à 1500 m/s. Ainsi, lorsque du muscle est imagé, à cause de cette différence de vitesse, cette zone de muscle apparaît plus petite sur l'image qu'elle ne l'est en réalité. Par exemple, si 3 cm d'épaisseur de muscle sont imagés, ils

apparaîtront sur l'échographe avec une épaisseur de seulement 2,84 cm, soit une erreur de 1,6 mm ($\approx 6\%$). Si une mesure échographique est alors réalisée pour placer le foyer du transducteur au niveau de la paroi musculaire (à 2,84 cm de profondeur) le foyer sera positionné 1,6 mm en amont de la paroi ciblée qui se trouve en réalité à 3 cm de profondeur. Ainsi, plus l'épaisseur de tissu biologique traversé est importante, plus l'erreur commise lors du placement du foyer du transducteur l'est également. Afin de palier à cette erreur liée au placement par échographie, le foyer devra systématiquement être décalé en profondeur d'environ 0,5 mm par cm de tissus biologique traversé.

4.4.3.2 Réfraction acoustique

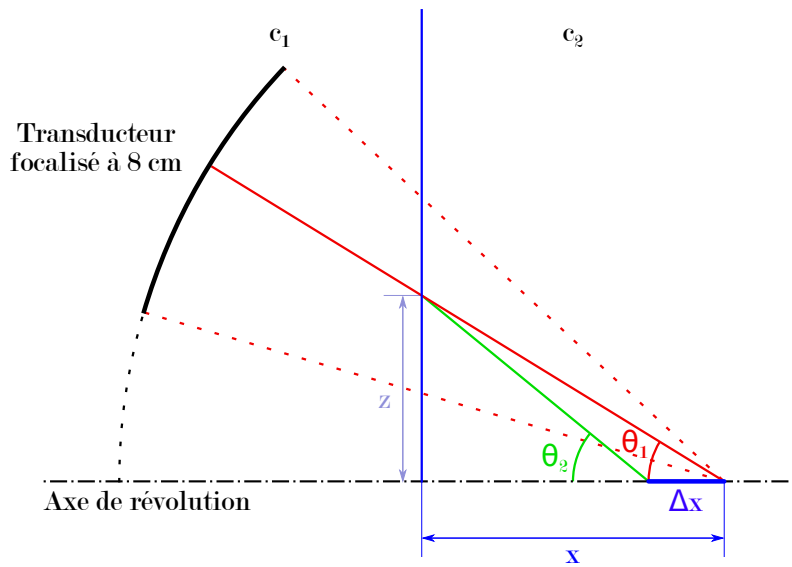


FIGURE 4.10 – Schéma du principe de réfraction pour le transducteur 1 MHz.

Le changement de vitesse de propagation dans les milieux traversés engendre également un décalage du foyer lié au phénomène physique de réfraction acoustique. En première approche, le raisonnement d'acoustique géométrique permet d'évaluer ce décalage. Pour le passage d'une onde acoustique d'un milieu 1 (vitesse du son c_1) à un milieu 2 (vitesse du son c_2), les changements d'angles des faisceaux acoustiques suivent la loi de Snell-Descartes :

$$\frac{\sin(\theta_1)}{c_1} = \frac{\sin(\theta_2)}{c_2}. \quad (4.2)$$

Ainsi, selon le schéma de la FIGURE 4.10, la distance de décalage Δx est donnée par la relation :

$$\Delta x = x - \frac{x}{\cos(\theta_1)} \sqrt{\frac{c_1^2}{c_2^2} - \sin^2(\theta_1)}. \quad (4.3)$$

Dans le cas du transducteur à 1 MHz troué, l'angle θ_1 variant de $16,33^\circ$ (θ_{1min}) à $38,68^\circ$ (θ_{1max}), le décalage Δx a été calculé pour plusieurs valeurs de profondeur x , le milieu 1 étant composé d'eau contenue dans le ballonnet de couplage ($c_1 = 1480$ m/s) et le milieu 2, le tissu biologique, considéré

comme étant principalement composé de muscle ($c_2 = 1580$ m/s). Les résultats sont donnés dans la TABLE 4.2.

	Profondeur (cm)				
	0	1	2	3	4
$\Delta x(\theta_{1o} = 0^\circ)(\text{ cm})$	0	0,0633	0,1266	0,1899	0,2532
$\Delta x(\theta_{1min} = 16,33^\circ)(\text{ cm})$	0	0,0689	0,1378	0,2068	0,2757
$\Delta x(\theta_{1max} = 38,68^\circ)(\text{ cm})$	0	0,1062	0,2124	0,3186	0,4248

TABLE 4.2 – Décalages du foyer par réfraction pour θ_{1o} , θ_{1min} et θ_{1max} à différentes profondeurs.

Ainsi, par exemple, si 3 cm de tissus biologique sont traversés, le décalage maximum du foyer sera d'environ 3 mm en amont de la zone ciblée. De plus, le décalage Δx augmentant avec l'augmentation de l'angle θ_1 , la réfraction a également tendance à défocaliser le transducteur. De même que pour le cas précédent, plus l'épaisseur de tissus biologique traversé est importante et plus l'erreur commise lors du placement du foyer du transducteur l'est également. Afin de palier à cette erreur liée au phénomène de réfraction acoustique, le foyer devra systématiquement être décalé en profondeur d'environ 1 mm par cm de tissus biologique traversé.

Finalement, pour prendre en compte ces deux mécanismes se cumulant, le foyer devra être décalé en profondeur d'environ 1,5 mm par cm de tissu biologique traversé, soit pour 3 cm de tissus traversé, un décalage d'environ 5 mm.

4.5 Résultats préliminaires de thrombolyse in vivo

Compte tenu du temps nécessaire à la mise au point du modèle animal, seules certaines des 10 expériences réalisées ont permis d'effectuer les tirs ultrasonores dans les conditions initialement recherchées. Ainsi, seuls les résultats dont les tirs ultrasonores ont été réalisés sur des thrombi totalement occlusifs et dont les contrôles angiographiques ont été réalisés sous injections contrôlées sont présentés. En pratique, cela représente 6 des 10 expériences réalisées sur la brebis.

Dans ce cas, une fois le thrombus repéré sur l'angiographie de contrôle, le tir ultrasonore de thrombolyse peut être réalisé. Afin de faciliter la génération de la cavitation, le point de départ du traitement est positionné au niveau de l'interface proximale du thrombus (interface située la plus en amont). De plus, en première approche, afin d'augmenter les chances de destruction du caillot sanguin, les paramètres de tirs ultrasonores suivants ont été adoptés :

- Régime pulsé de rapport cyclique 10% et de PRF 4 Hz.
- Régime régulé avec un $CI_{consigne}$ correspondant à environ 90% du CI maximum atteint lors des tirs d'étalonnage.
- Balayage d'environ 1 cm de caillot pendant une durée de 180 s (trajet aller) puis réalisation du trajet retour dans les mêmes conditions.

Les résultats préliminaires de ces tirs de thrombolyse sont présentés dans les deux sections qui suivent.

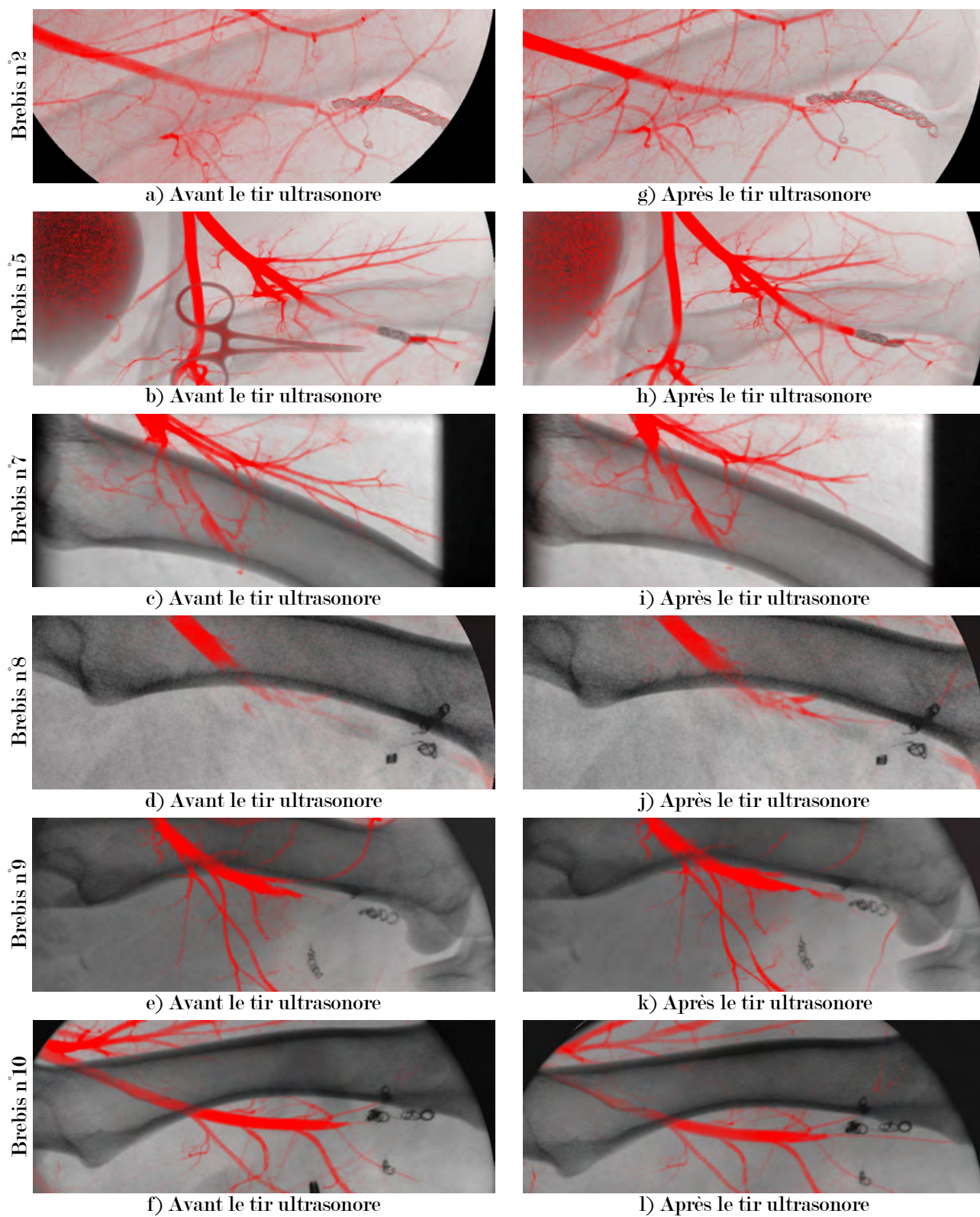


FIGURE 4.11 – Angiographies réalisés, **a-e)** avant le tir ultrasonore et **f-j)** après le tir ultrasonore, sur différentes brebis.

4.5.1 Résultats angiographiques de reperfusion

Etant donné la technique d'occlusion de l'artère fémorale choisie pour ce modèle d'ischémie (mise en place de ressorts d'embolisation), l'objectif n'est pas de rétablir le flux sanguin mais plutôt d'obtenir une reperfusion partielle de la zone thrombosée, située en amont des ressorts d'embolisation. Le contrôle de cette reperfusion est effectué par comparaison de deux angiographies, l'une réalisée avant le tir ultrasonore et l'autre après le tir ultrasonore. De plus, afin d'effectuer une comparaison pertinente, les angiographies sont réalisées dans les mêmes conditions avant et après le tir, c'est-à-dire que, d'une part, le cathéter injecteur reste positionné au même endroit pendant toute l'expérience et, d'autre part, que les injections sont réalisées à l'aide d'un injecteur automatique dont les réglages n'ont pas été modifiés. Les résultats d'angiographies concernant les 6 brebis dont les tirs ultrasonores ont été réalisés dans les conditions souhaitées, sont présentés sur la FIGURE 4.11.

Pour 3 des 6 cas présentés (brebis numéro 5, 8 et 9), les comparaisons des angiographies réalisées avant et après le tir ultrasonore montrent une reperfusion partielle mais nette des zones thrombosées. En effet, bien que les caillots sanguins n'aient pas complètement été détruits (préexistence de lacunes d'iode à différents endroits des vaisseaux), une reperfusion partielle est observée pour chacun de ces trois cas (augmentation ou apparition de contraste d'iode). De plus, pour 2 autres des 6 cas présentés (brebis numéro 7 et 10), les angiographies semblent montrer une légère reperfusion des zones thrombosées. Enfin, dans le cas de la brebis numéro 2, les angiographies ne montrent pas de reperfusion.

Finalement, les résultats des expériences préliminaires réalisées sur la brebis montrent que dans 3 à 5 des 6 brebis traitées, il y a eu une reperfusion des zones thrombosées.

4.5.2 Observations histologiques

En parallèle des résultats obtenus grâce à l'angiographie, les analyses histologiques des artères et tissus insonifiés ont permis, d'une part, d'étudier les caillots sanguins mis en place dans les artères fémorales de brebis ainsi que l'état de ces dernières et, d'autre part, de confirmer plusieurs mécanismes qui ont été observés pendant les expériences et qui sont liés aux tirs ultrasonores.

Premièrement, des exemples de coupes histologiques, présentés sur la FIGURE 4.12, permettent de mettre en évidence les différents "types de caillots" qui ont été observés. Les FIGURE 4.12 a) et b) montrent un caillot très frais (peut être même du sang non coagulé), qui se caractérise par la présence d'hématies dissociées. Les FIGURE 4.12 c) et d) montrent un caillot sanguin bien formé, résultat du processus de coagulation, qui se caractérise par la présence d'hématies associées les unes aux autres de manière homogène. Les FIGURE 4.12 e) et f) montrent quant à elles un caillot plus particulier, qui se caractérise par sa nature hétérogène avec des zones où les hématies sont absentes ou ont été lysées. Ce dernier type de caillot ressemble macroscopiquement à ceux déjà observés in vitro, dont seuls les fibres de fibrine demeuraient après le tir ultrasonore. L'observation de ce type de caillot in vivo pourrait donc être la marque de l'action de la cavitation.

Deuxièmement, un exemple de coupe histologique, présenté sur la FIGURE 4.13, permet de mettre en évidence un des dommages que l'artère est susceptible de subir par l'action de la cavitation. La

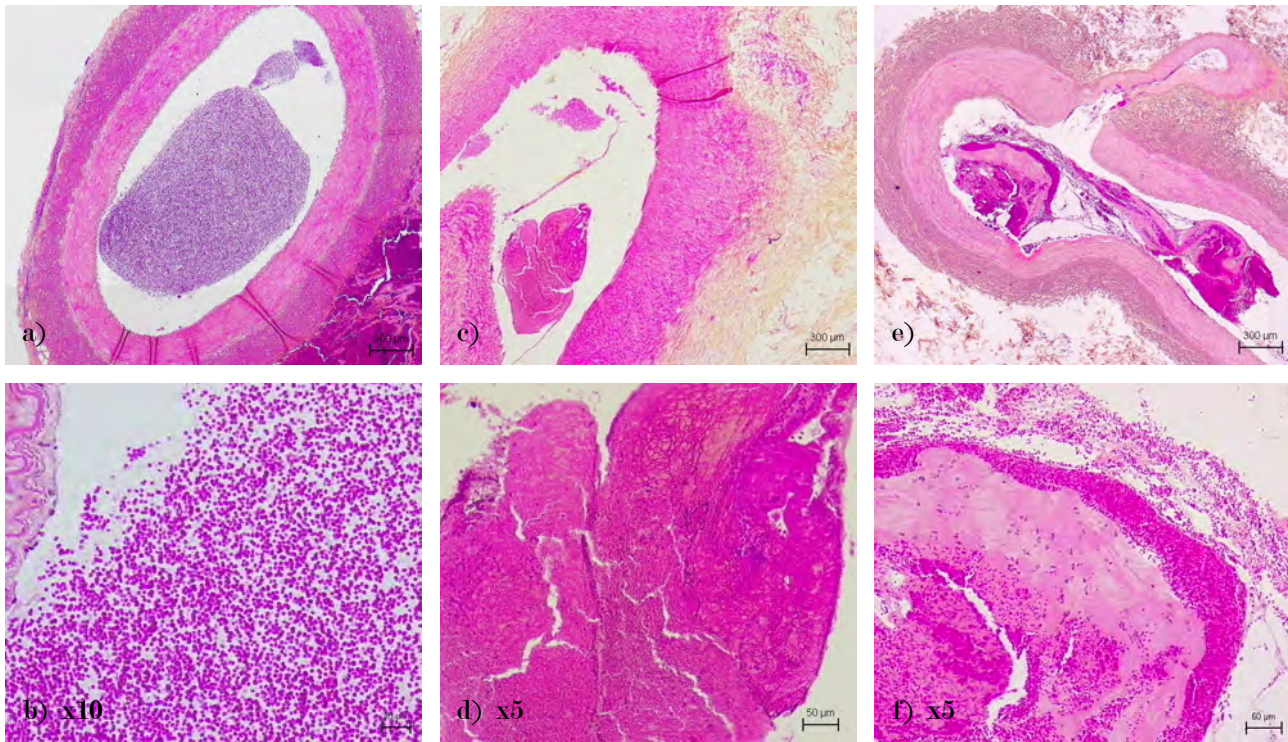


FIGURE 4.12 – Coupes histologiques de trois types de caillots, observés sous deux grossissements.

FIGURE 4.13 a) montre, d'une part, une déchirure de l'intima et de la média au niveau de laquelle un caillot sanguin s'est formé et, d'autre part, la présence d'un caillot sous-adventiciel qui s'est probablement formé à la suite de cette rupture.

Troisièmement, l'analyse histologique de l'artère de la brebis numéro 5 (FIGURE 4.14 b et c) a permis de confirmer l'observation réalisée par échographie (FIGURE 4.14 a) selon laquelle un caillot adhérent à la paroi artérielle s'était développé.

Ensuite, lors de la réalisation d'un tir ultrasonore sur la brebis numéro 3, à cause du décalage du foyer (cf SECTION 4.4), il avait été observé sous échographie (FIGURE 4.15 a et d) l'apparition d'une

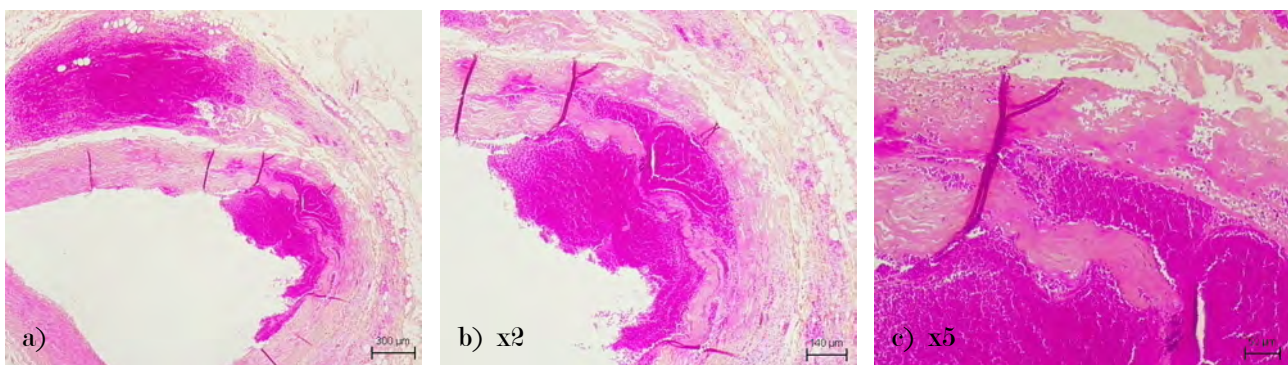


FIGURE 4.13 – Coupe histologique d'une paroi artérielle ayant subi des dommages, observée sous différents grossissements.

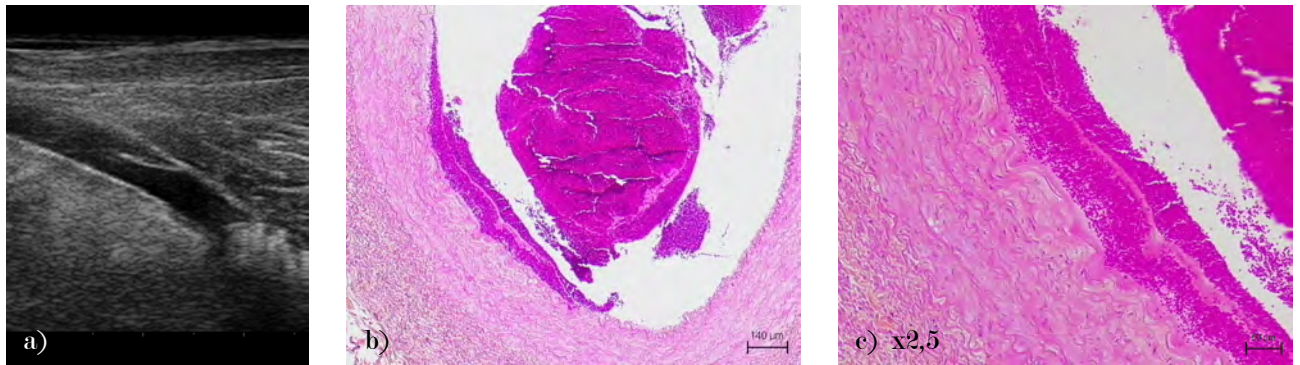


FIGURE 4.14 – **a)** Image échographique d'un caillot adhérent à la paroi artérielle. **b-c)** Coupe histologique d'un caillot adhérent à la paroi artérielle observée sous deux grossissements.

tâche dans le muscle. L'analyse histologique du prélèvement de muscle (FIGURE 4.15 e et f) a révélé la présence d'une zone de nécrose musculaire correspondant aux observations.

Enfin, après plusieurs tirs ultrasonores sur la brebis numéro 5, il avait été observé une brûlure en forme d'anneau qui s'était formée à la surface de la peau (FIGURE 4.16 a). L'analyse histologique du prélèvement de peau (FIGURE 4.16 c) a montré deux éléments caractéristiques d'une brûlure, qui sont

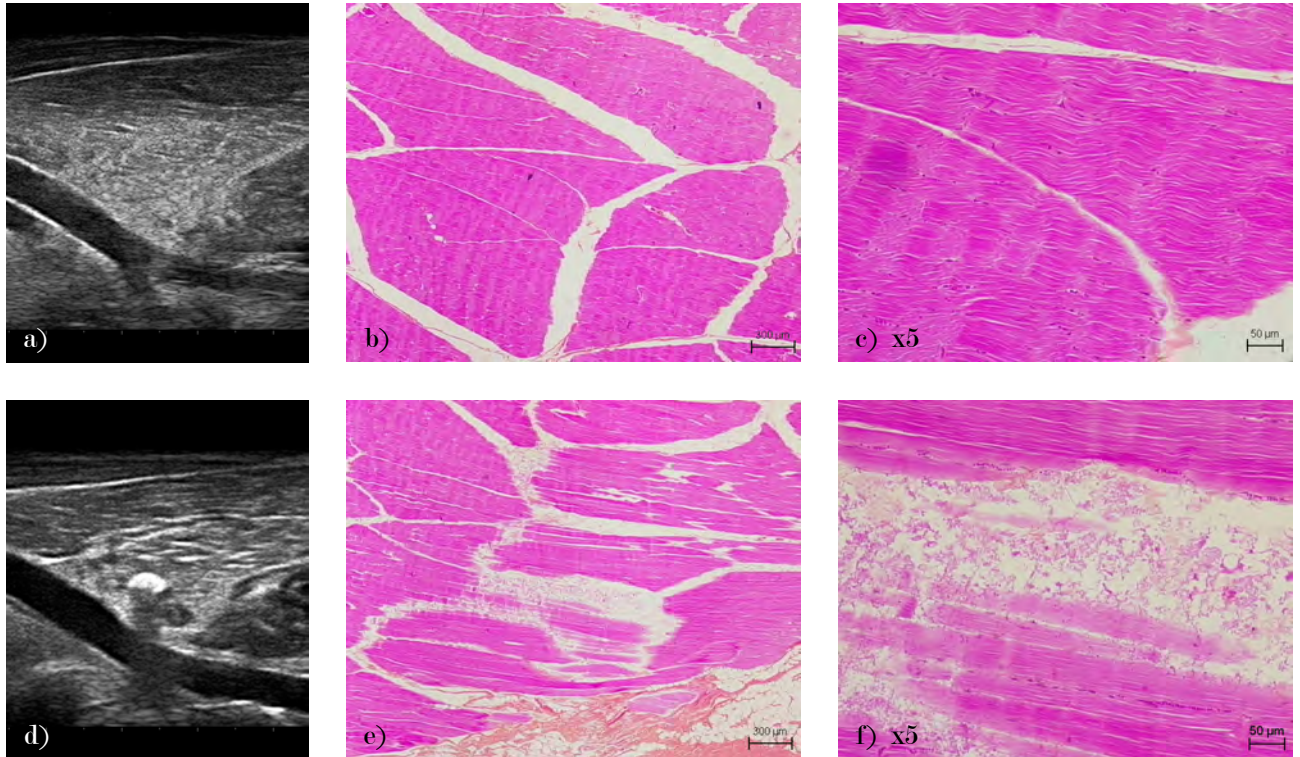


FIGURE 4.15 – Images échographiques **a)** d'un muscle sain et **b)** d'un muscle ayant subi des dommages à la suite d'un tir ultrasonore. Coupes histologiques **b-c)** d'un muscle sain et **e-f)** d'un muscle nécrosé observées sous deux grossissements.

le décollement de la lame basale de l'épiderme et la présence de vaisseaux sanguins congestifs.

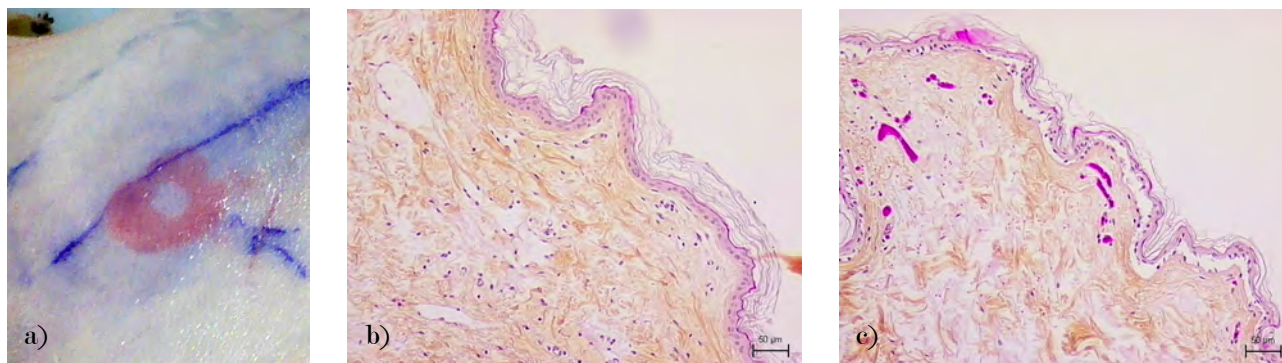


FIGURE 4.16 – **a)** Photo d'une brûlure de la peau suite à une série de tirs ultrasonores. Coupes histologiques **b)** de peau saine et **c)** de peau ayant subi des brûlures.

Ainsi, l'analyse histologique semble être la technique la plus adaptée pour le contrôle de l'ensemble des tissus traversés (peau, muscle et paroi artérielle). En particulier, à terme, elle paraît être un des éléments indispensables à mettre en œuvre afin de pouvoir contrôler et certifier que le traitement ultrasonore n'endommage pas la paroi artérielle. En outre, elle pourrait également s'avérer utile pour le contrôle des thrombi que l'on retrouve dans l'artère après le tir de thrombolyse ultrasonore.

4.5.3 Discussion et perspectives

Ces résultats sont très encourageants et permettent de valider in vivo le concept de thrombolyse extracorporelle purement ultrasonore basée sur la cavitation inertielle régulée. Cependant, plusieurs éléments doivent encore être améliorés pour rendre le système de thrombolyse ultrasonore plus efficace et plus sûr. D'abord, le problème majeur rencontré lors des expériences réalisées sur la brebis est l'absence de contrôle spatial de la cavitation, qui ne permet pas de vérifier pendant le traitement la zone qui est réellement traitée, malgré la prise en compte du décalage de la zone focale dans les tissus. Ce type de contrôle permettrait de s'assurer que la cavitation est générée au niveau du caillot à détruire et permettrait ainsi d'éviter les cas où la cavitation est générée en dehors de l'artère, comme par exemple dans le muscle, à l'image de ce qui a été observé sur la brebis numéro 3. Ensuite, les paramètres de tir ultrasonore nécessiteraient également d'être optimisés afin, d'une part, d'éviter tout endommagement des tissus traversés et, d'autre part, de détruire plus efficacement les thrombi. En particulier, le rapport cyclique des tirs ultrasonores mériterait d'être abaissé à 1% comme pour les tests in vitro, et l'eau contenue dans le ballonnet de couplage pourrait être réfrigérée afin de préserver thermiquement la peau traversée. De plus, compte tenu de la taille de la zone focale du transducteur (1,1 mm de large), il pourrait être intéressant de balayer également latéralement le caillot sanguin afin de pouvoir espérer le détruire totalement. Enfin, d'autres éléments moins cruciaux pourraient encore être optimisés, comme par exemple le placement du système de thérapie qui serait plus ergonomique si le bras robotisé pouvait être déplacé à la main (robot collaboratif) pour la phase de repérage, ou encore l'imagerie échographique du système de thérapie (sonde LA332) qui pourrait encore être améliorée afin

de se rapprocher de la qualité des images obtenues grâce à la sonde linéaire LA533.

4.6 Conclusion

Le système de régulation temporelle de la cavitation mis en place (cf CHAPITRE 2) a été testé pour des essais de thrombolyse *in vivo*. Le principe du dispositif expérimental mis en place pour les tests *in vitro* (cf CHAPITRE 3) a été réutilisé pour développer un dispositif permettant d'effectuer des expériences de thrombolyse purement ultrasonore extracorporelle *in vivo*. Ce dispositif est composé du système de régulation de la cavitation qui a été intégré dans une tête de thérapie dédiée et montée sur un système robotisé guidé par échographie permettant le ciblage et le traitement des thrombi.

Afin de tester ce dispositif *in vivo*, un modèle d'ischémie aiguë de membre inférieur chez la brebis a été développé. Ce modèle consiste à occlure l'artère fémorale de la brebis à l'aide de ressorts d'embolisation puis d'y injecter du thrombus afin que celui-ci se développe en amont des ressorts. Une fois la taille du caillot requise obtenue, une injection d'héparine permet de stabiliser le thrombus. Ainsi, ce modèle de thrombose artérielle permet d'obtenir un thrombus de 2 cm à 3 cm de long dans l'artère fémorale de la brebis en moins d'une heure.

Un système préliminaire d'évaluation de la position de la cavitation, basé sur le principe du pulse-écho, a été développé afin d'évaluer la zone de développement du nuage de cavitation le long de l'axe acoustique. Ce système d'évaluation de la position de la cavitation inertielle a ensuite été caractérisé dans une cuve d'eau, dans un gel d'agar et *in vivo*. Il permet de connaître pour chaque salve la zone de développement du nuage de cavitation le long de l'axe acoustique, mais ne permet pas encore de piloter le traitement ultrasonore *in vivo*. En outre, il a permis de mettre en évidence un problème de décalage de la zone focale dans le tissu biologique lié, d'une part, au positionnement échographique et, d'autre part, au probable phénomène de réfraction acoustique qui décale la zone focale vers la surface de la peau d'environ 1,5 mm par cm de tissu biologique traversé.

Enfin, les premiers résultats des expériences réalisées sur la brebis ont montré que, dans au moins 50% des cas, le système de thrombolyse avait permis une reperfusion partielle des zones thrombosées. Ces résultats préliminaires s'avèrent donc très encourageants pour l'avenir et ont permis de valider *in vivo* le principe de thrombolyse ultrasonore basée sur la cavitation inertielle régulée. En revanche, différents éléments du système peuvent encore être améliorés, comme la mise en place d'un système de contrôle spatial de la cavitation ou l'optimisation des paramètres des tirs ultrasonores pour rendre le système de thrombolyse ultrasonore plus efficace et plus sûr.

Conclusion

L'objectif de cette thèse était de proposer un système permettant de réguler l'activité de cavitation inertielle en régime pulsé, en vue de développer une technique, alternative à l'histotritie, de thrombolyse purement ultrasonore par voie extracorporelle.

A cette fin, un système permettant le contrôle temporel de l'activité de cavitation en régime pulsé a été développé puis caractérisé dans une cuve d'eau filtrée, pour différentes teneurs en gaz dissout (3, 5 et 7 mg/L de O₂) et à deux fréquences ultrasonores (550 kHz et 1 MHz). Ce dispositif utilise un transducteur focalisé pour générer le champ acoustique à partir duquel est susceptible de se former un nuage de cavitation. Un hydrophone passif permet de quantifier l'activité de cavitation inertielle par calcul d'un indice de cavitation (CI), qui correspond à la moyenne du bruit large-bande des signaux, le bruit large bande constituant la signature acoustique de l'implosion des bulles de cavitation. A partir de cet indice, une boucle de rétroaction réalisée à l'aide d'un circuit logique programmable (FPGA) permet d'adapter l'intensité acoustique envoyée par le transducteur afin de maintenir une activité de cavitation constante au cours du temps, la régulation s'effectuant à 2325 Hz (temps de rétroaction de 430 μ s). Alors qu'en régime non régulé l'activité de cavitation a un caractère très aléatoire, le système de régulation mis au point permet d'atteindre un niveau de cavitation souhaité de manière très reproductible et avec une bonne stabilité temporelle. Il permet d'accéder aux activités de cavitation intermédiaires les moins reproductibles en non régulé, mais qui pourraient être potentiellement les plus intéressantes pour les applications cliniques.

L'application de ce dispositif à la thrombolyse ultrasonore a été testée in vitro sur des caillots sanguins préparés par coagulation de poches de sang humain. Les tests ont été réalisés à deux fréquences ultrasonores (550 kHz et 1 MHz) et en régime pulsé pour deux rapports cycliques (10% et 1%). Au dispositif précédent a été ajouté un système permettant de déplacer le caillot sanguin au niveau du foyer du transducteur, ainsi qu'un système permettant de compter à la fin de chaque tir le nombre de fragments libérés par la destruction du caillot. En comparaison des essais en régime non régulé, les essais en régime régulé ont montré une excellente efficacité thrombolytique et une très bonne reproductibilité dès lors que l'activité de cavitation était suffisante pour détruire le caillot. Le système développé a également permis de diminuer les intensités acoustiques utilisées en régime régulé par rapport à celles utilisées en régime non régulé.

En parallèle des essais in vitro, une campagne de thrombolyse ultrasonore in vivo a été mise en place afin de réaliser des essais sur un modèle animal d'ischémie aiguë de membre inférieur. Une tête de thérapie dédiée composée d'un transducteur 1 MHz, d'un hydrophone et d'un système échographique

a été développée. Un bras robotisé 6 axes sur lequel est monté ce dispositif ultrasonore extracorporel a été utilisé pour cibler et balayer le thrombus de manière contrôlée, le couplage ultrasonore entre la tête de thérapie et l'animal étant réalisé par l'intermédiaire d'un ballonnet. Un modèle ovin de thrombose artérielle a été développé et permet la mise en place d'un caillot sanguin de longueur contrôlée dans l'artère fémorale d'une brebis en moins d'une heure. Les résultats préliminaires des tirs ultrasonores ont permis de valider in vivo le concept de thrombolyse extracorporelle purement ultrasonore basée sur la cavitation inertielle régulée. En effet, ils ont montré que dans au moins 50% des cas, le système de thrombolyse ultrasonore avait permis une reperfusion partielle des zones thrombosées.

Tous ces résultats très encourageants montrent l'intérêt d'utiliser un système de régulation de l'activité de cavitation dans le domaine de la thrombolyse ultrasonore par voie extracorporelle. De plus, deux pistes de recherche pourraient permettre d'améliorer le dispositif de thrombolyse in vivo qui a été développé. Premièrement, la mise en place d'un système de contrôle spatial de la cavitation permettrait au cours du tir d'assurer que le nuage de cavitation est bien généré au niveau du thrombus à traiter. Deuxièmement, l'utilisation d'une excitation bifréquentielle pourrait permettre d'abaisser les intensités acoustiques nécessaires à la lyse des caillots sanguins et ainsi diminuer encore la dose thermique déposée. Plus généralement, un tel dispositif de régulation pourrait permettre d'améliorer significativement la reproductibilité des applications basées sur l'utilisation de la cavitation inertielle. En effet, les paramètres de régulation étant facilement modifiables, ce dispositif s'avère être un système polyvalent qui pourrait être utilisé dans de nombreuses applications.

Bibliographie

- [1] H. P. Adams, B. H. Bendixen, L. J. Kappelle, J. Biller, B. B. Love, D. L. Gordon, and E. E. Marsh. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*, 24(1) :35–41, Jan. 1993.
- [2] A. V. Alexandrov. Ultrasound enhanced thrombolysis for stroke. *International Journal of Stroke*, 1(1) :26–29, Feb. 2006.
- [3] A. V. Alexandrov, C. A. Molina, J. C. Grotta, Z. Garami, S. R. Ford, J. Alvarez-Sabin, J. Montaner, M. Saqqur, A. M. Demchuk, L. A. Moya, M. D. Hill, and A. W. Wojner. Ultrasound-enhanced systemic thrombolysis for acute ischemic stroke. *New England Journal of Medicine*, 351(21) :2170–2178, Nov. 2004.
- [4] R. E. Apfel and C. K. Holland. Gauging the likelihood of cavitation from short-pulse, low-duty cycle diagnostic ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 17(2) :179–185, Jan. 1991.
- [5] S. Atar, H. Luo, T. Nagai, and R. J. Siegel. Ultrasonic thrombolysis : catheter-delivered and transcutaneous applications. *European Journal of Ultrasound*, 9(1) :39–54, Mar. 1999.
- [6] M. Berson. Physique des ultrasons, modes échographiques et structure des appareils d'échographie. *Cours de DEA SIBM, Université de Tours*, 2006.
- [7] Y. Birnbaum, H. Luo, T. Nagai, M. C. Fishbein, T. M. Peterson, S. Li, D. Kricsfeld, T. R. Porter, and R. J. Siegel. Noninvasive in vivo clot dissolution without a thrombolytic drug recanalization of thrombosed iliofemoral arteries by transcutaneous ultrasound combined with intravenous infusion of microbubbles. *Circulation*, 97(2) :130–134, Jan. 1998.
- [8] B. Boode, V. Welzen, C. Franke, and R. van Oostenbrugge. Estimating the number of stroke patients eligible for thrombolytic treatment if delay could be avoided. *Cerebrovascular Diseases*, 23(4) :294–298, Mar. 2007.
- [9] C. E. Brennen. *Cavitation and bubble dynamics*. Oxford University Press, 1995.
- [10] B. R. Brodie, T. D. Stuckey, T. C. Wall, G. Kissling, C. J. Hansen, D. B. Muncy, R. A. Weintraub, and T. A. Kelly. Importance of time to reperfusion for 30-day and late survival and recovery of

- left ventricular function after primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 32(5) :1312–1319, Nov. 1998.
- [11] D. J. Brotman, S. R. Deitcher, G. Y. H. Lip, and A. C. Matzdorff. Virchow's triad revisited. *Southern Medical Journal*, 97(2) :213–214, Feb. 2004.
- [12] C. Coviello, R. Kozick, J. Choi, M. Gyangy, C. Jensen, P. P. Smith, and C.-C. Coussios. Passive acoustic mapping utilizing optimal beamforming in ultrasound therapy monitoring. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 137(5) :2573–2585, May 2015.
- [13] D. R. Cragg, H. Z. Friedman, J. D. Bonema, I. A. Jaiyesimi, R. G. Ramos, G. C. Timmis, W. W. O'Neill, and T. L. Schreiber. Outcome of patients with acute myocardial infarction who are ineligible for thrombolytic therapy. *Annals of Internal Medicine*, 115(3) :173–177, Aug. 1991.
- [14] L. Crum. Surface oscillations and jet development in pulsating bubbles. *Journal de Physique*, 41 :285–288, 1979.
- [15] J. Curie and P. Curie. Développement, par pression, de l'électricité polaire dans les cristaux hémihédres à faces inclinées. *Comptes Rendus*, 91 :294–295, 1880.
- [16] S. Datta, C.-C. Coussios, L. E. McAdory, J. Tan, T. Porter, G. De Courten-Myers, and C. K. Holland. Correlation of cavitation with ultrasound enhancement of thrombolysis. *Ultrasound in medicine & biology*, 32(8) :1257–1267, Aug. 2006.
- [17] B. Devcic-Kuhar, S. Pfaffenberger, M. Grschl, C. Kollmann, E. Benes, and M. Gottsauner-Wolf. In vitro thrombolysis enhanced by standing and travelling ultrasound wave fields. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 28(9) :1181–1187, Sept. 2002.
- [18] A. Eller and H. G. Flynn. Generation of subharmonics of order one-half by bubbles in a sound field. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 44(1) :368–369, Nov. 1968.
- [19] S. Y. Emelianov, X. Chen, M. O'Donnel, B. Knipp, D. Myers, T. W. Wakefield, and J. M. Rubin. Triplex ultrasound : elasticity imaging to age deep venous thrombosis. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 28(6) :757–767, June 2002.
- [20] E. Falk. Coronary thrombosis : Pathogenesis and clinical manifestations. *The American Journal of Cardiology*, 68(7) :B28–B35, Sept. 1991.
- [21] J. Fang, C.-K. Chen, J.-Y. Peng, C.-H. Hsu, Y.-M. Jeng, Y.-H. Lee, J.-J. Lin, and P.-H. Tsui. Changes in backscattered ultrasonic envelope statistics as a function of thrombus age : An in vitro study. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 41(2) :498–508, Feb. 2015.
- [22] J. B. Fowlkes, R. M. Strieter, L. J. Downing, S. L. Brown, A. Saluja, S. Salles-Cunha, A. M. Kadell, S. K. Wroblewski, and T. W. Wakefield. Ultrasound echogenicity in experimental venous thrombosis. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 24(8) :1175–1182, Oct. 1998.

- [23] C. W. Francis, A. Blinc, S. Lee, and C. Cox. Ultrasound accelerates transport of recombinant tissue plasminogen activator into clots. *Ultrasound in medicine & biology*, 21(3) :419–424, Mar. 1995.
- [24] H. Z. Friedman. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *New England Journal of Medicine*, 334(21) :1405–1406, May 1996.
- [25] J. Frohly, S. Labouret, C. Bruneel, I. Looten-Baquet, and R. Torguet. Ultrasonic cavitation monitoring by acoustic noise power measurement. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 108(5) :2012–2020, Nov. 2000.
- [26] W. J. Fry. Ultrasound in neurology. *Neurology*, 6(10) :693–704, Oct. 1956.
- [27] J. Gateau, J.-F. Aubry, M. Pernot, M. Fink, and M. Tanter. Combined passive detection and ultrafast active imaging of cavitation events induced by short pulses of high-intensity ultrasound. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 58(3) :517–532, Mar. 2011.
- [28] R. G. Hart, L. A. Pearce, and M. I. Aguilar. Meta-analysis : Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Annals of Internal Medicine*, 146(12) :857–867, June 2007.
- [29] E. N. Harvey and A. L. Loomis. High frequency sound waves of small intensity and their biological effects. *Nature*, 121 :622–624, Apr. 1928.
- [30] K. J. Haworth, T. D. Mast, K. Radhakrishnan, M. T. Burgess, J. A. Kopechek, S.-L. Huang, D. D. McPherson, and C. K. Holland. Passive imaging with pulsed ultrasound insonations. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 132(1) :544–553, July 2012.
- [31] C. Heneghan and R. Perera. Oral anticoagulation therapy (OAT). *Evidence-based medical monitoring*, pages 229–243, 2008.
- [32] N. Hockham, C. Coussios, and M. Arora. A real-time controller for sustaining thermally relevant acoustic cavitation during ultrasound therapy. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 57(12) :2685–2694, Dec. 2010.
- [33] R. G. Holt and R. A. Roy. Measurements of bubble-enhanced heating from focused, mhz-frequency ultrasound in a tissue-mimicking material. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 27(10) :1399–1412, Oct. 2001.
- [34] I. K. Jang, H. K. Gold, A. A. Ziskind, J. T. Fallon, R. E. Holt, R. C. Leinbach, J. W. May, and D. Collen. Differential sensitivity of erythrocyte-rich and platelet-rich arterial thrombi to lysis with recombinant tissue-type plasminogen activator. A possible explanation for resistance to coronary thrombolysis. *Circulation*, 79(4) :920–928, Apr. 1989.

- [35] S. Jones. Bubble nucleation from gas cavities : A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 80(1) :27–50, Feb. 1999.
- [36] S. Kaul. Sonothrombolysis a universally applicable and better way to treat acute myocardial infarction and stroke? Who is going to fund the Research? *Circulation*, 119(10) :1358–1360, Mar. 2009.
- [37] J. B. Keller and M. Miksis. Bubble oscillations of large amplitude. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 68(2) :628–633, Aug. 1980.
- [38] K. Kieran, T. L. Hall, J. E. Parsons, J. S. Wolf Jr., J. B. Fowlkes, C. A. Cain, and W. W. Roberts. Refining histotripsy : Defining the parameter space for the creation of nonthermal lesions with high intensity, pulsed focused ultrasound of the in vitro kidney. *The Journal of Urology*, 178(2) :672–676, Aug. 2007.
- [39] R. Kornowski, R. S. Meltzer, A. Chernine, Z. Vered, and A. Battler. Does external ultrasound accelerate thrombolysis? Results from a rabbit model. *Circulation*, 89(1) :339–344, Jan. 1994.
- [40] H. M. Krumholz, G. C. Friesinger, E. F. Cook, T. H. Lee, G. W. Rouan, and L. Goldman. Relationship of age with eligibility for thrombolytic therapy and mortality among patients with suspected acute myocardial infarction. *Journal of the American Geriatrics Society*, 42(2) :127–131, Feb. 1994.
- [41] D. N. Ku. Blood flow in arteries. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 29(1) :399–434, Jan. 1997.
- [42] N. Kucher, E. Rossi, M. D. Rosa, and S. Z. Goldhaber. Massive pulmonary embolism. *Circulation*, 113(4) :577–582, Jan. 2006.
- [43] A. M. Lake, T. L. Hall, K. Kieran, J. B. Fowlkes, C. A. Cain, and W. W. Roberts. Histotripsy : Minimally invasive technology for prostatic tissue ablation in an in vivo canine model. *Urology*, 72(3) :682–686, Sept. 2008.
- [44] P. M. Lavados, A. J. Hennis, J. G. Fernandes, M. T. Medina, B. Legetic, A. Hoppe, C. Sacks, L. Jadue, and R. Salinas. Stroke epidemiology, prevention, and management strategies at a regional level : Latin America and the Caribbean. *The Lancet Neurology*, 6(4) :362–372, Apr. 2007.
- [45] K. R. Lees. Management of acute stroke. *The Lancet Neurology*, 1(1) :41–50, May 2002.
- [46] T. G. Leighton. Bubble population phenomena in acoustic cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2(2) :S123–S136, Oct. 1995.
- [47] T. G. Leighton. *The Acoustic Bubble*. Academic Press, 1997.
- [48] P. Libby and P. Theroux. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*, 111(25) :3481–3488, June 2005.

- [49] R. H. Liu, J. Yang, M. Z. Pindera, M. Athavale, and P. Grodzinski. Bubble-induced acoustic micromixing. *Lab on a Chip*, 2(3) :151–157, Aug. 2002.
- [50] M. Lokhandwalla and B. Sturtevant. Mechanical haemolysis in shock wave lithotripsy (SWL) : I. Analysis of cell deformation due to SWL flow-fields. *Physics in Medicine and Biology*, 46(2) :413–437, Feb. 2001.
- [51] M. S. Longuet-Higgins. Bubble noise spectra. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 87(2) :652–661, Feb. 1990.
- [52] J. A. Lopez, C. Kearon, and A. Y. Y. Lee. Deep venous thrombosis. *ASH Education Program Book*, 2004(1) :439–456, Jan. 2004.
- [53] J. G. Lynn, R. L. Zwemer, A. J. Chick, and A. E. Miller. A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology. *The Journal of General Physiology*, 26(2) :179–193, Nov. 1942.
- [54] F. Mahler and D.-D. Do. Catheter interventions in acute and subacute occlusions of peripheral arteries. *Radiology of Peripheral Vascular Diseases*, pages 451–456, 2000.
- [55] V. J. Marder, D. J. Chute, S. Starkman, A. M. Abolian, C. Kidwell, D. Liebeskind, B. Ovbiagele, F. Vinuela, G. Duckwiler, R. Jahan, P. M. Vespa, S. Selco, V. Rajajee, D. Kim, N. Sanossian, and J. L. Saver. Analysis of thrombi retrieved from cerebral arteries of patients with acute ischemic stroke. *Stroke ; a Journal of Cerebral Circulation*, 37(8) :2086–2093, Aug. 2006.
- [56] A. D. Maxwell, C. A. Cain, A. P. Duryea, L. Yuan, H. S. Gurm, and Z. Xu. Noninvasive thrombolysis using pulsed ultrasound cavitation therapy : histotripsy. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 35(12) :1982–1994, Dec. 2009.
- [57] A. D. Maxwell, G. Owens, H. S. Gurm, K. Ives, D. D. Myers Jr, and Z. Xu. Noninvasive treatment of deep venous thrombosis using pulsed ultrasound cavitation therapy (Histotripsy) in a porcine model. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 22(3) :369–377, Mar. 2011.
- [58] C. A. Molina, J. Montaner, J. F. Arenillas, M. Ribo, M. Rubiera, and J. Alvarez-Sabin. Differential pattern of tissue plasminogen activator-induced proximal middle cerebral artery recanalization among stroke subtypes. *Stroke*, 35(2) :486–490, Jan. 2004.
- [59] P. Muleki Seya, C. Desjouis, J.-C. Béra, and C. Inserra. Hysteresis of inertial cavitation activity induced by fluctuating bubble size distribution. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27 :262–267, Nov. 2015.
- [60] C.-D. Ohl, M. Arora, R. Ikink, N. de Jong, M. Versluis, M. Delius, and D. Lohse. Sonoporation from jetting cavitation bubbles. *Biophysical Journal*, 91(11) :4285–4295, Dec. 2006.

- [61] K. Ouriel, F. J. Veith, and A. A. Sasahara. A comparison of recombinant urokinase with vascular surgery as initial treatment for acute arterial occlusion of the legs. *New England Journal of Medicine*, 338(16) :1105–1111, Apr. 1998.
- [62] S. Pfaffenberger, B. Devcic-Kuhar, S. P. Kastl, K. Huber, G. Maurer, J. Wojta, and M. Gottsauner-Wolf. Ultrasound thrombolysis. *Thrombosis and Haemostasis*, 2005.
- [63] M. Plesset and A. Prosperetti. Bubble dynamics and cavitation. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 9 :145–85, Jan. 1977.
- [64] T. R. Porter, R. F. LeVeen, R. Fox, A. Kricsfeld, and F. Xie. Thrombolytic enhancement with perfluorocarbon-exposed sonicated dextrose albumin microbubbles. *American heart journal*, 132(5) :964–968, Nov. 1996.
- [65] A. F. Prokop, A. Soltani, and R. A. Roy. Cavitational mechanisms in ultrasound-accelerated fibrinolysis. *Ultrasound in medicine & biology*, 33(6) :924–933, June 2007.
- [66] A. Prosperetti, L. A. Crum, and K. W. Commander. Nonlinear bubble dynamics. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 83(2) :502–514, Feb. 1988.
- [67] K. C. Rao, A. V. Rajulu, and S. V. Naidu. Acoustical parameters of poly(vinyl pyrrolidone) solutions. *Acta Polymerica*, 40(12) :743–746, Dec. 1989.
- [68] U. Rauch, J. I. Osende, V. Fuster, J. J. Badimon, Z. Fayad, and J. H. Chesebro. Thrombus formation on atherosclerotic plaques : pathogenesis and clinical consequences. *Annals of Internal Medicine*, 134(3) :224–238, Feb. 2001.
- [69] W. W. Roberts, T. L. Hall, K. Ives, J. S. Wolf Jr, J. B. Fowlkes, and C. A. Cain. Pulsed cavitational ultrasound : A noninvasive technology for controlled tissue ablation (Histotripsy) in the rabbit kidney. *The Journal of Urology*, 175(2) :734–738, Feb. 2006.
- [70] U. Rosenschein, V. Furman, E. Kerner, I. Fabian, J. Bernheim, and Y. Eshel. Ultrasound imaging-guided noninvasive ultrasound thrombolysis preclinical results. *Circulation*, 102(2) :238–245, July 2000.
- [71] U. Rosenschein, S. J. Yakubov, D. Guberinich, D. S. Bach, P. L. Sonda, G. D. Abrams, and E. J. Topol. Shock-wave thrombus ablation, a new method for noninvasive mechanical thrombolysis. *The American Journal of Cardiology*, 70(15) :1358–1361, Nov. 1992.
- [72] A. Sabraoui, C. Insera, B. Gilles, J.-C. Béra, and J.-L. Mestas. Feedback loop process to control acoustic cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(2) :589–594, Mar. 2011.
- [73] I. Saletes, B. Gilles, V. Auboiroux, N. Bendridi, R. Salomir, and J.-C. Béra. In vitro demonstration of focused ultrasound thrombolysis using bifrequency excitation. *BioMed Research International*, 2014 :518787, Aug. 2014.

- [74] V. A. Salgaonkar, S. Datta, C. K. Holland, and T. D. Mast. Passive cavitation imaging with ultrasound arrays. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 126(6) :3071–3083, Dec. 2009.
- [75] O. A. Sapozhnikov, A. D. Maxwell, B. MacConaghy, and M. R. Bailey. A mechanistic analysis of stone fracture in lithotripsy. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 121(2) :1190–1202, Feb. 2007.
- [76] S. Schafer, S. Kliner, L. Klinghammer, H. Kaarmann, I. Lucic, U. Nixdorff, U. Rosenschein, W. G. Daniel, and F. A. Flachskampf. Influence of ultrasound operating parameters on ultrasound-induced thrombolysis in vitro. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 31(6) :841–847, June 2005.
- [77] R. K. Schlicher, H. Radhakrishna, T. P. Tolentino, R. P. Apkarian, V. Zarnitsyn, and M. R. Prausnitz. Mechanism of intracellular delivery by acoustic cavitation. *Ultrasound in medicine & biology*, 32(6) :915–924, June 2006.
- [78] S. Schulman, R. J. Beyth, C. Kearon, and M. N. Levine. Hemorrhagic complications of anticoagulant and thrombolytic treatment : American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*, 133(6) :257S–298S, June 2008.
- [79] M. J. A. Sharafuddin and M. E. Hicks. Current status of percutaneous mechanical thrombectomy. Part I. General principles. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 8(6) :911–921, Nov. 1997.
- [80] M. J. A. Sharafuddin and M. E. Hicks. Current status of percutaneous mechanical thrombectomy. Part II. Devices and mechanisms of action. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 9(1) :15–31, Jan. 1998.
- [81] R. D. Shlansky-Goldberg, D. B. Cines, and C. M. Sehgal. Catheter-delivered ultrasound potentiates in vitro thrombolysis. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 7(3) :313–320, May 1996.
- [82] R. J. Siegel, S. Atar, M. C. Fishbein, A. V. Brasch, T. M. Peterson, T. Nagai, D. Pal, T. Nishioka, J.-S. Chae, Y. Birnbaum, C. Zanelli, and H. Luo. Noninvasive transcatheter low frequency ultrasound enhances thrombolysis in peripheral and coronary arteries. *Echocardiography*, 18(3) :247–257, Apr. 2001.
- [83] M. Simoons, E. Topol, R. Califf, F. Werf, P. Armstrong, P. Aylward, G. Barbash, E. Bates, A. Betriu, J. Chesebro, J. Col, D. Bono, J. Gore, A. Guerci, and J. Hampton. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*, 329(10) :673–682, Jan. 1993.
- [84] W. S. Smith. Safety of mechanical thrombectomy and intravenous tissue plasminogen activator in acute ischemic stroke. Results of the multi mechanical embolus removal in cerebral ischemia (MERCİ) Trial, Part I. *American Journal of Neuroradiology*, 27(6) :1177–1182, June 2006.

- [85] W. Steffen, M. C. Fishbein, H. Luo, D.-Y. Lee, H. Nitams, D. C. Cumberland, S. W. Tabak, M. Carbonne, G. Maurer, and R. J. Siegel. High intensity, low frequency catheter-delivered ultrasound dissolution of occlusive coronary artery thrombi : An in vitro and in vivo study. *Journal of the American College of Cardiology*, 24(6) :1571–1579, Nov. 1994.
- [86] D. Suo, S. Guo, W. Lin, X. Jiang, and Y. Jing. Thrombolysis using multi-frequency high intensity focused ultrasound at MHz range : an in vitro study. *Physics in Medicine and Biology*, 60(18) :7403, Sept. 2015.
- [87] K. Tachibana. Enhancement of fibrinolysis with ultrasound energy. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 3(2) :299–303, May 1992.
- [88] P. Tho, R. Manasseh, and A. Ooi. Cavitation microstreaming patterns in single and multiple bubble systems. *Journal of Fluid Mechanics*, 576 :191–233, Apr. 2007.
- [89] J. Tong, T. Cohnert, P. Regitnig, and G. A. Holzapfel. Effects of age on the elastic properties of the intraluminal thrombus and the thrombus-covered wall in abdominal aortic aneurysms : Biaxial extension behaviour and material modelling. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 42(2) :207–219, Aug. 2011.
- [90] G. Trubestein, C. Engel, F. Etzel, A. Sobbe, H. Cremer, and U. Stumpff. Thrombolysis by ultrasound. *Clinical science and molecular medicine. Supplement*, 3 :697s–698s, Dec. 1976.
- [91] S. Westermark, H. Wiksell, H. Elmqvist, K. Hultenby, and H. Berglund. Effect of externally applied focused acoustic energy on clot disruption in vitro. *Clinical Science*, 97(1) :67–71, July 1999.
- [92] S. N. Willich, M. Lewis, H. Lawell, H.-R. Arntz, F. Schubert, and R. Schrader. Physical exertion as a trigger of acute myocardial infarction. *The New England journal of medicine*, 329(23) :1684–1690, Dec. 1993.
- [93] E. Wood and A. L. Loomis. XXXVIII. The physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity. *Philosophical Magazine Series 7*, 4(22) :417–436, Sept. 1927.
- [94] C. Wright, K. Hynynen, and D. Goertz. In vitro and in vivo high intensity focused ultrasound thrombolysis. *Investigative Radiology*, 47(4) :217–225, Apr. 2012.
- [95] S. Xu, Y. Zong, Y. Feng, R. Liu, X. Liu, Y. Hu, S. Han, and M. Wan. Dependence of pulsed focused ultrasound induced thrombolysis on duty cycle and cavitation bubble size distribution. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22 :160–166, Jan. 2015.
- [96] S. Yusuf, S. Hawken, S. Ounpuu, T. Dans, A. Avezum, F. Lanas, M. McQueen, A. Budaj, P. Pais, J. Varigos, and L. Lisheng. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study) : case-control study. *The Lancet*, 364(9438) :937–952, Sept. 2004.

-
- [97] X. Zhang, G. Owens, H. Gurm, Y. Ding, C. Cain, and Z. Xu. Noninvasive thrombolysis using histotripsy beyond the intrinsic threshold (microtripsy). *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 62(7) :1342–1355, July 2015.

Publications

P. Labelle, M. Fouqueray, J. Ngo, A. Poizat, C. Inserra and J.-C. Béra. Sonoporation of Adherent Cells under Regulated Ultrasound Cavitation Conditions. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 41(4) :1008-19, Apr. 2015.

C. Inserra, P. Labelle, C. Der Loughian, J.-L. Lee, M. Fouqueray, J. Ngo, A. Poizat, C. Desjouy, B. Munteanu, C.-W. Lo, C. Vanbelle, J.-P. Rieu, W.-S. Chen and J.-C. Béra. Monitoring and control of inertial cavitation activity for enhancing ultrasound transfection : The SonInCaRe project. *IRBM*, 35(2) :94-99, Apr. 2014.

P. Grasland-Mongrain, J.-M. Mari, B. Gilles, A. Poizat, J.-Y. Chapelon and C. Lafon. Lorentz Force Hydrophone Characterization. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 61(2) :353-363, Feb. 2014.

R. A. Fowler, M. Lafond, A. Poizat, J.-L. Mestas, F. Chavrier, J.-C. Béra and C. Lafon. Inertial cavitation enhancement using confocal ultrasound. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 134(5) :4213, Nov. 2013.

P. Grasland-Mongrain, B. Gilles, J.-M. Mari, B. Roussel, A. Poizat, J.-Y. Chapelon and C. Lafon. Ultrasound velocity mapping with Lorentz force hydrophone. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 134(5) :4212, Nov. 2013.

C. Desjouy, A. Poizat, B. Gilles, C. Inserra and J.-C. Béra. Control of inertial acoustic cavitation in pulsed sonication using a real-time feedback loop system. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 134(2) :1640-46, Aug. 2013.

Communications

A. Poizat, P. Boulos, F. Varray, B. Gilles, C. Cachard and J.-C. Béra. Contrôle temporel et spatial de la cavitation ultrasonore pour des tests de thrombolyse ultrasonore extracorporelle. *Congrès Français de Mécanique*, 2015.

A. Poizat, B. Gilles, C. Cachard and J.-C. Béra. Real-time control of ultrasound cavitation applied to extracorporeal ultrasound thrombolysis. *European symposium on Ultrasound Contrast Imaging*, 2015.

A. Poizat, C. Desjouy, C. Inserra, B. Gilles and J.-C. Béra. Régulation temporelle de l'activité de cavitation ultrasonore en régime pulse. *Congrès Français d'Acoustique*, 2014.

A. Poizat, C. Desjouy, C. Inserra, B. Gilles and J.-C. Béra. Regulation of Cavitation Activity in Pulsed Sonication with a Real-Time Feedback Loop System. *Acoustics 2013 New Delhi*, 2013.

A. Poizat, C. Desjouy, C. Inserra, B. Gilles and J.-C. Béra. Régulation temporelle de l'activité de cavitation ultrasonore : application à la thrombolyse ultrasonore extracorporelle. *Congrès Français de Mécanique*, 2013.

Contrôle temporel de la cavitation ultrasonore : Application à la thrombolyse ultrasonore extracorporelle

Les ultrasons focalisés permettent d'effectuer des traitements thérapeutiques ciblés dans le corps humain. Dans le domaine des applications cardiovasculaires, ils permettent de détruire des caillots sanguins susceptibles de se former dans le système vasculaire. Dans ce cas, les mécanismes de thrombolyse sont largement liés à la cavitation ultrasonore, dont la dynamique complexe reste un obstacle à l'élaboration d'un dispositif thérapeutique. Dans le cadre de cette thèse, un système permettant le contrôle temporel de l'activité de cavitation en régime pulsé a été développé puis caractérisé. Ce dispositif utilise un transducteur focalisé et un hydrophone avec une boucle de rétroaction pour réguler l'activité de cavitation. Alors qu'en régime non régulé l'activité de cavitation a un caractère très aléatoire, le système de régulation mis au point permet d'atteindre un niveau de cavitation souhaité de manière très reproductible et avec une bonne stabilité temporelle. L'application de ce dispositif à la thrombolyse ultrasonore a été testée in vitro sur des caillots de sang humain. Au dispositif précédent a été ajouté un système permettant de déplacer le caillot sanguin au niveau du foyer, ainsi qu'un conduit permettant de compter le nombre de fragments libérés par la destruction du caillot. En comparaison des essais en régime non régulé, les essais en régime régulé ont montré une excellente efficacité thrombolytique et une très bonne reproductibilité, tout en diminuant les intensités acoustiques utilisées pour lyser les caillots sanguins. En parallèle des essais in vitro, une campagne de thrombolyse ultrasonore in vivo a été mise en place afin de réaliser des essais sur un modèle animal d'ischémie aiguë de membre inférieur. Un dispositif ultrasonore extracorporel in vivo guidé par échographie et monté sur un bras robotisé 6 axes a été développé. Un modèle ovin de thrombose artérielle a également été développé. Les tests ont permis de valider, d'une part, la faisabilité du modèle de caillot artériel et, d'autre part, le concept de thrombolyse extracorporelle purement ultrasonore basée sur la cavitation inertielle régulée.

**Cavitation acoustique ; Ultrasons pulsés ; Régulation ; Thrombolyse in vitro ;
Modèle ovin ; Ischémie artérielle aiguë ; Thrombolyse in vivo**

Temporal control of ultrasound cavitation: Application to extracorporeal ultrasound thrombolysis

Focused ultrasound can be used for therapeutic applications in the human body. In cardiovascular applications, they can destroy blood clots formed in the vascular system. In this case, thrombolysis mechanisms are related to ultrasonic cavitation, but the complex dynamics remains an obstacle to the development of a therapeutic device. In this thesis, a system for the temporal control of the pulsed cavitation activity has been developed and characterized. This device uses a focused transducer and a hydrophone with a feedback loop for regulating the cavitation activity. While cavitation activity has a random behaviour in non-regulated conditions, the control system developed achieves a desired level of cavitation with very reproducibly and with good temporal stability. The application of this device to the ultrasound thrombolysis was tested in vitro on human blood clots. In the previous device was added a system for moving the blood clot at the focal point, and a tube for counting the number of fragments released by the destruction of the clot. In comparison to uncontrolled regime, tests showed an excellent thrombolytic efficacy and a very good reproducibility, with reduced acoustic intensities. In parallel to the in vitro tests, ultrasound thrombolysis was tested in vivo on an animal model of acute limb ischemia. An extracorporeal ultrasound device, guided by ultrasound and mounted on a robotic arm, has been developed for in vivo investigation. An ovine model of arterial thrombosis has also been developed. Tests were used to validate the feasibility of the model of arterial clots and to validate in vivo the concept of purely ultrasonic extracorporeal thrombolysis based on inertial cavitation regulation system.

**Acoustic cavitation ; Pulsed ultrasound ; Regulation ; In vitro thrombolysis ;
Ovine model ; Acute arterial ischemia ; In vivo thrombolysis**
