



**HAL**  
open science

# Etude des moyens de caractérisation de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique induite par un dispositif ultrasonore implantable

Nicolas Asquier

► **To cite this version:**

Nicolas Asquier. Etude des moyens de caractérisation de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique induite par un dispositif ultrasonore implantable. Imagerie. Université de Lyon, 2019. Français. NNT : 2019LYSE1330 . tel-02457114

**HAL Id: tel-02457114**

**<https://theses.hal.science/tel-02457114>**

Submitted on 27 Jan 2020

**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.



# THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de  
**l'Université Claude Bernard Lyon 1**

**Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé (ED 205)**

**Spécialité de doctorat : Ingénierie biomédicale**

Soutenue publiquement le 20 décembre 2019 par

**Nicolas ASQUIER**

---

## **Etude des moyens de caractérisation de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique induite par un dispositif ultrasonore implantable**

---

Devant le jury composé de :

<b>BOUAKAZ, Ayache</b>	Directeur de recherche INSERM	<i>Rapporteur</i>
<b>CURIEL, Laura</b>	Professeure associée	<i>Rapporteuse</i>
<b>CANET-SOULAS, Emmanuelle</b>	Professeure des universités	<i>Examinatrice</i>
<b>LARRAT, Benoît</b>	Chargé de recherche CEA	<i>Examineur</i>
<b>LARTIZIEN, Carole</b>	Directrice de recherche CNRS	<i>Examinatrice</i>
<b>LAFON, Cyril</b>	Directeur de recherche INSERM	<i>Directeur de thèse</i>
<b>CHAPELON, Jean-Yves</b>	Directeur de recherche INSERM	<i>Co-directeur de thèse</i>
<b>BOUCHOUX, Guillaume</b>	Ingénieur de recherche	<i>Membre invité</i>



# Résumé

## Résumé en français

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est une protection naturelle du système nerveux central. Son étanchéité constitue néanmoins un frein à de nombreuses thérapies médicamenteuses. Elle peut être temporairement perméabilisée grâce à une exposition à des ultrasons, couplée à une injection de microbulles dans la circulation sanguine. Dans ce manuscrit, l'ouverture de la BHE avec un dispositif ultrasonore non focalisé et implantable est étudiée.

Une méthode automatique de quantification du volume d'ouverture grâce aux images IRM issues d'une étude clinique de phase 1/2a chez des patients atteints d'un glioblastome multiforme récurrent a été développée et validée. Une corrélation entre la probabilité d'ouverture et la pression acoustique locale a été trouvée.

L'activité de cavitation des microbulles a été étudiée *in vitro* pour affiner la compréhension de son lien avec l'ouverture de la BHE. L'incertitude de quantification de cette activité à l'aide d'un capteur mono-élément utilisé passivement (PCD) à travers le crâne a été évaluée. Une correction se basant sur la position du PCD par rapport à la source de cavitation a été proposée et validée.

L'influence du volume couvert par un nuage de cavitation dans le champ ultrasonore non focalisé sur les amplitudes des signaux enregistrés par le PCD pendant le traitement clinique a été discutée. Deux méthodes de localisation et de différenciation de sources de cavitation multiples dans un contexte transcrânien ont été évaluées par simulations et *in vitro*.

## Mots-clés en français

Ouverture de la barrière hémato-encéphalique, Ultrasons non focalisés, Microbulles, Imagerie par résonance magnétique, Ecoute passive de la cavitation, Localisation passive de la cavitation

---

## Title in english

Study of the characterization methods of the blood-brain barrier disruption induced by an implantable ultrasound device

## Summary in english

The blood-brain barrier (BBB) is a natural protection of the central nervous system. However, it limits the delivery of many drugs to the brain tissues. It can be temporarily disrupted by ultrasound exposure combined with intravenous injection of microbubbles. In this manuscript, BBB disruption with an implantable unfocused ultrasound device is studied.

An automatic method for quantifying the volume of BBB disruption using MR images from a phase 1/2a clinical study in patients with recurrent glioblastoma was assessed and validated. A correlation between the probability of disruption and the local acoustic pressure was found.

Microbubbles cavitation activity was studied *in vitro* to better understand its effect on BBB disruption. The uncertainty on the amplitudes of cavitation signals recorded with a passive single-element detector (PCD) through the skull was quantified. A position-based correction of the PCD signal was assessed and validated.

The effect of the volume of a cavitation cloud in the unfocused ultrasound field on the signal amplitude recorded by the PCD during the clinical treatment was discussed. Two methods for localizing and discriminating cavitation sources in a transcranial context were evaluated by simulations and *in vitro*.

## Keywords in english

Blood-brain barrier disruption, Unfocused ultrasound, Microbubbles, Magnetic resonance imaging, Passive cavitation recording, Passive cavitation localization

---

## Intitulé et adresse du laboratoire

Laboratoire de Thérapies et Applications Ultrasonores (LabTAU INSERM U1032)

151, Cours Albert Thomas

69424 Lyon Cedex 03

# Remerciements

Parce que trois années de thèse représentent aussi une aventure humaine, je souhaiterais remercier les différentes personnes qui m'ont soutenu dans mon périple.

Je tiens tout d'abord à remercier mon jury d'avoir rapporté mon manuscrit et écouté ma soutenance avec intérêt. Leurs questions nombreuses et leurs commentaires intéressants m'ont permis de prendre du recul sur mon travail et de mieux comprendre où ma pierre prenait place sur l'édifice qu'est la science.

J'aimerais remercier mes encadrants industriel et académique, Guillaume Bouchoux et Cyril Lafon, pour m'avoir permis de réaliser une thèse sous leur tutelle. Leur expérience et leurs conseils m'ont été d'une aide précieuse.

J'aimerais remercier toute l'équipe de CarThera pour leur accueil chaleureux et pour m'avoir transmis une partie de leur savoir. J'ai eu le privilège de travailler sur un produit de haute technologie et de prendre part au défi que représentait le développement d'un dispositif médical aussi complexe, autant sur les plans techniques que réglementaires. J'ai également pu échanger et rire avec eux, autour d'une cuve d'eau dégazée ou d'une pinte de bière, dans une salle propre ou sur les pistes de ski.

J'aimerais remercier les membres du LabTAU pour leur bienveillance inégalable. Merci aux personnes qui m'ont aidé sur tous les aspects de mon travail, qui ont pris le temps de m'écouter et de m'instruire, et qui ont su faire taire mon anxiété dans les moments de doute pendant lesquels tout me paraissait vain. Merci également pour ces interludes sportives, festives et ludiques et pour les réunions très formelles les vendredis soirs. Au cours des heures sombres, il était agréable de se rappeler que ce cadre de travail était idéal, et qu'il suffisait de lever le nez de son ordinateur pour se changer les idées et partager des moments de joie. Je cherchais ma voie, j'ai trouvé des amis : c'est mieux.

J'aimerais remercier le robot KUKA pour avoir tenu bon malgré la noyade, ainsi que l'équipe du Sherrington Express pour m'avoir sustenté pendant ces trois années.

J'aimerais remercier mes parents pour m'avoir soutenu, écouté et encouragé.

J'aimerais remercier mes amis extérieurs au laboratoire. Les lyonnais, pour nos entrevues hebdomadaires qui permettaient une déconnexion régulière et saine, parfois ludique, souvent houblonnée, toujours vivifiante. Et ceux d'ailleurs : de Paris, de Nantes, de Toulouse, d'Amsterdam, d'Hambourg et de Montréal. Merci pour ces entrevues fréquentes malgré la distance et votre soutien indéfectible.

J'aimerais terminer ces quelques lignes en adressant mes remerciements à Camille, sans qui tout cela n'aurait pas été possible. Merci pour ta tendresse et ton réconfort quotidiens, pour ton humour et pour ton art.

# Liste des abréviations

<b>AMN</b>	Amplitude moyenne normalisée
<b>ANSM</b>	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
<b>AUC</b>	Area under curve : Aire sous la courbe
<b>BHE</b>	Barrière hémato-encéphalique
<b>BHT</b>	Barrière hémato-tumorale
<b>FDA</b>	Food and drug administration
<b>FLAIR</b>	Fluid attenuated inversion recovery
<b>GBM</b>	Glioblastome multiforme
<b>HIFU</b>	High-intensity focused ultrasound : Ultrasons focalisés de haute intensité
<b>IRM</b>	Imagerie par résonance magnétique
<b>LCR</b>	Liquide céphalo-rachidien
<b>MI</b>	Mechanical index : Indice mécanique
<b>NAH</b>	Near field acoustic holography : Holographie acoustique en champ proche
<b>OBHE</b>	Ouverture de la BHE
<b>PCD</b>	Passive cavitation detector : Détecteur passif de la cavitation
<b>PCI</b>	Passive cavitation imaging : Imagerie passive de la cavitation
<b>RESIDUS</b>	Rehaussement significatif du signal dû aux ultrasons
<b>ROC</b>	Receiver operating characteristic : Fonction d'efficacité du récepteur
<b>ROI</b>	Region of interest : Région d'intérêt
<b>SNC</b>	Système nerveux central
<b>SNR</b>	Signal-to-noise ratio : Rapport signal sur bruit
<b>T1w, T2w</b>	T1-weighted, T2-weighted : Pondérée en T1, Pondérée en T2
<b>TMZ</b>	Témozolomide
<b>VOI</b>	Voxel of interest : Voxel d'intérêt

# Table des matières

Résumé.....	3
Remerciements .....	4
Liste des abréviations.....	6
Table des matières .....	7
Introduction générale.....	11
Chapitre I : Etat de l'art de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique par exposition à des ultrasons et injection de microbulles.....	15
I.1. La cavitation ultrasonore.....	15
I.1.1. Un phénomène mécanique complexe .....	15
I.1.1.1. Nucléation des bulles .....	15
I.1.1.2. Oscillation des bulles.....	16
I.1.1.3. Implosion des bulles.....	18
I.1.2. Une signature acoustique reconnaissable .....	19
I.2. Ouverture de la BHE par ultrasons.....	21
I.2.1. Principe de la méthode .....	21
I.2.1.1. Historique de la méthode.....	21
I.2.1.2. Phénomènes supposément responsables de l'ouverture.....	21
I.2.2. Risque et efficacité de la méthode.....	22
I.2.2.1. Les différents paramètres de traitement.....	22
I.2.2.2. Balance entre efficacité de l'ouverture et effets secondaires .....	23
I.3. De la préclinique à la clinique : différentes approches .....	25
I.3.1. Contrôler le bon déroulement du traitement.....	25
I.3.1.1. Quantification de l'activité de cavitation .....	25
I.3.1.1.1. Incidence du régime de cavitation des bulles .....	26
I.3.1.1.2. Incidence de la taille relative des bulles, des drogues et des vaisseaux sanguins .	26
I.3.1.1.3. S'affranchir de l'écoute en se basant sur la consigne de traitement.....	27
I.3.1.1.4. Ajustement des paramètres en fonction des niveaux de cavitation.....	28
I.3.1.2. Localisation de l'activité de cavitation .....	28
I.3.2. Les dispositifs cliniques d'ouverture .....	31
I.3.2.1. Les dispositifs focalisés et transcâniens.....	31
I.3.2.2. L'implant ultrasonore SonoCloud.....	33
Chapitre II : Estimation du volume d'ouverture de la barrière hémato-encéphalique et corrélation de la probabilité d'ouverture avec la pression acoustique locale.....	36
II.1. L'étude clinique menée par CarThera .....	36
II.1.1. Présentation détaillée de l'étude .....	36

II.1.1.1. Eligibilité des patients et critères de sortie de l'étude.....	36
II.1.1.2. Présentation du SonoCloud et de son implantation .....	37
II.1.1.3. Déroulement du traitement et paramètres ultrasonores utilisés.....	38
II.1.1.4. Imagerie et qualification de l'ouverture.....	38
II.1.2. Résultats de l'étude.....	39
II.1.2.1. Sécurité du traitement SonoCloud.....	39
II.1.2.2. Faisabilité et efficacité de la méthode .....	40
II.2. Matériels et méthodes pour la quantification du volume d'ouverture .....	41
II.2.1. Chaîne de traitement des images.....	42
II.2.1.1. Correction du biais .....	42
II.2.1.2. Recalage .....	43
II.2.1.3. Segmentation .....	45
II.2.1.4. Orientation du transducteur .....	46
II.2.1.4.1. Méthode manuelle .....	46
II.2.1.4.2. Méthodes numériques .....	48
II.2.2. Paramétrage de l'algorithme et validation .....	49
II.2.2.1. Définition des paramètres.....	49
II.2.2.1.1. Largeur des marges floues .....	49
II.2.2.1.2. Seuil de rehaussement relatif significatif .....	50
II.2.2.1.3. Diamètre de la région d'intérêt.....	51
II.2.2.2. Recherche du jeu de paramètre optimal .....	51
II.2.3. Evaluation de la pression acoustique dans le cerveau.....	52
II.2.3.1. Estimation d'un champ acoustique standard.....	53
II.2.3.2. Adaptation et superposition du champ .....	53
II.2.3.3. Analyse statistique .....	54
II.3. Résultats.....	54
II.3.1. Calcul du volume de RESIDUS.....	54
II.3.1.1. Chaîne de traitement des images.....	54
II.3.1.2. Paramétrage optimal de l'algorithme .....	55
II.3.2. Corrélation avec la pression acoustique locale.....	58
II.3.2.1. Estimation du champ acoustique .....	58
II.3.2.2. Probabilité de RESIDUS.....	59
II.4. Discussion.....	59
II.4.1. Validation de la méthode .....	60
II.4.1.1. Qualification automatique des images .....	60
II.4.1.2. Evaluation des volumes calculés .....	61
II.4.2. Corrélation avec la pression acoustique locale.....	62
II.4.2.1. Mise en regard avec les autres études.....	62

II.4.2.2. Probabilité de RESIDUS.....	63
II.4.3. Perspectives.....	63
Chapitre III : Evaluation de l'incertitude de quantification de l'activité de cavitation pendant une écoute passive avec un capteur mono-élément .....	65
III.1. Corrélation du phénomène de cavitation avec l'OBHE chez l'Homme .....	65
III.1.1. Présentation du dispositif d'écoute et des méthodes de post-traitement.....	66
III.1.2. Résultats et problématiques soulevées .....	68
III.1.3. Conclusions de l'écoute de la cavitation en clinique.....	71
III.2. Quantification et réduction de l'incertitude des amplitudes de cavitation reçues par le PCD. 73	
III.2.1. Quantification de l'incertitude due au positionnement du PCD .....	73
III.2.1.1. Description du dispositif expérimental .....	73
III.2.1.2. Génération et acquisition des signaux .....	75
III.2.1.3. Sélection et post-traitement des signaux.....	75
III.2.1.4. Corrections des signaux.....	76
III.2.1.5. Résultats obtenus.....	77
III.2.2. Quantification de l'incertitude liée à l'os .....	78
III.2.2.1. Estimation de la transmission du crâne humain et de sa variabilité.....	78
III.2.2.2. Sélection et caractérisation des échantillons de crâne de cochon .....	79
III.2.2.3. Description du dispositif expérimental .....	80
III.2.2.4. Expériences réalisées et post-traitement associé .....	81
III.2.2.5. Résultats obtenus.....	82
III.3. Discussion des résultats et conclusion .....	84
III.3.1. Observations cliniques et problématiques soulevées.....	84
III.3.2. Quantification des incertitudes de mesure .....	85
III.3.2.1. Proposition d'une correction et validation de la méthode .....	85
III.3.2.2. Incertitude théorique liée à l'os temporal humain .....	86
III.3.2.3. Quantification expérimentale de l'incertitude.....	87
III.3.3. Autres observations et problèmes rencontrés.....	88
III.3.3.1. Importance de la concentration des bulles.....	88
III.3.3.2. Problèmes de réflexions dans la cuve .....	89
III.3.4. Conclusion et perspectives.....	91
III.3.4.1. Validité des incertitudes mesurées et limites de la correction.....	91
III.3.4.2. Propositions d'amélioration .....	92
III.3.4.3. Multiplicité des sources de cavitation.....	93
Chapitre IV : Localisation et imagerie passive des sources de cavitation dans le champ acoustique ..	95
IV.1. Localisation de sources de cavitation multiples à l'aide d'une sonde échographique .....	96
IV.1.1. Explication de la méthode de localisation utilisée.....	96
IV.1.1.1. Définition du problème inverse .....	96

IV.1.1.2. Rôle des fonctions de transfert acoustique .....	97
IV.1.1.3. Hypothèse de propagation en champ libre .....	98
IV.1.1.4. Algorithme de formation de voies .....	98
IV.1.2. Evaluation de la PCI par simulations .....	99
IV.1.2.1. Configuration d'écoute .....	99
IV.1.2.2. Synthèse et propagation des signaux de cavitation.....	99
IV.1.2.3. Résultats.....	100
IV.1.3. Evaluation de la PCI dans un cas simple <i>in vitro</i> .....	102
IV.1.3.1. Description du dispositif expérimental .....	102
IV.1.3.2. Résultats.....	103
IV.1.4. Discussion.....	104
IV.2. Localisation d'un nuage de cavitation à l'aide de trois PCD.....	107
IV.2.1. Description de la méthode utilisée .....	107
IV.2.2. Evaluation des méthodes de résolution par simulations.....	109
IV.2.3. Validation expérimentale de la faisabilité de la détection .....	109
IV.2.4. Résultats.....	110
IV.2.5. Discussion.....	111
IV.3. Conclusion concernant la localisation de la cavitation dans le cadre d'un traitement SonoCloud .....	113
Conclusion générale .....	115
Bibliographie .....	117

# Introduction générale

Une tumeur correspond à une augmentation anormale du volume d'un tissu due à une prolifération importante et non-contrôlée de cellules défectueuses<sup>54</sup>. Une tumeur peut nuire au bon fonctionnement de l'organisme et mettre en danger la vie de l'hôte. Lorsque les cellules tumorales s'immortalisent, on parle de tumeurs malignes ou cancer. Les cellules tumorales peuvent migrer et se développer dans des tissus autre que leur tissu originel, on parle alors de métastases. Les vitesses de prolifération et les lieux d'implantation possibles sont variés et il existe des formes de cancer plus ou moins agressives.

Les gliomes sont des tumeurs du système nerveux central (SNC). Les plus fréquents et les plus agressifs d'entre eux sont les glioblastomes multiformes (GBM). Ils représentent plus de 50 % des gliomes et leur incidence annuelle varie de 0.59 à 3.69 sur 100000 selon les pays<sup>105,115</sup>. Les femmes sont moins touchées que les hommes et les enfants moins touchés que les personnes âgées (l'incidence des GBM étant 5 fois plus élevée chez les personnes de plus de 65 ans que chez les personnes entre 20 et 64 ans)<sup>17</sup>. La médiane de survie est d'environ 15 mois et les taux de survie à 2 et 5 ans sont respectivement de 26.5 % et 2.7 % avec le traitement actuel<sup>115,130</sup>.

***Au cours de cette thèse, l'attention est portée sur traitement du glioblastome multiforme.***

Les symptômes induits par le GBM dépendent de sa taille et de sa localisation. Ils incluent des maux de tête, des nausées, des vomissements, des crises d'épilepsie et des troubles d'ordre cognitif, moteur, comportemental et sensoriel<sup>115</sup>.

Le GBM se développe souvent sans cause précise. Néanmoins, une mutation d'un gliome bénin ou une irradiation de l'encéphale suite au traitement d'une autre pathologie pourrait dans certains cas en être la cause.

Le diagnostic des GBM est réalisé par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). Le GBM est caractérisé par une organisation en 3 zones, telle que le montre la Figure 1 :

- Une zone nécrosée au centre induite par un appauvrissement nutritif suite à une croissance rapide. Elle apparaît hypointense sur une IRM pondérée en T1 (T1w).
- Une zone de prolifération dans laquelle a lieu une angiogenèse importante. Une IRM T1w couplée à une injection de gadolinium, un agent de contraste qui apparaît hyper-intense dans cette modalité d'imagerie, permet de détecter cette zone alors hautement perfusée.

- Une zone d'œdème contenant les cellules tumorales invasives. Elle est visible grâce à une IRM T2w avec une séquence FLAIR (fluid attenuated inversion recovery).



Figure 1 - IRM d'un GBM temporal gauche. a1 : Image T1w; a2 : Zone nécrosée colorée en jaune; b1 : Image T1w avec injection de gadolinium; b2 : Zone de prolifération colorée en rouge; c1 : Image T2w FLAIR; c2 : Zone d'œdème colorée en verte; (D'après Dréan et al.<sup>36</sup>).

Le traitement standard des GBM a été développé par le Docteur Stupp<sup>130</sup>. Il inclue les trois modalités majeures du traitement des cancers :

- Tout d'abord, une résection chirurgicale est effectuée quand cela est possible, c'est-à-dire si la tumeur est accessible et n'est pas entourée de régions cérébrales aux fonctions trop sensibles. La plus grande partie de la tumeur est alors enlevée mais du fait de son caractère particulièrement invasif, le GBM est impossible à éradiquer complètement de cette façon.
- La radiothérapie aux rayons X est ensuite employée afin d'induire des dommages à l'ADN des tissus tumoraux non réséqués. Le but de ce traitement est d'induire des mutations venant déréguler les cellules afin d'empêcher leur réplication et leur fonctionnement.
- Une chimiothérapie au témozolomide (TMZ) est ensuite effectuée pendant les 6 mois suivants. Elle détruit les cellules cancéreuses à l'aide d'agents cytotoxiques en ciblant les altérations des processus du cycle de vie cellulaire intervenant pendant les cancers.

D'autres résections et chimiothérapies peuvent être effectuées par la suite en traitement de seconde intention.

***Néanmoins, le traitement des GBM par chimiothérapies est sujet à un inconvénient majeur dû à une balance entre neurotoxicité et efficacité. Cette efficacité est grandement impactée par la barrière hémato-encéphalique (BHE), une structure de défense naturelle de notre cerveau.***

La BHE est une barrière physiologique entre le sang et les tissus cérébraux, spécifique aux vaisseaux sanguins du SNC. Elle assure l'homéostasie du cerveau en le protégeant de toute agression par une molécule du milieu extérieur, tout en lui assurant l'apport en nutriments nécessaire à son bon fonctionnement.

L'endothélium correspond à la couche cellulaire interne des vaisseaux sanguins. Dans un vaisseau classique, les cellules endothéliales sont fenêtrées, ce qui permet de contenir le sang tout en laissant passer dans le milieu intérieur des molécules de taille relativement importante. Les vaisseaux du cerveau possèdent au contraire des cellules endothéliales aux jonctions serrées qui empêchent une partie de ces échanges. Les molécules liposolubles de moins de 400 Da peuvent traverser l'endothélium de la BHE grâce à des mécanismes de transports spécialisés<sup>145</sup>. La BHE présente également des cellules uniques telles que les astrocytes, qui recouvrent avec leur pied les vaisseaux et assurent ces jonctions serrées<sup>113</sup> (Figure 2).

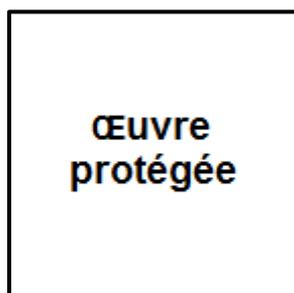


Figure 2 - Schéma de coupe de vaisseaux. A : Vaisseau quelconque; B : Vaisseau du cerveau; (D'après Rodney Brundage, 2001)

Dans le cas du GBM, il a été remarqué que la forte angiogenèse au sein de la tumeur s'accompagnait d'une perméabilisation partielle de la BHE<sup>37,58</sup>. Cette barrière altérée est appelée barrière hémato-tumorale (BHT). Il est important de préciser que, bien que la perméabilité de la BHT soit supérieure à celle de la BHE, elle n'est pas totale. De plus, cette caractéristique ne concerne que les cellules de la zone proliférative de la tumeur, où l'angiogenèse a lieu. Les cellules tumorales présentes dans la périphérie œdémateuse sont donc toujours protégées par la BHE, et il est important qu'elles soient ciblées et désactivées pour assurer une thérapie efficace.

La BHE agit donc comme un filtre extrêmement sélectif qui protège naturellement notre SNC. Néanmoins, elle complique grandement les thérapies médicamenteuses des pathologies cérébrales (telles qu'Alzheimer ou le GBM) en bloquant le passage de nombreuses molécules actives vers les tissus. Dans un contexte de chimiothérapie, augmenter la concentration de médicament n'est pas envisageable du fait de sa forte toxicité. De nombreuses recherches sont menées pour contourner cette barrière et augmenter l'efficacité des traitements sans augmenter leur toxicité.

Une des méthodes les plus développées et utilisées dans ce domaine est une méthode acoustique. Il a été découvert qu'une injection de microbulles dans la circulation sanguine couplée à une exposition des tissus du cerveau à des ultrasons pouvait temporairement perméabiliser la BHE<sup>63</sup>. Cela permet d'augmenter considérablement la concentration active de la chimiothérapie, sans augmenter ses

effets néfastes. Depuis cette découverte révolutionnaire, beaucoup de progrès ont été fait dans ce domaine pour parvenir à des ouvertures de BHE (OBHE) efficaces, reproductibles et sécurisées.

***Cette thèse s'articule autour de la méthode d'OBHE par utilisation conjointe d'ultrasons et de microbulles.***

Elle est le fruit d'une collaboration entre le LabTAU (un laboratoire de l'INSERM spécialisé dans la thérapie ultrasonore, basé à Lyon) et CarThera (une entreprise innovante spécialisée dans la conception et le développement de dispositif médicaux pour la thérapie du cerveau, basée à Paris).

Ce manuscrit est découpé en 4 parties :

- Dans un premier temps, il rend compte de l'état de l'art de l'OBHE avec la méthode mentionnée ci-avant. Dans ce chapitre, le phénomène de cavitation, les différentes technologies de transducteurs et les études précliniques et cliniques ayant été réalisées à travers le monde y sont présentés.
- Le deuxième chapitre s'intéresse à la mesure du volume d'OBHE chez l'homme. Des images IRM ont été acquises lors de traitements cliniques, utilisant le dispositif d'OBHE développé par CarThera. Une méthode a été développée pour quantifier automatiquement l'ouverture grâce à ces images.
- Le troisième chapitre concerne l'écoute de la cavitation avec un capteur mono-élément simplement posé sur la tempe des patients dans le but d'étudier les corrélations entre l'activité de cavitation et l'efficacité et la sureté du traitement. L'incertitude liée au positionnement du capteur et à l'épaisseur du crâne est évaluée, et des méthodes de correction des données et d'amélioration des mesures y sont proposées.
- Le dernier chapitre s'intéresse à la localisation et à la différenciation des zones d'activité de cavitation pendant les traitements. La cavitation étant le phénomène mécanique principal pendant l'OBHE, une corrélation entre les zones d'ouverture et les zones de cavitation est supposée. Ce chapitre s'intéresse à différentes méthodes de localisation de la cavitation et à leur précision dans un contexte transcrânien.

Une conclusion générale synthétisant l'ensemble des études réalisées et présentant les travaux à venir clôturera le manuscrit.

# Chapitre I : Etat de l'art de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique par exposition à des ultrasons et injection de microbulles

## I.1. La cavitation ultrasonore

### I.1.1. Un phénomène mécanique complexe

Le terme de cavitation est utilisé pour décrire l'interaction entre une bulle de gaz et un milieu liquide qui l'entoure<sup>94</sup>. Elle peut être décomposée en 3 étapes : la création de bulles de gaz dans le milieu, l'entretien de leurs oscillations radiales et leur effondrement.

#### I.1.1.1. Nucléation des bulles

Afin de permettre la formation de bulles dans le milieu, de fortes dépressions doivent y être exercées de sorte à le déchirer. Ce phénomène est appelé la nucléation. Il est possible de le déclencher grâce à l'application d'ultrasons de très haute intensité dans le milieu. La nucléation est dite homogène si les bulles se forment spontanément et hétérogène si les bulles se forment aux interfaces entre le fluide et les impuretés et aspérités du milieu (Figure 3). Les résidus de gaz dus à l'implosion des bulles peuvent eux aussi servir de germes de cavitation.

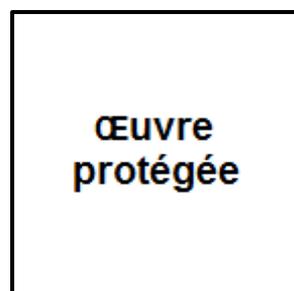


Figure 3 – Schéma des différentes nucléations. A : Nucléation homogène; B : Nucléation hétérogène. (D'après Jones et al. 1999<sup>69</sup>)

Le seuil de pression à partir duquel la nucléation peut être observée dans de l'eau est de l'ordre de 100 MPa si elle est homogène et de 10 MPa si elle est hétérogène<sup>69</sup> (cette valeur varie en fonction de la

saturation en germes de cavitation et peut même être inférieure au MPa dans certaines configurations expérimentales). Ce seuil a été mesuré à 12.7 MPa dans du cerveau de mouton<sup>43</sup>.

Un changement de la pression statique ou une hausse de la température entraîne une sursaturation en gaz du milieu et peut donc favoriser la nucléation<sup>69</sup>. Le seuil de nucléation varie également en fonction des paramètres acoustiques utilisés<sup>59</sup>. La fréquence, la pression, la durée et le rapport cyclique des ondes envoyées influent sur ce seuil<sup>2,24</sup>. La nucléation est donc un phénomène stochastique et il n'existe pas de modèle général pour la décrire.

La cavitation ne nécessite pas forcément de nucléation des bulles. Ces dernières peuvent être ajoutées directement au milieu. Cette opération permet de diminuer grandement la pression nécessaire à l'obtention de cavitation et ainsi à mieux la contrôler. En imagerie ultrasonore (échographie), des microbulles hyperéchogènes peuvent être utilisées comme agent de contraste pour visualiser la vascularisation des zones étudiées. Ces bulles synthétiques, d'un diamètre de l'ordre du micromètre, contiennent un gaz, de préférence inerte pour limiter leur dissolution, et sont entourées d'une membrane lipidique ou protéique, assurant leur stabilité. La cavitation peut également être facilitée par l'ajout de nano-gouttelette ou autres particules exogènes dans le milieu<sup>81</sup>.

***Au cours de ce manuscrit, la cavitation est obtenue par application d'un champ de pression acoustique sur des microbulles.***

### I.1.1.2. Oscillation des bulles

Une bulle correspond à une inclusion gazeuse sphérique dans un milieu liquide. La compensation des pressions internes et externes à l'interface gaz-liquide permet à la bulle de se maintenir. Sous l'effet d'un champ de pression ultrasonore, la bulle va subir des déformations. Différents modèles existent pour décrire l'oscillation radiale d'une bulle autour de son rayon à l'équilibre. La variable caractérisant la dynamique d'une bulle est son rayon  $R(t)$  et il est considéré ici que le milieu fluide est infini.

Le modèle le plus simple est celui de Rayleigh-Plesset<sup>107</sup>. Il prend en compte la densité du fluide  $\rho$ , la pression appliquée par le gaz vers l'extérieur de la bulle  $p_i$  et la pression appliquée par le fluide vers l'intérieur de la bulle  $p_\infty$ . Cette dernière est elle-même la somme de la pression statique du milieu  $p_{stat}$  et celle du champ ultrasonore dynamique appliqué à la bulle  $p(t)$ . Le modèle s'écrit alors :

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{1}{\rho}(p_i(R) - p_\infty) \quad (1)$$

Des modèles plus complexes ont ensuite été développés pour prendre en compte la tension de surface de la bulle<sup>98</sup>, la viscosité du milieu<sup>46</sup> et la compressibilité du fluide<sup>71</sup>. Le modèle numérique décrit par

Marmottant<sup>83</sup> permet d'étudier la vibration d'une bulle entourée d'une membrane au cours du temps, en prenant en compte la rupture de cette dernière lorsque la bulle dépasse un rayon critique. La bulle perd alors son comportement élastique en cas de trop fortes amplitudes.

La fréquence de Minnaert<sup>95</sup> correspond à la fréquence de résonance d'une bulle et est définie par :

$$f_M = \frac{1}{2\pi R_0} \sqrt{\frac{3\kappa p_{stat}}{\rho}} \quad (2)$$

Où  $R_0$  est le rayon de la bulle au repos et  $\kappa$  est l'indice polytropique du gaz qu'elle contient. La tension de surface et l'atténuation visqueuse du milieu de la bulle sont ici négligées. Si l'on considère que la bulle est contenue dans de l'eau à 20 °C sous 1 atm et que le gaz contenu dans la bulle est parfait (échanges de chaleur avec le milieu négligeables,  $\kappa = 1.40$ ), la fréquence de résonance peut simplement être définie par son rayon au repos avec la relation  $f_0 R_0 \cong 3.28$ .

L'équation de Yasui<sup>152</sup> permet également d'exprimer la pression  $p_b$  rayonnée par la bulle à une distance  $r$  de son centre en fonction de la dynamique de son rayon :

$$p_b(r, t) = \frac{\rho}{r} (R^2 \ddot{R} + 2R\dot{R}^2) \quad (3)$$

Les oscillations de faibles amplitudes et faiblement non-linéaires prolongées dans le temps correspondent à un régime de cavitation appelée la cavitation stable. Pendant ce régime, plusieurs phénomènes mécaniques et thermiques peuvent être observés<sup>74</sup>, tels que les écoulements du fluide<sup>32</sup> (microflux, Figure 4) et la hausse de la température<sup>57</sup> autour de la bulle, ainsi que les forces de radiation<sup>31</sup> et de pompage<sup>82</sup> (effet push-pull) causées par le champ de pression délivré par la bulle. Ce régime de cavitation est utilisé en thérapie pour la sonoporation cellulaire, c'est-à-dire pour forcer le passage de drogues à l'intérieur des cellules, soit par la création de pores éphémères synchronisés avec les oscillations de la bulle<sup>141</sup>, soit par déformation et rupture des membranes<sup>82,109</sup>.



Figure 4 – Exemple de microflux autour d'une bulle en train d'osciller. Des particules ont été glissées dans le milieu. Plusieurs images sont acquises à l'aide d'une caméra ultra-rapide et sommées pour suivre leur trajectoire et mettre en évidence les écoulements autour de la bulle. (D'après de Tho et al.<sup>134</sup>)

### I.1.1.3. Implosion des bulles

Lorsque la puissance ultrasonore délivrée dans le fluide augmente, les bulles peuvent atteindre un rayon 10 fois supérieur à leur rayon au repos. La pression du fluide sur la bulle devient alors considérable du fait de son inertie et la bulle peut être amenée à s'effondrer sur elle-même à grande vitesse, provoquant une hausse considérable de la pression et de la température en son sein. On parle alors de régime de cavitation inertielle. Lors de cette implosion, plusieurs phénomènes mécaniques, thermiques et chimiques peuvent être observés<sup>74</sup>.

La bulle peut générer une onde de choc en rebondissant sur elle-même à une vitesse de l'ordre de celle du son<sup>98</sup>. Si la pression à l'interface n'est pas uniforme, la dissymétrie de la bulle au moment de l'implosion peut émettre un microjet dans le liquide (Figure 5), dans la direction de l'onde acoustique<sup>148</sup> ou dans la direction de la paroi rigide la plus proche<sup>109</sup>, si elle existe. Lors de l'implosion, les conditions extrêmes de pression et de température peuvent également être à l'origine de flash lumineux<sup>97</sup> (on parle alors de sonoluminescence) et de réactions chimiques engendrant la création de radicaux libres<sup>80</sup> ( $H^+$  et  $OH^-$ ). L'implosion de la bulle peut également mener à sa fragmentation en plusieurs autres bulles plus petites<sup>13</sup>, pouvant à leur tour caviter.

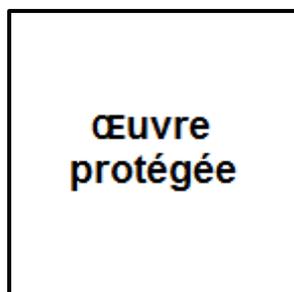


Figure 5 – Formation d'un microjet. A : Bulle sur le point d'imploser; B : Bulle s'effondrant sur elle-même. Une asymétrie peut être remarquée; C-E : Bulle rebondissant sur elle-même en formant un microjet. (D'après Obreschkow et al.<sup>103</sup>)

Dans le domaine thérapeutique, la cavitation inertielle a surtout des applications destructrices telles que la destruction de caillots sanguins (sono-thrombolyse<sup>112</sup>) ou de calculs rénaux (lithotritie<sup>39</sup>) et l'ablation cellulaire (histotritie<sup>154</sup>). Les microjets peuvent aussi être utilisés comme des seringues pour la sonoporation<sup>109</sup> cellulaires.

La cavitation inertielle peut également endommager les tissus. L'indice mécanique (MI) est un indice qui a été créé pour l'évaluation de la sécurité des dispositifs d'imagerie échographique en donnant une idée sur l'intensité de la cavitation induite dans le milieu<sup>2</sup>.  $MI = \frac{P_a}{\sqrt{f}}$  avec  $P_a$  et  $f$  la pression en MPa et la fréquence en MHz de l'onde acoustique utilisée. La FDA (Food and Drug Administration) préconise un MI inférieur à 1.9 pour éviter toutes altérations biologiques<sup>123</sup>. Ces valeurs sont à considérer avec précaution car les seuils de pression nécessaires pour atteindre les différents régimes de cavitation varient en fonction du rapport cyclique et de la fréquence de répétition des ondes acoustiques utilisées, ainsi que de la taille et la concentration des bulles déjà présentes dans le milieu. Le MI a de plus été établi pour l'imagerie, avec utilisation d'impulsions courtes et sans agent de contraste.

## I.1.2. Une signature acoustique reconnaissable

En vibrant et en implosant, les bulles émettent un champ de pression dans le milieu dans lequel elles se trouvent. Les bulles réémettent la fréquence  $f_0$  de leur signal d'excitation mais l'augmentation de l'amplitude peut causer l'établissement de différents modes d'oscillations harmoniques. Les différents régimes de cavitation présentés ci-avant ont été associés à différents indicateurs spectraux.

La cavitation stable est typiquement associée à l'émission des harmoniques de la fréquence d'excitation ( $2f_0, 3f_0...$ ). Elles ne peuvent pas être considérées comme un indicateur de la cavitation stable car la distorsion des ondes pendant leur propagation dans les tissus peut également causer ce genre de non-linéarités. L'augmentation de la pression crée des régimes de vibration des bulles de moins en moins linéaires et entraîne l'apparition du sous-harmonique  $f_0/2$  et de ses harmoniques associés : les ultra-harmoniques ( $3f_0/2, 5f_0/2 ...$ ). Ces derniers décroissent avec la fréquence et sont largement utilisés en recherche comme un indicateur fiable d'activité de cavitation stable<sup>33,91,96</sup>. Il est parfois possible d'observer l'apparition de sous-harmoniques d'ordre supérieur ( $f_0/3, f_0/4...$ ) et de leurs ultra-harmoniques associés, comme le montre la Figure 6.

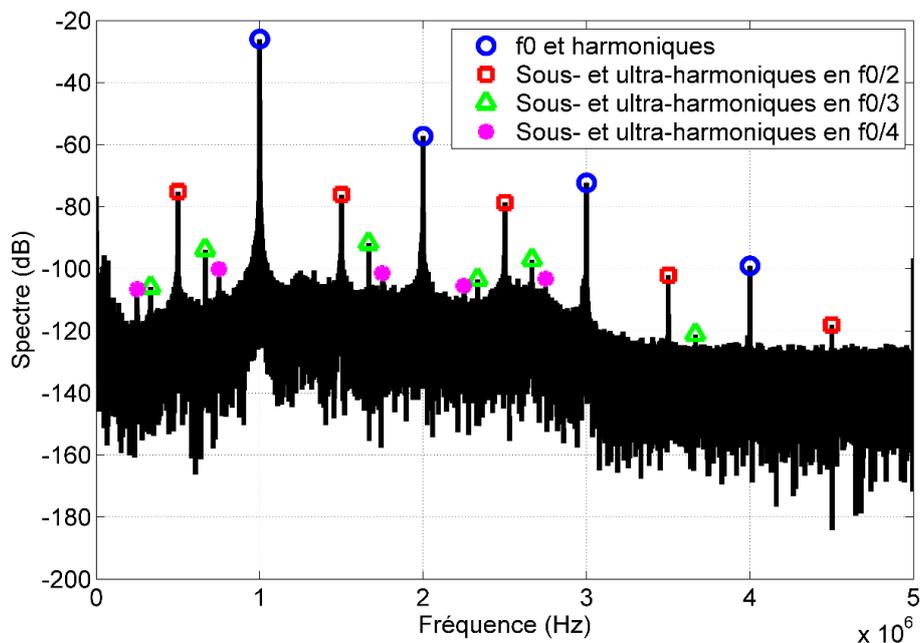


Figure 6 – Exemple de spectre de cavitation acquis dans du serum physiologique saturé en agents de contraste échographiques, à une fréquence de 1 MHz et une pression de 0.46 MPa. Les raies caractéristiques de la cavitation stable sont marquées par des symboles de couleur quand elles sont 10 dB au-dessus du bruit moyen les avoisinant.

L'implosion des bulles et la génération d'ondes de choc dans un régime de cavitation inertielle sont, quant à elles, associées à du bruit large bande. La Figure 7 représente les spectres de pression rayonnée par une bulle soumise à des champs acoustiques de plus en plus puissants.

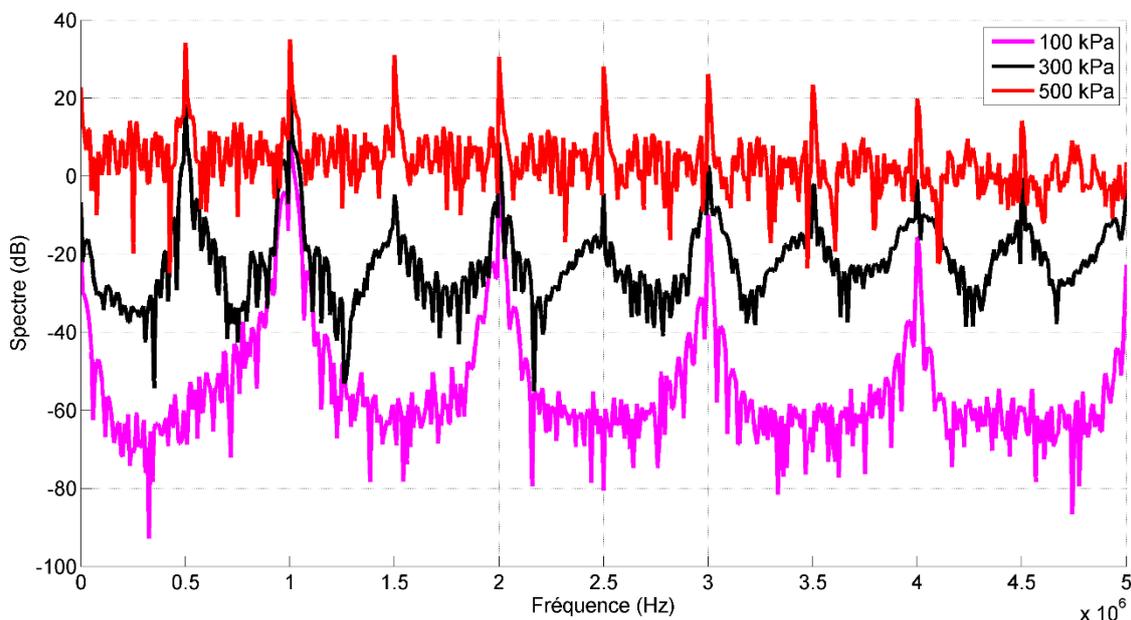


Figure 7 – Spectres des pressions rayonnées par une bulle de 10  $\mu\text{m}$  de diamètre, entourée d'une membrane, soumise à un champ acoustique de 1 MHz. Le comportement dynamique de la bulle a été simulé avec le modèle de Marmottant<sup>83</sup> et la pression a été calculée avec l'équation Yasui<sup>152</sup>. L'augmentation de la pression fait apparaître les ultra-harmoniques (cavitation stable) et le bruit large bande (cavitation inertielle).

## I.2. Ouverture de la BHE par ultrasons

### I.2.1. Principe de la méthode

#### I.2.1.1. Historique de la méthode

Dans les années 50, il a été découvert que l'exposition à des ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU) dans des tissus cérébraux de chat favorisait le dépôt de bleu de trypan dans les tissus endommagés, suggérant une perméabilité acquise de la BHE<sup>7</sup>. Ces ouvertures étaient dans un premier temps peu répétables, et la présence de lésions sur les tissus traités fait penser qu'elles étaient dues aux effets thermiques des ultrasons<sup>92</sup>. Depuis, beaucoup de progrès ont été fait concernant l'usage des ultrasons pour l'OBHE. Il a notamment été découvert qu'elle était réversible et possible sans produire de lésions<sup>8</sup> et que le phénomène physique qui en est le principal responsable est la cavitation<sup>144</sup>. Néanmoins, les ouvertures étaient peu reproductibles et les risques de lésions restaient grands. Les plus grosses difficultés étaient notamment dues aux puissances acoustiques importantes qui devaient être délivrées pour déclencher la nucléation de bulles, ainsi qu'à la nature difficilement contrôlable du phénomène de cavitation.

C'est en 2001 qu'une nouvelle approche du problème apparaît<sup>63</sup>. Grâce à l'injection de microbulles dans la circulation sanguine (commercialisées à l'origine comme agents de contraste pour l'échographie) immédiatement suivie d'une exposition à des ultrasons focalisés, la nucléation n'est plus nécessaire et des ouvertures reproductibles et sans effets indésirables sont obtenues chez le lapin. Ces bulles ont un diamètre de l'ordre du micromètre. Leur présence a priori dans les vaisseaux permet de tirer à des puissances 100 fois inférieures et de diminuer les interactions mécaniques et thermiques néfastes entre les ultrasons et les tissus, tout en continuant à avoir de la cavitation. Cette dernière est par ailleurs plus répétable car le volume de germes de cavitation injecté est contrôlable.

#### I.2.1.2. Phénomènes supposément responsables de l'ouverture

Même si l'OBHE est systématiquement associée à une activité de cavitation des bulles, les phénomènes responsables de la perméabilisation font encore l'objet de recherche. Les différentes interactions mécaniques entre les bulles et les cellules endothéliales sont illustrées par la Figure 8. Sous l'effet du champ ultrasonore, la bulle sans vibrer peut être poussée et exercer sur l'endothélium une pression appelée force de radiation<sup>10,114</sup>. Les bulles étant confinés dans des vaisseaux étroits, ces forces peuvent les amener à s'agréger entre elles et à gagner en volume. Quand la pression ultrasonore devient assez importante pour qu'elles entrent dans un régime de cavitation, leur expansion peuvent aussi les amener à toucher les parois des vaisseaux<sup>16</sup>. Les oscillations des bulles peuvent également générer des

microflux appliquant des contraintes de cisaillement à l'endothélium (forces tangentielles aux parois)<sup>27</sup>. Si la pression est augmentée et que le diamètre du vaisseau est grandement supérieur à celui de la bulle, une expansion trop importante peut amener cette dernière à rebondir violemment sur elle-même et à générer des microjets<sup>110</sup> et des ondes de choc<sup>119</sup> pouvant perforer l'endothélium.

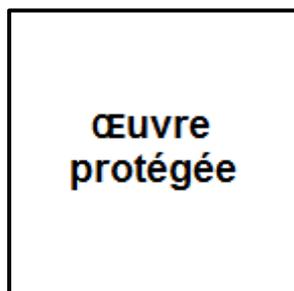


Figure 8 – Schéma des différentes interactions mécaniques entre l'endothélium et les microbulles sous l'effet d'un champ de pression ultrasonore. (D'après Vykhodtseva et al.<sup>145</sup>)

D'un point de vue physiologique, il semblerait que le passage des molécules à travers la BHE soit facilité par plusieurs altérations de cette dernière. Une rupture des jonctions serrées survient directement après applications du champ ultrasonore<sup>125</sup>. Il a également été observé une augmentation du nombre de vésicules au sein des cellules endothéliales. La fusion de plusieurs petites vésicules en de plus grosses permet la transcytose de molécules ne passant normalement pas à travers la BHE<sup>124</sup>. La BHE est également altérée d'un point de vue fonctionnel. L'expression de la glycoprotéine P, un transporteur membranaire en partie responsable de la résistance médicamenteuse des GBM, est inhibée par l'exposition aux ultrasons, et ce, même sans dommages apparents sur l'endothélium<sup>20</sup>. La phase de perméabilité maximale est très courte car les jonctions commencent à se réparer immédiatement après l'exposition<sup>125</sup>. Néanmoins, la barrière ne se referme complètement qu'entre 6 et 24 heures après l'application des ultrasons<sup>99</sup>. Cette fermeture est graduelle et les molécules de plus petite taille pourront donc traverser la barrière plus longtemps<sup>87</sup>.

## 1.2.2. Risque et efficacité de la méthode

### 1.2.2.1. Les différents paramètres de traitement

La méthode d'OBHE par exposition à des ultrasons couplés à des microbulles est complexe et fait intervenir de nombreux paramètres. Chacun d'entre eux a une influence sur l'efficacité et la sécurité du traitement. Il est donc important de connaître l'effet des paramètres utilisés conjointement pour avoir un traitement fiable. De nombreuses études précliniques se sont intéressées à l'influence de chacun, mais il reste beaucoup de choses à apprendre et la transposition des résultats obtenus des

différents modèles animaux testés à l'Homme est délicate du fait de différences anatomiques et physiologiques déterminantes.

La plupart des paramètres réglables de cette méthode sont acoustiques et sont illustrés en Figure 9. Le temps d'exposition aux ultrasons, la pression nominale (amplitude de pression à la focale du transducteur utilisé), et la fréquence, la durée d'émission et la fréquence de répétition des ondes utilisées peuvent entre autres être cités.

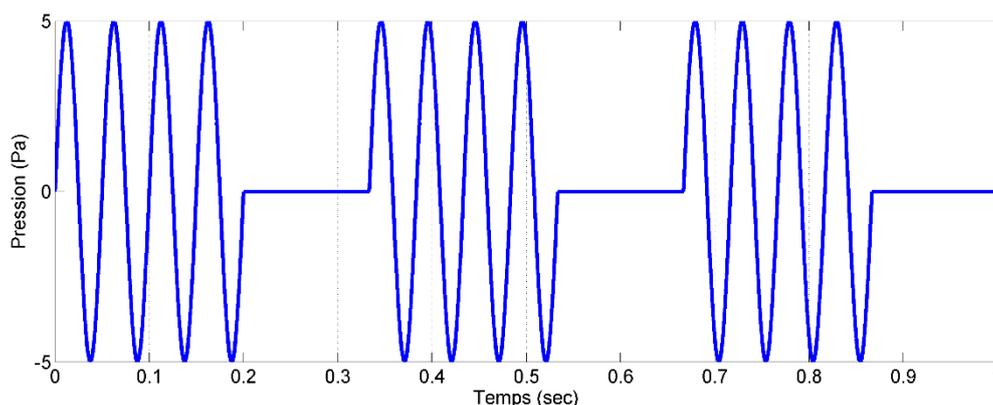


Figure 9 – Illustration des différents paramètres acoustiques pouvant être réglés. Ici, le temps d'exposition est de 1 s, la pression nominale est de 5 Pa, la fréquence de l'onde est de 20 Hz (période de 0.05 s), la durée d'émission est de 0.2 s et la fréquence de répétition est de 3 Hz.

Les autres paramètres réglables notables de la méthode sont la répartition des tailles, la concentration, la composition et la vitesse d'injection des microbulles.

### I.2.2.2. Balance entre efficacité de l'ouverture et effets secondaires

Pendant l'OBHE, les cellules endothéliales peuvent subir de violentes contraintes mécaniques sous certains régimes. Il existe un risque d'hémorragie cérébrale en cas de lésions trop importantes des tissus. Un compromis doit donc être fait entre l'efficacité de l'OBHE et l'importance des effets secondaires. Pendant les études précliniques, l'extravasation d'hématies dans les tissus sont constatées macroscopiquement par observation directe, ou microscopiquement par la présence de pétéchies dans les coupes histologiques (Figure 10). Il est important de connaître l'influence de chaque paramètre du traitement pour établir une balance entre son efficacité et sa sécurité. Plusieurs articles étudiant individuellement ces paramètres ont déjà été publiés<sup>22,127</sup>. Ces résultats doivent néanmoins être considérés avec précaution car c'est leur effet conjoint qui détermine l'efficacité et la sécurité du traitement.



**Figure 10 – Exemple de balance entre efficacité de l'ouverture et survenue des dégâts chez le rat. Plusieurs temps d'exposition aux ultrasons ont été testés. Les autres paramètres sont constants. Panneau A : Cerveaux entiers; Panneau B à D : Zoom sur coupes histologiques (X1, X2 et X10); E : Quantification de bleu d'Evans dans les tissus (preuve d'une perméabilité de la BHE) et notation de la gravité des lésions en fonction du temps d'exposition; On voit qu'après 2 min d'exposition, le volume de BE extravasé n'augmente plus significativement, contrairement à la gravité des lésions. (D'après Shin et al.<sup>127</sup>)**

D'une manière générale, l'efficacité de l'ouverture et la probabilité de lésions augmentent avec la puissance acoustique délivrée. Pour ce qui est du temps d'exposition, la hausse des bénéfices est bornée par la durée de vie des bulles dans le sang, qui n'excède pas quelques minutes. Il varie entre 20 sec<sup>91</sup> et 11 min<sup>19</sup> mais est généralement fixé entre 1 et 2 min, qui correspond à la demi-vie des agents de contraste les plus utilisés pour créer de la cavitation pendant le traitement.

Augmenter la pression permet également d'obtenir des OBHE plus volumineuses<sup>91</sup>. De la même manière, cette hausse d'efficacité est bornée. Chez le primate, il a été remarqué qu'il existe une fenêtre de pression à l'intérieur de laquelle il y a une probabilité supérieure à 0.5 d'obtenir une ouverture et une probabilité inférieure à 0.5 d'avoir des effets secondaires néfastes<sup>89</sup>.

Des ouvertures de BHE ont déjà été observées chez différentes espèces animales pour des fréquences variant de l'ordre de 10 kHz<sup>77</sup> à 10 MHz<sup>40</sup>. Une diminution de la fréquence provoque une augmentation du MI, et par conséquent de la cavitation inertielle et du risque d'effets secondaires. Les ondes dont la fréquence est trop élevée ont du mal à traverser des obstacles tel que le crâne et se propagent plus difficilement dans des milieux visqueux tels que les tissus. La majorité des équipes utilisent des dispositifs ultrasonores transcrâniens et focalisés. Pour assurer un traitement efficace, il leur faut avoir une certaine étroitesse de la tâche focale de leur dispositif et par conséquent trouver une balance entre la perte d'énergie due au passage du crâne et celle due à l'imprécision de leur focalisation. La plupart des fréquences utilisées varient par conséquent de l'ordre de 100 kHz à 1 MHz.

La durée d'émission des ondes pour laquelle des OBHE sont observées varie de l'ordre de 1  $\mu$ sec<sup>22</sup> à 100 msec<sup>127</sup>. Leur fréquence de répétition varie de l'ordre de 1 Hz<sup>91</sup> à 100 kHz<sup>22</sup>. Une balance doit être assurée entre ces deux paramètres, la hausse de l'un d'entre eux favorisant l'OBHE et l'apparition d'effets secondaires. La plupart des systèmes utilise des trains d'onde d'une durée de l'ordre de 10 msec et une fréquence de répétition des ondes de l'ordre de 1 Hz. Il est néanmoins très probable que

cette tendance évolue au cours des prochaines années pour permettre l'imagerie de l'activité de cavitation pendant le traitement (détaillée plus loin). La durée d'émission serait donc de l'ordre de 1  $\mu$ sec et la fréquence de répétition de l'ordre de 10 kHz.

La plupart des microbulles utilisées aujourd'hui sont des agents de contraste pour l'échographie<sup>47,108,120</sup>, mais les bulles utilisées peuvent être synthétisées maison<sup>140</sup>. Elles diffèrent par le gaz qu'elles encapsulent, la composition de leur membrane, leur demi-vie, la distribution de leurs diamètres, ainsi que leur concentration. Ces deux derniers paramètres sont les plus souvent étudiés. L'augmentation de la taille des bulles favorisent généralement l'ouverture et l'apparition d'effets secondaires<sup>21,118,143</sup>. La distribution du diamètre des bulles devrait être choisi conjointement avec la fréquence de l'onde ultrasonore utilisée car il a été montré qu'il était possible d'obtenir une ouverture large et avec peu d'effets secondaires en travaillant à la fréquence de résonance des bulles<sup>40</sup>. Selon l'équation de Minnaert<sup>95</sup> définie ci-avant, la résonance des bulles utilisées varie entre 0.82 MHz pour les bulles les plus grandes et 6.57 MHz pour les bulles les plus petites (8  $\mu$ m et 1  $\mu$ m respectivement). L'augmentation de la concentration des microbulles favorise également l'ouverture et les effets secondaires<sup>3,127</sup>.

## I.3. De la préclinique à la clinique : différentes approches

### I.3.1. Contrôler le bon déroulement du traitement

Dans les études précliniques, la quantification du volume d'OBHE est la plupart du temps réalisée par mesure dans les tissus de l'extravasation de bleu d'Evans, ou d'autres molécules ne passant normalement pas la BHE intacte. Il est cependant possible de quantifier l'ouverture par IRM en mettant en évidence un rehaussement du signal dans les tissus grâce à un agent de contraste ne traversant normalement pas la BHE. Cette méthode fait l'objet du chapitre suivant.

#### I.3.1.1. Quantification de l'activité de cavitation

De nombreuses études précliniques ont démontré que la cavitation était corrélée à l'OBHE et que la mesure de son activité pouvait être utilisée pour contrôler le bon déroulement du traitement. La plupart de ces études portent sur des OBHE réalisées avec des dispositifs focalisés et transcrâniens. Les corrélations se font à l'aide d'un ou plusieurs détecteurs passifs de la cavitation (PCD), posés stratégiquement sur le crâne des animaux aux endroits où les ondes ont le plus de chances d'être perçues. Parfois, le PCD est concentrique avec le transducteur utilisé pour réaliser l'OBHE. Le signal diffusé par les bulles est récupéré par le PCD et son spectre est ensuite calculé. Les indices de cavitation

stable (harmoniques, sous-harmoniques et ultra-harmoniques de la fréquence d'excitation des bulles) et inertielle (bruit large bande) sont ensuite quantifiés et mis en regard avec l'ouverture et les effets indésirables obtenus.

Le lien entre le type de cavitation détecté et les effets observés est complexe et dépend de nombreux paramètres (modèle animal étudié, distribution de taille des bulles, paramètres acoustiques, taille de la drogue à faire passer). Ainsi, les relations observées sont limitées à la gamme de paramètres considérés pour chaque expérience, et les études ne parviennent pas toujours à des conclusions strictement identiques. Malgré tout, certains consensus peuvent être identifiés.

#### I.3.1.1.1. Incidence du régime de cavitation des bulles

Quelques soient les études, il a été remarqué qu'une OBHE était toujours accompagnée de cavitation stable. Cela démontre le rôle primordial de l'activité des bulles dans la technique étudiée. Les équipes de la Professeure Konofagou et des Professeurs Hynynen et McDannold préconisent de se baser sur différents harmoniques<sup>91,139</sup> et ultra-harmoniques<sup>100</sup>. Cependant, dans un contexte clinique, il est préférable d'utiliser le sous-harmonique, car le passage des ondes à travers un crâne humain est favorisé en basses fréquences<sup>137</sup>. Il a également été remarqué que le niveau des harmoniques était corrélé linéairement à la dose de microbulles injectée<sup>3</sup>.

L'avis général est que la cavitation inertielle est dans la plupart des cas nocives pour les tissus et peut engendrer des lésions sur des durées plus ou moins importantes. Ces effets secondaires, observables à l'histologie et parfois à l'IRM, n'affectent pas les sujets de manière comportementale<sup>89,104</sup>. La cavitation inertielle est la plupart du temps accompagnée d'une OBHE, mais pas systématiquement<sup>132</sup>, et elle n'est en aucun cas nécessaire à cette dernière<sup>85</sup>. Cependant, dans certains cas, elle permet des ouvertures plus diffuses<sup>104</sup>.

#### I.3.1.1.2. Incidence de la taille relative des bulles, des drogues et des vaisseaux sanguins

Certaines études suggèrent que la cavitation inertielle devient nécessaire à l'OBHE quand la taille moyenne des bulles devient très petite devant celles des vaisseaux sanguins<sup>138,139</sup>. Il est possible dans ce cas-là que le mouvement des bulles en régime stable n'ait aucun effet mécanique sur la paroi du vaisseau. Les bulles seraient alors moins contraintes, ce qui leur permettrait de s'étendre et d'implorer plus facilement. Il a d'ailleurs été remarqué que la cavitation inertielle était plus probable dans des vaisseaux de taille importante<sup>150</sup> et que l'utilisation de bulles plus grosses à pression égale pouvait engendrer des lésions sur les parois<sup>86</sup>. Cela pose un problème dans l'établissement d'un critère de sécurité ou d'efficacité du traitement basé sur l'écoute du niveau de cavitation inertielle, car selon les zones où cette dernière a lieu, elle peut être bénéfique ou dangereuse. Sans cartographie de l'activité acoustique, il est donc impossible de déterminer les risques encourus. Le bruit large bande provoqué

par la cavitation inertielle nécessaire et aisément déclenchée dans les vaisseaux de taille importante est susceptible de masquer celui ayant lieu dans des vaisseaux plus petits, à l'intérieur desquels cette même cavitation peut avoir des effets néfastes. Pour maximiser l'efficacité du traitement en minimisant les effets secondaires, il serait donc préférable d'utiliser des bulles de taille assez importante et de tirer à des pressions relativement basses pour ne pas avoir de cavitation inertielle<sup>140</sup>.

Il a été remarqué qu'un sujet anesthésié par l'utilisation concomitante d'oxygène et d'isoflurane voyait sa dose de cavitation stable baisser, et sa dose de cavitation inertielle augmenter<sup>35</sup>. Cela peut être expliqué par deux facteurs. Premièrement, l'utilisation d'oxygène pendant une anesthésie diminue drastiquement la demi-vie des bulles dans le flot sanguin, et par conséquent les niveaux de cavitation perçus<sup>90</sup>. Deuxièmement, l'isoflurane étant un vasodilatateur<sup>45</sup>, il est possible que le diamètre augmenté des vaisseaux sanguins ait permis aux bulles d'osciller plus fortement, engendrant ainsi plus de cavitation inertielle.

Plus la molécule a une taille importante, plus la pression nécessaire pour qu'elle puisse passer la barrière serait élevée<sup>19</sup>, ce qui impliquerait que certaines molécules ne peuvent passer la barrière sans cavitation inertielle.

#### I.3.1.1.3. S'affranchir de l'écoute en se basant sur la consigne de traitement

Les différentes études montrent que les OBHE et les effets indésirables peuvent apparaître à des MI différents, ce qui veut dire que cet indice ne peut être considéré seul. Une étude a même démontré qu'à différentes fréquences et avec un MI constant, les niveaux de cavitation n'étaient pas les mêmes<sup>40</sup>. L'attention doit donc être également portée sur le modèle animal utilisé, la taille et la concentration des bulles, ainsi que leur fréquence de résonance.

Cependant, au sein d'une même étude et en utilisant toujours les mêmes paramètres, le MI pourrait être un indicateur assez fiable de la réussite de l'OBHE. Certaines études prouvent qu'avec une connaissance a priori des effets des paramètres de chaque paramètre sur le modèle animal utilisé, il est possible de s'affranchir de l'écoute de cavitation, notamment en se basant sur le MI ou le Cavitation Index (analogue au MI mais avec une dépendance linéaire à l'inverse de la fréquence)<sup>23</sup> ou encore directement avec la pression de traitement<sup>89</sup>. Implicitement, ce type d'étude suggère que puisque la corrélation entre la consigne de traitement et les effets qui en découlent est forte (le reste des paramètres étant fixés), on peut se passer d'écoute de cavitation. Il n'existe d'ailleurs à ce jour aucune étude montrant clairement que la corrélation entre effets et émissions acoustiques détectées est meilleure que la corrélation entre effets et consigne de traitement lorsque cette dernière est maîtrisée.

#### I.3.1.1.4. Ajustement des paramètres en fonction des niveaux de cavitation

Il est possible de se baser sur l'écoute de cavitation pour ajuster les paramètres du traitement. Deux pratiques existent. La première affirme que l'ouverture se fait de manière reproductible et sécurisée lorsque le niveau des harmoniques 2 et 3 est assez important, mais avant l'apparition du sous-harmonique et des ultra-harmoniques<sup>91</sup>. La seconde se base directement sur le niveau des ultra-harmoniques. Un système de rétrocontrôle automatique de la pression du traitement a été développé en se basant sur l'écoute de la cavitation<sup>101</sup>. La pression est augmentée petit à petit jusqu'à l'apparition des ultra-harmoniques. Elle est alors divisée par un facteur choisi empiriquement. Ce système a permis de prouver qu'il était possible d'obtenir des ouvertures efficaces, reproductibles et sécurisées chez la souris quand la pression était divisée par 2.

Ce genre d'ajustement doit être pratiqué avec précaution. Une mauvaise focalisation du PCD, une directivité trop importante, une sensibilité peu élevée ou un rapport signal sur bruit trop faible pourrait mener à une mauvaise interprétation de l'activité des bulles. Les harmoniques et ultra-harmoniques pourraient ne pas être perçus par le système au seuil de cavitation stable, mais après avoir passé un seuil de sensibilité inhérent au système et à son orientation. La traversée du crâne des patients dans un contexte clinique pose également un problème majeur. Il a été explicitement démontré que la présence de ce dernier nécessitait de tirer à des pressions plus fortes pour que la cavitation soit perçue, et que la dispersion des ondes à l'interface entre le crâne et les tissus pouvaient rendre certains harmoniques inaudibles pour le PCD<sup>151</sup>. Tous ces facteurs pourraient provoquer un sur-traitement et être à l'origine d'effets secondaires non désirés. Néanmoins, les approches transcrâniennes d'OBHE par ultrasons souffrent d'une mauvaise maîtrise de la pression délivrée à l'intérieur du crâne, et la détection qualitative de ces indices de cavitation permet de compenser ces incertitudes.

#### I.3.1.2. Localisation de l'activité de cavitation

La distorsion causée par le crâne est susceptible de dévier l'onde acoustique de la zone de traitement visée<sup>25</sup>. La cavitation étant associée à l'OBHE, l'imagerie de cette dernière est investiguée, afin de savoir si les zones visées sont correctement atteintes et de pouvoir contrôler la précision du traitement en temps réel. L'imagerie passive de la cavitation (PCI) n'est pas un domaine spécifique à l'OBHE, car la cavitation est utilisée dans le traitement de nombreuses pathologies. Les travaux concernant la PCI sont récents et ont d'abord fait l'objet d'étude par simulation et *in vitro*<sup>52,116</sup>, puis *in vivo*<sup>102</sup>.

Différents capteurs peuvent être utilisés pour imager la cavitation, caractérisés par leur réponse impulsionnelle spatiale (Figure 11). La plupart des études *in vitro* emploient une barrette d'échographie à une dimension classique, pour observer le comportement des bulles dans le champ ultrasonore<sup>51</sup>. Ces antennes linéaires sont généralement utilisées pour restituer une image du plan

dans lesquelles elles se trouvent et possède une mauvaise réponse impulsionnelle spatiale dans le sens axial. Le positionnement de la sonde par rapport à la forme de la tâche focale du dispositif de thérapie utilisé devient alors important<sup>55</sup>. L'utilisation d'antennes ayant une disposition d'éléments sur deux<sup>29</sup> ou trois<sup>102</sup> dimensions devient néanmoins de plus en plus fréquente. Cela est obligatoire pour pouvoir imager des volumes et avoir une véritable utilité clinique. Récemment, certains dispositifs d'OBHE utilisés en clinique pour la thérapie ont été utilisés pour faire de l'imagerie<sup>30,34,66</sup>, afin d'étudier la capacité de ces systèmes à assurer la thérapie et la surveillance du traitement simultanément. Une répartition des éléments de l'antenne autour du volume à imager ainsi qu'une augmentation du nombre de ces éléments offrent généralement une résolution de bien meilleure qualité<sup>68</sup>.

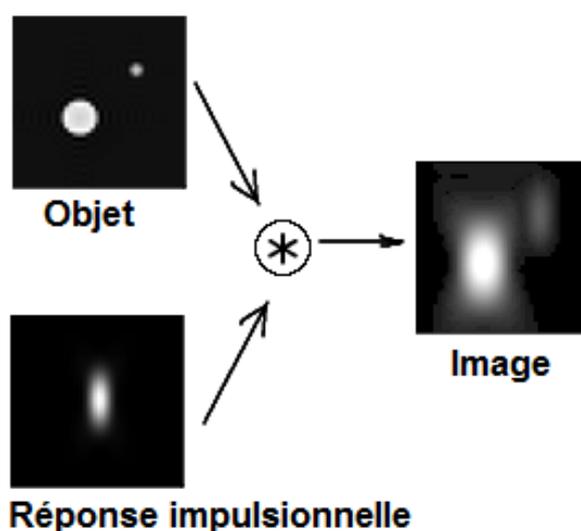


Figure 11 – Illustration du concept de réponse impulsionnelle. Chaque antenne est caractérisée par une fonction d'étalement de point qui agit comme un filtre sur l'objet à imager. L'image obtenue par l'antenne résulte donc d'une convolution entre cette fonction et la forme véritable de l'objet. Sur cet exemple, l'étalement du point est plus important dans le sens vertical que dans le sens horizontal, ce qui conduit à une image ayant une résolution différente dans ses deux directions.

Les algorithmes utilisés pour la reconstruction de l'image à partir des données acoustiques du réseau de transducteur sont nombreux et proposent tous une résolution différente du même problème : le problème inverse, présenté dans le Chapitre 4. Au cours du temps, des améliorations ont été apportées aux méthodes d'imagerie classique, notamment en corrigeant les artefacts dus aux interférences des bulles entre elles<sup>28</sup>. Certains algorithmes supposent une décorrélation temporelle des différents événements de cavitation et se servent des pics d'énergie générés par l'implosion des bulles en régime de cavitation inertielle pour générer des images ayant une meilleure résolution ou pour mieux différencier des bulles proches les unes des autres<sup>53</sup>.

La PCI souffre généralement des mêmes problèmes que la thérapie, le signal de cavitation étant également altéré par le crâne. Plus la fréquence utilisée pour la thérapie est haute, plus les aberrations dues au crâne seront importantes<sup>68</sup>. Néanmoins, il est délicat de régler la fréquence de traitement

dans le but de faire de la PCI, car c'est un paramètre déterminant pour l'efficacité de la thérapie. De plus, la tâche focale en réception d'un réseau de capteurs est proportionnelle à la longueur d'onde utilisée, ce qui signifie que baisser la fréquence du traitement entraîne irrémédiablement une baisse de la précision pour la PCI. Des images tomодensitométriques (CT-scan) de haute résolution peuvent être utilisées pour corriger ces aberrations<sup>5</sup>. Grâce à ces corrections, d'abord testées par simulations<sup>68</sup>, la PCI s'est avérée faisable à travers un crâne humain pendant une OBHE chez le rat, à une fréquence de 306 kHz<sup>67</sup>.

En écoute passive, contrairement à l'échographie, l'information de temps de vol entre les sources ultrasonores du plan d'imagerie et les différents éléments du capteur utilisé ne sont pas disponibles. Les durée d'émission des ondes de thérapie étant généralement importante, la résolution axiale de la PCI est donc relativement mauvaise. De plus, les ondes utilisées pour la thérapie ont généralement des amplitudes plus importantes que celles renvoyées par les bulles et la réverbération des ondes dans le crâne peut également créer des interférences avec la PCI pendant des émissions longues. Comme de bonnes OBHE ont déjà été obtenues avec de courtes impulsions, il est préconisé d'utiliser de telles configurations de traitement afin de pouvoir assurer simultanément la PCI<sup>14,44</sup>.

La PCI s'avère utile pour contrôler le bon déroulement du traitement lors d'une ouverture transcrânienne de la BHE, afin de s'assurer que la zone visée est correctement atteinte. Dans ces configurations, l'utilisation des ultrasons est focalisée (voir la partie ci-après). Par conséquent les sources de cavitation sont nécessairement peu nombreuses et rapprochées, et les erreurs d'imagerie dues à une interférence des bulles entre elles sont moins probables. La mauvaise résolution axiale de certains capteurs est compensée par cette activité ponctuelle, et en corrigeant les aberrations dues au crâne, il a été démontré que la zone où avait lieu la cavitation pendant le traitement était confondue avec la zone d'OBHE<sup>149</sup> (Figure 12).

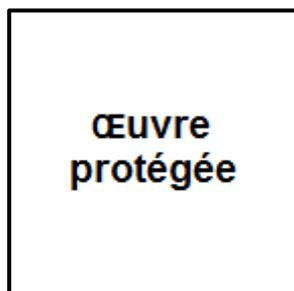


Figure 12 – Corrélation entre l'OBHE chez le primate visible à l'IRM (tâche rouge sur l'image de gauche) et la PCI (carte colorée sur l'image de droite). Le pixel où l'OBHE est maximale est marqué par une étoile blanche et celui où la PCI est maximale est marqué par une croix blanche. La différence de distance moyenne entre ces deux points pour cette étude est de 2.4mm. (D'après Wu et al.<sup>149</sup>)

L'utilisation d'un champ acoustique non focalisé pour la thérapie entraîne nécessairement des zones de cavitation plus diffuse et par conséquent plus difficile à imager. Ce point sera discuté dans le Chapitre 4 de ce manuscrit.

## I.3.2. Les dispositifs cliniques d'ouverture

Depuis quelques années, la méthode d'OBHE par exposition aux ultrasons combinée à l'injection de microbulles est passée en développement clinique. Un des obstacles majeurs de cette transition est le crâne humain. La plupart des études précliniques se font sur des petits animaux tels que des souris, des rats ou encore des lapins. Dans ces cas de figure, le crâne est assez fin pour ne pas causer de distorsion ou d'atténuation majeure de l'onde ultrasonore, si les fréquences utilisées sont assez basses.

Néanmoins, la transition de la méthode à des animaux de taille plus importante, puis à l'Homme, s'avère délicate car l'épaisseur du crâne est bien plus importante. Tirer à des puissances importantes n'est pas une option viable à cause des effets néfastes que pourraient causer une puissance acoustique trop importante dans les tissus (échauffements, cavitation spontanée, etc...). Pour pallier ce problème, plusieurs dispositifs ont été inventés.

### I.3.2.1. Les dispositifs focalisés et transcrâniens

La plupart des dispositifs développés en recherche et en industrie sont des dispositifs transcrâniens. Afin d'acheminer l'énergie en quantité suffisante jusque dans la zone à traiter, ces dispositifs sont focalisés, c'est-à-dire que les ondes envoyées par un ou plusieurs transducteurs se somment à une certaine distance de ces derniers en un point appelé la tâche focale. Ainsi, il est possible de déposer de l'énergie acoustique en quantité importante dans la zone ciblée à travers le crâne sans provoquer de hausse de température dans les tissus<sup>25</sup>. La focalisation dynamique consiste à induire des retards d'émission pour chacun des transducteurs d'un système afin de pouvoir déplacer le point focal. C'est le principe de fonctionnement d'une barrette échographique, par exemple.

A ce jour, il existe trois dispositifs ultrasonores, focalisés et transcrâniens pour l'OBHE utilisés en clinique<sup>128</sup>. Le premier est l'ExAblate, développé par la société Insightec. Il a été utilisé lors de plusieurs essais cliniques enregistrés sur [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov), pour traiter différentes pathologies cérébrales telles que les GBM (NCT03712293), les métastases dues au cancer du sein (NCT03714243), la maladie d'Alzheimer (NCT02986932) et la maladie de Charcot (NCT03321487). Il s'agit d'un "casque" contenant 1024 transducteurs focalisés dynamiquement pour la thérapie et jusqu'à 128 pour l'écoute et la PCI<sup>30</sup>. Le dispositif est couplé à un scanner IRM 3 T (Figure 13).

La tête du patient est dans un premier temps entièrement rasée et positionnée dans un cadre stéréotaxique. Une heure avant le traitement ultrasonore, la chimiothérapie est administrée aux patients afin que la concentration soit maximale au moment de l'OBHE. Des acquisitions d'images IRM sont réalisées avant le traitement ultrasonore afin de planifier ce dernier. Chaque zone visée est découpée en 9 points et le volume d'une zone a été estimé à 486  $\mu$ l. Le déroulement du traitement d'une zone a été détaillé dans étude préclinique publiée<sup>61</sup>. Pendant le traitement ultrasonore, la pression est incrémentée petit à petit jusqu'à la détection des sous-harmoniques. Elle est ensuite divisée par deux. Cette méthode a été développée lors d'une étude préclinique chez la souris et a montré une faisabilité d'OBHE efficace et sans effets indésirables<sup>101</sup>. Des résultats cliniques ont été publiés et montrent la faisabilité et la sécurité du traitement des GBM<sup>79</sup>, et de la maladie d'Alzheimer<sup>76</sup> avec l'ExAblate.



Figure 13 – L'ExAblate, le dispositif ultrasonore, focalisé et transcârien développé par Insightec pour l'OBHE.

La société NaviFUS a développé un système semblable, utilisé en clinique (NCT03626896), mais aucune donnée n'est publiée à ce jour. L'équipe de la Professeure Konofagou a également mis au point un système d'OBHE composé d'un unique transducteur focalisé, récemment accepté en clinique pour traiter la maladie d'Alzheimer. La particularité de ces systèmes est qu'ils s'affranchissent du cadre stéréotaxique et du guidage IRM grâce à un système de neuronavigation optique. Cette technique a déjà fait ses preuves lors des études précliniques et s'est même avérée plus précise que le cadre stéréotaxique<sup>149</sup>.

Les méthodes transcrâniennes ont l'avantage de ne pas être invasives pour le patient car la transmission des ultrasons ne nécessite pas d'intervention chirurgicale. Néanmoins, elle souffre de grandes limitations. La présence du crâne atténue et dévie grandement les ondes acoustiques, ce qui nécessite des systèmes de planification, de surveillance et de rétrocontrôle du traitement extrêmement complexes, onéreux et peu pratiques. Une captation IRM est obligatoire pour savoir où les transducteurs tirent et quelle épaisseur d'os ils doivent traverser. La forte atténuation oblige à utiliser plusieurs centaines d'éléments simultanément afin de délivrer l'énergie acoustique en quantité suffisante sur les zones ciblées sans brûler les tissus sur le chemin des ondes. Ces zones d'un volume inférieur à 0.5 ml sont alors traitées une par une et le temps nécessaire pour un traitement complet peut devenir très important et nécessiter plusieurs injections successives de bulles. Le fait que ces transducteurs soient focalisés rend également compliqué le traitement des tissus proches de la surface du crâne. Le traitement étant extracorporel, il nécessite un couplage acoustique entre les transducteurs et la peau du patient, qui ne peut être assurée que par le rasage complet de la tête de ce dernier. Enfin, les réflexions des ondes sur le crâne peuvent produire un échauffement de la peau du patient qui nécessite l'utilisation d'un système de refroidissement.

### 1.3.2.2. L'implant ultrasonore SonoCloud

Pour pallier ces problèmes, une autre méthode d'OBHE a été proposée par le Professeur Alexandre Carpentier. Il s'agit de s'affranchir de l'atténuation et de la distorsion causées par le crâne en implantant dans ce dernier un transducteur ultrasonore plan (non focalisé). Il est alors possible de tirer à des MI comparables, tout en couvrant une zone plus diffuse (Figure 14). Les pressions désirées sont obtenues précisément grâce une calibration au préalable de l'implant et la puissance délivrée est reproductible sans besoin d'un système de rétrocontrôle du traitement tel que l'IRM ou la neuronavigation. La procédure est donc rapide, peu coûteuse et peut être faite de manière ambulatoire sans grand besoin de matériel. Elle nécessite seulement une légère intervention chirurgicale réalisée au préalable sous anesthésie locale.

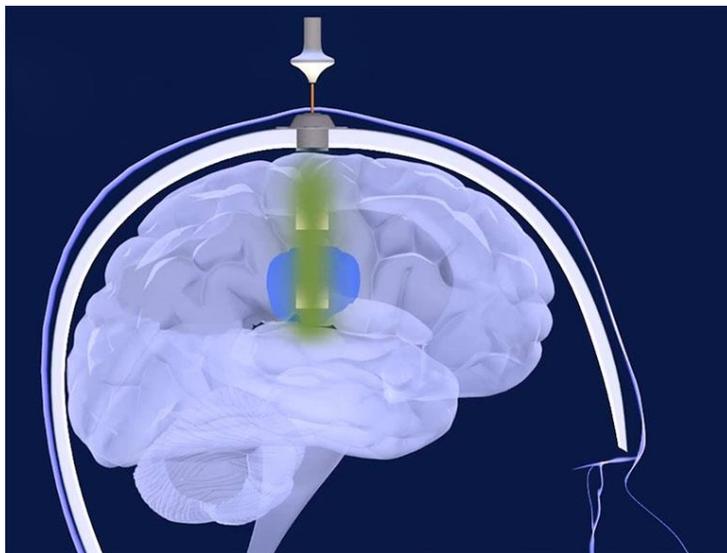


Figure 14 – Principe de fonctionnement d'un implant ultrasonore non focalisé. La tumeur est représentée en bleu. Le champ acoustique est diffus et permet de traiter d'un seul coup un volume important couvrant à la fois les tissus tumoraux et leur périphérie.

Les premières OBHE jamais réalisées sur des sujets humains atteints d'un GBM ont été faite avec l'implant ultrasonore non-focalisé de la société CarThera : le SonoCloud<sup>15</sup>. Cette étude clinique (NCT02253212), l'implant et son mode de fonctionnement sont détaillés dans le chapitre suivant. L'étude a permis de trouver un jeu de paramètre ultrasonore permettant des OBHE répétées mensuellement pendant 12 mois, couplées avec une chimiothérapie au carboplatine bien tolérée chez les patients. Depuis, le SonoCloud est également testé en clinique pour traiter la maladie d'Alzheimer (NCT03119961), et une étude sur les métastases dues aux mélanomes va bientôt débiter (NCT04021420). Plusieurs nouvelles générations d'implants ont également vu le jour et sont testées cliniquement. Il s'agit des SonoCloud-3 et SonoCloud-9 (NCT03744026), dont le but est de couvrir un plus grand volume tumoral grâce à la multiplication du nombre de transducteurs dans l'implant (respectivement 3 et 9 transducteurs). Le SonoCloud-9 a récemment été autorisé en clinique aux Etats-Unis par la FDA (Food and Drug Administration).

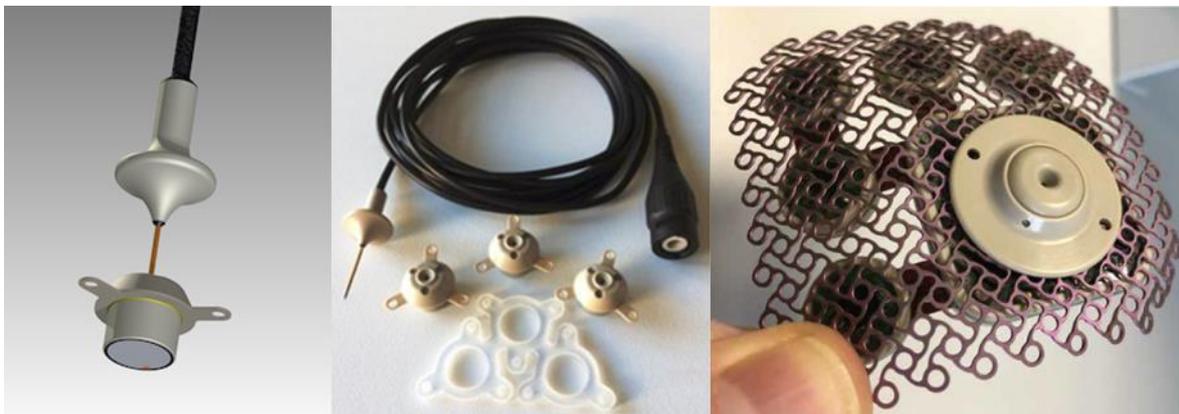


Figure 15 – Les trois générations d'implant de CarThera. Gauche : SonoCloud vu du dessous et son aiguille. Milieu : Trois implants SonoCloud maintenus en triangle par un support en silicone forment le SonoCloud-3. Droite : SonoCloud-9, constitué de 9 émetteurs activés à tour de rôle par la même aiguille.

***Les études décrites dans ce manuscrit s'inscrivent dans un contexte de traitement avec le dispositif SonoCloud.***

# Chapitre II : Estimation du volume d'ouverture de la barrière hémato-encéphalique et corrélation de la probabilité d'ouverture avec la pression acoustique locale

Ce chapitre s'intéresse à l'estimation du volume d'OBHE à l'aide d'image IRM. Cette étude a été réalisée à l'aide des résultats intermédiaires d'une étude clinique menée par CarThera<sup>15</sup>. L'objectif était de développer et de valider une méthode de quantification automatique du volume de rehaussement significatif du signal dû aux ultrasons (RESIDUS) sur des images IRM, et de corréler localement ce rehaussement avec la pression acoustique.

Cette étude prospective a fait l'objet d'une publication<sup>4</sup> dans le Journal of Neurosurgery (JNS) et a partiellement été présentée à l'International Symposium for Therapeutic Ultrasound (ISTU 2018, Nashville, Tennessee).

## II.1. L'étude clinique menée par CarThera

L'étude clinique menée par CarThera était une étude clinique de phase 1/2a (NCT02253212). Il s'agissait d'une escalade de dose d'ultrasons (pression acoustique nominale du traitement). L'étude a été conçue et menée à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris. Elle a commencé en juillet 2014 et s'est terminée en septembre 2016. Cette partie du manuscrit rend compte succinctement de la conception et des résultats de l'étude, qui ont déjà été publiés<sup>65</sup>.

### II.1.1. Présentation détaillée de l'étude

#### II.1.1.1. Eligibilité des patients et critères de sortie de l'étude

21 patients ont été recrutés pendant l'étude. Tous ont été atteints d'un GBM en récurrence après un traitement standard de première intention (résection tumorale, radiothérapie et chimiothérapie au TMZ). Les patients devaient présenter des signes de développement tumoral et avoir une tumeur de moins de 35 mm de diamètre. Ils devaient également être éligibles à la chimiothérapie à base de carboplatine.

Sur ces 21 patients, 2 d'entre eux ont été sortis de l'étude directement après implantation, soit à cause de nécroses d'origine radiologique, soit à cause de microhémorragies visibles à l'IRM.

Les patients étaient traités toutes les 4 semaines et jusqu'à 10 fois si possible. Le protocole prévoyait une sortie de l'étude en cas de progression tumorale selon le critère RANO<sup>146</sup> ou en cas d'événements indésirables graves tels que des saignements, des crises d'épilepsie ou des troubles neurologiques, soit directement liés à leur pathologie, soit dus aux expositions ultrasonores.

Le but principal de l'étude était de trouver la pression acoustique nominale optimale pour l'OBHE et de vérifier la bonne tolérance des patients à des ouvertures répétées. Parallèlement, une évaluation de l'efficacité des OBHE par vérification sur les images IRM a été réalisée.

### II.1.1.2. Présentation du SonoCloud et de son implantation

L'implant ultrasonore de CarThera (le SonoCloud, Figure 15, Chapitre I) est un disque piézo-céramique, biocompatible et IRM-compatible de 11.5 mm de diamètre. Le diamètre de sa surface active est de 10 mm. Sa fréquence de résonance est de 1.05 MHz.

L'implant est inséré dans un trou de trépan pendant un court acte de chirurgie, soit directement après une résection tumorale, soit en anesthésie locale pendant un acte dédié. Il est positionné en face de la tumeur ou en face des zones sensibles menacées par la progression tumorale, de sorte à ce que le traitement bénéficie le plus possible au patient. L'implant est donc en contact avec la dure-mère, ce qui permet aux ondes ultrasonores de se propager dans le cerveau sans atténuation ou distorsion dues au crâne. Le scalp est ensuite remplacé par-dessus le crâne et recouvre entièrement l'implant (Figure 16).



Figure 16 - Crâne d'un patient après implantation et remplacement du scalp.

Pendant le traitement ultrasonore, l'implant est activé via une aiguille transdermique connectée à un dispositif composé d'un amplificateur radiofréquence piloté par un logiciel dédié. L'aiguille et le générateur ont été conçus par CarThera.

### II.1.1.3. Déroulement du traitement et paramètres ultrasonores utilisés

L'exposition ultrasonore commence directement après le début de l'injection d'une dose de microbulles (SonoVue, Bracco)<sup>121</sup>. La dose de microbulles était dans un premier temps fixée à 4.8 mL. Après 18 traitements chez 9 patients, elle a été augmentée à 0.1 mL/kg pour optimiser l'OBHE.

Pendant le traitement, l'implant envoie une onde acoustique sinusoïdale de 1.05 MHz et de 25000 cycles (23.8 msec), avec une fréquence de répétition de 1 Hz (rapport cyclique de 2.38 %). L'exposition aux ultrasons dure au total 150 sec. L'étude portait sur une escalade de la pression nominale de traitement, c'est-à-dire la pression à la focale naturelle du transducteur positionné dans l'eau. Selon les traitements, cette dernière était de 0.41, 0.53, 0.66, 0.78, 0.90, 1.03 ou 1.15 MPa. A chaque pas de pression, au minimum 3 patients ont été traités.

Dans l'heure suivant l'OBHE, les patients recevaient une chimiothérapie à base de carboplatine administrée en intraveineuse pendant 60 à 90 min.

### II.1.1.4. Imagerie et qualification de l'ouverture

Afin d'attester une OBHE après expositions aux ultrasons mais aussi pour contrôler la progression tumorale ou la présence d'événements indésirables graves, chaque patient passait une IRM 48 h avant (images prétraitement) et approximativement 20 min après (images post-traitement) chaque traitement ultrasonore.

La machine utilisée pour l'IRM (Signa HDxt MRI System, General Electric Healthcare) avait un champ magnétique de 3 T. Cinq minutes après l'injection de gadolinium (Gd-DOTA, 0.1 mmol/kg; Dotarem, Guerbet), un agent de contraste IRM qui ne traverse normalement pas la BHE, les images pondérées en T1 (T1w) sont acquises (séquences CUBET1; angle de bascule : 90°, TR/TE : 600/12 msec, épaisseur des coupes : 1 mm, résolution des pixels : 0.49 × 0.49 mm<sup>2</sup>).

Sur les images T1w post-traitement, l'OBHE peut donc être confirmée par la présence d'un faisceau hyperintense en face du transducteur, preuve que le gadolinium a traversé la BHE et s'est déposé dans les tissus (Figure 17).



Figure 17 – Ouverture de la barrière hémato-encéphalique suite au traitement ultrasonore SonoCloud sur des images T1w acquises après injection de gadolinium. La zone encadrée en pointillés correspond à la zone de tir du transducteur. L'image de gauche a été prise 48h avant le traitement ultrasonore et celle de droite immédiatement après. Le faisceau hyperintense derrière le transducteur correspond au dépôt d'acide gadotérique dans les tissus et témoigne de l'OBHE. (D'après Carpentier et al. 2016<sup>15</sup>)

Pour chacun des traitements ultrasonores réalisés, les images T1w pré et post-traitement étaient comparées pour attester de l'efficacité de l'OBHE. Un grade (note allant de 0 à 3) était attribué à chaque traitement en fonction des zones d'occurrence de l'OBHE : 0 pour aucune ouverture visible, 1 pour une ouverture dans l'espace sous-arachnoïdien, 2 pour une ouverture dans l'espace sous-arachnoïdien et la matière grise, 3 pour une ouverture dans l'espace sous-arachnoïdien, la matière grise et la matière blanche. Les grades ont été attribués après un consensus de 2 neuroradiologues et d'un neurochirurgien.

## II.1.2. Résultats de l'étude

### II.1.2.1. Sécurité du traitement SonoCloud

Un total de 65 sonications a été réalisés chez 19 patients. D'une manière générale, le traitement a bien été supporté. Aucun événement indésirable grave dû aux ultrasons n'a été reporté.

Les événements indésirables signalés pendant l'étude comportent de la fatigue, des maux de tête, des malaises vagues. Des douleurs pendant l'insertion de l'aiguille ont été signalées mais aucune douleur n'a été signalée pendant le traitement ultrasonore ou après l'implantation du SonoCloud.

Deux déficits neurologiques transitoires ont été remarqués dans les 2 jours suivants le traitement pour des pressions de 0.9 et 1.03 MPa. Ils ont disparu dans les 15 jours suivants. Un déficit neurologique transitoire (paralysie faciale) a été remarqué immédiatement après un traitement à 0.9 MPa mais a disparu dans les 2 h suivantes. Aucun trouble neurologique sévère et aucune crise d'épilepsie n'a été reporté pendant ou après les sonications.

Deux œdèmes transitoires ont été remarqués. Le premier s'est déclenché 15 jours après traitement et s'est résorbé 48 h après hospitalisation. Le deuxième s'est déclenché 1 h après sonication et s'est résorbé dans les 2 h suivantes.

Sur les images prétraitement, aucun dépôt de gadolinium n'était visible dans les tissus, ce qui prouve que l'OBHE réalisée est temporaire et réversible.

Certains patients sont décédés pendant l'étude, à cause de la progression tumorale. L'un d'entre eux est décédé suite à un lymphome un an après son dernier traitement. Au vu de sa rapidité d'installation et de propagation, il est peu probable que ce lymphome soit dû au carboplatine.

### II.1.2.2. Faisabilité et efficacité de la méthode

Sur les 65 traitements réalisés, 52 ont déclenché une OBHE observable sur les images T1w (grade supérieur à 0). Parmi ces ouvertures, 34 atteignaient une profondeur supérieure à l'espace sous-arachnoïdien (grade supérieur à 1).

Une dose optimale de la pression nominale de traitement a été observée (Figure 18). La proportion d'ouverture profonde (grade 2 ou 3) augmentait significativement avec la pression nominale jusqu'à 80 % (0.90 MPa) puis décroissait (78 % pour 1.03 MPa et 67 % pour 1.15 MPa). Cependant, une grande partie des traitements à 1.03 MPa ont été réalisés chez un patient ayant une tumeur de taille importante, recouvrant une grande partie du faisceau acoustique, biaisant ainsi l'attribution du grade (ouverture non visible car la BHT apparaît déjà hyperintense sur les images T1w). Pour cette raison, la pression nominale optimale a été déterminée comme étant 1.03 MPa.

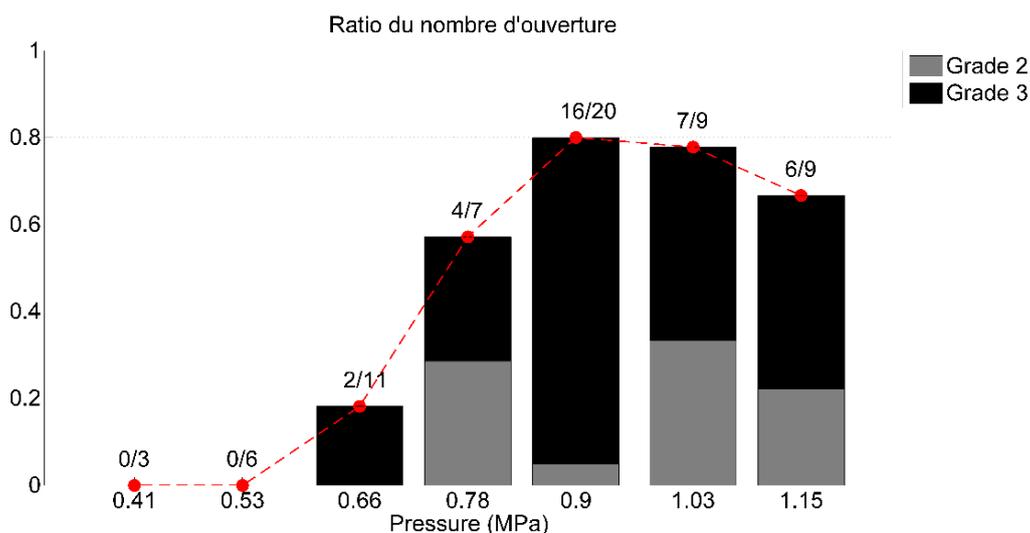


Figure 18 – Ratio du nombre d'ouvertures profondes réussies (grade 2 ou 3) en fonction de la pression. Les fractions au-dessus des barres indiquent le nombre d'ouvertures sur le nombre de traitements effectués. (Réalisée à partir des données de Idbaih et al. 2019<sup>65</sup>)

Deux indices de survie ont été évalués : la survie sans progression tumorale qui correspond au temps écoulé entre le premier traitement et la progression tumorale suivant le critère RANO ou la mort, et la survie globale qui correspond au temps écoulé entre la date du premier traitement et la mort. Les 2 indices ont une valeur plus importante chez les patient présentant des ouvertures profondes (grade 2 ou 3, n = 35) que chez les patients sans ouverture franche (grade 0 ou 1, n = 28) : la médiane de survie sans progression tumorale était de 4.11 contre 2.73 mois et la médiane de survie générale était de 12.94 contre 8.64 mois.

Ces résultats prouvent la faisabilité du traitement ultrasonore réalisé. La pression nominale de traitement a une influence majeure sur la chance d'avoir une ouverture profonde (grade 2 ou 3). La hausse des indices de survie chez les patients ayant bénéficié d'une ouverture profonde suggère une efficacité accrue de la chimiothérapie au carboplatine. Des données supplémentaires, sur un plus grand nombre de patients, devront affirmer la tendance de ces résultats préliminaires.

Le grade est une appréciation qualitative qui rend compte de la présence de gadolinium dans les tissus. Néanmoins, elle ne permet pas de quantifier le volume de l'OBHE, paramètre directement lié à l'efficacité du traitement. De plus, c'est une méthode subjective, sujette à des biais d'appréciation. Suivant la personne en charge de l'attribution du grade, une ouverture trop petite pourrait ne pas être remarquée ou un artefact d'imagerie pourrait être pris pour une ouverture. Une méthode d'estimation automatique du volume d'OBHE s'avère donc indispensable pour avoir une meilleure compréhension du phénomène. Une approche locale de la mesure de l'ouverture permettrait également de comparer celle-ci avec la pression acoustique locale supposée au moment du traitement, pour une analyse plus fine de l'impact de l'amplitude des ultrasons sur le traitement.

## II.2. Matériels et méthodes pour la quantification du volume d'ouverture

Dans cette partie, le développement d'une méthode semi-automatique d'estimation du volume d'OBHE, ainsi qu'une corrélation entre ouverture et pression acoustique locale sont présentés. Ces travaux sont réalisés à partir d'images T1w acquises 48 h avant (images prétraitement) et une vingtaine de minutes après (images post-traitement) l'exposition aux ultrasons.

Le volume calculé sur les images est le volume de rehaussement significatif du signal dû aux ultrasons (RESIDUS). Il est précisé que la quantification du RESIDUS n'apporte qu'une estimation de l'efficacité de l'OBHE. Le volume calculé dans cette étude est donc un substitut et ne rend compte de l'efficacité du traitement que d'une manière indirecte. Il ne doit pas être confondu avec le volume de carboplatine ayant réellement pénétré les tissus.

Les résultats exposés dans cette partie ont été acquis sur la base des résultats intermédiaires de l'étude, publiés en juin 2016<sup>15</sup>. Elle inclut les 41 premiers traitements chez 13 patients jusqu'à janvier 2016.

## II.2.1. Chaîne de traitement des images

Les images IRM ont toutes été acquises sur la même machine et dans les mêmes conditions. Elles doivent néanmoins être prétraitées avant de pouvoir en extraire le RESIDUS. Les différentes étapes du traitement des images sont détaillées dans la Figure 19. Elles ont toutes été réalisées sur Matlab (Matlab Version 8.3, Image Processing Toolbox Version 9.0, MathWorks) avec des fonctions natives, personnalisées ou libres de droit.

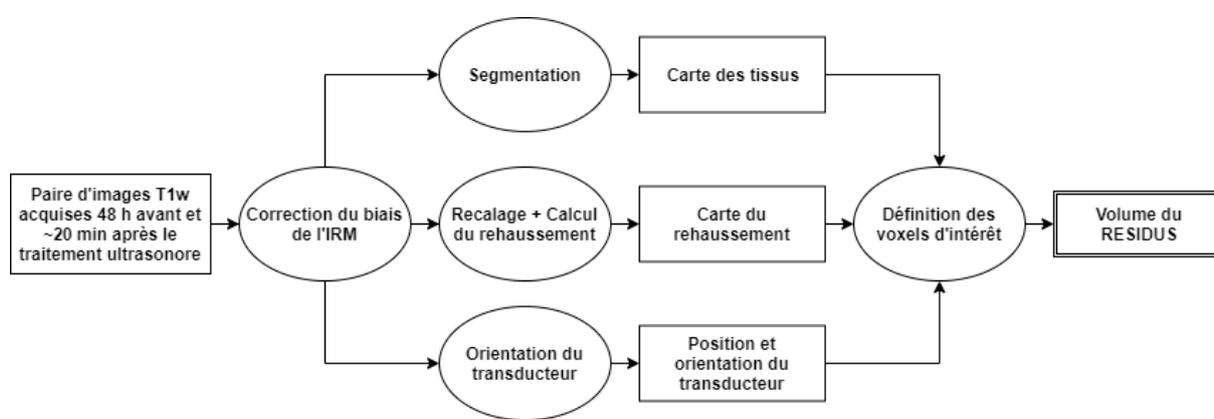


Figure 19 – Chaîne de traitements des images IRM jusqu'à l'obtention du volume du RESIDUS. (D'après Asquier et al., 2019<sup>4</sup>)

### II.2.1.1. Correction du biais

Le biais est un champ magnétique basse fréquence qui fausse les images IRM en les floutant et en perturbant l'uniformité continue de certains niveaux de gris<sup>70</sup>. Il est surtout observable sur les images issues des vieilles machines et ne pose généralement pas de problème pour les diagnostics cliniques. Cependant, il est indispensable de s'en débarrasser pour utiliser correctement certains algorithmes de traitement d'images, notamment ceux qui se basent sur des invariances spatiales de l'uniformité des niveaux de gris. Cette étude s'appuie sur une comparaison voxel par voxel et sur la segmentation d'images IRM. Il est donc nécessaire de corriger le biais des images prétraitement et post-traitement pour obtenir des résultats fiables.

Il s'agit d'une opération délicate pour les images post-traitement car le faisceau hyperintense dû au dépôt de gadolinium crée une discontinuité dans les niveaux de gris. Il faut donc trouver un jeu de

réglages qui permet d'uniformiser les niveaux de gris des tissus d'une même famille tout en laissant le faisceau apparent.

La correction du biais a été faite en utilisant la toolbox libre Statistical Parametric Mapping (SPM12)<sup>42</sup>. Les paramètres de correction du biais ont été choisis empiriquement. La régularisation (bias regularisation) a été réglée sur "light" (0.001) et la largeur à mi-hauteur de la gaussienne représentant le lissage du biais (bias FWHM) a été réglée sur 60 mm, afin de ne pas effacer les faisceaux de gadolinium des images T1w qui ont une largeur moins importante. La Figure 20 représente un exemple d'image corrigée.

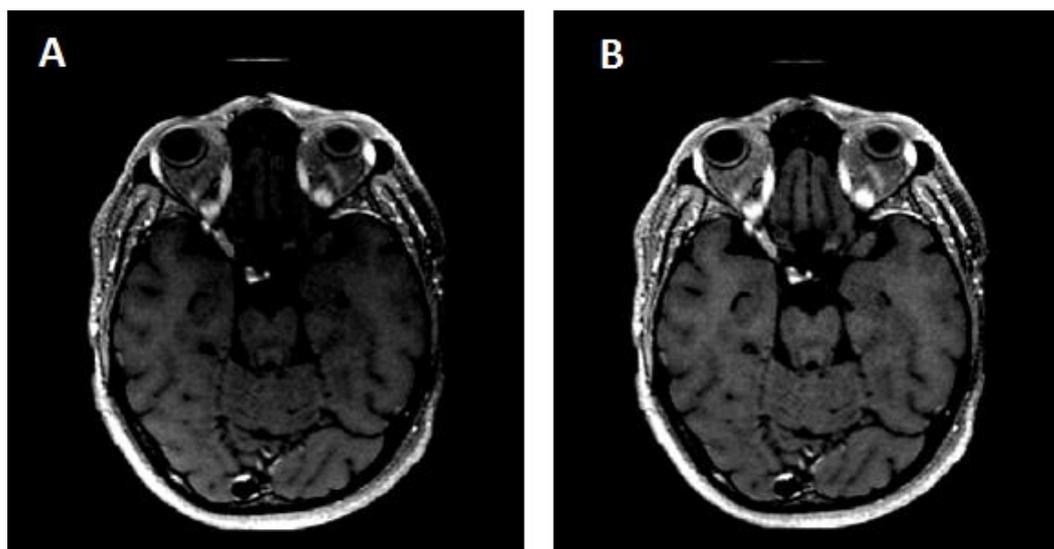


Figure 20 – Effet de la correction du biais. A : image corrompue par un champ magnétique basse fréquence. Les niveaux de gris des tissus varient spatialement; B : même image avec le biais corrigé.

### II.2.1.2. Recalage

Le recalage est une opération consistant à aligner deux images dans un même repère, en faisant correspondre au mieux possible leurs voxels entre elles. Pour ce faire, des opérations de transformations géométriques (translations, rotations, homothéties, déformations, etc...) sont utilisées pour passer d'une image *A* à une image *B*. Les transformations permettent de créer une image *A'* qui est une interpolation de l'image *A*, étant alignée sur l'image *B* et ayant le même nombre de voxels.

C'est une opération de traitement d'image très utilisée dans le domaine médical car elle permet de mettre en évidence des différences à la suite d'un traitement, de comparer plusieurs modalités d'imagerie ou de faire du suivi de mouvement<sup>84</sup>. Dans cette étude, il s'agit d'une étape obligatoire pour pouvoir comparer les voxels prétraitement et post-traitement un à un afin de mesurer la hausse d'intensité due à la présence de gadolinium.

Le recalage fait parfois l'objet de problèmes d'optimisation complexes, notamment quand les organes concernés sont déformables comme le cœur ou les poumons. Cependant, dans le cas de cette étude, l'organe observé est le cerveau. Il est considéré rigide, c'est-à-dire indéformable. Les opérations à utiliser pour le recalage ne sont alors que des translations et des rotations (Figure 21). L'outil utilisé pour passer de l'image  $A$  dans un repère orthonormé  $(O_A, \vec{x}_A, \vec{y}_A, \vec{z}_A)$  à une image  $B$  dans un repère orthonormé  $(O_B, \vec{x}_B, \vec{y}_B, \vec{z}_B)$  est une matrice  $T$  de taille 4x4 exprimée ainsi :

$$T = \begin{bmatrix} x_1 & y_1 & z_1 & t_x \\ x_2 & y_2 & z_2 & t_y \\ x_3 & y_3 & z_3 & t_z \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (4)$$

Où  $\begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix}$ ,  $\begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ y_3 \end{pmatrix}$  et  $\begin{pmatrix} z_1 \\ z_2 \\ z_3 \end{pmatrix}$  sont respectivement les coordonnées des vecteurs  $\vec{x}_B$ ,  $\vec{y}_B$  et  $\vec{z}_B$ , et  $\begin{pmatrix} t_x \\ t_y \\ t_z \end{pmatrix}$  les coordonnées du point  $O_B$ , dans le repère de l'image  $A$ . Grâce à cette notation, n'importe quel point  $P$  de coordonnées  $\begin{pmatrix} P_x \\ P_y \\ P_z \end{pmatrix}$  dans le repère de l'image  $A$  correspond alors un point  $P'$  de coordonnées  $\begin{pmatrix} P'_x \\ P'_y \\ P'_z \end{pmatrix}$  dans le repère de l'image  $B$  grâce à l'opération :

$$\begin{pmatrix} P'_x \\ P'_y \\ P'_z \\ 1 \end{pmatrix} = T \begin{pmatrix} P_x \\ P_y \\ P_z \\ 1 \end{pmatrix} \quad (5)$$

Les algorithmes de recalage rigide s'appliquent donc à calculer la matrice  $T$  en minimisant une fonction de coût faisant correspondre les intensités des voxels des deux images entre elles. Cette fonction s'appelle une métrique.

Lors de cette étape, l'optimisation a été réalisée avec les fonctions `imregconfig` et `imregtform` de Matlab. L'algorithme du gradient a été utilisé, avec comme métrique les moindres carrés (utilisation standard des fonctions de recalage rigide pour deux images de même modalité).

Les images post-traitement n'étant captées que 48 h après les images prétraitement, elles ne présentaient quasiment aucune différence, si ce n'est la présence de gadolinium en face du transducteur. Cela n'a néanmoins pas gêné l'algorithme et tous les recalages ont été acceptés.

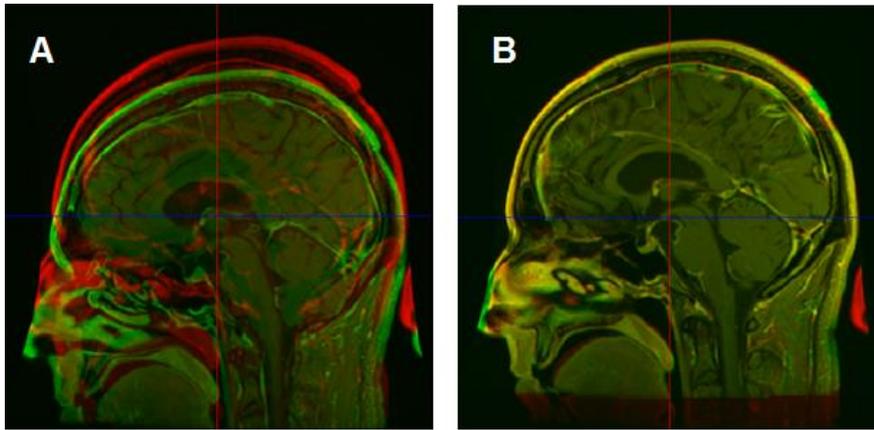


Figure 21 – Exemple de recalage rigide. L'image prétraitement est de couleur verte et l'image post-traitement de couleur rouge. A : Image prétraitement non recalée; B : Image prétraitement recalée. La superposition de niveaux égaux de rouge et de vert donne une couleur jaune.

### II.2.1.3. Segmentation

La segmentation est un algorithme de traitement d'image qui permet de la diviser en plusieurs régions distinctes. Dans le cas de cette étude, on s'intéresse au rehaussement du signal dans les tissus. Le calcul du volume du RESIDUS ne peut être fait ailleurs que dans les matières grises et blanches. L'image doit donc être segmentée en plusieurs régions anatomiques distinctes. Pour ce faire, on utilise des atlas, c'est-à-dire des images de cerveaux standardisées et dont la segmentation est connue. L'image à segmenter est d'abord recalée sur l'atlas. Grâce aux connaissances a priori des formes et des volumes des différentes zones à isoler, elle est ensuite découpée en plusieurs images distinctes, correspondant à des cartes de probabilité de présence de chacune des régions segmentées. Une carte globale des tissus est ensuite calculée en attribuant à chaque voxel le tissu pour laquelle la probabilité de présence est la plus importante.

La toolbox SPM12 a de nouveau été utilisée sur un atlas de cerveau européen standard. Cette opération permet d'obtenir une carte des tissus comportant 6 régions : la matière grise, la matière blanche, le liquide céphalo-rachidien (LCR), les tissus mous (peau et graisse), l'os et l'air (Figure 22).

La segmentation a été réalisée sur les images prétraitement afin de ne pas être gênée par le rehaussement dû à l'exposition aux ultrasons. Néanmoins, la BHT étant perméable, les tumeurs apparaissent hyperintenses sur les images, ce qui induit l'algorithme en erreur en les prenant pour des tissus mous (Figure 22). Cela n'est pas gênant car pour avoir un bon estimateur de l'efficacité du traitement, le RESIDUS n'est calculé que dans les tissus ou la perméabilité n'est pas due à la présence de la tumeur. Il est d'ailleurs difficile de segmenter automatiquement les tumeurs à cause des grandes variabilités de taille, de forme et de constitution (ratio des volumes des zones nécrosées, prolifératives et œdémateuses)<sup>93</sup>.

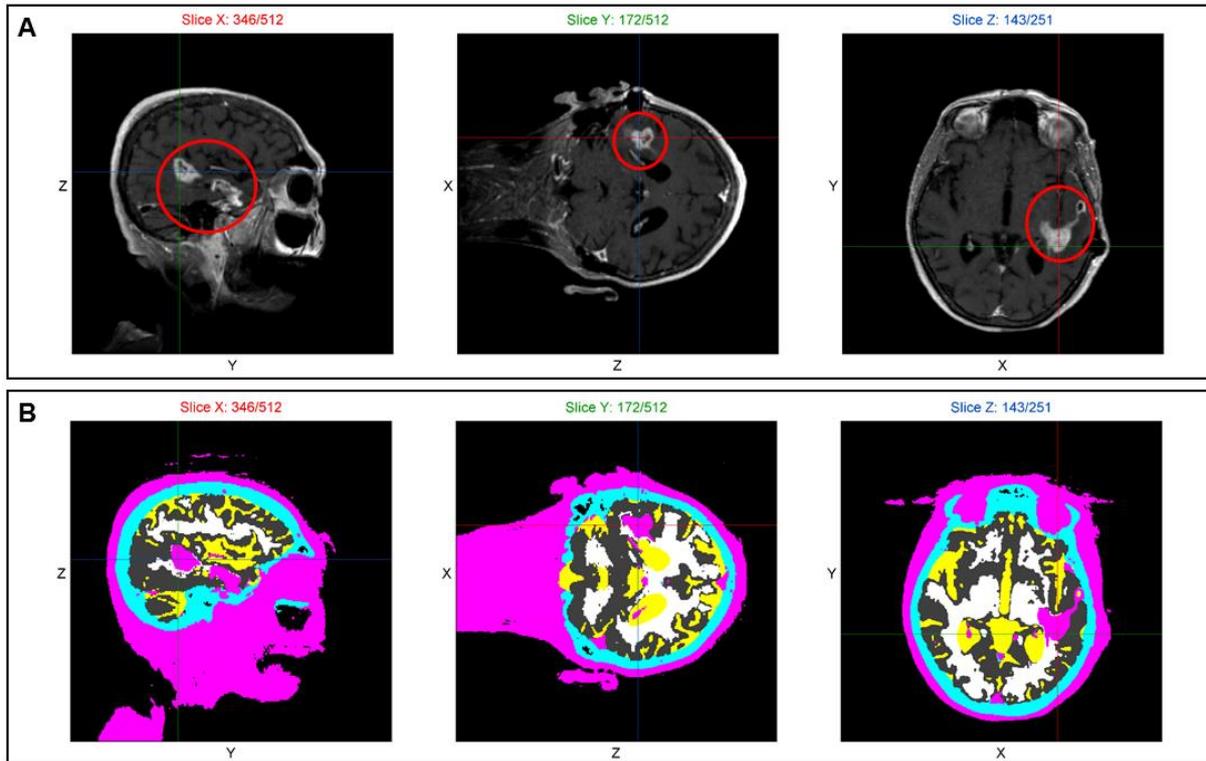


Figure 22 – Exemple d'image segmentée. Panneau A : Image T1w, centrée sur la tumeur entourée en rouge; Pannel B : Segmentation de cette même image. On voit que la tumeur apparait de la même couleur que les tissus mous. (Gris : Matière grise; Blanc : Matière blanche; Jaune : Liquide céphalo-rachidien; Magenta : Tissus mous (peau et graisse); Bleu : Os; Noir : Air)

#### II.2.1.4. Orientation du transducteur

Cette opération consiste à trouver sur les images le centre de la surface active du SonoCloud ainsi que son axe de tir. Cela permet par la suite de tracer une région d'intérêt (ROI) dans laquelle sera calculée le volume du RESIDUS. Cela sert également à connaître la pression acoustique locale sur chacun des voxels de l'image au moment du traitement grâce à l'estimation du champ acoustique émis par le SonoCloud dans le cerveau.

C'est la seule opération de la chaîne de traitement qui nécessite l'intervention d'un utilisateur, ce qui fait de la méthode présentée une méthode semi-automatique.

##### II.2.1.4.1. Méthode manuelle

Afin de permettre à l'utilisateur de visualiser les images 3D et à orienter le transducteur, un logiciel a été développé. Il permet l'affichage simultané de 3 coupes orthogonales suivant les 3 axes du repère de l'image (Figure 22), et l'orientation des images dans le repère du transducteur  $(O, \vec{x}_0, \vec{y}_0, \vec{z}_0)$  où  $O$  est le centre de la surface active du transducteur et  $\vec{z}_0$ , son axe de tir. Les vecteurs  $\vec{x}_0$  et  $\vec{y}_0$  sont définis

arbitrairement, ce qui n'a pas d'importance étant donné que le champ acoustique rayonné par le SonoCloud est considéré comme axisymétrique d'axe  $\vec{z}_0$ .

L'orientation est faite itérativement en 2 étapes. La première consiste à trouver et définir le centre  $O$  de la surface active du transducteur en navigant dans l'image. Pour avoir les coordonnées du point, cette opération doit être faite sur au moins 2 des 3 coupes. La seconde étape consiste à définir un deuxième point  $P$  sur l'axe de tir du transducteur, de sorte à ce que les vecteurs  $\overrightarrow{OP}$  et  $\vec{z}_0$  soient colinéaires. Pour ce faire, l'utilisateur peut s'aider du faisceau de gadolinium s'il est présent ou bien de la légère concavité due au trou de connexion de l'aiguille, visible sur certaines images (Figure 23).

Une fois la deuxième étape réalisée, l'image est réorientée dans le repère ainsi défini. L'utilisateur peut alors vérifier si cette orientation est acceptable en navigant le long de l'axe  $\vec{z}_0$  et en vérifiant l'axisymétrie de la forme du transducteur sur l'image. Les fines ailettes perforées du SonoCloud sont d'une grande aide pour cette appréciation, car les 3 vis s'insérant dans les trous créent des artefacts d'imagerie. La présence de ces 3 artefacts sur le même plan indique généralement une bonne orientation, comme l'illustre la Figure 23. Si le résultat est jugé améliorable, les deux étapes peuvent être réitérées autant de fois que nécessaire, en partant de l'orientation de la passe précédente. Il est alors plus simple pour l'utilisateur de converger rapidement vers un résultat satisfaisant.

Une fois les images orientées, la matrice de transformation  $T_0$  correspondant au passage du repère natif de l'image au repère du transducteur peut être conservée pour toutes les opérations futures.

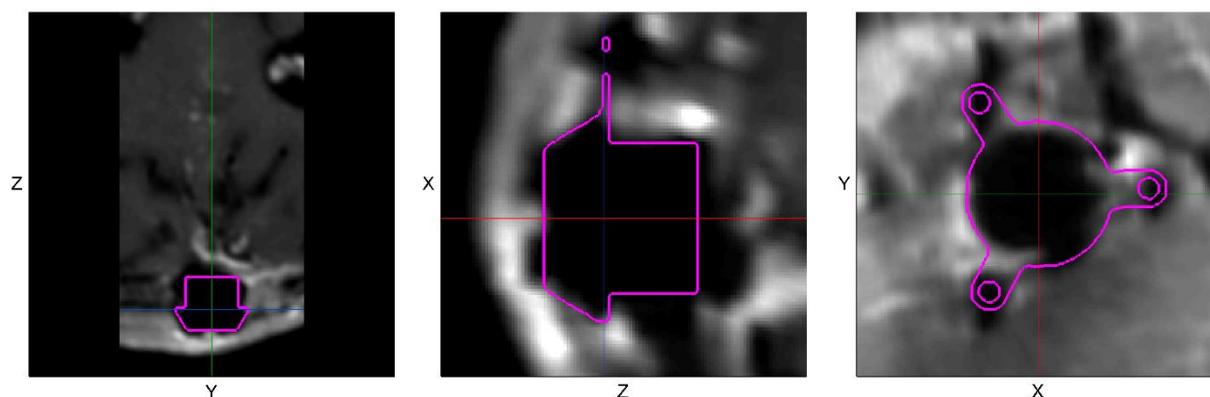


Figure 23 – Orientation manuelle d'une image post-traitement dans le repère du transducteur. Trois coupes d'une image T1w sont affichées, dans les 3 directions du repère. Les contours magenta correspondent à un modèle numérique du SonoCloud. Sur la première coupe, on voit le faisceau de gadolinium dans la direction de tir du transducteur. Sur la deuxième, un zoom a été effectué pour visualiser l'artefact devant la surface du transducteur ainsi que le trou de connexion de l'aiguille. La troisième coupe est orthogonale à la direction de tir et on voit l'artefact laissé par les vis des ailettes.

#### II.2.1.4.2. Méthodes numériques

Des méthodes numériques ont été essayées pour trouver la position du transducteur sur l'image. Pour cela, des algorithmes d'optimisation similaires à l'algorithme de recalage sont utilisés.

Le SonoCloud apparaît en noir sur les images T1w. Ses composants métalliques créent un artefact magnétique inévitable. Cet artefact déforme le transducteur mais est surtout visible face à sa surface de tir, ce qui rend impossible l'évaluation du RESIDUS avant 5 mm de profondeur. La forme caractéristique du SonoCloud (cylindre terminé par un dôme avec trois ailettes) peut donc être discernée sur certaines images comme le montre la Figure 23.

Afin d'orienter le SonoCloud sur l'image, un masque de ce dernier a été utilisé. Il s'agit d'une image 3D binaire, c'est-à-dire que les voxels appartenant au transducteur sont égaux à 1 et les autres à 0. Soient  $M$ , le masque du transducteur,  $I_T$ , l'image d'un patient recalée dans le repère de  $M$  grâce à la matrice de transformation  $T$  et  $(i, j, k)$ , les coordonnées spatiales des voxels des deux images. L'objectif est de minimiser une fonction coût  $f_1$  exprimée ainsi :

$$f_1(T) = \sum_{i,j,k} M(i, j, k) \times I_T(i, j, k) \quad (6)$$

Sur certaines images post-traitement, le faisceau de gadolinium peut également servir d'indice pour l'orientation. L'hypothèse suivante est faite : le faisceau de gadolinium est orienté dans la direction de tir du transducteur et les voxels sont de moins en moins intense au fur et à mesure que l'on s'éloigne de l'axe. Soit  $d$ , la matrice des distances des voxels à l'axe du transducteur dans le repère de  $M$ . La fonction  $f_2$  à minimiser devient alors :

$$f_2(T) = \sum_{i,j,k} d(i, j, k) \times I_T(i, j, k) \quad (7)$$

Ces deux problèmes d'optimisation ont été traités sur Matlab grâce à la fonction `fminsearch`. La fonction requiert une matrice de départ  $T_0$  qui est indiquée manuellement par l'utilisateur suivant la méthode détaillée dans la partie ci-avant.

Les tentatives d'orientation du SonoCloud grâce à ces méthodes numériques n'ont malheureusement pas porté leurs fruits. En essayant de minimiser  $f_1$  ou  $f_2$ , successivement ou conjointement, aucun paramétrage n'a permis de trouver une solution meilleure que celle donnée par l'utilisateur (l'orientation automatique était visiblement erronée). De plus, les résultats obtenus sont extrêmement sensibles aux conditions initiales, ce qui rend ces méthodes peu répétables et très dépendantes de l'utilisateur. Cela est probablement dû à l'artefact du transducteur très variable d'une image à l'autre,

pour la minimisation de  $f_1$  et à l'absence ou la trop faible intensité du faisceau pour  $f_2$ . La solution conservée pour l'orientation du transducteur est donc celle renseignée manuellement par l'utilisateur.

## II.2.2. Paramétrage de l'algorithme et validation

Les différentes étapes de prétraitement présentées ci-avant donnent accès aux outils nécessaires à la sélection des voxels servant au calcul du volume de RESIDUS, comme l'illustre la Figure 19. Le paramétrage de cette sélection et la méthode de validation de ces paramètres sont présentés dans les paragraphes suivants.

### II.2.2.1. Définition des paramètres

Les voxels comptés dans le volume de RESIDUS doivent remplir les conditions suivantes :

- Se trouver dans de la matière grise ou de la matière blanche
- Se trouver dans des tissus ayant une BHE encore saine. La méthode développée porte sur l'efficacité du traitement SonoCloud, c'est pourquoi il est important de ne pas prendre en compte le rehaussement du signal dû à la perméabilité auto-induite de la BHT.
- Etre dans la zone de tir du SonoCloud. Un voxel dont l'intensité augmenterait ailleurs que dans cette zone pourrait avoir été l'objet d'une variance du champ magnétique de l'IRM ou d'une légère erreur de correction de biais ou de recalage.

Les voxels remplissant ces conditions sont appelés voxels d'intérêt (VOI). Le volume de RESIDUS est calculé en sommant le nombre de VOI dans lesquels le rehaussement relatif du signal IRM de l'image post-traitement par rapport à l'image prétraitement dépasse un certain seuil. Les différents paramètres influant sur le volume de RESIDUS sont présentés ci-après.

#### II.2.2.1.1. Largeur des marges floues

La segmentation des images donne accès à une carte indiquant la position des différents tissus. Cela permet d'extraire les matières grise et blanche dans lesquelles seront faites le calcul du volume de RESIDUS. La zone proliférative de la tumeur, dans laquelle la BHT est partiellement perméable, est automatiquement écartée, car son hyperintensité due à la présence de gadolinium trompe l'algorithme qui la confond avec des tissus mous (graisse ou peau).

Il a néanmoins été observé sur les images post-traitement que les limites hyperintenses de la tumeur étaient moins nettes que sur les images prétraitement. Ces marges floues sont probablement dues à une perméabilisation augmentée de la BHT pendant le traitement ultrasonore, qui entraîne des fuites

de gadolinium dans les tissus voisins. Elles font apparaître la tumeur plus grosse qu'elle ne l'est réellement sur les images post-traitement. Cela pose problème car la carte des tissus utilisée pour évaluer le RESIDUS est celle de l'image prétraitement, pour ne pas risquer d'écarter les voxels du faisceau de gadolinium de l'analyse à cause de leurs niveaux de gris élevés. Cela veut dire que les marges floues appartiennent aux tissus du cerveau (matière grise ou blanche) sur les images post-traitement et par conséquent qu'elles faussent le calcul du volume de RESIDUS.

Pour retirer ces voxels de l'analyse, une matrice de distance est calculée. Chaque voxel de la matrice contient sa distance au voxel le plus proche n'appartenant pas au cerveau (voxel n'étant pas de matière grise, de matière blanche, ou de LCR). Tous les voxels dont cette distance est inférieure à un certain seuil sont alors écartés de l'analyse. Ce seuil représente l'épaisseur des marges floues et est un des paramètres réglables pour l'estimation du RESIDUS. Le réglage doit être fait de sorte à ce que les marges floues soient exclues de l'analyse, en prenant garde à ne pas exclure les voxels ayant un RESIDUS, comme le montre la Figure 24.

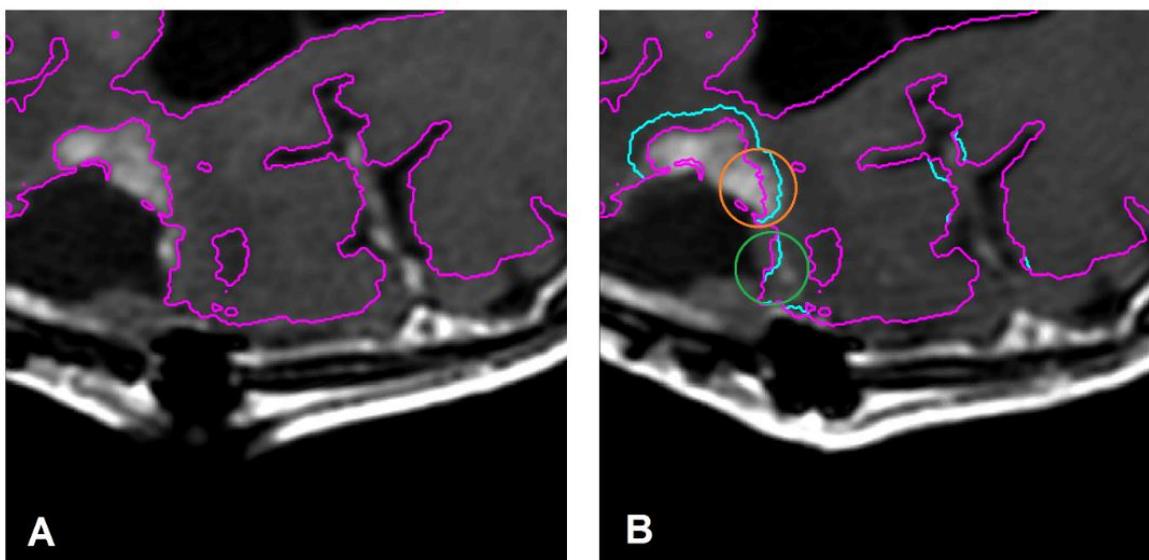


Figure 24 – Processus d'exclusion des marges floues. Les contours magentas correspondent aux matières grise et blanche segmentées. A : Image T1w prétraitement. B : Image T1w post-traitement. Les marges floues autour de la tumeur sont entourées en orange. Les voxels ayant un RESIDUS sont entourés en vert. Les contours cyans délimitent les voxels exclus de l'analyse. Ils englobent les marges floues sans toucher au RESIDUS.

#### II.2.2.1.2. Seuil de rehaussement relatif significatif

Le recalage de l'image prétraitement sur l'image post-traitement permet leur comparaison voxel par voxel et le calcul d'une carte de rehaussement relatif du signal. La première étape de ce calcul est la normalisation des images. On aligne les niveaux de gris en divisant chacune d'entre elles par l'intensité

médiane des tissus (matière grise ou blanche). Cela fait, la carte du rehaussement relatif  $R$  est calculée simplement grâce à la formule :

$$R = 100 \times \frac{I_{post} - I_{pre}}{I_{pre}} \quad (8)$$

Où est  $I_{post}$  et  $I_{pre}$  sont respectivement les intensités normalisées des images post-traitement et prétraitement.

Le seuil de rehaussement d'un voxel à partir duquel il peut être considéré un RESIDUS constitue également un paramètre réglable de cette méthode.

### II.2.2.1.3. Diamètre de la région d'intérêt

L'orientation du transducteur sur l'image permet de définir une ROI dans laquelle sera calculée le volume de RESIDUS. Il est important de la dimensionner correctement afin de ne pas sous-estimer ou surestimer le volume de RESIDUS (rehaussement dû à du bruit numérique ou à des erreurs de corrections de biais ou de recalage).

Cette ROI est un cylindre ayant pour axe de révolution l'axe de tir du SonoCloud. Sa première base est située à 5 mm de la surface de celui-ci pour ne pas être gênée par l'artefact magnétique. La seconde base est située à 60 mm, afin de contenir le lobe à -12 dB de la puissance nominale du champ acoustique, comme le montre la Figure 27. Le diamètre de ce cylindre, quant à lui, constitue le dernier paramètre réglable de la méthode présentée.

### II.2.2.2. Recherche du jeu de paramètre optimal

Il a donc été établi que pour sélectionner les VOI et calculer le volume de RESIDUS, trois paramètres doivent être réglés conjointement :

- L'épaisseur des marges floues
- Le seuil de rehaussement significatif du signal
- Le diamètre de la ROI

Afin de valider le jeu de paramètres choisi, l'algorithme a été évalué sur sa capacité à détecter et différencier les grades 2 et 3 issus de la méthode de qualification présentée dans l'étude clinique mentionnée ci-avant<sup>15,65</sup>. A chaque jeu de paramètres, correspond un volume de RESIDUS dans les matières grise et blanche. Si le volume de RESIDUS total dépasse un certain seuil, l'algorithme attribue au traitement concerné un grade 2. Si le volume de RESIDUS dans la matière blanche dépasse un

certain seuil, l'algorithme attribue un grade 3, qui prime sur un éventuel grade 2. Ces seuils de détection sont déterminés statistiquement. L'algorithme est considéré valide s'il satisfait au mieux ces 2 critères.

L'outil statistique utilisé pour cette analyse est le ROC (receiver operating characteristic). Il mesure la performance d'un système classificateur en comparant sa sensibilité et sa spécificité. Le ROC est illustré par une courbe monotone et croissante, avec en abscisses le taux de faux positifs FPR (détection erronée d'un grade par le système, égal à 1-spécificité) et en ordonnées le taux de vrais positifs TPR (détection valide d'un grade par le système, équivalent à la sensibilité). Chaque point de la courbe correspond à une valeur de la grandeur physique déclenchant la détection. Dans le cas de cette analyse, ce déclencheur est soit le volume de RESIDUS total pour évaluer la capacité du système à détecter un grade 2 ou 3, soit le volume de RESIDUS dans la matière blanche pour évaluer la capacité du système à détecter un grade 3. A chaque jeu de paramètres correspond donc 2 courbes ROC afin d'évaluer ces 2 critères.

Afin de régler correctement le système, il faut chercher le jeu de paramètres maximisant l'aire sous la courbe (AUC), c'est-à-dire maximisant le plus rapidement possible le TPR avant que le FPR ne devienne trop important. Un système idéal serait donc réglable de sorte à avoir un TPR de 1 et un FPR de 0, ce qui donnerait automatiquement une AUC de 1. Une fois le jeu de paramètre optimal trouvé, la valeur de déclenchement choisie pour cette étude est celle maximisant l'indice de Youden<sup>153</sup> (TPR – FPR).

Au total, 120 jeux de paramètres ont été testés. L'épaisseur des marges floues allant de 1 à 4 mm par pas de 1 mm (résolution minimale des images IRM), le seuil de rehaussement allant de 5 à 15 % par pas de 2.5 % et le diamètre de la ROI allant de 5 à 30 mm par pas de 5 mm.

### II.2.3. Evaluation de la pression acoustique dans le cerveau

Un des objectifs de cette étude était d'évaluer le champ de pression acoustique estimé dans le cerveau au moment du traitement et de chercher une corrélation entre la probabilité de RESIDUS et la pression acoustique locale.

Le champ de pression acoustique supposé dans le cerveau a été estimé à partir de mesures et de simulations sur 5 implants SonoCloud non implantés. De nouvelles mesures de pression ont notamment été faites, avec des outils et méthodes plus précis que celles réalisées pour la publication de la première partie de l'étude clinique<sup>15</sup>. L'intervalle de confiance à 95 % sur la pression acoustique nominale de cette chaîne de mesure a été évalué à  $\pm 11.6\%$ <sup>6</sup>.

### II.2.3.1. Estimation d'un champ acoustique standard

Les transducteurs sont d'abord placés et calibrés dans une cuve remplie d'eau dégazée (UMS scanning tank, Precision Acoustics). Leur surface active (disque de 10 mm de diamètre) est située dans un plan d'équation  $z = 0$ . Un champ acoustique 2D (pulse court à 1.05 MHz, fréquence utilisée pour le traitement) est ensuite scanné sur le plan  $z = 5$  mm, avec un hydrophone aiguille (HNC0200, ONDA ; 200  $\mu$ m).

Le profil de vélocité du transducteur  $V_n$  est ensuite obtenu par holographie acoustique en champ proche (NAH)<sup>88</sup>. Grâce à l'intégrale de Rayleigh<sup>129</sup>, il est possible de calculer le champ de pression acoustique rayonné par une surface vibrante  $S_0$  à un point de position  $\vec{r}$  dans l'espace semi-infini devant lui :

$$p(\vec{r}) = -i \frac{\rho \omega}{2\pi} \iint_{S_0} \frac{e^{(ik-\alpha)|\vec{r}-\vec{r}_0|}}{|\vec{r}-\vec{r}_0|} V_n(\vec{r}_0) dS \quad (9)$$

Avec  $\vec{r}_0$  la position d'un point de la surface  $S_0$ ,  $\omega = 2\pi f$  la pulsation,  $k = \frac{\omega}{c}$  le nombre d'onde,  $c$  la célérité du son dans le cerveau,  $\rho$  la masse volumique du cerveau et  $\alpha$  l'atténuation de l'onde due à la viscosité des tissus. A 1 MHz,  $\alpha = 6.8$  Np.m<sup>-1</sup>, dans le cerveau<sup>38</sup>.

Le champ de pression ainsi obtenu n'est pas axisymétrique. Sa forme varie localement et n'est pas exactement la même selon le transducteur scanné. Cela est dû à la rigidité sur la surface arrière du plan de tir, inhomogène à cause de la soudure assurant le contact électrique avec le reste de la chaîne de mesure. Pour simplifier le problème et gommer cette légère asymétrie, le champ est moyenné autour de son axe.

Les champs des 5 transducteurs sont ensuite normalisés en étant divisés par leur valeur de pression acoustique à la focale naturelle des transducteurs (maximum de pression en champ lointain, à environ 16.1 mm de profondeur). Un champ acoustique standard est enfin obtenu par moyennage de ces 5 champs.

### II.2.3.2. Adaptation et superposition du champ

Le champ acoustique dans le cerveau obtenu précédemment est ensuite adapté à chaque traitement en fonction de la puissance acoustique délivrée. Il est multiplié par une constante dont la valeur est celle de la pression acoustique à la focale naturelle du transducteur, en prenant en compte l'atténuation des tissus.

L'orientation du transducteur sur l'image étant connue, il est possible de superposer numériquement le champ acoustique sur les images post-traitement, et de chercher une corrélation entre le RESIDUS et la pression acoustique locale.

### II.2.3.3. Analyse statistique

Les voxels de matière grise ou blanche, dans la ROI et hors des marges floues des 40 paires d'images analysées dans cette étude sont répertoriés, ainsi que la pression acoustique locale pour chacun de ces voxels déduite du champ acoustique adapté. Pour un intervalle de pression donné, le nombre de voxels ayant un RESIDUS est divisé par le nombre de voxels total. La probabilité d'avoir un rehaussement significatif en fonction de la pression est ainsi évaluée sous la forme d'un histogramme. Les intervalles de pressions varient de 0 à 0.6 MPa par pas de 0.15 MPa, la dernière barre de l'histogramme contenant tous les voxels dont la pression acoustique locale est supérieure à 0.6 MPa.

## II.3. Résultats

### II.3.1. Calcul du volume de RESIDUS

#### II.3.1.1. Chaîne de traitement des images

Les différentes opérations de prétraitement automatique des images IRM ont été globalement satisfaisantes. La segmentation a fonctionné correctement pour tous les traitements sauf 1, pour lequel il était impossible de trouver un jeu de paramètres satisfaisant. Cela a probablement été dû à la tumeur de taille trop importante qui perturbait l'algorithme dans la recherche des similarités entre l'atlas et l'image du patient. Le traitement a donc été écarté de l'étude.

Les outils développés pendant cette étude permettent la visualisation des images, du rehaussement relatif dû au gadolinium dans les tissus et du champ acoustique dans le cerveau au moment du traitement, ainsi que l'estimation objective du volume de RESIDUS, comme le montre la Figure 25.

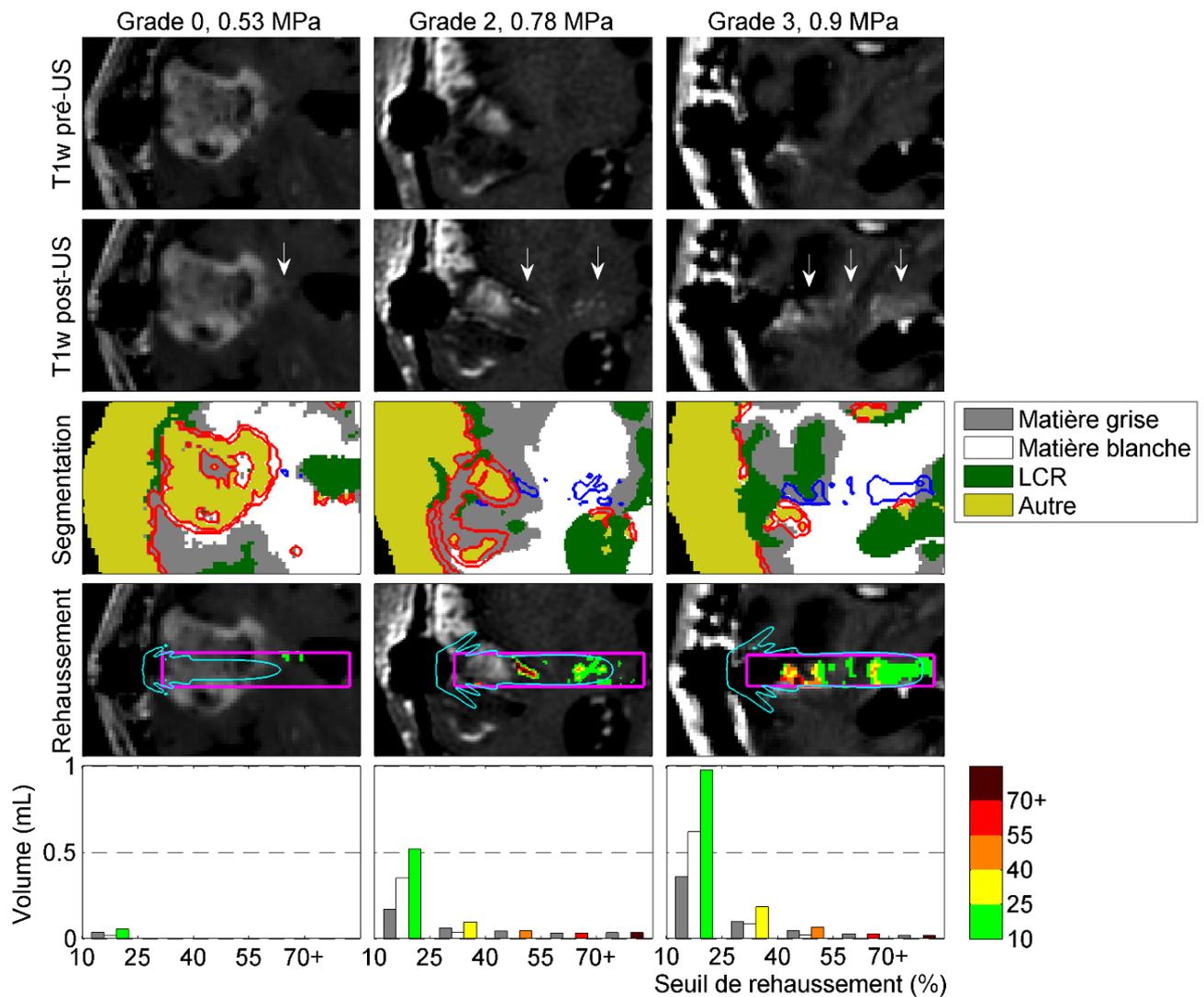


Figure 25 – Calcul du volume de RESIDUS pour 3 traitements de pressions différentes. L'algorithme est paramétré avec des marges floues de 2 mm, un seuil de rehaussement relatif de 10 % et un diamètre de ROI de 10 mm. Première colonne : Pression nominale 0.53 MPa, grade 0; Deuxième colonne : Pression nominale 0.78 MPa, grade 2; Troisième colonne : Pression nominale 0.90 MPa, grade 3; Première ligne : image T1w prétraitement; Deuxième ligne : image T1w post-traitement; Troisième ligne : segmentation. Les contours bleus correspondent au RESIDUS et les contours rouges aux marges floues; Quatrième ligne : rehaussement relatif significatif des VOI. Vert :  $\geq 10\%$  et  $< 25\%$ . Jaune :  $\geq 25\%$  et  $< 40\%$ . Orange :  $\geq 40\%$  et  $< 55\%$ . Rouge :  $\geq 55\%$  et  $< 70\%$ . Rouge foncé :  $\geq 70\%$ . Les contours magentas sont ceux de la ROI et les contours cyans délimitent le volume dans lequel la pression acoustique est supérieure à 0.2 MPa; Cinquième ligne : Histogramme montrant la répartition du volume de RESIDUS en fonction du rehaussement relatif. Barres grises : Volume de RESIDUS dans la matière grise. Barres blanches : Volume de RESIDUS dans la matière blanche. Barres de couleur : Volume de RESIDUS total. (D'après Asquier et al.<sup>4</sup>)

### II.3.1.2. Paramétrage optimal de l'algorithme

Sur les 120 jeux de paramètres testés, celui maximisant l'aire sous les courbes ROC, et donc la détection et la différenciation correctes des grades, correspondait à des marges floues de 2 mm, un seuil de rehaussement de 10 % et un diamètre de ROI de 10 mm. Les courbes ROC correspondant à ce jeu de paramètres sont montrées en Figure 26.

L'AUC correspondant à la capacité de l'algorithme à détecter un grade 2 ou 3 avec le volume total de RESIDUS était de 0.831. La valeur seuil maximisant l'indice de Youden (TPR-FPR) pour ce volume était de 0.31 mL (sensibilité de 0.87 et spécificité de 0.72). L'AUC correspondant à la capacité de l'algorithme à détecter et différencier un grade 3 avec le volume de RESIDUS dans la matière blanche était de 0.995. La valeur seuil maximisant l'indice de Youden pour ce volume était de 0.18 mL (sensibilité de 1 et spécificité de 0.97). Tous les résultats sont recensés dans le Tableau 1.

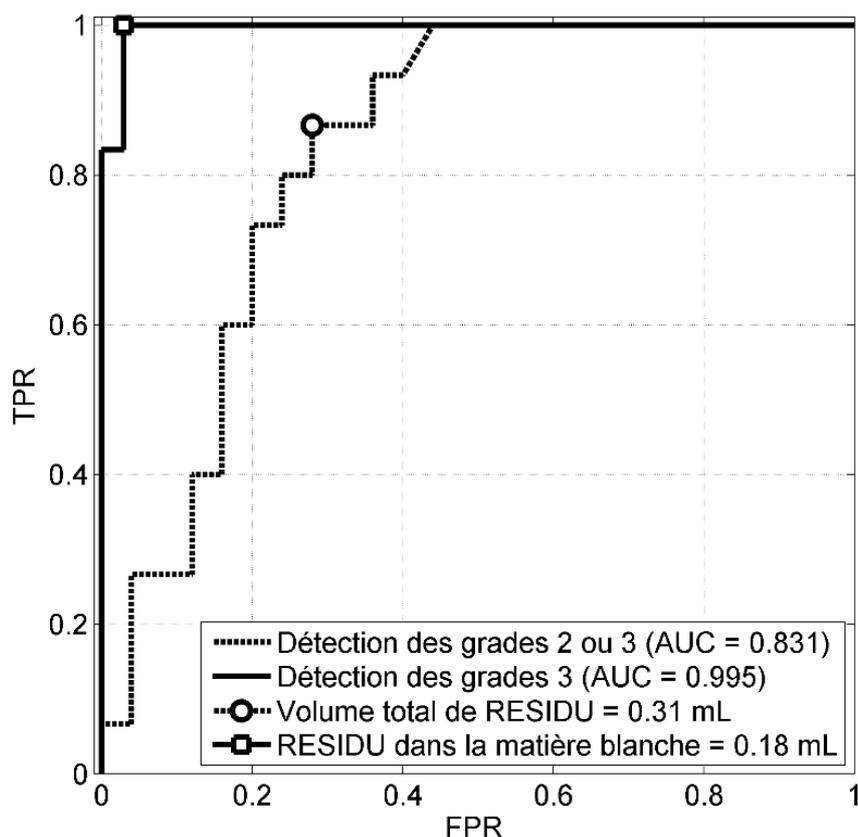


Figure 26 - Courbes ROC pour le jeu de paramètres optimal (marges floues de 2 mm, seuil de rehaussement de 10 % et diamètre de ROI de 10 mm). Pour chaque courbe, le marqueur correspond à la valeur maximale de l'indice de Youden. (D'après Asquier et al.<sup>4</sup>)

Traitement	Grade	Pression nominale (MPa)	Matière grise ( $\mu\text{l}$ )	Matière blanche ( $\mu\text{l}$ )	Total ( $\mu\text{l}$ )	Détection	
1	0	0.41	56	21	77	0 or 1	**
2	0	0.41	85	4	89	0 or 1	**
3	0	0.41	145	71	216	0 or 1	**
4	0	0.41	875	120	995	2	
5	0	0.53	3	0	3	0 or 1	**
6	0	0.53	2	5	7	0 or 1	**
7	0	0.53	38	24	62	0 or 1	**
8	0	0.53	136	28	164	0 or 1	**
9	0	0.53	192	54	246	0 or 1	**
10	0	0.66	37	14	51	0 or 1	**
11	1	0.66	106	31	137	0 or 1	**
12	0	0.66	197	31	228	0 or 1	**
13	1	0.66	194	95	289	0 or 1	**
14	1	0.66	230	78	308	0 or 1	**
15	1	0.66	209	114	323	2	
16	2	0.66	156	180	336	3	*
17	1	0.66	273	81	354	2	
18	1	0.66	358	65	423	2	
19	0	0.66	407	98	505	2	
20	1	0.66	427	138	565	2	
21	0	0.78	14	3	17	0 or 1	**
22	1	0.78	172	47	219	0 or 1	**
23	1	0.78	206	41	247	0 or 1	**
24	2	0.78	163	106	269	0 or 1	
25	1	0.78	289	0	289	0 or 1	**
26	2	0.78	151	177	328	2	**
27	2	0.78	241	123	364	2	**
28	1	0.82	100	53	153	0 or 1	**
29	1	0.90	182	11	193	0 or 1	**
30	2	0.90	231	15	246	0 or 1	
31	2	0.90	262	44	306	0 or 1	
32	2	0.90	259	62	321	2	**
33	3	0.90	148	219	367	3	**
34	2	0.90	266	103	369	2	**
35	3	0.90	251	179	430	2	*
36	2	0.90	376	74	450	2	**
37	3	0.90	238	349	587	3	**
38	3	0.90	554	251	805	3	**
39	3	0.90	412	562	974	3	**
40	3	0.90	505	599	1104	3	**

Tableau 1 - Volume de RESIDUS relevés pour chaque traitement avec le jeu de paramètres optimal. La colonne détection correspond au grade automatiquement donné par l'algorithme en fonction des volumes dans les matières grises et blanches. Pas d'étoile : L'algorithme n'a pas su retrouver correctement le grade; \* : L'algorithme a su dire si l'ouverture était profonde (grade  $\geq 2$  ou non), mais n'a pas su différencier un grade 2 d'un grade 3; \*\* : L'algorithme a su dire si l'ouverture était profonde et a différencié un grade 2 d'un grade 3 si c'était le cas. (D'après Asquier et al.<sup>4</sup>)

## II.3.2. Corrélation avec la pression acoustique locale

### II.3.2.1. Estimation du champ acoustique

Les mesures de pression nominale ont été comparées à celles publiées dans la première partie de l'étude clinique<sup>15</sup>, appelées  $p_{old}$  dans le Tableau 2. Les nouvelles pressions nominales sont appelées  $p_{new}$  et se sont avérées être 18 % moins élevées que celles présentées dans l'étude clinique. La dernière colonne du tableau  $p_{derated}$  indiquent les valeurs des pressions à la focale naturelle de l'implant en prenant en compte l'atténuation de 6.8 Np/m des tissus du cerveau.

$p_{old}$ (MPa) [95 % CI]	$p_{new}$ (MPa) [95 % CI]	$p_{derated}$ (MPa)
0.50 [0.41-0.59]	0.41 [0.36-0.46]	0.38
0.65 [0.53-0.77]	0.53 [0.47-0.59]	0.50
0.80 [0.65-0.95]	0.66 [0.58-0.73]	0.62
0.95 [0.78-1.12]	0.78 [0.69-0.87]	0.73
1.10 [0.90-1.30]	0.90 [0.80-1.01]	0.84

Tableau 2 -  $p_{old}$  : Pression nominale de traitement à la focale du transducteur dans l'eau, publiées dans la première partie de l'étude clinique. Un intervalle de confiance à 95 % de  $\pm 18.4$  % a été estimé a posteriori;  $p_{new}$  : Nouvelles mesures de pression nominale réalisées pour cette étude avec une incertitude réduite. L'intervalle de confiance à 95 % a été estimé à  $\pm 11.6$  %;  $p_{derated}$  : Pressions dans le cerveau à la focale naturelle, estimées par simulation avec une atténuation de 6.8 Np/m. (D'après Asquier et al.<sup>4</sup>)

Le champ acoustique théorique estimé par simulations est illustré en Figure 27. Les volumes des lobes à -3 dB, -6 dB et -12 dB ont respectivement été évalués à 0.26 mL, 0.89 mL et 5.42 mL. Leurs profondeurs sont respectivement de 23.7 mm, 34.2 mm et 55.7 mm.

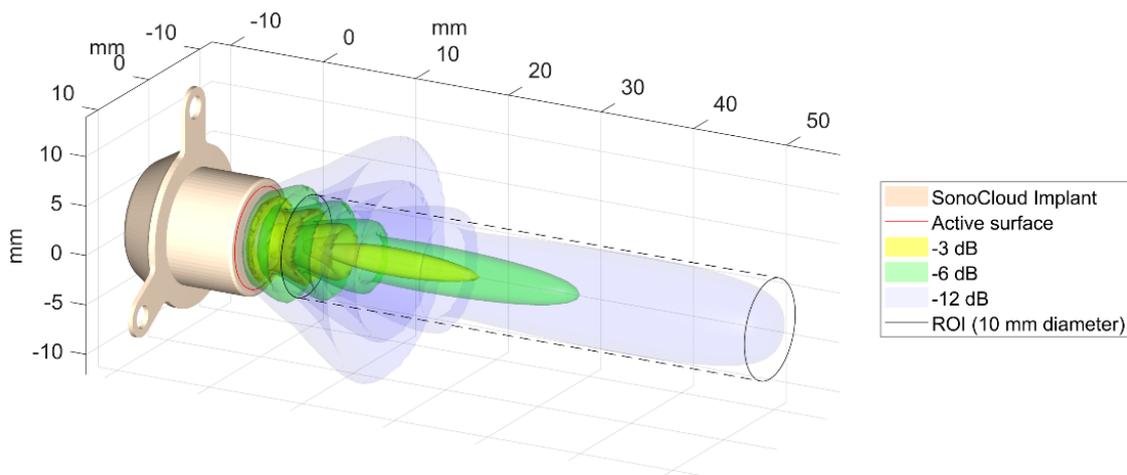


Figure 27 – Champ acoustique du SonoCloud à 1.05 MHz dans le cerveau (atténuation de 6.8 Np/m). (D'après Asquier et al.<sup>4</sup>)

### II.3.2.2. Probabilité de RESIDUS

Le champ acoustique obtenu par simulation a ensuite été adapté à chaque traitement et son image a été superposée sur les images T1w afin d'évaluer la probabilité d'avoir un RESIDUS en fonction de la pression intracrânienne locale. Le RESIDUS a été évalué avec le jeu de paramètres optimal sélectionné ci-avant.

Ces résultats sont montrés en Figure 28. On voit que la probabilité de RESIDUS augmente avec la pression acoustique locale ( $R^2 = 0.98$ ). La probabilité de RESIDUS d'un voxel varie de 0.19 pour une pression comprise entre 0 et 0.15 MPa à 0.33 pour une pression supérieure à 0.6 MPa. On voit également que les voxels de matière grise ont une probabilité de RESIDUS  $3.33 \pm 2.89$  fois plus importante que ceux de la matière blanche (avec un intervalle de confiance de 95 %).

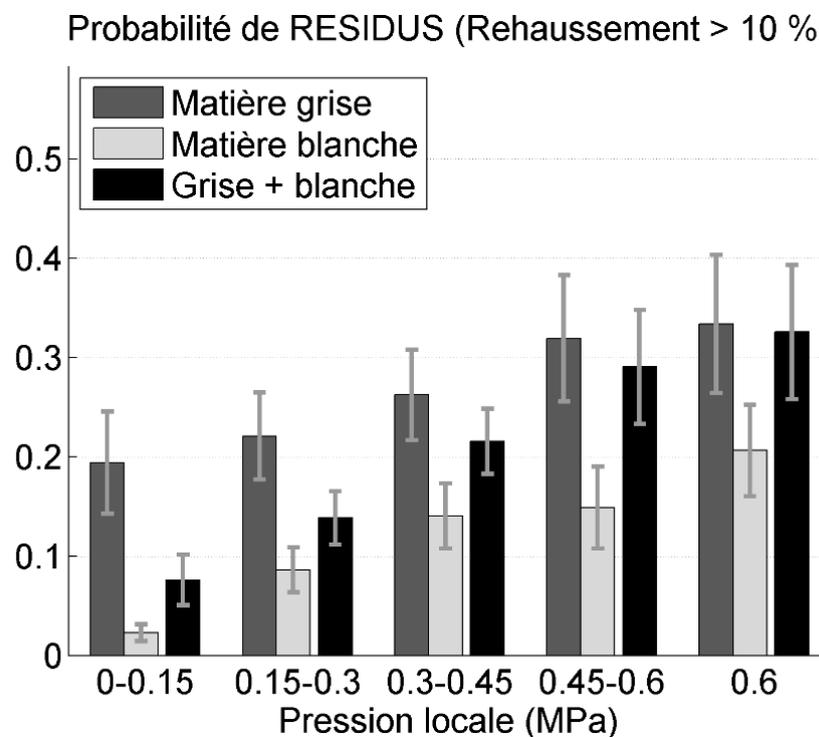


Figure 28 – Evolution de la probabilité de RESIDUS en fonction de la pression acoustique locale. Les barres d'erreur correspondent à l'intervalle de confiance à 95 %. (D'après Asquier et al.<sup>4</sup>)

## II.4. Discussion

L'objectif de cette étude était de développer une méthode de mesure du volume de rehaussement significatif du signal dû aux ultrasons (RESIDUS) après le traitement délivré par le SonoCloud, à l'aide des images T1w. Bien que cette quantification ait déjà été réalisée chez le primate<sup>35,60</sup>, il s'agit de la première étude s'intéressant à l'estimation du volume d'OBHE de manière automatisée et objective chez l'humain. Le traitement de ces images T1w comprend une correction de biais, une segmentation

et un recalage pour permettre l'estimation la plus fine et la moins biaisée. L'algorithme présenté est robuste à la présence des tumeurs sur les images IRM et peut donc être utilisé en clinique pour mesurer l'efficacité d'un traitement.

La seconde partie de l'étude a été réalisée dans le but de mettre en avant une relation directe entre l'ouverture efficace de la BHE et la puissance acoustique locale pendant le traitement. Un champ acoustique standard a été estimé à partir des mesures des profils de vibration réalisées sur 5 implants SonoCloud dans de l'eau dégazée et des simulations de propagation de champ acoustique dans le cerveau. Il a ensuite été comparé au rehaussement relatif des images T1w, calculé de manière fine grâce à la chaîne de traitement mentionnée dans le paragraphe précédent.

## II.4.1. Validation de la méthode

### II.4.1.1. Qualification automatique des images

Il n'existe aucune mesure de référence à laquelle se reporter pour valider les résultats de l'étude. Il a donc été décidé que la méthode de qualification, utilisée précédemment pour évaluer de manière qualitative l'OBHE pendant les traitements SonoCloud, servirait de mesure étalon.

Afin de régler correctement l'algorithme de sélection des voxels comptés dans le volume de RESIDUS, une étude paramétrique a été faite avec comme outil statistique le ROC. L'algorithme a été évalué sur sa capacité à attribuer correctement les grades donnés par un consensus de 3 spécialistes à chaque traitement grâce aux mesures du volume de RESIDUS effectuées avec chaque jeu de paramètre.

Il a été déterminé que le jeu de paramètres maximisant la spécificité et la sensibilité de l'algorithme comprenait des marges floues de 2 mm, un seuil de rehaussement de 10 % et un diamètre de ROI de 10 mm. La première base de la ROI cylindrique est située à 5 mm de la surface du transducteur afin que l'estimation ne soit pas faussée par l'artefact magnétique créé par ce dernier. La ROI mesure 55 mm de profondeur afin d'englober la zone du champ acoustique où la pression décroît de -12 dB par rapport à la pression nominale, en prenant en compte l'atténuation visqueuse des tissus dans la propagation des ondes. La seconde base du cylindre est donc située à 60 mm de la surface du transducteur. L'écart-type moyen du seuil de rehaussement dans une ROI controlatérale de même taille était de 5 %, ce qui indique que la qualité de la chaîne de traitement des images est suffisante pour utiliser un seuil de rehaussement de 10 % sans être gêné par le bruit numérique. Ce jeu de paramètres donne des AUC de 0.831 et de 0.995 pour les courbes évaluant la capacité de l'algorithme à détecter des grades 2 ou 3 et des grades 3 respectivement. Cela montre l'aptitude de l'algorithme à noter correctement les images et valide donc la méthode.

Certains grades n'ont pas été correctement détecté par l'algorithme. Pour quelques traitements, les marges floues n'avaient pas une épaisseur suffisante pour couvrir la zone d'extravasation de gadolinium par la tumeur, ce qui a mené à une surestimation du volume et une attribution d'un grade 2 ou 3 pour des ouvertures peu importantes. La taille conséquente de la tumeur sur certaines images, ainsi que les paramètres restrictifs choisis après l'étude des courbes ROC, ont conduit au contraire à des volumes de VOI très bas, et par conséquent à l'attribution de grades 0 ou 1 pour des ouvertures plus remarquables. Ces différences sont normales étant donné que la méthode de référence est qualitative. Elle ne prend pas en compte le volume du dépôt de gadolinium mais atteste de la présence de ce dernier dans certaines zones, plus ou moins profondes et perméables du cerveau. Etant donné les nombreuses différences qu'ils existent entre chaque traitement (taille de la tumeur, position du SonoCloud par rapport à celle-ci, volume de tissus réséqué pendant le traitement de première intention, etc...), il n'est pas aisé de trouver un jeu de paramètres permettant de trouver automatiquement le grade attribué à un traitement à partir d'une mesure quantitative.

D'autres traitements de grade 0 ou 1 ont été notés 2 ou 3 par l'algorithme. Un contrôle visuel a cependant confirmé la présence d'un RESIDUS sur les images concernées. Ce rehaussement significatif, bien que peu intense, apparaît parfois sous la forme de mouchetures isolées plutôt que celle du faisceau compact habituel, ce qui peut expliquer comment il a échappé à l'attention des spécialistes ayant donné leurs grades aux images. Cela justifie également l'utilité d'un outil automatique de l'estimation du volume de l'OBHE.

#### II.4.1.2. Evaluation des volumes calculés

Il est important de rappeler que le volume de RESIDUS mesuré dans cette étude ne correspond ni au volume de drogue ayant pénétré les tissus pendant la chimiothérapie, ni même au volume de gadolinium ayant véritablement pénétré les tissus. Cependant, la masse moléculaire de l'agent de contraste étant légèrement plus élevée que celle du carboplatine (557 Dalton<sup>12</sup> contre 371 Dalton<sup>9</sup> respectivement), il est supposé que le rehaussement du signal IRM dû au gadolinium dans les tissus atteste également la présence de la drogue. Une étude préclinique menée chez le rat<sup>135</sup> a d'ailleurs mis en évidence la corrélation entre le rehaussement du signal IRM et la présence de doxorubicine dans les tissus, un autre agent cytotoxique d'environ 580 Dalton<sup>9</sup>. Le RESIDUS peut donc être utilisé comme un substitut à la présence de drogue.

Le volume de RESIDUS chez un patient ayant une tumeur de petite taille, et par conséquent un grand nombre de VOI, a été évalué à 1.10 mL (Tableau 1, traitement 40), ce qui est en accord avec cette étude. Les volumes de RESIDUS relevés sont autrement peu élevés car l'analyse n'a été faite que dans les tissus sains, en excluant volontairement la tumeur et ses marges floues, pour attester de l'efficacité du traitement SonoCloud. La BHT, bien que déjà partiellement ouverte, peut avoir bénéficié d'une

perméabilité supplémentaire. En moyenne 45 % du volume de la ROI utilisée est inexploité. La zone s'étendant jusqu'à 5 mm devant le transducteur, bien qu'exposée à une pression acoustique relativement importante, ne peut pas être analysée à cause de l'artefact magnétique. Enfin, le paramétrage de l'algorithme a été optimisé pour l'attribution automatique des grades. Un choix de paramètres moins restrictifs, tels qu'une ROI plus volumineuse ou des marges floues moins épaisses, gonflerait le volume de RESIDUS mesuré. D'une manière plus générale, il est important de comprendre que la méthode présentée est semi-quantitative. Les volumes calculés dépendent des paramètres de l'algorithme et d'acquisition des images. Il est possible de comparer les différents traitements car les images ont été acquises de la même manière sur la même machine et sont passées par la même chaîne de traitement.

Il est possible que le volume de tissus sains ayant bénéficié d'une augmentation de la concentration en carboplatine soit plus important que le volume de RESIDUS pour diverses raisons, comme le démontre une étude préclinique effectuée précédemment<sup>49</sup>. Le passage d'une molécule à travers la BHE et sa diffusion dans les tissus, dépend de sa taille, de sa nature et de sa demi-vie. Ces spécifications ne sont pas les mêmes pour le carboplatine et la formulation de gadolinium employée<sup>19,36,48</sup>. Les images T1w post-traitement sont acquises en moyenne 30 minutes après la sonication, et reflètent l'état de la BHE au moment où elles sont prises et non au moment où la drogue a été administrée. Il a d'ailleurs été démontré, grâce à des images T1w, que directement après la sonication, la BHE bénéficiait d'une perméabilité importante, s'estompant rapidement dans les premières minutes suivant le traitement<sup>87</sup>. La BHE reste d'ailleurs ouverte jusqu'à 6 heures après le traitement ultrasonore<sup>63</sup>, ce qui laisse le temps à la chimiothérapie de s'accumuler et de se diffuser en des quantités plus importantes que celles relevées directement après l'exposition aux ultrasons.

## II.4.2. Corrélation avec la pression acoustique locale

### II.4.2.1. Mise en regard avec les autres études

La pression acoustique intracrânienne générée par le SonoCloud pendant le traitement a été estimée à l'aide de mesures et de simulations. Les pressions nominales ont été remesurées dans le cadre de cette étude avec une incertitude réduite comparée aux résultats publiés précédemment. Les nouvelles valeurs de pressions nominales se sont avérées être 18 % moins importantes que celles déjà publiées, et avec un intervalle de confiance à 95 % plus étroit ( $\pm 11.6$  % contre  $\pm 18.4$  %).

La cavitation étant un phénomène dépendant de la fréquence utilisée, l'intensité des ultrasons est souvent exprimée grâce au MI, plutôt qu'à une valeur de pression absolue. La corrélation entre le MI et les effets de l'OBHE a déjà été démontrée dans plusieurs études<sup>23,90</sup>, dans lesquelles l'exposition aux ultrasons était faite à travers le crâne, et par conséquent avec des fréquences plus basses que celles

du SonoCloud. Les études précliniques faites sur des primates avec le SonoCloud ont été réalisées avec des MI variant de 0.6 à 0.8<sup>49,60</sup>. L'étude clinique, quant à elle, a été réalisée avec des MI montant jusqu'à 0.82 (en prenant en compte l'atténuation des ondes acoustiques dans le cerveau). A titre de comparaison, des MI de 0.64 et 0.84 avec fréquences en dessous du MHz ont déjà été utilisés chez le primate<sup>86,89</sup>, et se sont montrés efficaces et sans danger. Les résultats obtenus lors de cette étude peuvent donc être transposés à la méthode transcâniennne, tant en termes d'efficacité que de sécurité.

#### II.4.2.2. Probabilité de RESIDUS

Le champ acoustique standard simulé dans le cerveau a été adapté à la pression nominale de chaque traitement et superposé à la carte de rehaussement du signal IRM calculée pour l'estimation du volume d'OBHE. Il a été démontré que la probabilité de RESIDUS (rehaussement d'au moins 10 % dans les VOI) augmentait avec la pression acoustique locale ( $R^2 = 0.98$ ). Les résultats suggèrent que pour des pressions inférieures à 0.15 MPa (MI = 0.15), la probabilité est inférieure à 10 %. Pour des pressions supérieures à 0.6 MPa (MI = 0.59), elle est de 31.7 %. Il est possible que ces probabilités soient sous-estimées à cause de l'orientation manuelle du transducteur. En effet, les zones de pressions les plus élevées sont aussi les moins volumineuses et donc celles qui comportent le moins de voxels. Un léger décalage entre le champ acoustique et la carte de rehaussement est donc susceptible d'aplanir la courbe d'évolution de la probabilité de RESIDUS en fonction de la pression acoustique locale, en augmentant les probabilités à basses pressions et en diminuant les probabilités à hautes pressions.

Néanmoins, le valeur de 31.7 % de probabilité d'ouverture pour un MI de 0.59, est comparable à celle déjà publiée de 50 % pour un MI de 0.46 chez le lapin<sup>90</sup>. Le fait qu'elle soit légèrement moins élevée peut être expliqué par la différence d'espèce (humain contre lapin), la méthode d'OBHE (non-focalisée et sans crâne contre focalisée transcâniennne), et la méthode d'estimation du RESIDUS (VOI et rehaussement de 10 % contre tâche focale observable).

#### II.4.3. Perspectives

La méthode développée et validée dans ce chapitre servira l'analyse des données précliniques et cliniques, passées et futures, des essais d'OBHE réalisés avec un transducteur avec une géométrie similaire à celle du SonoCloud. Elle permet la mesure semi-automatique et objective de la quantité de RESIDUS dans les tissus du cerveau. La corrélation entre l'extravasation du gadolinium et la pression acoustique locale sur d'autres images apportera une compréhension plus fine du phénomène d'ouverture et possiblement une explication à la variabilité d'efficacité entre les traitements.

Afin d'attester de l'efficacité du traitement SonoCloud, le rehaussement du signal n'a été analysé que dans une ROI restreinte avec des paramètres de sélection volontairement restrictifs. D'autres analyses

doivent être faites dans les zones qui n'ont pas encore été exploitées, comme la BHT et les marges floues, pour s'approcher des volumes de gadolinium et de drogue ayant réellement traversé les tissus. Les outils développés dans cette étude pourront, à ce compte-là, servir à analyser d'autres modalités d'images. La constante de transfert  $K^{trans}$ , mesurables sur les images de perméabilité, a d'ailleurs déjà été utilisée pour évaluer l'OBHE<sup>23,56,117</sup>. Ces images de perméabilité ont été acquises pendant cette étude, mais leur rapport signal sur bruit (SNR) était trop faible pour qu'elles soient exploitables. La technique de mesure du temps de relaxation T1, connue sous le nom de T1 mapping, pourrait également permettre de remonter jusqu'à la réelle valeur du volume de gadolinium dans les tissus<sup>133</sup>.

Les résultats présentés concernant l'influence de la pression acoustique locale sur la probabilité de RESIDUS prouvent que la pression acoustique joue un rôle capital sur l'efficacité de l'ouverture, ce qui est en accord avec d'autres études<sup>19</sup>. Lorsque cette corrélation sera plus nettement établie, un traitement SonoCloud maximisant l'OBHE pourra être réalisé sans avoir besoin d'acquérir les images T1w post-traitement. Néanmoins, la probabilité de RESIDUS reste relativement basse, même à des niveaux acoustiques assez élevés. Il est possible que la pression acoustique seule ne suffise pas à expliquer cette variabilité. Afin de mieux comprendre et de maximiser l'OBHE, une analyse plus détaillée des mécanismes acoustiques en jeu pendant le traitement est nécessaire.

***Les chapitres suivants s'intéressent à la quantification et à la localisation de la cavitation pendant le traitement ultrasonore, phénomène directement lié à la pression acoustique et à l'efficacité de l'ouverture.***

# Chapitre III : Evaluation de l'incertitude de quantification de l'activité de cavitation pendant une écoute passive avec un capteur mono-élément

Dans le chapitre précédent, il a été démontré une corrélation spatiale entre la pression acoustique intracrânienne estimée et le rehaussement du signal IRM pendant l'ouverture de la BHE chez l'Homme. Cette corrélation ne permet cependant pas de prédire de manière fiable quand la BHE s'ouvre car la probabilité d'avoir un rehaussement significatif reste relativement basse, même lorsque les pressions locales sont importantes (31.7 % pour 0.6 MPa). De plus, le volume pour lequel un rehaussement significatif est observé dépend du temps écoulé entre l'injection de gadolinium et l'IRM. L'efficacité de la méthode dépend de la qualité des images et de leur post-traitement, ainsi que des paramètres et du matériel d'acquisition utilisés.

L'augmentation de la pression nominale au-delà du seuil d'ouverture optimal est inenvisageable pour améliorer l'efficacité du traitement, car elle pourrait entraîner des effets secondaires indésirables tels que l'extravasation d'hématies (Figure 10, Chapitre I). La cavitation étant le mécanisme d'action expliquant le mieux l'ouverture chez l'animal<sup>91</sup>, il est intéressant de la mesurer chez l'Homme afin d'affiner la compréhension du phénomène et de pouvoir améliorer de manière sécurisée les traitements cliniques futurs. Ce chapitre s'intéresse aux méthodes de surveillance et de quantification de la cavitation, et plus particulièrement à mesurer l'incertitude qu'il existe sur les amplitudes du sous-harmonique (fréquence moitié de la fréquence de l'onde de thérapie) perçues pendant une écoute avec un capteur mono-élément, simplement posé contre la tempe des patients. Des pistes pour améliorer l'acquisition de ces données et pouvoir comparer les résultats des écoutes des différents traitements y sont ensuite proposées.

## III.1. Corrélation du phénomène de cavitation avec l'OBHE chez l'Homme

La plupart des études s'intéressant à la corrélation entre le phénomène de cavitation et l'OBHE ont deux points communs : elles ont été réalisées chez l'animal, et le dispositif utilisé pour l'OBHE était focalisé et utilisé la plupart du temps dans une configuration transcrânienne. Chez l'Homme, ces résultats ne peuvent être utilisés tels quels car les niveaux de pression nécessaires à l'ouverture sont plus importants. De plus, dans le cadre d'un traitement SonoCloud, le transducteur est plan et en

contact direct avec les tissus. Les zones d'activité de cavitation sont donc beaucoup plus diffuses que celles réalisées avec des méthodes focalisées, ce qui veut dire que la cavitation n'est pas un phénomène local et que l'interprétation des résultats est par conséquent plus délicate.

Cette partie rend compte des travaux d'écoute passive de la cavitation réalisés le dispositif SonoCloud et des problématiques que l'interprétation des résultats soulèvent.

### III.1.1. Présentation du dispositif d'écoute et des méthodes de post-traitement

L'écoute a été faite pendant des ouvertures réalisées avec une nouvelle génération d'implant, le SonoCloud-3 (Figure 15, Chapitre I). Ce dernier consiste en trois implants SonoCloud maintenus en triangle. Il a été conçu dans le but d'obtenir des OBHE plus volumineuses. Ces résultats ont été partiellement présentés lors du meeting of European Association of Neuro-Oncology<sup>64</sup> (EANO 2019, Lyon, France). Les paramètres utilisés sont les mêmes que ceux décrits dans la deuxième partie de l'étude sur la première génération d'implant<sup>65</sup>. Le traitement SonoCloud-3 dure 5 min, en activant chaque transducteur un à un, une fois toutes les 2 secondes (1.5 trains d'onde par seconde). La taille des ouvertures observées est en effet plus importante, et le traitement est bien supporté par les patients.

Les essais cliniques réalisés avec cet implant ont été acceptés par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) avec un amendement permettant l'écoute passive transcrânienne de la cavitation avec un système spécialement développé pour ces essais (Figure 29). Ce système consistait en un capteur large-bande en PVDF de 6.25 mm de diamètre, branché à un préamplificateur (Precision Acoustics) et mis en contact avec la tête des patients en utilisant du gel de couplage acoustique, sur la tempe opposée au dispositif de traitement afin que l'amplitude des signaux perçus soit maximisée. Un système rudimentaire de maintien et d'orientation du capteur a été réalisée à l'aide d'un bandeau et d'une rotule en plastique. Le capteur était orienté approximativement par un opérateur vers la zone focale naturelle d'un des transducteurs de thérapie. Cette dernière se trouve à environ 1.6 cm de la surface transducteur.

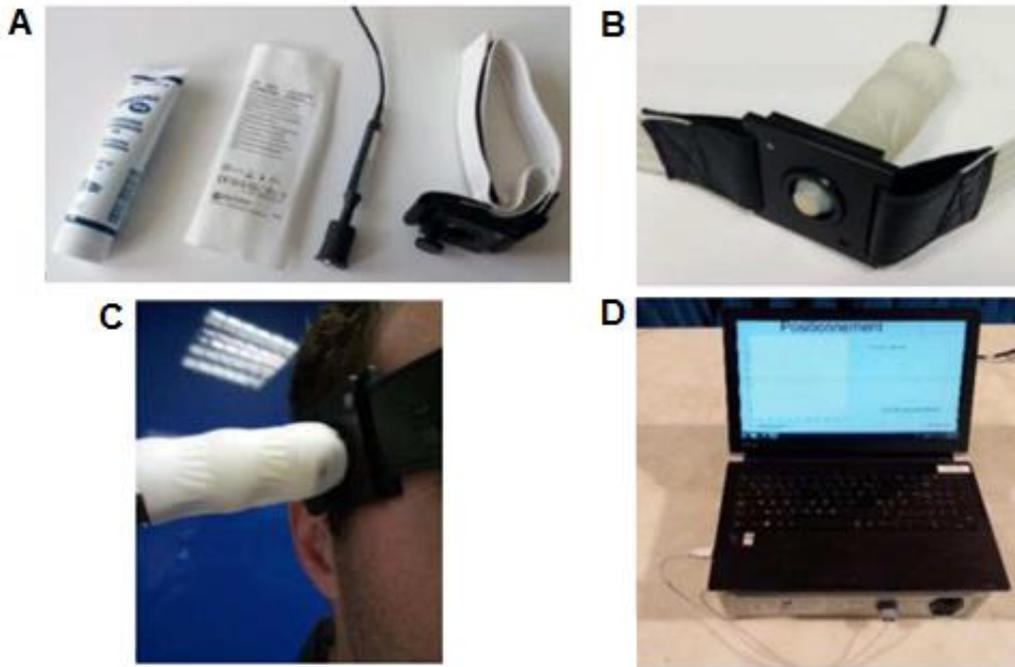


Figure 29 – Dispositif d'écoute de la cavitation chez les patients. A : Matériel servant à l'acquisition. De gauche à droite : gel de couplage acoustique, protection stérile pour assurer la biocompatibilité, PCD branché à son préamplificateur et bandeau de maintien; B : PCD dans sa protection monté sur le bandeau; C : Dispositif équipé sur la tête d'un patient; D : Système sur batterie servant à l'amplification et au filtrage, et ordinateur de contrôle de l'écoute et de sauvegarde des données.

Aucun lien électrique n'a été fait entre le dispositif de traitement et le PCD, afin que ce dernier ne puisse en aucun cas interférer avec le traitement. L'acquisition des signaux se déclenchait donc automatiquement au moment où les niveaux acoustiques dépassaient un certain seuil. Lorsque le bandeau ne tenait pas pour une raison quelconque, l'opérateur tenait le PCD à la main en essayant de le laisser le plus immobile possible, soit pendant toute la durée du traitement si le support s'était révélé inefficace avant que ce dernier ne commence, soit partiellement si le PCD glissait ou tombait après le début de l'opération. Dans certains cas, les résultats sont donc incomplets, et biaisés par les changements d'orientation du PCD en cours de traitement.

Avant chaque émission d'onde de thérapie d'un des transducteurs de l'implant, trois impulsions "test" sont automatiquement réalisées pour vérifier la bonne connexion de l'aiguille. Les signaux enregistrés par le PCD commencent donc en général à partir de la première impulsion. Chaque signal a été associé au transducteur qui l'avait émis. L'observation de leur spectrogramme permet de rendre compte de l'apparition des fréquences caractéristiques de la cavitation stable (harmoniques, sous-harmonique et ultra-harmoniques), ainsi que du bruit large bande caractéristique de la cavitation inertielle. Les amplitudes du sous-harmonique et du bruit large bande sont moyennés et relevés pour chacune des ondes de thérapie au cours du traitement.

L'écoute a été réalisée pendant 19 traitements incluant 6 patients. De la même manière qu'au chapitre précédent, un grade a été attribué à chaque transducteur et à chaque traitement. Il est fonction de la profondeur de l'OBHE constatée sur les images T1w dans le champ du transducteur (0 pour aucune ouverture visible, 1 pour une ouverture dans l'espace sous-arachnoïdien, 2 pour une ouverture dans l'espace sous-arachnoïdien et la matière grise, 3 pour une ouverture dans l'espace sous-arachnoïdien, la matière grise et la matière blanche).

### III.1.2. Résultats et problématiques soulevées

La quasi-totalité des signaux ont été correctement enregistrés et associés à leur transducteur. Une vingtaine de secondes après le début du traitement (temps nécessaires aux bulles pour atteindre le réseau vasculaire cérébral), du bruit large bande et des raies sous-harmoniques (indicateurs d'une activité de cavitation) ont été détectés, pour tous les signaux et tous les transducteurs sans exception (Figure 30). D'une manière générale, l'amplitude du sous-harmonique reste stable tout au long du train d'onde, tandis que celle du bruit large bande subit une légère diminution.

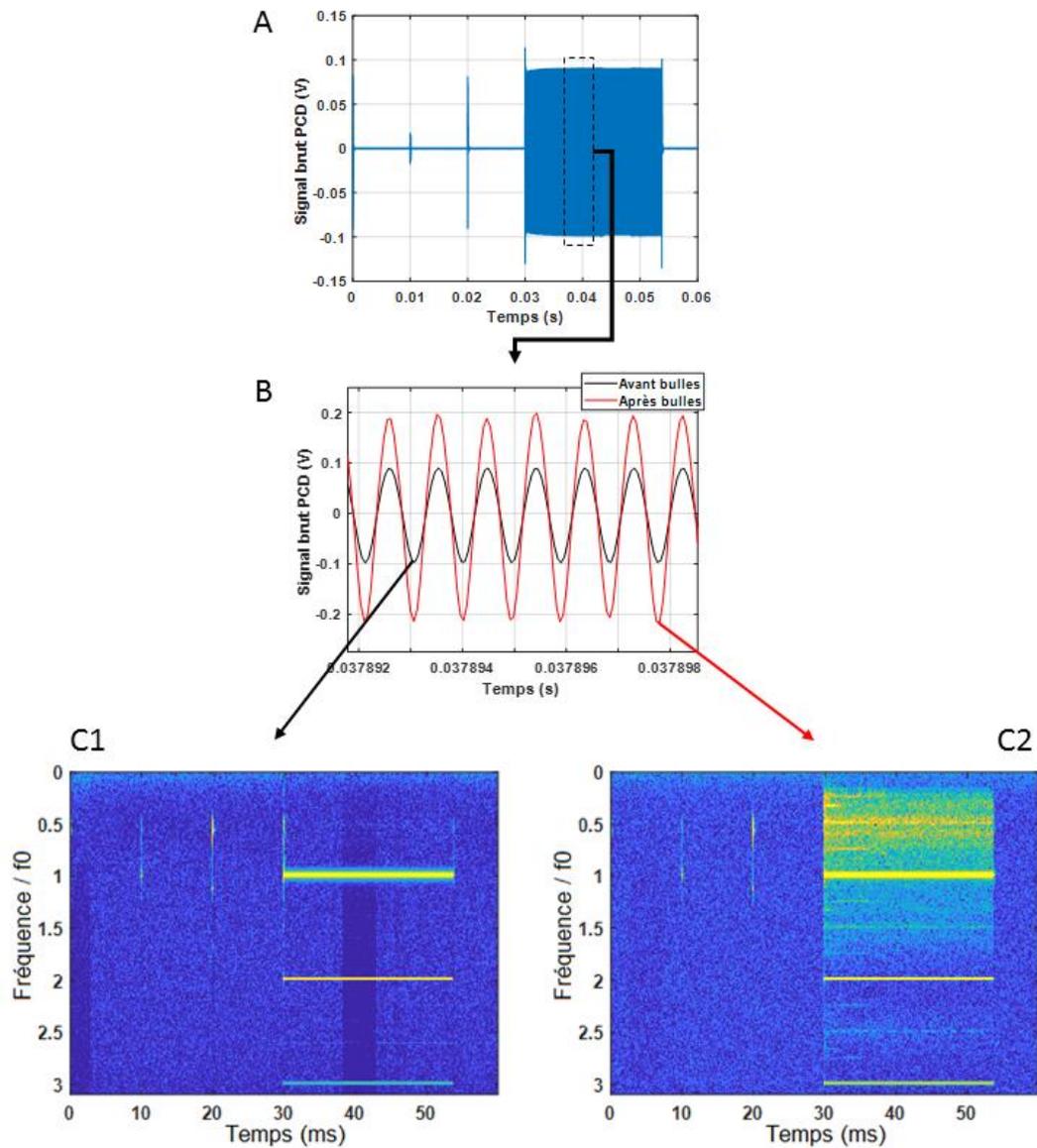


Figure 30 – Exemple de signal enregistré par le PCD pendant un traitement SonoCloud 3. A : Les trois brèves impulsions avant l'onde de thérapie sont visibles. Ce sont elles qui déclenchent l'écoute; B : Un zoom est réalisé sur l'onde de thérapie. Les signaux enregistrés avant et après l'arrivée des bulles dans les vaisseaux du cerveau sont comparés. L'amplitude des signaux après l'arrivée des bulles est plus importante et le sous-harmonique est discernable; C : Spectrogramme des signaux avant (C1) et après (C2) l'arrivée des bulles. Le sous-harmonique et le bruit large-bande sont discernables en C2, preuve d'une activité de cavitation à l'intérieur du crâne.

Au cours du traitement, les amplitudes des indices de cavitation connaissent une hausse rapide à l'arrivée des bulles, suivi d'une stabilisation et d'une diminution douce en fin de traitement, comme le montre la Figure 31. La demi-vie des amplitudes du sous-harmonique (temps à partir duquel elles deviennent deux fois moins importantes que l'amplitude maximale relevée) a été évaluée à  $147 \pm 64$  s.

L'amplitude moyenne normalisée (AMN) d'un indice de cavitation est définie comme la moyenne de son amplitude entre 20 et 110 s de traitement (temps pendant lequel l'activité des bulles est maximale), divisée par la valeur moyenne de l'amplitude de la troisième impulsion de connexion de

l'implant. L'AMN a été calculée pour le sous-harmonique et pour le bruit large bande (ensemble des fréquences du spectre en excluant la fréquence fondamentale du traitement, ses harmoniques, son sous-harmonique et ses ultra-harmoniques). Les OBHE en face de chaque implant ne sont pas systématiques et il est possible qu'à l'issu d'un traitement, une AMN supérieure soit perçue pour l'un des transducteurs alors que le grade attribué à la zone en face de ce dernier est moins important que pour un de ses voisins (Figure 31).

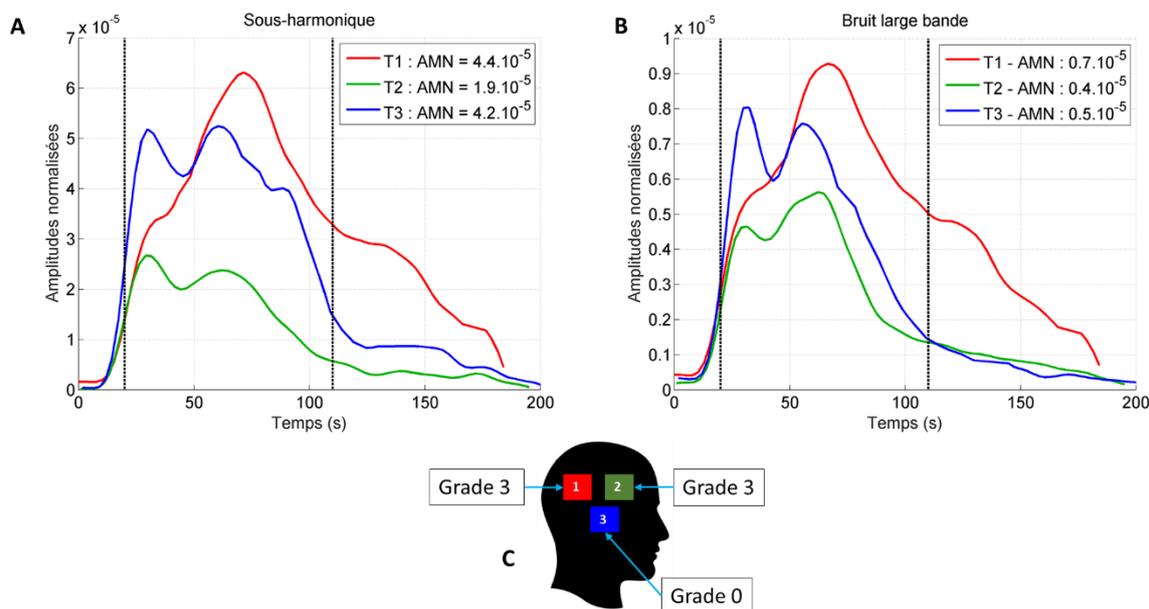


Figure 31 – Evolution des amplitudes normalisées du sous-harmonique (A) et du bruit large bande (B) au cours d'un même traitement pour les trois transducteurs (T1 en rouge, T2 en vert et T3 en bleu). L'arrivée des bulles est visible sur la hausse des courbes. Les traits pointillés représentent la plage temporelle sur laquelle l'AMN est calculée. C : Grades attribués aux différents transducteurs. Un grade 0 a été attribué à la zone en face du transducteur 3 alors que les AMN qu'il a générées sont supérieures au transducteur 2 qui a obtenu un grade 3.

Il a été remarqué que les AMN du sous-harmonique et du bruit large bande au cours d'un traitement sont très fortement liées ( $\rho = 0.87$ , Figure 32).

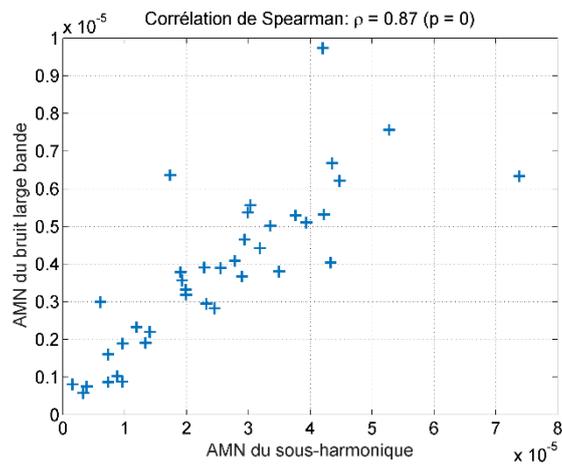


Figure 32 – Corrélation entre l'AMN du bruit large bande et du sous-harmonique pour chaque transducteur et pour tous les traitements.

Aucune corrélation significative n'a été trouvée entre l'AMN du sous-harmonique et le volume d'OBHE calculée sur l'IRM avec la méthode expliquée dans le Chapitre II. La Figure 33 montre que la puissance électrique envoyée par le générateur ne prédit pas moins bien le volume d'OBHE que les mesures de cavitation.

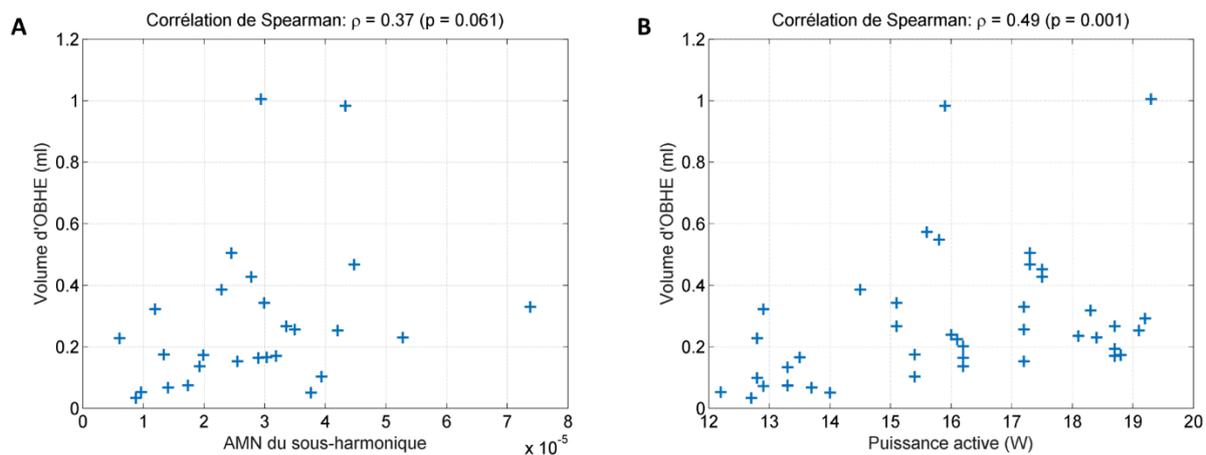


Figure 33 – Corrélation de Spearman entre les AMN du sous-harmonique et le volume d'ouverture (A) et entre la puissance électrique envoyée par le générateur et le volume d'ouverture (B). Les résultats ne sont pas concluants et l'AMN du sous-harmonique ne permet pas de mieux prédire le volume d'ouverture que la puissance active.

### III.1.3. Conclusions de l'écoute de la cavitation en clinique

L'unique conclusion pouvant être tirée de cette étude est que la cavitation est présente lors de tous les traitements, mais n'est pas suffisante à l'obtention d'un OBHE visible à l'IRM. L'écoute de la cavitation à travers le crâne d'un patient à l'aide d'un PCD simplement posé sur la tempe de ce dernier

ne permet pas l'observation d'une corrélation significative entre l'activité de cavitation et l'efficacité de l'OBHE. Il a été démontré que la mesure de la puissance électrique délivrée par le générateur pendant le traitement ne prédit pas moins bien le volume d'ouverture mesurée sur les images IRM que les amplitudes du sous-harmonique mesurées avec le PCD, alors qu'elle est bien moins fastidieuse à mettre en place ( $\rho = 0.49$  contre  $0.37$  respectivement).

Il est important de nuancer ces résultats. Il est en effet mal avisé de comparer quantitativement les amplitudes de cavitation enregistrées par le PCD, car la mesure est biaisée par plusieurs facteurs :

- La position du PCD par rapport aux différents transducteurs et aux différents sites de cavitation est déterminante. Ce dernier possède une directivité et son orientation et sa distance par rapport aux sources de cavitation impacte grandement la mesure. Il est positionné sur la tempe opposée à l'hémisphère du cerveau en contact avec l'implant. L'opérateur fait en sorte de l'orienter vers la focale naturelle d'un des transducteurs. La distance entre cette focale et le point d'écoute a été évaluée entre 10 et 15 cm et l'erreur angulaire maximale de  $10^\circ$ , comme l'illustre la Figure 34.

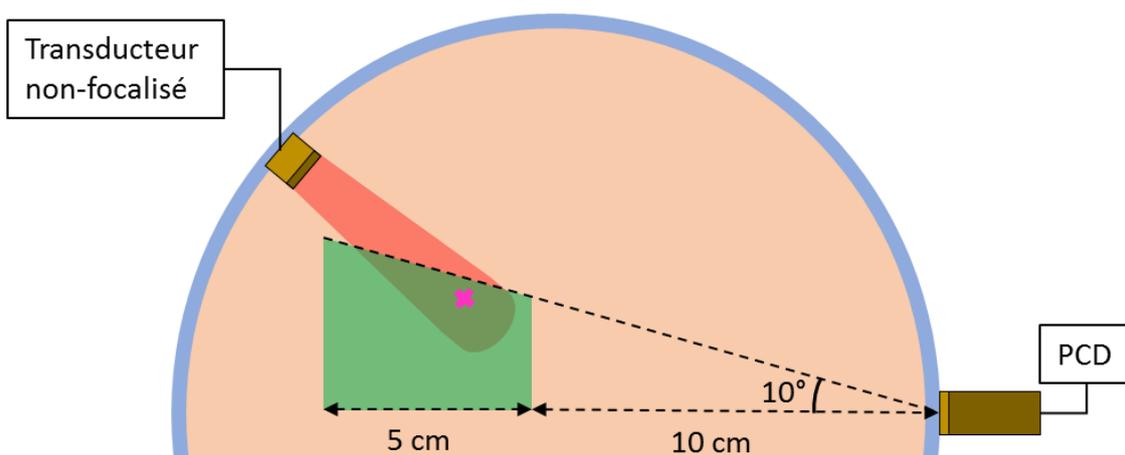


Figure 34 – Schéma de la configuration d'écoute avec le PCD en clinique. La zone verte correspond à l'incertitude de l'opérateur quant à l'orientation et la distance du centre du PCD par rapport à la focale naturelle du transducteur, symbolisée par la croix magenta.

- La distorsion et l'atténuation du signal dues à la composition et à l'épaisseur non homogènes de l'os sont également des sources d'erreurs importantes et ne pouvant être négligées.
- Enfin, le SonoCloud étant un transducteur non focalisé, les endroits où ont lieu la cavitation à l'intérieur du crâne sont multiples et ne sont pas les mêmes selon le transducteur activé. Les niveaux perçus par le PCD dépendent directement de la pression acoustique locale aux foyers de cavitation, et les différents foyers peuvent interférer les uns avec les autres.

Afin d'affiner la compréhension du phénomène d'ouverture et son lien avec l'activité de cavitation, ainsi que pour pouvoir comparer quantitativement les données d'écoute issues des différents traitements, il faut pouvoir maîtriser ces biais de mesure et connaître la variabilité qu'ils occasionnent sur l'amplitude des signaux enregistrés.

***Le but de ce chapitre est donc de quantifier l'incertitude de mesure des signaux de cavitation acquis avec un simple PCD en clinique et de proposer des améliorations à apporter à ces mesures pour les rendre exploitables d'un point de vue quantitatif.***

## III.2. Quantification et réduction de l'incertitude des amplitudes de cavitation reçues par le PCD

Plusieurs simulations et expériences *in vitro* ont été réalisées afin de quantifier et de tenter de réduire l'incertitude sur la mesure de l'amplitude des sous-harmoniques de cavitation, par rapport à deux des biais de mesure relevés ci-avant : la position du capteur par rapport au site de cavitation et l'influence de l'os. Les résultats de cette étude ont été partiellement présentés à l'International Ultrasonics Symposium (IEEE IUS 2019, Glasgow, Scotland).

L'influence de la multiplicité des sources de cavitation est discutée dans le chapitre suivant. Dans un premier temps, il est donc considéré qu'il n'existe qu'un unique foyer de cavitation en face du transducteur.

### III.2.1. Quantification de l'incertitude due au positionnement du PCD

Une première expérience est menée afin de quantifier la variation d'amplitude des signaux reçus par le PCD en fonction de sa distance et de son orientation par rapport à cette source. Une correction, permettant de rendre les signaux comparables quantitativement est également proposée. Elle est basée sur la sensibilité en réception théorique du PCD et la connaissance a priori de son positionnement par rapport à la source de cavitation.

#### III.2.1.1. Description du dispositif expérimental

L'expérience est illustrée en Figure 35. Elle est menée dans une cuve remplie d'eau dégazée. Un transducteur piézo-céramique plan de 10 mm de diamètre et résonant à 1.1 MHz (SonoCloud, CarThera) est maintenu verticalement par un support conçu pour l'expérience et imprimé en 3D. Ce transducteur tire sur un tube en polyimide (diamètre extérieur 1.9 mm, diamètre intérieur 1.8 mm;

IM307190, Goodfellow) maintenu perpendiculairement à l'axe de tir, à 2.5 cm de la surface du transducteur.

La solution contenant les microbulles (2-6  $\mu\text{m}$  de diamètre<sup>122</sup>, BR38, Bracco) est diluée 1000 fois dans du sérum physiologique pour s'approcher au maximum des conditions de traitement (5 mL de solution pour environ 5 L de sang par patient). Le débit est contrôlé par un pousse-seringue (PHD Ultra, Harvard Apparatus). La solution circule à une vitesse d'environ 1.2 cm/sec dans le tube de sorte à ce qu'à chaque tir, les bulles en face de la surface du transducteur soient renouvelées. Avant chaque expérience, un tir était réalisé dans du sérum physiologique sans bulle, pour confirmer l'absence de cavitation spontanée.

Un PCD en PVDF de fabrication maison de 10 mm de diamètre, servant de référence, est maintenu horizontalement à 10.5 mm du foyer de cavitation. Un bras robotique (LBR iiwa, Kuka) maintient, oriente et déplace un PCD similaire à celui de référence. Le robot est contrôlé par un logiciel développé sous Matlab. La position du PCD est définie par deux paramètres : la distance  $r$  de son centre au foyer de cavitation (i.e. la projection du centre du transducteur sur le tube) ; et l'orientation  $\theta$  formée par son axe acoustique par rapport au foyer de cavitation.

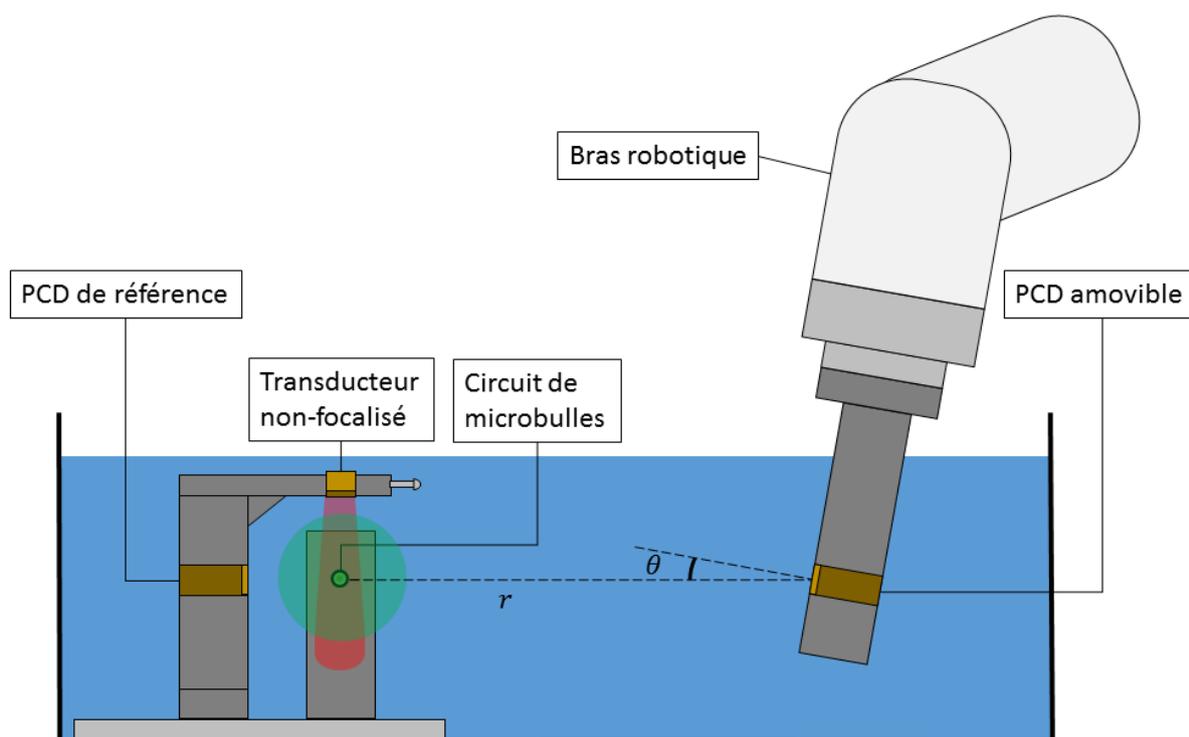


Figure 35 - Schéma du dispositif *in vitro* mis en place. La distance  $r$  et l'angle  $\theta$  caractérisent la position du PCD par rapport au foyer de cavitation.

Les positions du PCD choisies sont représentatives des multiples configurations d'écoute dans le contexte clinique pour illustrer au mieux la variabilité pouvant être attendue dans les résultats

(distance à la focale du transducteur variant de 10 à 15 cm, et erreur angulaire maximale de 10°). La concentration des bulles diminue une fois que ces dernières sont sorties de leur flacon et diluées et une baisse trop importante au cours de l'expérience est susceptible d'apporter un biais dans l'interprétation des résultats obtenus. Un compromis doit donc être fait entre le nombre de signaux enregistrés à chaque position du robot et le nombre de position à faire avant de renouveler la solution de bulles circulant dans le tube.

Une combinaison de 3 distances (10, 12.5 et 15 cm) et 3 angles (0, 5 et 10°) pour un total de 9 positions est utilisée pour le PCD amovible pour chaque solution de bulles préparées. A chaque position, un signal est enregistré par seconde pendant 50 secondes. L'expérience dure donc au total un peu moins de 9 min. Elle a été réalisée à 3 pressions différentes au foyer de cavitation (0.34, 0.39 et 0.46 MPa). L'enchaînement des positions est effectué aléatoirement afin d'être sûr que les variations de niveaux perçues sont dues à la position du PCD et non à une variabilité de la concentration en bulles de la solution dans le circuit.

### III.2.1.2. Génération et acquisition des signaux

Un train d'onde monochromatique de 25000 cycles délivré toutes les secondes par un générateur de fonctions (33120A, Agilent), passe par un amplificateur (LA200H, Kalmus) et est émis par le transducteur dans la cuve. La fréquence du pulse est la fréquence de résonance du transducteur utilisé pour l'expérience. Les signaux acoustiques détectés sont préamplifiés (MVA 10, Müller Instruments) et filtrés avec un passe-bas (BLP-2.5+, Mini-Circuits). La conversion analogique-numérique est assurée par un oscilloscope (PicoScope 4824, Pico Technology) contrôlé par un logiciel développé sous Matlab. L'écoute est déclenchée par le signal de l'amplificateur, dure 26 ms et les signaux sont échantillonnés à 10 MHz.

### III.2.1.3. Sélection et post-traitement des signaux

Le sous-harmonique est ici considéré comme l'indice de cavitation le plus fiable. En effet, il correspond à la plus basse fréquence émise par les oscillations des bulles, et par conséquent, l'onde monochromatique la plus susceptible de traverser le crâne. Le niveau de bruit large-bande permet également de rendre compte d'une activité de cavitation, mais sa valeur peut fluctuer à cause d'un événement extérieur au traitement et sa quantification dépend de la manière dont il est calculé.

Les transformées de Fourier de tous les signaux acquis sont calculées. L'amplitude du sous-harmonique ainsi que l'amplitude moyenne du bruit sur une bande de 10 kHz autour de celui-ci sont relevées. Un signal est considéré valide si le niveau du sous-harmonique est 10 dB au-dessus de celui du bruit moyen. Les signaux invalides sont exclus des résultats. L'amplitude du sous-harmonique moyennée sur

l'ensemble des mesures valides est ensuite calculée pour chaque position. Dans la suite,  $SH_i$  désigne cette amplitude moyenne à la position  $i$ .

Afin de quantifier l'incertitude des  $SH_i$  due à la distance et à l'orientation du capteur par rapport au foyer de cavitation, leur coefficient de variation est calculé en pourcentages :

$$C_v = 100 \times \frac{\sigma}{\mu} \quad (10)$$

Avec  $\sigma$  et  $\mu$ , l'écart-type et la moyenne des  $SH_i$ . Ce coefficient de variation caractérise l'incertitude de mesure de la cavitation pour les neuf positions testées dans la cuve.

### III.2.1.4. Corrections des signaux

Afin de comparer les signaux entre eux, les informations de distance et d'orientation du PCD par rapport au foyer de cavitation sont utilisées. L'objectif est d'essayer de réduire les coefficients de variation  $C_v$  de chacune des expériences en se servant de ces informations.

Le PCD est apparenté à un piston plan vibrant à une fréquence  $f$  et à une amplitude  $V_n$ . Soient  $O$ , le centre de la surface du piston et  $a$  son rayon. La pression  $p(r, \theta)$  rayonnée au point  $M$  situé dans le champ lointain, à une distance  $r$  de  $O$  tel que l'axe  $OM$  forme un angle  $\theta$  avec l'axe du piston, est définie par la relation suivante<sup>126</sup> :

$$p(r, \theta) = -i\rho\omega a^2 V_n e^{ikr} \cdot \frac{D(\theta)}{r} \quad (11)$$

Avec  $\omega = 2\pi f$  la pulsation,  $k = \frac{\omega}{c}$  le nombre d'onde,  $c$  la célérité du son dans le milieu de propagation et  $\rho$  la masse volumique du milieu de propagation. La quantité  $D(\theta)$  correspond à la directivité du piston et se calcule ainsi :

$$D(\theta) = \frac{2J_1(ka\sin(\theta))}{ka\sin(\theta)} \quad (12)$$

Avec  $J_1$  la fonction de Bessel de première espèce d'ordre 1. Il est précisé que :

$$\lim_{x \rightarrow 0} \frac{J_1(x)}{x} = \frac{1}{2} \quad (13)$$

Par conséquent  $D(\theta)$  varie entre 0 et 1. Le principe de réciprocité électroacoustique<sup>78</sup> stipule que la sensibilité en émission du piston est considérée en tout point proportionnelle à sa sensibilité en

réception. La directivité en réception d'un PCD augmente donc avec le produit adimensionnel  $ka$  (Figure 36). A une fréquence de 550 kHz (fréquence du sous-harmonique pour des ondes à 1.1 MHz),  $ka$  vaut 10.5 pour un PCD de 10 mm utilisé dans l'eau, comme c'est le cas dans cette expérience.

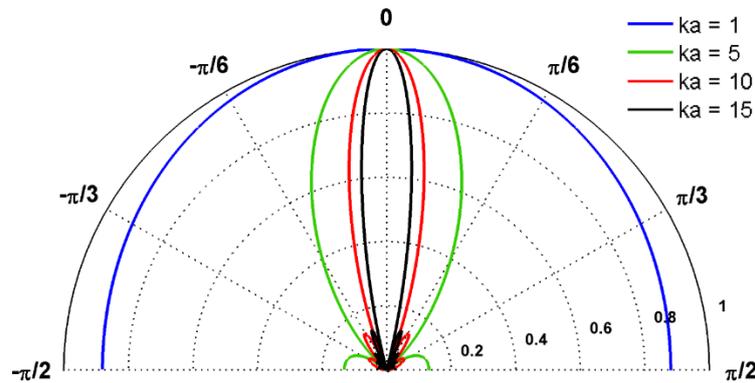


Figure 36 – Diagramme théorique de la directivité en réception d'un piston plan pour différentes valeurs de  $ka$ .

Ainsi, les termes  $r$  et  $D(\theta)$  peuvent être utilisés pour corriger les  $SH_i$  enregistrées par le PCD et réduire la valeur de  $C_v$ . Pour chaque position  $i$  du PCD (distance  $r_i$ , angle  $\theta_i$ ), les  $SH_i$  corrigées sont calculées ainsi :

$$SH_{i,cor} = SH_i \cdot \frac{r_i}{D(\theta_i)} \quad (14)$$

Un nouveau coefficient de variation  $C_{v,cor}$  peut alors être calculé et comparé à celui sans correction.

### III.2.1.5. Résultats obtenus

Les coefficients de variation  $C_v$  obtenues avec le PCD de référence étaient de 5.8, 4.8 et 4.5 % pour 0.34, 0.39 et 0.46 MPa respectivement. Ils représentent l'incertitude minimale qu'il est possible d'obtenir sur des mesures de cavitation dans des conditions idéales (foyer de cavitation unique, distance et orientation relatives du PCD par rapport au foyer connues et pas de crâne à traverser).

Pour le PCD amovible, les coefficients de variation étaient de 29.2, 29.1 et 34.1 % avant correction et de 11.4, 12.0, 10.0 % après correction.

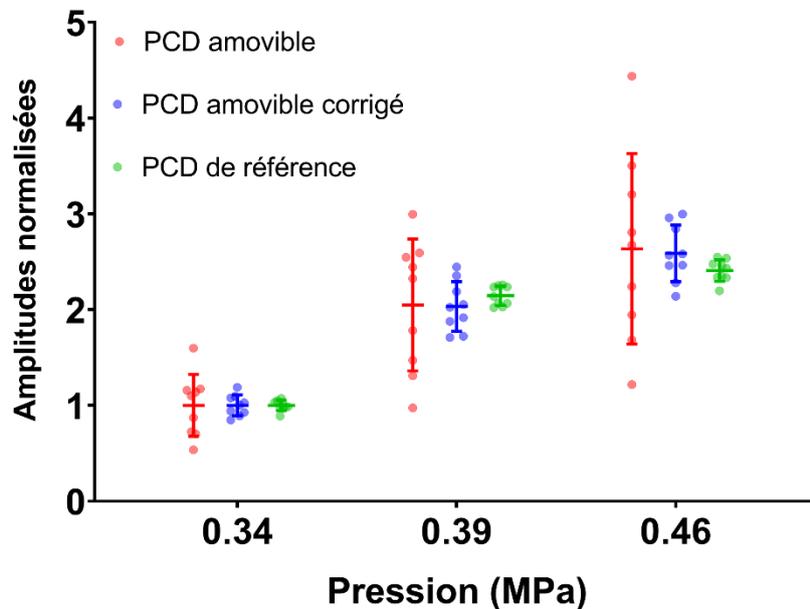


Figure 37 – Amplitudes du sous-harmonique en fonction de la pression. Chaque point représente une position du PCD amovible. Les barres représentent la moyenne et l'écart-type sur toutes les positions. Les séries rouges, bleues et vertes correspondent respectivement aux amplitudes du sous-harmonique du PCD amovible, du PCD amovible corrigé et du PCD de référence. Chaque série a été normalisée par sa moyenne à 0.36 MPa.

## III.2.2. Quantification de l'incertitude liée à l'os

La seconde partie de cette étude s'intéresse à l'effet des distorsions et de l'atténuation causées par la transmission à travers le crâne pendant l'écoute de la cavitation. La transmission acoustique de l'os temporal humain a été déterminé théoriquement à l'issu d'une étude bibliographique et de simulations. Des échantillons de crâne de cochon ayant une transmission acoustique comparable ont ensuite été utilisés pour quantifier l'incertitude due à la traversée de l'os.

### III.2.2.1. Estimation de la transmission du crâne humain et de sa variabilité

La réduction du signal due à l'os temporal est caractérisée par la valeur de sa transmission en pression  $T$ , c'est-à-dire le rapport entre l'amplitude d'une onde de pression en un point à la sortie de l'os sur l'amplitude de cette même onde au même point sans l'os.

Une étude statistique numérique a été menée pour connaître la transmission des os de la tempe. Le modèle de propagation des ondes utilisé est celui publié par Folds et Loggins<sup>41</sup>. Afin de simplifier l'étude, l'os temporal a été traité comme une simple couche ayant des propriétés homogènes sur toute son épaisseur et l'onde de cisaillement a été négligée. La transmission a été étudiée pour une onde de 0.5 MHz (fréquence du sous-harmonique) et d'incidence normale. Elle est donc fonction de l'épaisseur

et de la masse volumique du crâne, et de de la vitesse et de l'atténuation des ondes longitudinales le traversant.

Une étude bibliographique a été réalisée pour collecter les valeurs moyennes et les écarts-type de ces paramètres pour l'os temporal humain (voir Tableau 3). Il est considéré que chacun de ces paramètres suit une loi normale. La transmission de 10000 os temporaux générés aléatoirement est ensuite calculée.

Paramètre	Valeur moyenne [écart-type]	Source
<b>Epaisseur (mm)</b>	3.1 [0.9]	Wijnhound et al. <sup>147</sup>
<b>Masse volumique (kg.m<sup>-3</sup>)</b>	1789 [89.3]	Tringali et al. <sup>136</sup>
<b>Vitesse du son (m.s<sup>-1</sup>)</b>	2541 [728.2]	Ammi et al. <sup>1</sup>
<b>Atténuation du son (Np.m<sup>-1</sup>)</b>	117.1 [16] *	Pichardo et al. <sup>106</sup>

Tableau 3 – Valeurs des différents paramètres influant sur la valeur de transmission de l'os temporal. \*La mesure de l'atténuation à 0.5 MHz a été interpolée linéairement à partir des mesures réalisées dans l'os cortical.

### III.2.2.2. Sélection et caractérisation des échantillons de crâne de cochon

Afin de quantifier l'incertitude de mesure des amplitudes du sous-harmonique dues à la présence du crâne pendant les essais cliniques avec le PCD, trois échantillons de crâne de cochons domestiques âgés de 11 à 16 semaines ont été utilisés comme substituts. Ils ont été sélectionnés car les valeurs de leur transmission acoustique représentaient correctement la variabilité pouvant être attendue de celle de l'os temporal humain (évaluée statistiquement dans la partie précédente). La couche corticale interne des crânes a été poncée au papier de verre pour contrôler ces valeurs de transmission. Les épaisseurs obtenues sont relativement homogènes et sont de 2 mm (skull2), 4 mm (skull4) et 6 mm (skull6).

Afin de valider l'usage de ces échantillons, des mesures de puissance à la balance acoustique (RFB-2000, Onda) ont été réalisées dans de l'eau dégazée. Un transducteur céramique focalisé (diamètre 50 mm, distance focale 48.2 mm, Ferroperm) et fonctionnant à une fréquence de 500 kHz a été utilisé. Les échantillons de crâne étaient posés sur une surface absorbante collée à un cylindre de plastique entourant la balance (Figure 38). A travers l'absorbant et le plastique, une fenêtre acoustique d'environ 1\*1 cm<sup>2</sup> a été pratiquée.

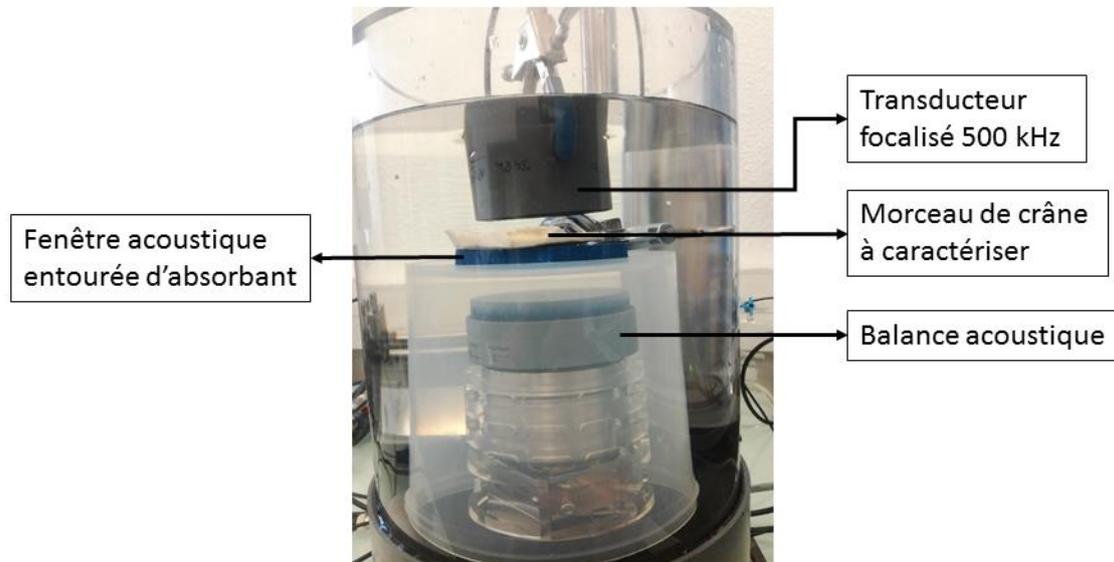


Figure 38 – Mesure de puissance à la balance acoustique

Les mesures ont été réalisées successivement avec et sans les échantillons de crâne. L'intensité et la pression acoustique étant liées par la relation  $I = \frac{p^2}{\rho \cdot c}$ , la transmission de chacun des crânes a été calculée ainsi :

$$T = \sqrt{\frac{P_{skull}}{P_0}} \quad (15)$$

Où  $P_{skull}$  et  $P_0$  correspondent respectivement aux mesures de puissance avec et sans crâne. Les mesures ont été réalisées quatre fois avec chaque os, afin d'évaluer la variabilité due à leurs inhomogénéités d'épaisseur et de constitution.

### III.2.2.3. Description du dispositif expérimental

De nouvelles expériences sont menées *in vitro* afin de quantifier la variabilité due aux inhomogénéités de l'os. Elles sont réalisées à partir du même dispositif expérimental que précédemment. Le PCD de référence a été retiré afin de minimiser au maximum les réflexions des ondes sur les pièces de support, et parce que l'expérience précédente s'est avérée reproductible et a permis de constater que les amplitudes du sous-harmonique acquises à une position fixe varient peu.

Les échantillons de crâne de cochon caractérisés précédemment ont été dégazés et sont maintenus par un élastique sur le support du PCD amovible de sorte à être en contact plan avec ce dernier (Figure 39). L'angle formé par l'axe d'écoute du PCD et la surface du crâne en configuration clinique, dû à la présence de la peau, a donc été négligé.



Figure 39 – Echantillon de crâne de cochon monté sur le support du PCD amovible.

Le PCD amovible utilisé (Precision Acoustics) est identique à celui des essais cliniques décrits en début de chapitre. Il a un diamètre de 6.25 mm et est par conséquent moins directif. Il possède également un préamplificateur (Precision Acoustics) branché directement derrière ses électrodes afin d'amplifier le signal acoustique avec un bruit électrique minimum. Par conséquent, il est bien plus sensible que les PCD utilisés lors de l'expérience précédente.

Le transducteur sélectionné est un SonoCloud d'une génération plus récente, en matériau piézo-composite (bruit haute fréquence moins important). Il a également un diamètre de 10 mm et sa fréquence de résonance est de 1 MHz.

#### III.2.2.4. Expériences réalisées et post-traitement associé

Les expériences sont réalisées à une pression de 0.5 MPa au foyer de cavitation.

Dans un premier temps, le PCD est maintenu en position fixe ( $r = 10$  cm et  $\theta = 0^\circ$ ). Une même solution de microbulles est utilisée pour une série de mesures sur trois différents échantillons de crâne. Pour chacun des échantillons, 60 signaux sont enregistrés. L'expérience est renouvelée dix fois. Les moyennes des amplitudes du sous-harmonique des signaux valides des dix séries de mesure sont calculées pour chaque échantillon de crâne, avec le coefficient de variation  $C_v$ , lié à ces valeurs.

Dans un second temps, la validité de la correction basée sur la position et l'orientation du PCD par rapport au foyer de cavitation (introduite au cours de l'expérience précédente) est évaluée en

présence des échantillons de crâne. Une même solution de microbulles est utilisée pour un crâne et 12 positions ( $r = 10, 12.5$  et  $15$  cm et  $\theta = 0, 5, 10$  et  $15$  °). Pour chaque position, 60 signaux sont enregistrés. L'expérience est renouvelée quatre fois pour chaque échantillon et ces derniers sont interchangeés entre chaque nouvel essai pour que le contact avec le PCD soit différent à chaque série de mesures. Les amplitudes du sous-harmonique des signaux valides pour une même position et un même échantillon de crâne sont ensuite moyennées. Les coefficients de variation  $C_v$  et  $C_{v,cor}$  sur l'ensemble des positions sont ensuite calculés pour chaque échantillon de crâne.

### III.2.2.5. Résultats obtenus

Les valeurs moyennes et les écart-types des différents paramètres acoustiques relevés lors de l'étude bibliographique ont permis de calculer par simulation la transmission théorique de 10000 os temporaux, aux propriétés générées pseudo-aléatoirement grâce à une loi normale. Cela permet de tracer la fonction de répartition théorique des valeurs de transmission de l'os temporal humain, à 500 kHz et avec une incidence normale. Cette fonction est illustrée en Figure 40. La moyenne et l'écart-type théorique de la transmission ont été évalués à  $0.67 \pm 0.10$ , ce qui correspond à un coefficient de variation de 14.9 %.

Les valeurs de transmission des différents échantillons de crâne de cochon mesurées à la balance acoustique sont de  $0.82 \pm 0.08$ ,  $0.68 \pm 0.07$  et  $0.56 \pm 0.03$  pour skull2, skull4 et skull6 respectivement. Ces valeurs sont semblables aux valeurs de l'os temporal humain calculées numériquement et sont une bonne représentation de la variabilité de ce paramètre, comme le montre la Figure 40.

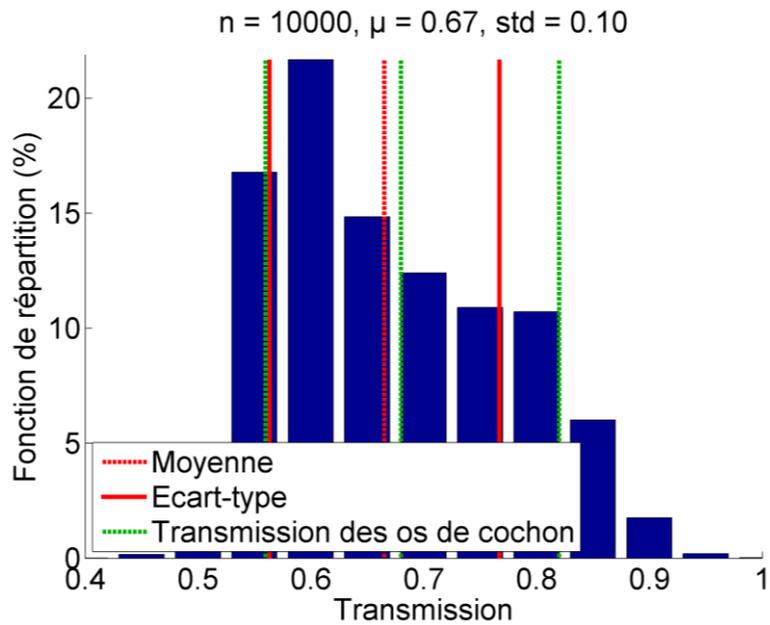


Figure 40 – Fonction de répartition des valeurs de transmission de l'os temporal. La moyenne et l'écart-type sont symbolisés par les barres rouges. Les barres vertes correspondent aux valeurs de transmission des échantillons de crâne de cochon mesurées à la balance acoustique.

Les coefficients de variation pour une même pression et une même position du PCD ont été mesurés à 11.7, 9.6 et 14.6 % pour skull2, skull4 et skull6 respectivement (Figure 41). Le coefficient de variation global (toutes mesures confondues) est de 16.0 %.

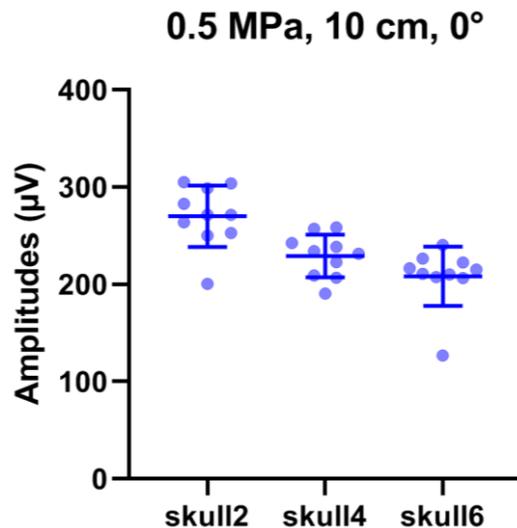


Figure 41 – Amplitude du sous-harmonique en fonction de l'échantillon utilisé. Chaque point représente la moyenne de l'amplitude du sous-harmonique des signaux valides pour une série de mesures.

La correction en fonction de la position et de l'orientation du transducteur a été évaluée en présence des échantillons de crâne. Les résultats obtenus sont illustrés en Figure 42. Les coefficients de variation ont été évalués à 37.2, 27.3 et 25.2 % avant correction et à 30.6, 16.1 et 24.3 % après correction pour

skull2, skull4 et skull6 respectivement. Le coefficient de variation tous échantillons de crâne et toutes positions confondues, vaut quant à lui 30.8 % avant correction et 25.0 % après correction.

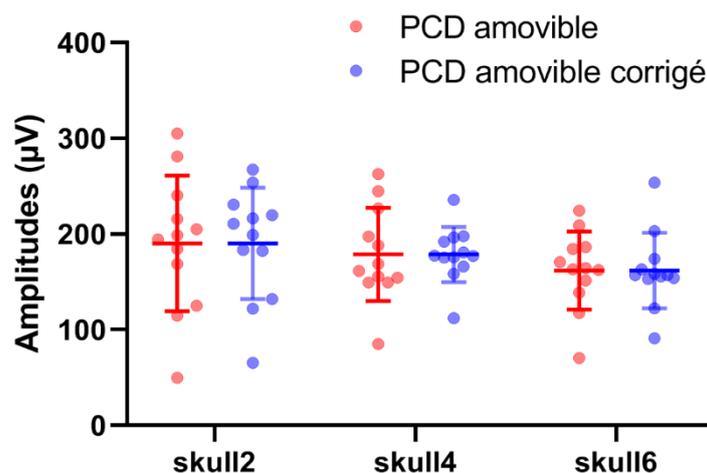


Figure 42 – Amplitudes du sous-harmonique en fonction de l'échantillon utilisé, avec et sans correction. Les mesures ont été réalisées à 0.5 MPa. Chaque point représente une position du PCD amovible. La moyenne des séries corrigées a été alignée sur celle des séries brutes pour rendre la comparaison plus simple.

### III.3. Discussion des résultats et conclusion

Les observations indirectes de l'ouverture ne permettent pas à elles seules d'expliquer le phénomène d'OBHE. Il a en effet été remarqué lors du chapitre précédent que même s'il existait une corrélation entre la pression acoustique locale et le rehaussement du signal IRM due à une prise de contraste au gadolinium, la probabilité d'OBHE restait faible. L'objectif principal des différentes équipes travaillant sur le sujet aujourd'hui est de trouver le moyen d'obtenir des OBHE sécurisées plus volumineuses et plus répétables. L'augmentation de la pression nominale de traitement n'est pas une option envisageable, car elle peut entraîner des effets secondaires indésirables.

Le rôle des microbulles dans la méthode d'OBHE étudiée dans ce manuscrit est crucial. De nombreuses corrélations ont déjà été faites entre l'activité de cavitation et l'efficacité de l'ouverture, chez l'animal et avec un dispositif ultrasonore focalisé. Ce chapitre s'intéresse à l'étude d'une corrélation entre OBHE et cavitation dans le cadre d'un traitement SonoCloud.

#### III.3.1. Observations cliniques et problématiques soulevées

L'écoute de la cavitation pendant le traitement SonoCloud a été réalisée à l'aide d'un PCD simplement posé sur la tempe des patients. Le PCD est orienté vers la focale acoustique naturelle d'un des transducteurs de l'implant. De la cavitation a été détectée pour l'ensemble des émetteurs de tous les

traitements. Néanmoins l'OBHE en face de chacun de ces émetteurs n'est pas systématique et les amplitudes de cavitation récoltées de cette manière ne sont pas mieux corrélés au volume d'OBHE que les valeurs de la puissance électrique envoyée par le générateur. Il est de toute façon difficile de se fier complètement à ces mesures pour plusieurs raisons :

- La position et l'orientation du PCD par rapport aux foyers de cavitation ont un impact sur la mesure.
- Les hétérogénéités d'épaisseur et de constitution des crânes de chaque patient ont également un impact sur la mesure.
- Les foyers de cavitation sont probablement multiples et sont donc susceptibles d'augmenter ou de diminuer les amplitudes perçues par un jeu d'interférences constructives ou destructives.

L'objectif principal de ce chapitre était de quantifier les incertitudes dues d'une part à la position du PCD par rapport à un foyer de cavitation supposé unique, et d'autre part au crâne du patient. L'objectif secondaire était de proposer des méthodes de mesures ou de traitement à mettre en place afin de rendre les signaux enregistrés par le PCD comparables quantitativement.

### III.3.2. Quantification des incertitudes de mesure

Au cours de ces études, les amplitudes du sous-harmonique ont été étudiées *in vitro* dans une configuration simple (foyer de cavitation unique et position et orientation du PCD connu par rapport à ce foyer). Les amplitudes du sous-harmonique sont relevées et moyennées pour plusieurs positions du PCD, afin de représenter aux mieux la variabilité des résultats issue des différentes configurations d'écoute en clinique.

#### III.3.2.1. Proposition d'une correction et validation de la méthode

Une correction des signaux en fonction du positionnement du capteur est proposée. Elle doit ainsi permettre la comparaison des amplitudes reçues. Il a été observé qu'en l'absence d'os, les coefficients de variation  $C_v$  sur l'ensemble des positions testées étaient en moyenne de 30.8 %. Les valeurs de ces coefficients sont abaissées à 11.1 % après application de la correction. Ces résultats montrent qu'une correction basée sur une connaissance a priori de la position et de l'orientation relative du PCD par rapport à la zone d'activité des microbulles permet de réduire l'incertitude de mesure de manière importante.

Ils sont néanmoins à considérer avec précaution, car la correction appliquée provient d'une formulation théorique qui suppose une propagation des ondes en champ libre dans un milieu homogène. En configuration clinique la propagation se fait à travers un crâne pouvant être associé à une cavité réverbérante, et dans des tissus inhomogènes et atténuants.

La cavitation étant un phénomène stochastique, il existe une variabilité intrinsèque de l'amplitude du sous-harmonique mesurée. Les coefficients de variation d'un PCD fixe ont été mesurés et valent environ 5 %. Cette valeur représente l'incertitude minimale, qu'aucune correction des signaux, aussi minutieuse et précise soit elle, ne pourra dépasser.

### III.3.2.2. Incertitude théorique liée à l'os temporal humain

Une étude statistique a été réalisée à partir de diverses données bibliographiques, afin de tracer une courbe de répartition théorique des valeurs de transmission de l'os temporal humain. La valeur moyenne a été estimée à 0.67 (14.9 % de variation). La plupart des valeurs (probabilité d'occurrence supérieure à 10 %) se situe entre 0.55 et 0.80. Il peut donc être considéré que le signal mesuré par le PCD est atténué entre 20 et 45 % par le crâne, ce qui correspond à une source d'incertitude non négligeable pour la comparaison quantitative des amplitudes des signaux reçus. Ces valeurs sont à considérer avec précaution, car le modèle utilisé considère le crâne comme une couche plane, d'épaisseur et de composition homogène. Une variation supplémentaire peut donc être induite par les ruptures d'impédance et les aspérités de l'os.

La courbe a été tracée pour une incidence normale. La loi de Snell-Descartes stipule que la transmission varie avec le sinus de l'angle d'incidence de l'onde. Cependant, dans le cas d'un angle représentatif des configurations d'écoute clinique (variant de 0 à 15°), la transmission ne varie que très peu (Figure 43). Sa moyenne se situe entre 0.64 et 0.67.

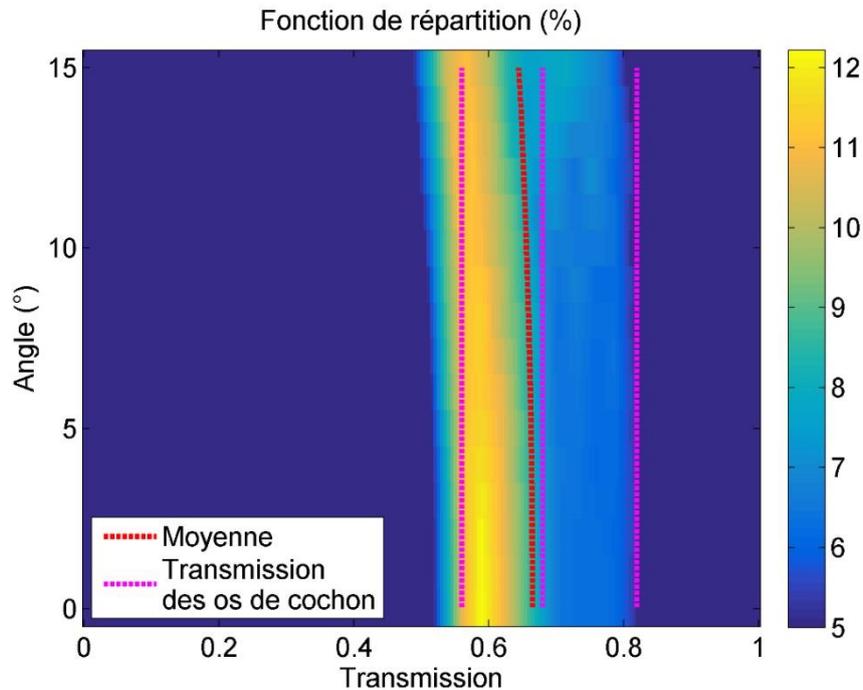


Figure 43 – Variation de la fonction de répartition des valeurs de transmission de l'os temporal humain en fonction de l'angle d'incidence de l'onde. Les couleurs représentent la probabilité d'occurrence des valeurs de la transmission. L'axe des abscisses représentent les valeurs de la transmission. L'axe des ordonnées représente la valeur de l'angle d'incidence de l'onde. La ligne en pointillés rouges représente la moyenne de la transmission en fonction de l'angle et celles en magentas, les valeurs de transmission des échantillons de crâne de cochon sélectionnés lors de l'étude.

### III.3.2.3. Quantification expérimentale de l'incertitude

Trois échantillons de crâne de cochon ont été sélectionnés en fonction de leur transmission, afin d'encadrer et de représenter au mieux possible la variabilité de la transmission de l'os temporal du crâne humain. Les coefficients de variations  $C_v$  des amplitudes du sous-harmonique ont ensuite été calculés pour plusieurs os à position et à pression constante. Ils ont été évalués entre 10 et 15 %. Le coefficient de variation à la position de référence mesurée lors de l'expérience précédente était de 5 %. Ces résultats prouvent qu'un léger déplacement du PCD sur le crâne peut faire varier l'amplitude du signal reçu de manière significative. Les inhomogénéités d'épaisseur et de composition, même locales, ont un impact important sur la mesure. Le coefficient de variation global de ces mesures a été évalué à 16 %, ce qui est comparable à la variation théorique de 14.9 % évaluée lors de l'étude statistique et montre que les échantillons de crâne utilisés illustrent assez fidèlement les variations pouvant être attendues en clinique.

La correction des signaux validée lors de l'expérience précédente a ensuite été essayée en présence des échantillons de crâne. La méthode a permis d'abaisser le coefficient de variation moyen de 30 % à environ 24 % (contre 11.1 % dans le cas sans crâne). Cela signifie que la correction des aberrations de

transmission du crâne mérite un modèle plus complexe que celui du simple piston plan utilisé en champ libre.

***La variation globale de l'amplitude du sous-harmonique émis par un unique foyer de cavitation, en prenant en compte les variabilités de positionnement du PCD en condition clinique, ainsi que les biais de mesure induits par l'os de la tempe, a été évaluée à 30.8 %.***

### III.3.3. Autres observations et problèmes rencontrés

#### III.3.3.1. Importance de la concentration des bulles

Il est connu que la concentration des bulles circulant dans le champ de pression acoustique est corrélée aux amplitudes du sous-harmonique enregistrées<sup>3</sup>. Pendant certaines itérations de l'expérience, il a été remarqué une baisse de l'activité de cavitation après une utilisation d'une même solution pendant un temps important (données non présentées ici). Ce phénomène a été attribué à la baisse en concentration des bulles. De la même manière, d'un jour à l'autre, l'utilisation d'une même pression était susceptible de générer des amplitudes différentes. Les fioles d'agent de contraste étant coûteuses, elles étaient réutilisées plusieurs fois après reconstitution des bulles et stockées au réfrigérateur entre chaque utilisation. Il est donc possible que la concentration des bulles ait changée de manière significative entre chaque utilisation. Par conséquent, il était difficile de comparer quantitativement l'effet des différentes pressions utilisées d'un jour à l'autre.

Les expériences présentées dans ce chapitre ont chacune été réalisées avec une même fiole de microbulles, préparée le matin de l'expérience. La solution de bulles diluées était changée à chaque nouvelle série de mesures. Une amélioration possible du dispositif mis en place pour ces expériences aurait été de déterminer la concentration en bulles avant chaque expérience, mais cela sort du cadre de l'étude (Figure 44).

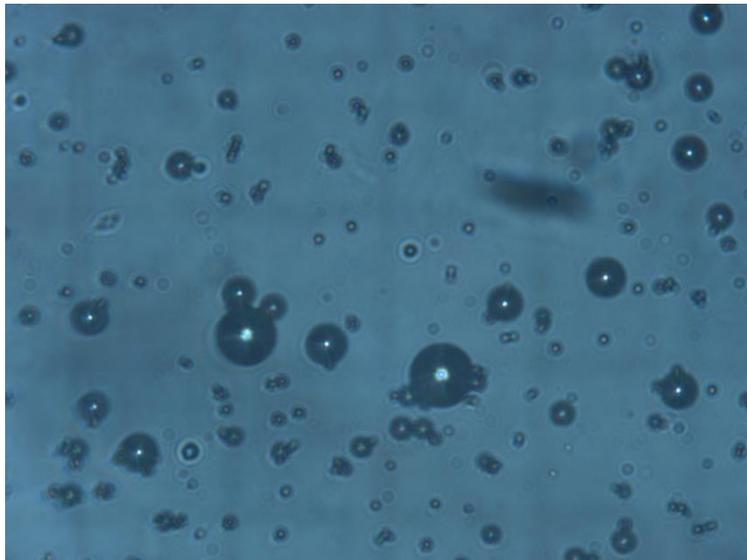


Figure 44 – Observation des microbulles au microscope. L'utilisation d'algorithmes spécialisés sur ce genre d'image permet de déterminer la concentration des agents de contraste dans les solutions utilisées.

En clinique, les bulles sont reconstituées au moment du traitement et il peut être considéré qu'au moment de leur utilisation, leur concentration est toujours la même. Cependant, de forts différentiels de pression lors de leur aspiration dans la fiole et de leur injection dans la circulation sanguine peut amener certaines bulles à éclater. Les différences physiologiques des patients sont également susceptibles de changer la concentration des bulles dans les tissus. En effet, ces dernières sont partiellement filtrées par les poumons avant d'arriver au cerveau. La concentration des bulles dans les tissus et par conséquent l'activité de cavitation perçue, dépend donc également de phénomènes dont l'impact est difficile à mesurer.

### III.3.3.2. Problèmes de réflexions dans la cuve

Pendant les différents ajustements réalisés pour implémenter les mesures à travers l'os, il a été remarqué un problème de réflexions dans la cuve. Il existe de nombreuses configurations géométriques pour lesquelles, les ondes réfléchies s'installent dans la cuve pendant les tirs, créant ainsi des ventres et des nœuds de pressions pouvant altérer les mesures et la qualité de la correction (Figure 45). L'utilisation du PCD normalement utilisé en clinique, à la directivité moins importante (rayon plus petit) et à la sensibilité plus importante (préamplificateur intégré) favorise probablement la réception de ce genre d'échos. L'efficacité de la correction s'en trouvait donc affaiblie, surtout en ce qui concerne la compensation de la distance à la source (multiplication par  $r_i$ ).

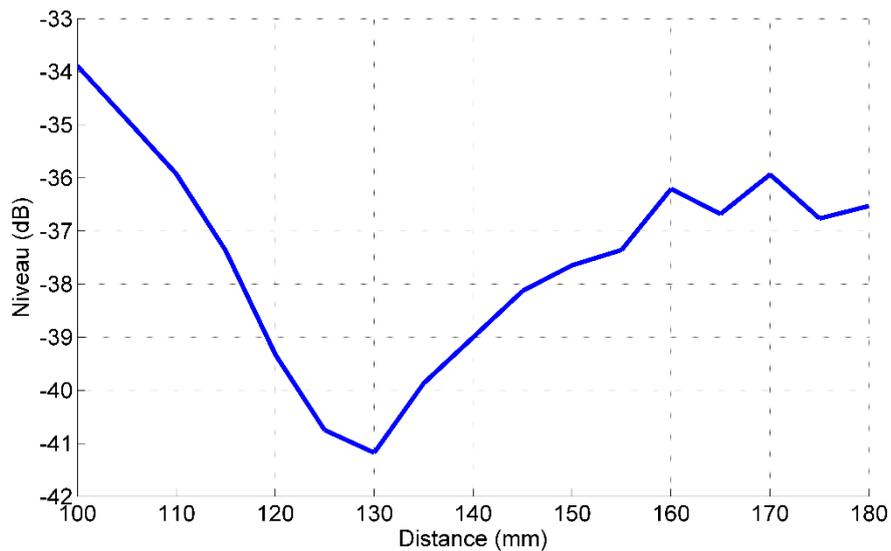


Figure 45 – Evolution du niveau de la fréquence fondamentale de l'onde de thérapie en fonction de la distance au foyer de cavitation pour un angle de 0°. Le fait que cette fonction ne soit pas strictement décroissante indique la présence d'ondes réfléchies dans la cuve.

Par ailleurs, la présence du crâne devant le PCD semblait limiter l'importance de ce phénomène, ce qui suggère que ces réflexions étaient plus facilement atténuées que l'onde directe (Figure 46).

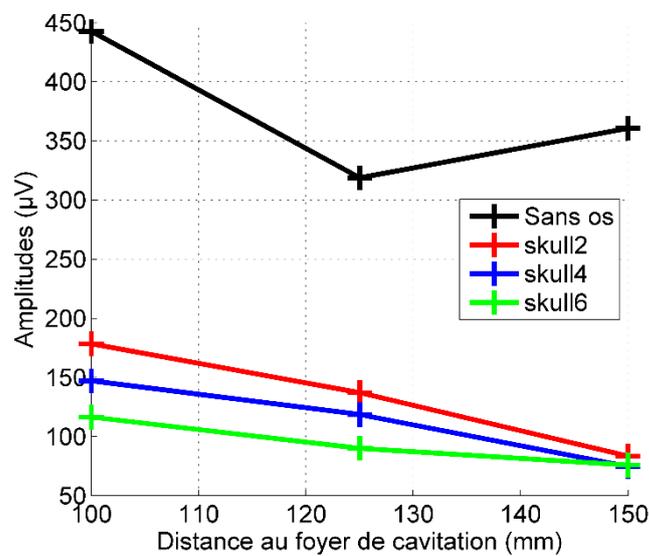


Figure 46 – Evolution de l'amplitude du sous-harmonique en fonction de la distance au foyer de cavitation pour un angle de 0°, à 0.6 MPa et pour les différentes configurations d'os.

Afin d'éviter ces réflexions, plusieurs précautions ont été prises. Elles sont illustrées sur la Figure 47. L'expérience a été conduite dans une cuve aux dimensions plus importantes et dont le sol et les parois étaient tapissées d'absorbant (Aptflex F48, Precision Acoustics). De l'absorbant a également été disposé sur la platine maintenant toutes les pièces de support entre elles. Cette dernière a été

surélevée grâce à des plots en plastique et orientée de biais dans la cuve afin de rompre une éventuelle symétrie dans la propagation des ondes. Les ondes réfléchies à la surface sont dispersées à l'aide de balles de ping-pong (FB830, Decathlon). Malgré les efforts fournis, il s'est avéré impossible de se débarrasser complètement des ondes réfléchies.

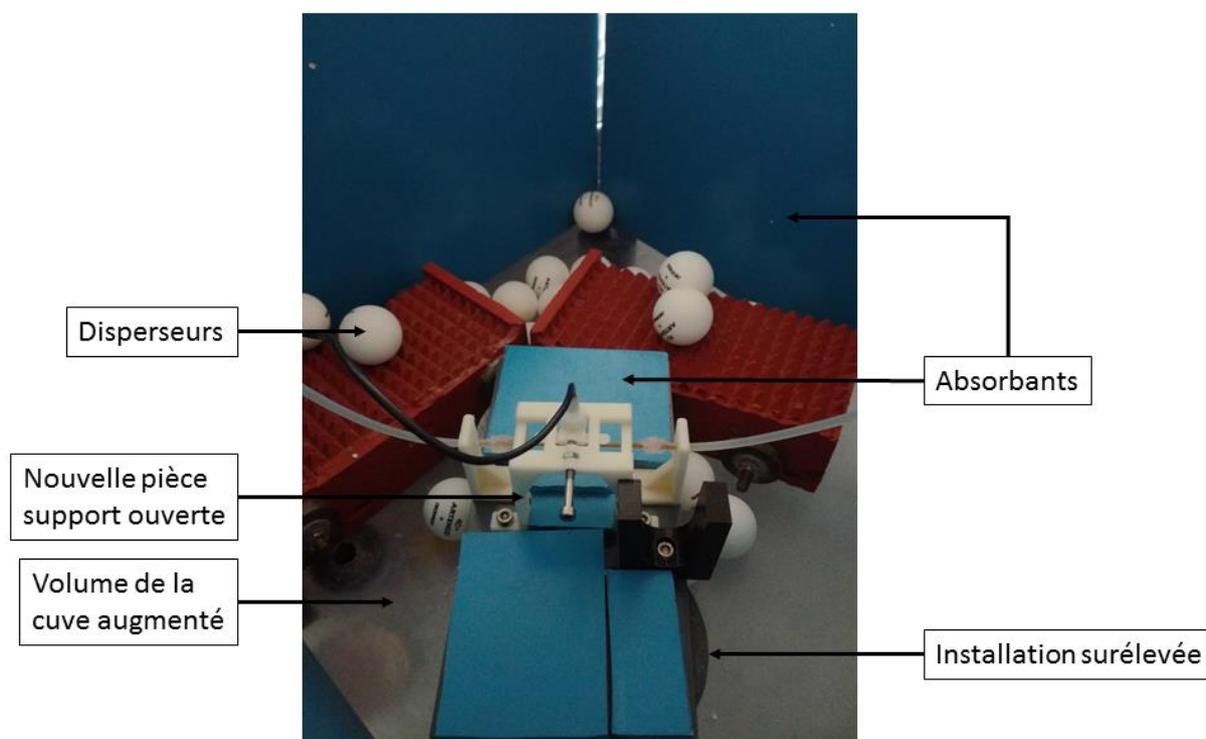


Figure 47 – Modifications appliquées à l'installation afin de réduire au maximum les réflexions dans la cuve.

Les résultats présentés dans ce chapitre restent néanmoins pertinents. En effet, il est important de noter que le crâne peut être considéré comme une cavité réverbérante, et par conséquent qu'il est très possible que ce phénomène soit observable dans un contexte clinique. La géométrie du crâne constitue également un biais de mesure quantifiable et pourra faire l'objet d'études futures.

Afin de limiter l'effet des réverbérations sur les signaux enregistrés, il est préconisé d'utiliser des trains d'onde de thérapie courts. Ce faisant, les ondes réfléchies ne sont acheminées jusqu'au PCD qu'après sa phase d'écoute, et ne sont donc prises en compte lors des post-traitements des signaux.

### III.3.4. Conclusion et perspectives

#### III.3.4.1. Validité des incertitudes mesurées et limites de la correction

La quantification de l'incertitude liée au crâne et au positionnement du capteur a été évaluée dans un contexte simple (foyer de cavitation unique et de position connue). Une correction prenant en compte l'angle et la distance du PCD au foyer de cavitation a été validée et s'est avérée efficace pour réduire

l'incertitude sur les amplitudes mesurées dans l'eau. Néanmoins, le coefficient de variation moyen après application de cette correction en présence du lobe temporal, a été évalué à 25 %. Cette valeur indique que même dans ce contexte simple, les aberrations de propagation dues au crâne sont trop imprévisibles pour pouvoir comparer les signaux quantitativement.

De plus, la configuration choisie pour ces expériences est très différente du cas clinique. Pendant un traitement SonoCloud, les foyers de cavitation sont multiples et la position du capteur par rapport à ces foyers n'est pas connue. Des facteurs biologiques et physiologiques, tels que l'épaisseur et la constitution du crâne, l'atténuation visqueuse des tissus du cerveau, ainsi que le taux de filtration des agents de contraste par l'organisme, interviennent également dans l'interprétation des résultats.

### III.3.4.2. Propositions d'amélioration

Un capteur mono-élément simplement posé sur la tempe des patients, sans aucune information a priori, permet de rendre compte d'une activité de cavitation mais est insuffisant pour l'étude d'une corrélation entre l'intensité du phénomène et l'efficacité de l'OBHE produite. Le crâne augmente grandement l'incertitude des amplitudes de cavitation perçues, il est donc impossible de ne pas le prendre en compte. Pour ce faire l'utilisation d'images tomodensitométriques est recommandée. Elles permettent de remonter aux propriétés physiques du crâne<sup>5,25</sup> et par conséquent de simuler le comportement des ondes ultrasonores le traversant (Figure 48). Les équipes ouvrant la BHE avec des dispositifs focalisés se servent d'ailleurs de ces images afin de planifier correctement leur focalisation<sup>62</sup>. Il faut également s'assurer que le PCD n'est pas déplacé au cours du traitement, car une infime variation de la position peut occasionner d'importantes variations dans les niveaux perçus. Pour ce faire, un cadre stéréotaxique ou un guidage optique en temps réel peuvent être considérés.

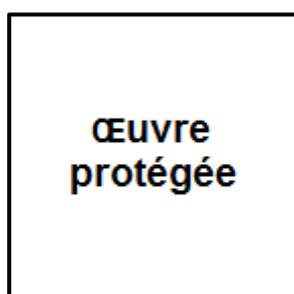


Figure 48 – Exemple de simulation de propagation d'une onde de 500 kHz à travers le crâne réalisée à partir d'une image tomodensitométrique. (D'après Bouchoux et al.<sup>11</sup>)

Dans le cas d'un dispositif implantable comme le SonoCloud, un moyen efficace de se débarrasser des biais de quantification étudiés lors de ce chapitre serait d'inclure directement un PCD dans l'implant. Ce faisant, la position du PCD par rapport aux champs acoustiques des transducteurs serait toujours la

même entre chaque traitement et la traversée du crâne par les ondes ne serait plus une source d'incertitude.

La réverbération des ondes dans le crâne constitue également un problème dans l'interprétation des données. Le train d'onde actuel est constitué de 25000 cycles à 1 MHz et dure par conséquent 25 ms. La vitesse du son dans les tissus biologiques étant d'environ  $1500 \text{ m.s}^{-1}$ , l'onde a le temps de parcourir 37.5 m dans le crâne avant que son émission ne se termine. Cela signifie que les ondes réverbérées interfèrent avec les ondes directes et biaisent les mesures. Pour éviter les réflexions, une méthode simple est l'utilisation de trains d'onde plus courts, mais plus fréquents, afin de ne pas perdre en efficacité de traitement. Cela permettrait également une imagerie passive de la cavitation plus précise et possiblement, la différenciation des différents foyers de cavitation<sup>142</sup>. Les équipes utilisant un dispositif d'OBHE focalisé s'orientent de plus en plus vers ces méthodes afin de pouvoir surveiller en temps réel la qualité de leur focalisation<sup>14</sup>. Un compromis doit néanmoins être fait entre la durée et la résolution fréquentielle du signal acquis.

La plupart des améliorations proposées ici sont coûteuses et difficiles à mettre en œuvre. Elles nécessitent l'utilisation d'un matériel spécialisé et encombrant, compliquant et allongeant considérablement le traitement clinique, ou d'un temps et d'un coût de développement considérable. La simplicité du traitement étant un argument majeur dans la stratégie commerciale de CarThera, le bénéfice et l'utilité des informations apportées par la quantification de la cavitation reste encore à prouver.

### III.3.4.3. Multiplicité des sources de cavitation

Le traitement SonoCloud est le premier traitement à avoir été réalisé en clinique. Il a également la particularité d'être le seul traitement non focalisé et intracrânien proposé à ce jour, ce qui lui donne un avantage en termes de fiabilité, d'efficacité et de rapidité de traitement. Le champ acoustique diffus présente néanmoins un désavantage lorsqu'il s'agit d'étudier la cavitation. Les bulles étant présentes partout dans la vascularisation cérébrale, la cavitation est susceptible d'être déclenchée partout où la pression acoustique est suffisante.

Lors de cette étude, la cavitation a été observée à des pressions relativement basses par rapport à la pression nominale du traitement clinique (0.22 MPa contre 1 MPa, données non montrées). Par conséquent, les foyers de cavitation pendant le traitement sont forcément multiples, relativement éloignés les uns des autres, et sont susceptibles d'interférer entre eux de manière constructive ou destructive<sup>26</sup>. Il est donc plausible qu'une simple correction des signaux du PCD, fonction d'une distance, d'un angle, ou d'une constitution du crâne, ne soit pas suffisante à l'interprétation des résultats.

*Le chapitre suivant s'intéresse à la dissociation et à la quantification de sources de cavitation multiples dans le champ du SonoCloud, ainsi qu'aux interférences de ces différentes sources entre elles.*

# Chapitre IV : Localisation et imagerie passive des sources de cavitation dans le champ acoustique

Dans un contexte d'écoute passive de la cavitation, les dispositifs focalisés d'OBHE ont l'avantage de déposer de l'énergie acoustique sur une zone restreinte. Cela signifie que le foyer de cavitation est centré sur l'endroit du cerveau où se situe la tâche focale du dispositif utilisé et par conséquent que les amplitudes sous-harmoniques perçues par un PCD sont directement liées à l'activité des bulles à cet endroit.

Dans le cas d'un traitement SonoCloud, le champ acoustique est diffus et les zones dans lesquelles la pression acoustique est propice au déclenchement de la cavitation ont un volume considérablement plus important. Pour donner un ordre d'idée, à une fréquence de 1 MHz et à une pression de traitement nominale de 1 MPa, et en prenant en compte l'atténuation visqueuse des tissus du cerveau, la zone dans laquelle l'indice mécanique (MI) est supérieur à 0.25 a un volume de 9.2 mL (contours noirs sur la Figure 49). Hors, en présence d'agents de contraste, de la cavitation a déjà été détectée avec de tels MI<sup>139</sup>.

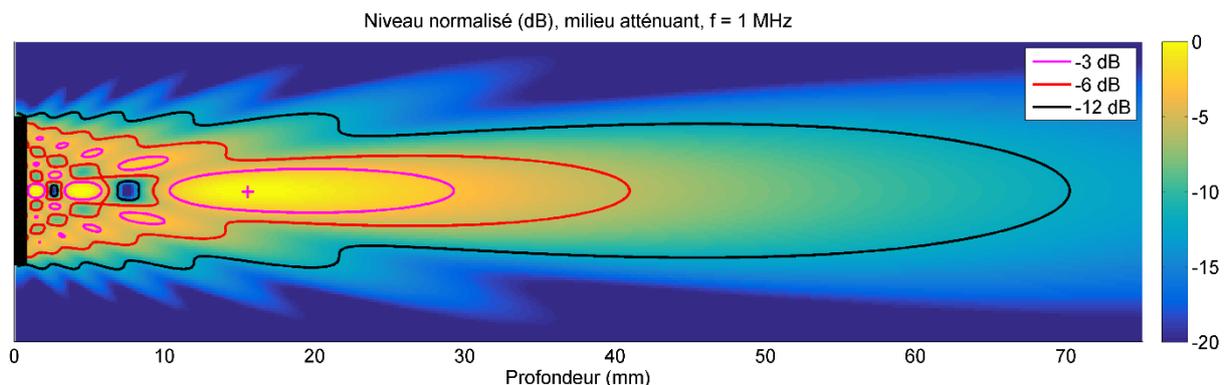


Figure 49 – Champ acoustique théorique du SonoCloud, en prenant en compte l'atténuation du cerveau. Les contours magentas, rouges et noirs délimitent respectivement les zones dans lesquelles le niveau de pression est au maximum 3, 6 et 12 dB en dessous du niveau de pression nominale.

L'écoute avec un unique PCD étudiée au cours du chapitre précédent comporte un problème majeur : la pression acoustique enregistrée due à plusieurs bulles cavitant simultanément correspond à la somme des pressions générées par les différents foyers de cavitation. Les interférences de ces champs acoustiques entre eux peuvent être constructives ou destructives et sont donc susceptibles de fausser la quantification de l'activité de cavitation intracrânienne. Pour être en mesure d'affiner la compréhension du phénomène d'OBHE par ultrasons et son lien avec l'amplitude des ondes

caractéristiques de l'activité des bulles, il faut pouvoir dissocier les différentes sources de cavitation dans le champ ultrasonore. Une cartographie de l'activité de cavitation permettrait également une comparaison directe avec les images T1w avec prise de contraste au gadolinium étudiées dans le Chapitre II, ou avec d'autres modalités d'image.

Ce chapitre s'intéresse à la multiplicité des sources dans un contexte d'écoute de la cavitation. Il regroupe et évalue plusieurs simulations et expériences cherchant à dissocier et à quantifier ces différentes sources les unes par rapport aux autres.

## IV.1. Localisation de sources de cavitation multiples à l'aide d'une sonde échographique

Cette première étude évalue la capacité d'une sonde échographique à réaliser une imagerie passive de la cavitation (PCI) et à dissocier les différentes sources dans le contexte d'un traitement SonoCloud. Il est supposé que la sonde est posée contre le crâne du patient, au niveau de la tempe.

### IV.1.1. Explication de la méthode de localisation utilisée

#### IV.1.1.1. Définition du problème inverse

Le problème de localisation de source est un problème bien connu en physique des ondes<sup>50,75</sup>. Il s'agit d'essayer de localiser et de quantifier la pression d'un ensemble de sources à partir de mesures physiques effectuées par les capteurs, d'un modèle de propagation supposé connu et de connaissances a priori sur le type de sources à reconstruire. Le problème à résoudre est donc un problème inverse : on remonte aux causes d'un phénomène à partir de ses conséquences. Pour ce faire, un réseau de  $M$  capteurs, est utilisé passivement. Dans le cas de cette étude, il s'agit d'une sonde échographique. Le domaine de restitution est subdivisé en  $N$  points représentant tous des sources acoustiques potentielles, et au niveau desquels l'amplitude du phénomène physique à observer est quantifiée sur une plage de fréquences donnée. Dans un contexte d'écoute passive de la cavitation, ces sources correspondent donc à des bulles ou à des nuages de bulles.

Les capteurs de l'antenne sont généralement beaucoup moins nombreux que le nombre de sources dont il faut trouver la pression ( $M \ll N$ ). Le problème est donc largement sous-déterminé, ce qui signifie que sa solution n'est pas unique et varie selon les méthodes de résolution utilisées.

Les 2 critères témoignant d'un bon résultat sont :

- La localisation précise des sources sur la bande de fréquences étudiée (pression correctement répartie sur les différents points de calcul surtout en cas de sources multiples).
- La quantification correcte des pressions de ces sources. Au-delà du niveau relatif des sources entre elles, certains problèmes demandent à ce que soit déterminée le plus correctement possible la pression des différentes sources.

#### IV.1.1.2. Rôle des fonctions de transfert acoustique

Les fonctions de transfert acoustique sont indispensables à la localisation des sources de cavitation. C'est grâce à elles que la propagation d'une onde d'un point d'émission à un point de mesure est modélisée. Elles sont définies ainsi :

$$h_{ij}(f) = \frac{p_{ij}(f)}{q_j(f)} \quad (16)$$

Avec  $p_{ij}(f)$  la transformée de Fourier du signal de pression enregistrée par le capteur  $i$  due à la source  $j$  et  $q_j(f)$ , la transformée de Fourier de la pression émise par la source.

Les sources potentielles dans l'espace d'émission rayonnent toutes en même temps. Le problème de localisation peut donc être écrit sous la forme d'un système matriciel :

$$P = HQ + b \quad (17)$$

Avec :

- $P = \begin{pmatrix} p_1 \\ \vdots \\ p_M \end{pmatrix}$ , le vecteur pression des capteurs
- $H = \begin{bmatrix} h_{11} & \dots & h_{1N} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ h_{M1} & \dots & h_{MN} \end{bmatrix}$ , la matrice de transfert
- $Q = \begin{pmatrix} q_1 \\ \vdots \\ q_N \end{pmatrix}$ , le vecteur pression des sources (inconnue du problème)
- $b = \begin{pmatrix} b_1 \\ \vdots \\ b_N \end{pmatrix}$ , le vecteur des bruits de mesures et du modèle utilisé

Ce système est sous-déterminé et possède donc une infinité de solutions.

### IV.1.1.3. Hypothèse de propagation en champ libre

Lors de cette étude, les bulles sont considérées comme des monopoles, c'est-à-dire que leur rayonnement acoustique est omnidirectionnel. L'hypothèse est faite qu'elles évoluent dans un milieu homogène infini. La fonction de transfert correspondant à une propagation de pression en champ libre entre la source  $j$  et le capteur  $i$  est une fonction de Green :

$$h_{ij}(f) = g_{ij}(f) = -i\rho\omega \frac{e^{ikr_{ij}}}{4\pi r_{ij}} \quad (18)$$

Avec  $\omega = 2\pi f$  la pulsation,  $k = \frac{\omega}{c}$  le nombre d'onde,  $c$  la célérité du son dans le milieu de propagation,  $\rho$  la masse volumique du milieu de propagation et  $r_{ij}$  la distance parcourue par l'onde.

Cette hypothèse de champ libre possède de nombreux avantages. Les calculs ne dépendent pas du système étudié mais de la distance entre les points de mesures et les points de restitution. Cela suffit généralement à localiser correctement les sources acoustiques dans des environnements ouverts, le champ acoustique direct y étant prépondérant. Néanmoins, elle ne prend pas en compte les phénomènes perturbant la propagation des ondes, tels que les réflexions et la diffraction créées par les inhomogénéités du milieu (changement dans la nature des tissus, présence du crâne). Cela peut conduire à des erreurs de localisation et de quantification.

### IV.1.1.4. Algorithme de formation de voies

Afin de résoudre, le problème inverse, la méthode utilisée lors de cette étude est celle de la formation de voies (beamforming). Le calcul des pressions des sources se fait par rétropropagation et moyennage des signaux reçus par les capteurs de l'antenne, en fonction des distances  $r_{ij}$  :

$$q_j(f) = \frac{\sum_{i=1}^M \frac{p_i(f)}{g_{ij}(f)}}{\sqrt{\sum_{i=1}^M r_{ij}^2}} \quad (19)$$

Avec  $p_i(f)$  la pression relevée au capteur  $i$ .

La cartographie des pressions peut être exprimée sous forme matricielle :

$$Q = \check{G}P \odot w \quad (20)$$

Avec :

- $\check{G} = \begin{bmatrix} 1/g_{11} & \dots & 1/g_{M1} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 1/g_{1N} & \dots & 1/g_{MN} \end{bmatrix}$ , la matrice de rétropropagation.
- $w = \begin{bmatrix} 1/\sqrt{\sum_{i=1}^M r_{i1}^2} \\ \vdots \\ 1/\sqrt{\sum_{i=1}^M r_{iN}^2} \end{bmatrix}$ , le vecteur de pondération des sources.

## IV.1.2. Evaluation de la PCI par simulations

### IV.1.2.1. Configuration d'écoute

La précision de la méthode est d'abord évaluée numériquement. La tête du patient est apparentée à une sphère de 7 cm de rayon. Pour plus de simplicité, le milieu est considéré non atténuant. Un transducteur (apparenté à une source ponctuelle pour plus de simplicité) envoie vers le centre de la sphère un train d'onde de 1000 cycles à une fréquence de 1 MHz. Un plan contenant son axe de tir contient deux bulles qui se mettent à caviter dès que l'onde leur parvient.

Une sonde linéaire modélisée par 96 capteurs ponctuels, à la directivité uniforme et espacés de 295  $\mu\text{m}$ , est positionnée sur un des côtés de la sphère (à une position apparentée à la tempe du patient) et sert à imager le plan contenant les bulles. Son écoute est activée en même temps que le tir du transducteur et dure 1.5 ms.

### IV.1.2.2. Synthèse et propagation des signaux de cavitation

Un signal de cavitation synthétique, échantillonnés à 10 MHz, est individuellement émis par chacune des bulles à la réception de l'onde du transducteur. Il est défini par la somme de différentes ondes monochromatiques :

- Une onde à la fréquence fondamentale  $f_0 = 1 \text{ MHz}$  à 0 dB
- Des ondes harmoniques  $nf_0$  ( $n = 2,3,4,\dots$ ) décroissantes de 3 dB par octave à partir de la fréquence fondamentale
- Une onde sous-harmonique  $\frac{1}{2}f_0$  à -40 dB
- Des ondes ultra-harmoniques  $(n + \frac{1}{2})f_0$  ( $n = 1,2,3,\dots$ ), décroissantes de 3 dB par octave à partir de la sous-harmonique

Pour chaque élément de la sonde, les signaux ont ensuite été propagés (décalage temporel et multiplication par l'inverse des distances parcourues), puis sommés.

### IV.1.2.3. Résultats

L'algorithme de beamforming a été appliqué aux signaux reçus par chaque élément pour dresser une carte de pression des sources dans le plan de tir du transducteur. La fréquence à laquelle l'algorithme est appliqué (Figure 50), ainsi que l'orientation de la sonde par rapport au plan d'imagerie (Figure 51) et la position relative des bulles entre elles (Figure 52) sont étudiées.

Les cartographies de pression des sources sont normalisées par leur maximum. Sur chacun des figures présentées, une représentation 3D indique le positionnement et l'orientation de la sonde par rapport au plan d'imagerie. Chacun de ses capteurs est symbolisé par des carrés verts. La position du transducteur de thérapie est symbolisée par un carré rouge et son champ acoustique à -12dB de la pression nominale apparaît en magenta. Les positions des bulles sont symbolisées par des cercles noirs.

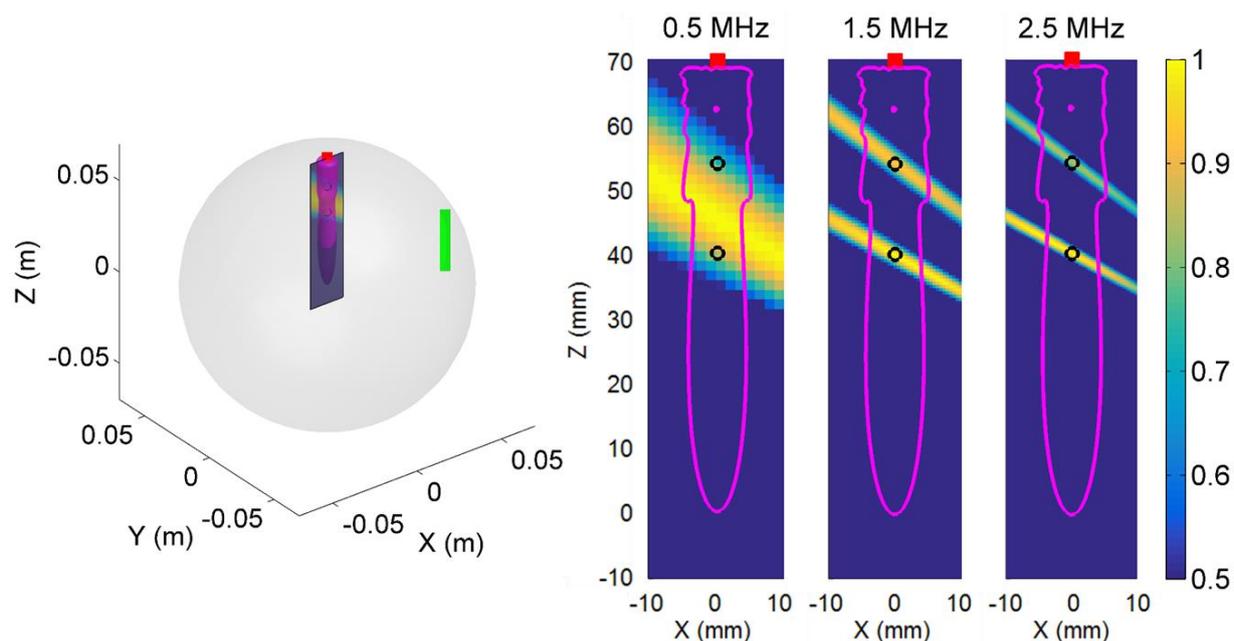


Figure 50 – Image de la cavitation pour plusieurs fréquences de réception : 0.5, 1.5 et 2.5 MHz correspondant respectivement au sous-harmonique et au premier et au deuxième ultraharmonique. L'utilisation d'une sonde linéaire (capteurs répartis sur une dimension) est responsable de la mauvaise résolution axiale. La résolution longitudinale dépend de la fréquence de reconstruction utilisée. Une longueur d'onde trop importante peut empêcher la différenciation des sources par l'algorithme de beamforming.

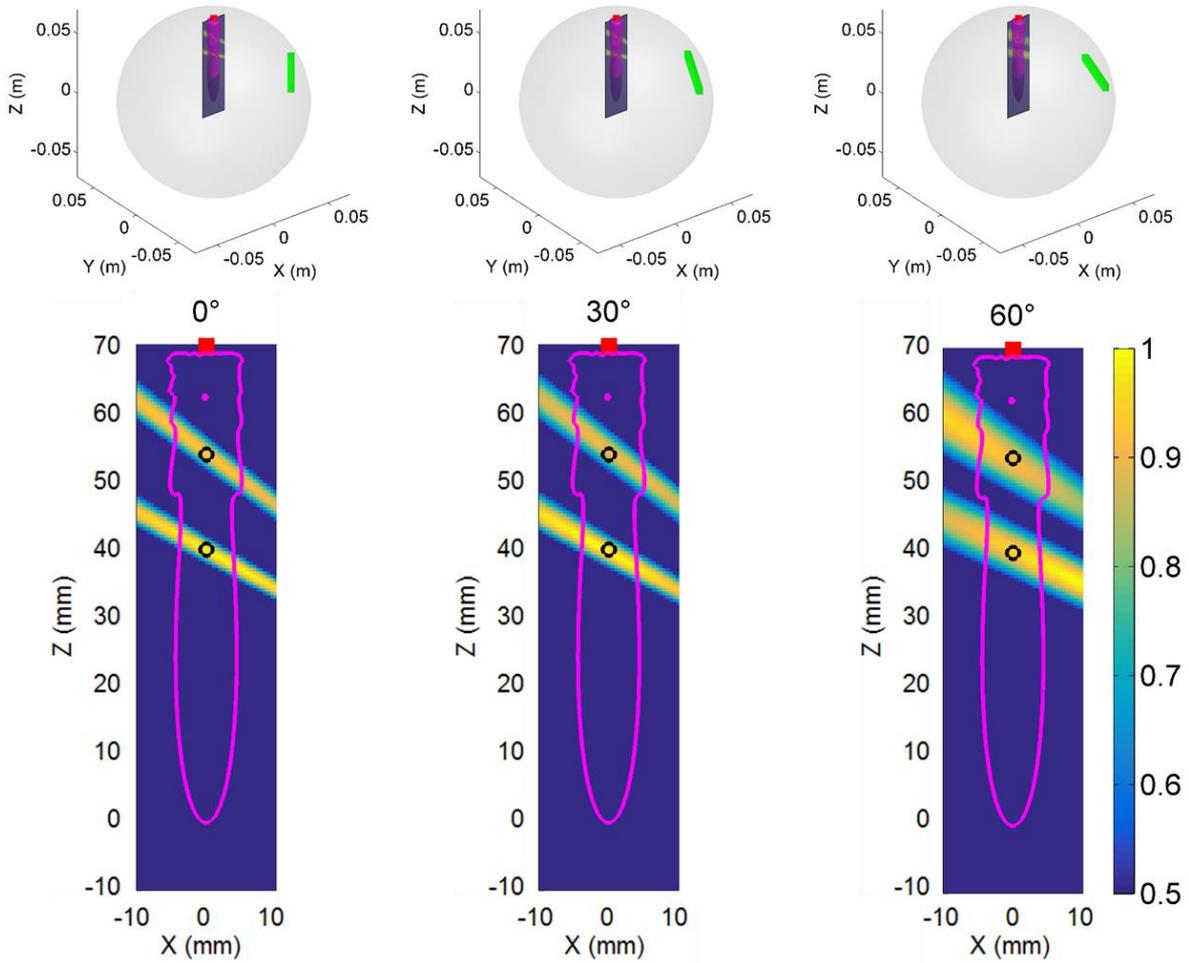


Figure 51 – Influence de l'inclinaison de la sonde échographique par rapport au plan à imager à 1.5 MHz en réception. La résolution longitudinale est affectée par l'inclinaison de la sonde.

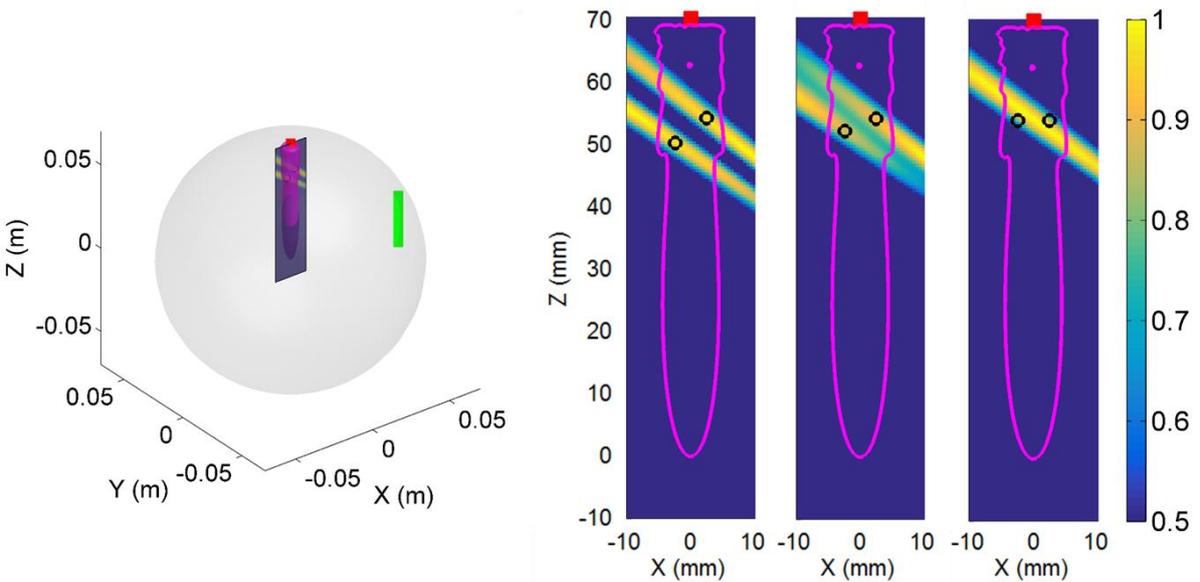


Figure 52 – Influence de la position des deux bulles par rapport à celle de la sonde échographique à 1.5 MHz en réception. Une proximité trop importante peut empêcher la différenciation des sources par l'algorithme de beamforming.

## IV.1.3. Evaluation de la PCI dans un cas simple *in vitro*

### IV.1.3.1. Description du dispositif expérimental

Le dispositif de génération de la cavitation utilisé (support imprimé, tube, bulles, générateur, amplificateur et pousse-seringue) est le même que celui décrit dans le Chapitre 3. Le SonoCloud utilisé résonne à 1 MHz. Il délivre des trains d'onde de 1000 cycles, à une pression de 0.5 MPa au foyer de cavitation.

Les signaux émis par les bulles sont écoutés par une sonde échographique de 96 éléments et de bande passante 1-4 MHz (P4-1, Philips Healthcare) et enregistrés par un échographe ultra-rapide et ouvert, conçu pour la recherche (Verasonics Vantage System, Verasonics). La sonde a été positionnée à la perpendiculaire de l'axe de tir du transducteur, de sorte à ce que son plan d'écoute contienne le tube de 1.8 mm où les microbulles circulent (Figure 53).

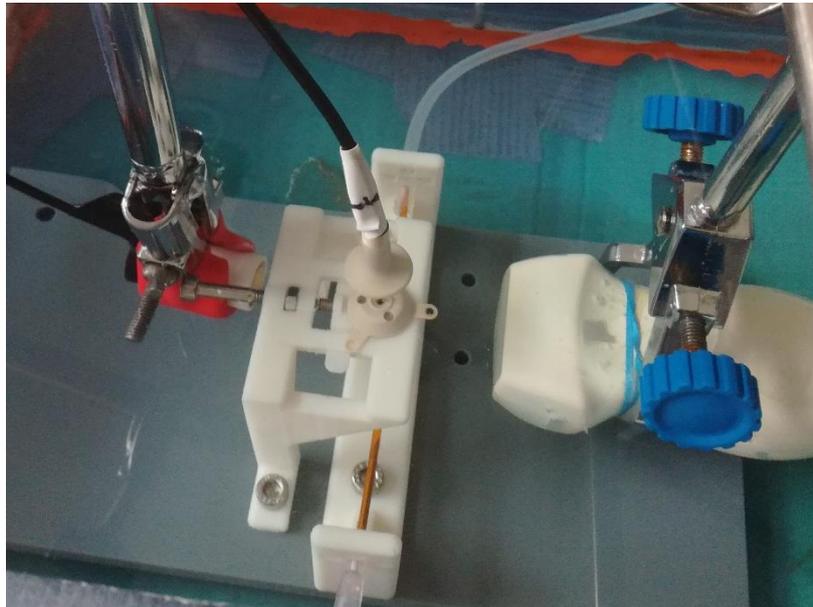


Figure 53 – Dispositif expérimental pour la PCI. Le SonoCloud est maintenu au dessus du tube où circulent les microbulles et la sonde échographique est placée à droite. Un PCD, maintenu par la pince rouge à gauche du tube et orienté vers le foyer de cavitation des bulles, a été utilisé pendant l'expérience pour confirmer la présence de cavitation pendant l'expérience.

La distance entre la sonde échographique et le tube a été évaluée à l'aide d'une simple image B-mode avec la sonde. Cette dernière a ensuite été utilisée passivement afin d'évaluer la qualité de la PCI. L'écoute est déclenchée en même temps que le tir du SonoCloud et dure 1.5 ms. Les signaux sont échantillonnés à 10 MHz.

L'algorithme de beamforming a été appliqué aux fréquences caractéristiques de la cavitation, lorsqu'elles étaient visibles sur le spectre des acquisitions (1.5, 2.5 et 3.5 MHz). L'erreur de la localisation a été évaluée en calculant la distance du maximum de l'image formée à la position du tube pour dix trains d'onde.

### IV.1.3.2. Résultats

La bande-passante de la sonde étant limitée par le bas à 1 MHz, la fréquence sous-harmonique n'apparaît pas sur les spectres des signaux enregistrés. Les images de cavitation sont montrées en Figure 54.

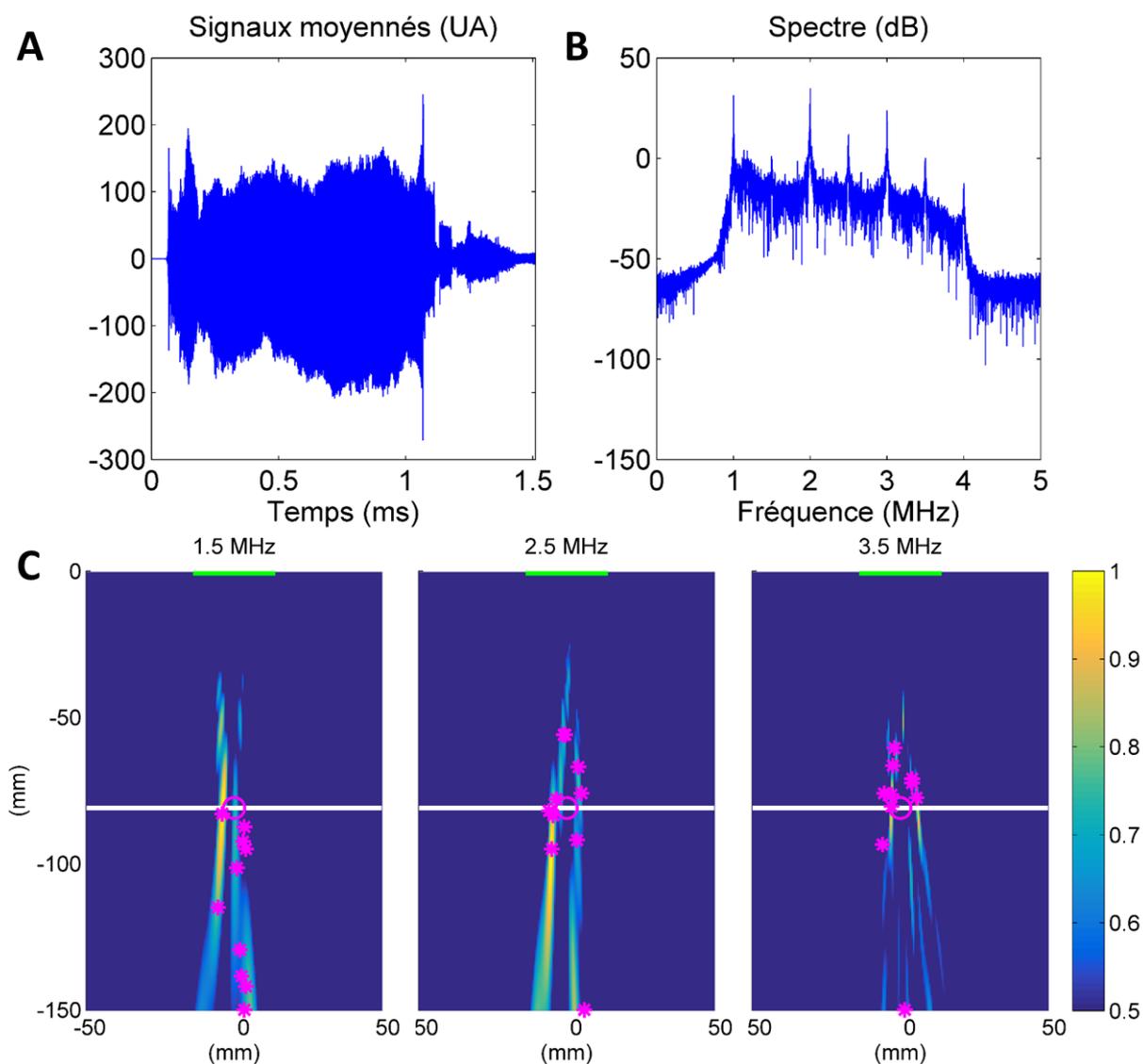


Figure 54 – PCI avec la sonde échographique. A : Moyenne des signaux temporels reçus après une émission du Sonocloud; B : Spectre associé. La bande passante limitée de la sonde empêche l'observation du sous-harmonique. C : PCI pour différents ultraharmoniques. La position du tube est symbolisée par une ligne blanche et celle des éléments de la sonde par une ligne verte. L'image est donc calculée dans le plan parallèle au transducteur et contenant le tube. Les étoiles magentas correspondent à la valeur maximale relevée sur chacune des 10 cartes. Le champ acoustique à -12 dB du transducteur est symbolisé par le cercle magenta.

L'erreur moyenne de localisation décroît avec la fréquence. Elle a été calculée à  $32.5 \pm 24.9$ ,  $24.9 \pm 11.2$  et  $8.8 \pm 6.3$  mm pour 1.5, 2.5 et 3.5 MHz respectivement (Figure 55).

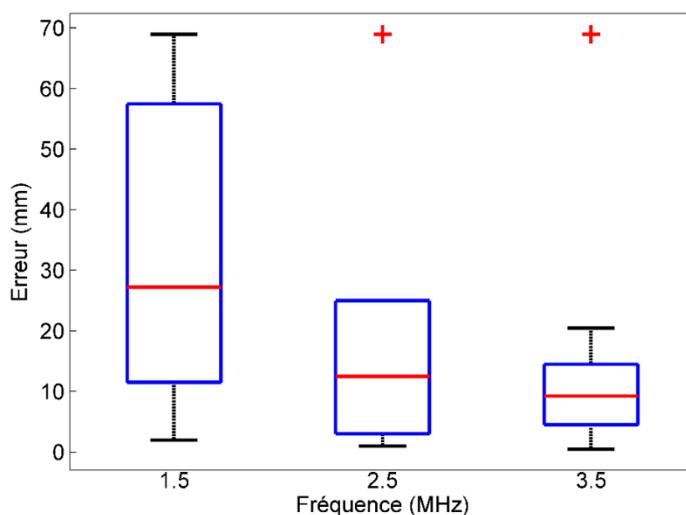


Figure 55 – Boîtes de Tukey des distances entre les maxima relevés sur les cartes de cavitation et le centre du tube en fonction de la fréquence réception. Les croix rouges représentent les valeurs aberrantes.

## IV.1.4. Discussion

La qualité de la PCI avec une sonde échographique a été évaluée, dans une configuration similaire à celles pouvant être rencontrée en clinique en termes d'orientation et de distance, grâce à des simulations et des expériences réalisées *in vitro*.

Les simulations ont montré que la disposition linéaire des éléments de la sonde occasionnait une mauvaise résolution axiale. Les bulles, à l'origine simulées comme des sources acoustiques ponctuelles, apparaissent sous la forme de faisceaux dirigés vers la sonde échographique. Cette mauvaise résolution axiale a été confirmée lors de l'expérience *in vitro* et avait déjà été constatée lors d'autres travaux de PCI avec des sondes linéaires telles que celle utilisée lors de cette étude<sup>116</sup>. Dans le cas d'utilisation de dispositifs focalisés, il est relativement possible de s'en accommoder, car les sources de cavitation sont concentrées sous la forme d'un nuage de quelques millimètres de rayon. Les maxima des images de cavitation correspondent donc au centre du nuage ainsi créé. Ils sont généralement confondus avec les maxima de RESIDUS observables sur les images IRM<sup>149</sup>. Pour les transducteurs non focalisés comme le SonoCloud, cela peut en revanche poser problème pour distinguer plusieurs sites de cavitation alignés avec la sonde. Il a d'ailleurs été remarqué lors de ces simulations qu'un léger décalage des bulles entre elles pouvaient entraîner des erreurs de localisation, dues à la fusion des faisceaux des deux bulles en un unique faisceau passant au milieu (Figure 52). Le champ étant axisymétrique, les bulles sont réparties dans un volume autour de l'axe de tir du

transducteur, ce qui signifie également que l'image créée peut contenir des artefacts de bulles cavitant à l'extérieur du plan. Elles peuvent donc interférer les unes avec les autres.

La résolution de la PCI est également influencée par la fréquence utilisée lors du beamforming. Plus la fréquence est basse, plus les aberrations dues à l'interférence des sources sont importantes. Cela a été observé expérimentalement par mesure d'une erreur de localisation décroissante avec la fréquence de l'ultraharmonique utilisé. Ce constat s'avère problématique pour réaliser la PCI à travers le crâne, car un compromis doit être fait entre la résolution des images et les aberrations dues aux distorsions et à l'atténuation du crâne en hautes fréquences.

L'orientation de la sonde par rapport au plan à imager a également une influence sur la qualité de la PCI, mineure en comparaison avec celles discutées précédemment. Une meilleure PCI a été constatée lorsque l'axe de tir du transducteur et celui formé par l'alignement des éléments de la sonde étaient coplanaires. Suivant la zone d'implantation du SonoCloud, cette orientation peut être difficile à obtenir. En effet, dans un contexte clinique, la sonde doit être idéalement placée contre la tempe du patient, où l'os du crâne est le plus fin et le moins susceptible de gêner la mesure. Par conséquent, l'orientation et les déplacements de la sonde sont limités.

La plupart des problèmes constatés proviennent de la géométrie de l'antenne utilisée. La disposition linéaire des éléments de la sonde, combinée à une écoute passive de signaux relativement longs occasionne une résolution axiale trop mauvaise pour pouvoir distinguer deux sources de cavitation sur la même image. L'utilisation d'une antenne avec des éléments répartis sur trois dimensions permet généralement de pallier ces problèmes de résolution, comme l'illustre la Figure 56. Cette méthode permet également d'imager des volumes plutôt que des plans. L'utilisation d'antenne hémisphérique s'est avérée efficace pour fournir des images de meilleure résolution avec un nombre égal ou inférieur d'éléments<sup>102</sup>.

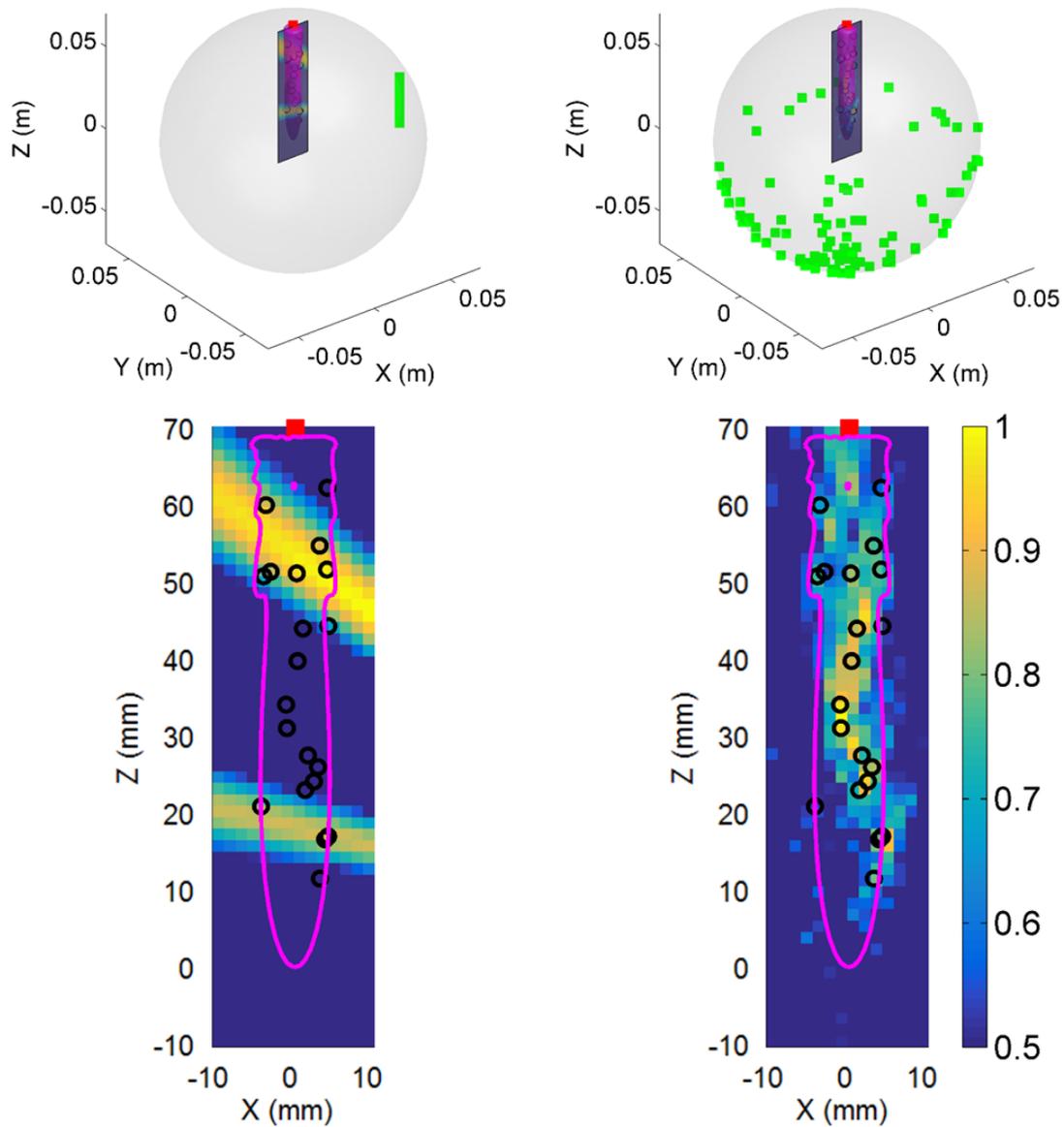


Figure 56 – Comparaison de la PCI à 0.5 MHz entre la sonde et une antenne possédant le même nombre de capteurs répartis aléatoirement sur l'hémisphère opposé au plan de tir pour 20 sources de cavitation disposées aléatoirement dans le champ à -12dB. L'image restituée par l'antenne 3D est bien plus fidèle à la position réelle des bulles que l'antenne linéaire.

Des méthodes de post-traitement spécialisée, comme l'utilisation d'algorithmes de reconstruction plus performants dans ce contexte<sup>28</sup>, ainsi que des algorithmes de filtrage des signaux pour augmenter le rapport signal sur bruit des signaux<sup>131</sup>, peuvent être utilisés pour augmenter la qualité de la PCI.

Un obstacle considérable à la PCI, dont l'influence n'a pas été évaluée dans cette étude, est la rupture d'impédance violente existant entre les tissus cérébraux et le crâne. Le beamforming se repose sur une vitesse du son homogène lors de la propagation des ondes, ce qui n'est pas le cas lors de la transmission à travers un os. Il est possible que des fonctions de transferts acoustiques adaptées au crâne de chaque patient doivent être calculées pour pouvoir distinguer passivement plusieurs sources de cavitation dans le cerveau.

## IV.2. Localisation d'un nuage de cavitation à l'aide de trois PCD

Il a été observé qu'une barrette d'imagerie linéaire ne permettait pas d'obtenir une cartographie de la cavitation fiable dans le contexte du traitement SonoCloud. L'utilisation d'une antenne avec des capteurs répartis sur trois dimensions permet d'obtenir de meilleures images. Néanmoins, la conception et l'implémentation clinique d'un tel dispositif sont difficiles, et son coût est élevé.

Une méthode de détection d'un nuage de cavitation dans un plan à partir des signaux reçus par trois PCD a été développée. Elle constitue une approche intéressante pour une résolution du problème de localisation en clinique, de par sa simplicité de mise en œuvre et son coût peu onéreux. Cette méthode a été évaluée à la fois par simulations et expériences *in vitro*. Son extension au cas du traitement SonoCloud est ensuite discutée.

Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'une publication<sup>73</sup> et d'un chapitre de la thèse de doctorat du Docteur Maxime Lafond<sup>72</sup>. Ils sont résumés ici.

### IV.2.1. Description de la méthode utilisée

Un foyer de cavitation (une bulle ou un nuage de bulles), apparenté à une source ponctuelle, est situé dans le plan  $z = 0$  aux coordonnées inconnues  $(x, y)$ . De la même manière qu'à la partie précédente, il est apparenté à une source ponctuelle, ce qui signifie que les ondes qu'il émet ont une propagation sphérique. Il est supposé que les trois PCD utilisés sont également situés dans le plan  $z = 0$ . Chaque PCD  $i$  est situé à une position connue du plan  $(x_i, y_i)$ .

La distance  $r_i(x, y)$  parcourue par une onde émise par la source avant d'arriver au PCD  $i$  est exprimée ainsi :

$$r_i(x, y) = \sqrt{(x_i - x)^2 + (y_i - y)^2} \quad (21)$$

L'écoute étant passive, le temps de vol entre la source et le PCD est inconnu, il est donc impossible de mesurer  $r_i(x, y)$  directement. Néanmoins, grâce à l'hypothèse de propagation sphérique faite ci-avant, les signaux enregistrés par les capteurs sont identiques aux signaux émis par la source, à une constante multiplicative et un déphasage près. Il est donc possible de calculer la différence de temps de vol entre deux PCD grâce à l'intercorrélation des signaux enregistrés<sup>111</sup>. Dans la suite de ce paragraphe, la différence de temps de vol entre le PCD  $i$  et le PCD 1 (choisi comme référence) a

directement été convertie en distance par multiplication avec la célérité du son dans le milieu d'étude et est notée  $\epsilon_i$ .

Une première méthode de résolution possible est une trilatération classique des signaux reçus. Il s'agit de minimiser une fonction de coût  $C(x, y)$  faisant intervenir les quantités  $\epsilon_i$  mesurées et les distances à la source de cavitation :

$$C(x, y) = \sum_{i=2}^3 [r_i - r_1 - \epsilon_i]^2 \quad (22)$$

Les deux termes de la somme étant élevés au carré, ils ne peuvent se compenser l'un l'autre. Les coordonnées  $(x, y)$  retenues sont donc celles minimisant conjointement les deux termes.

Une deuxième méthode de résolution analytique, basée sur l'intersection des courbes hyperboliques définies par les différences de temps de vol des signaux, est également proposée. Elle a été décrite de manière approfondie par Chan et Ho<sup>18</sup>. Elle est développée à partir de la relation suivante, qui est admise :

$$\epsilon_i = r_i - r_1 \quad (23)$$

Il peut alors être écrit :

$$(\epsilon_i + r_1)^2 = r_i^2 \quad (24)$$

En développant cette équation avec la relation (21), on obtient le système d'équations suivant :

$$(x_1 - x_i).x + (y_1 - y_i).y = \frac{1}{2} [\epsilon_i^2 + 2r_1\epsilon_i + x_1^2 + y_1^2 - x_i^2 - y_i^2] \quad (25)$$

Ce système peut être mis sous forme matricielle pour  $i = 2$  et  $3$ . Cela permet d'exprimer analytiquement  $x$  et  $y$  en fonction de  $r_1$ .

$$\begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} (x_1 - x_2) & (y_1 - y_2) \\ (x_1 - x_3) & (y_1 - y_3) \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} \epsilon_2^2 + 2r_1\epsilon_2 + x_1^2 + y_1^2 - x_2^2 - y_2^2 \\ \epsilon_3^2 + 2r_1\epsilon_3 + x_1^2 + y_1^2 - x_3^2 - y_3^2 \end{bmatrix} \quad (26)$$

L'injection des relations ainsi obtenues dans l'équation (25) pour  $i = 1$  permet de tomber sur une simple équation quadratique en  $r_1$ . L'unique solution positive de cette équation peut ensuite être réinjectée dans le système (26) pour trouver les coordonnées  $(x, y)$  de la source de cavitation.

## IV.2.2. Evaluation des méthodes de résolution par simulations

La précision des deux méthodes de résolution est d'abord évaluée par simulation. 1 à 40 sources de cavitation sont virtuellement réparties de manière aléatoire dans un cube de 5 mm de côté. Les signaux de cavitation ont été synthétisés et propagés de la même manière que pour l'étude avec la sonde échographique, mais à une fréquence fondamentale de 1 MHz. Chacune des raies de fréquence a été aléatoirement ajusté à  $\pm 6$  dB. Un bruit blanc à -30 dB a également été ajouté pour simuler l'effet de la cavitation inertielle. Les signaux ont ensuite été propagés jusqu'aux 3 PCD et un autre bruit blanc à -30 dB a été ajouté pour simuler le bruit de mesure.

La précision des 2 méthodes de résolution a été évaluée en calculant la distance moyenne entre la position retournée et la position des différentes sources de localisation.

## IV.2.3. Validation expérimentale de la faisabilité de la détection

Des expériences sont ensuite réalisées pour valider la méthode choisie (Figure 57). Dans une cuve remplie d'eau dégazée, et dont le fond est tapissé d'absorbant, une antenne, composée de 3 PCD de fabrication maison en PVDF (diamètre 10 mm) maintenus à la verticale, est déplacée dans le plan  $z = 0$ . La conversion analogique-numérique des signaux enregistrés par les PCD est assurée par un oscilloscope (HDO4024, Teledyne LeCroy) à une fréquence d'échantillonnage de 100 MHz.

Un amplificateur 128 voies (Hitachi-Aloka Medical) alimente un transducteur focalisé de 128 éléments, fonctionnant à 1 MHz (diamètre 148 mm, distance focale 120 mm, SP120, Japan Probe). La direction de tir de ce dernier est confondue avec l'axe  $z$ , de sorte à ce que sa tâche focale traverse le plan  $z = 0$ . Un nuage de cavitation est créé à la tâche focale à l'aide d'une impulsion de 25 cycles avec un pic de pression négative à 20.3 MPa.

Pour vérifier la taille et la reproductibilité du nuage de cavitation, une caméra ultra-rapide (32 kfps, HyperVision HPV-2, Shimadzu) filme la région focale dans un plan orthogonal au plan  $z = 0$ . Elle est déclenchée en même temps que les impulsions ultrasonores.

L'enveloppe sous-harmonique à 0.5 MHz est extraite des signaux enregistrés et la méthode de localisation est appliquée à cette enveloppe pour vérifier la précision de la localisation en fonction des déplacements de l'antenne.



Figure 57 – Dispositif expérimental. L'axe de la caméra est annotée en pointillés blancs. La tâche focale du transducteur est représentée par l'ellipse rouge. Les flèches bleues indiquent les directions de déplacement de l'antenne. (D'après Lafond et al.<sup>73</sup>)

La précision du dispositif a été évaluée dans l'eau et le blanc de poulet pour 7 positions différentes de l'antenne. Elle est calculée comme la distance entre le centre du nuage de cavitation et les coordonnées renvoyées par le système. A chaque position la précision est moyennée sur 3 impulsions.

## IV.2.4. Résultats

Les résultats des simulations, illustrés en Figure 58 pour 20 sources de cavitation rayonnant simultanément, montrent que les deux méthodes ont une précision moyenne équivalente (5 et 4 mm pour la fonction de coût et la solution analytique respectivement).

Néanmoins, la variabilité de la précision est beaucoup plus importante pour la fonction de coût. Pour cette raison et parce que la solution analytique est une méthode de résolution directe, et par conséquent plus rapide, elle a été retenue pour les validations expérimentales.

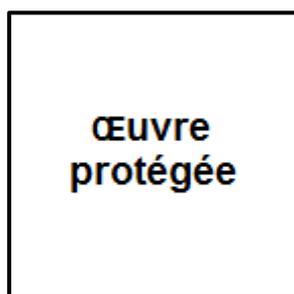


Figure 58 – Evaluation numérique de la précision de localisation des deux méthodes. Sur la figure de gauche, les projections dans le plan  $z = 0$  de 20 sources de cavitation sont représentées par des ronds verts. Les PCD sont marqués par des cercles noirs et la croix rouge représente la solution analytique calculée par le système. Sur la figure de droite, les boîtes à moustache représentent la précision des deux méthodes de résolution pour 1 à 40 sources. (D'après Lafond et al.<sup>73</sup>)

Le nuage de cavitation acquis grâce à la caméra pendant les expériences *in vitro* avait des dimensions de 7.2 mm selon l'axe z et 2.5 mm dans les autres dimensions (Figure 59) et s'est avéré reproductible.



Figure 59 – Image du nuage de cavitation filmé par la caméra. (D'après Lafond et al.<sup>73</sup>)

Les précisions de localisation dans l'eau et le blanc de poulet sont comparées aux précisions attendues par simulations dans l'eau d'un nuage de 20 bulles réparties aléatoirement dans une zone ayant les mêmes dimensions que le nuage de cavitation, pour l'ensemble des 7 positions (Figure 60). La précision moyenne de la localisation est située entre 2 et 4 mm pour les 3 cas de figure.

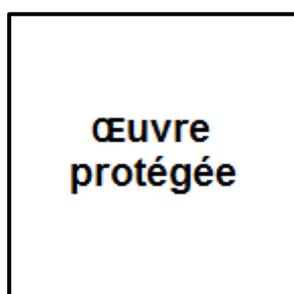


Figure 60 – Précision de la localisation pour l'ensemble des 7 positions mesurée dans l'eau et le blanc de poulet (à gauche) et évaluée par simulations (à droite). (D'après Lafond et al.<sup>73</sup>)

## IV.2.5. Discussion

Une méthode de localisation d'un nuage de cavitation dans un plan à l'aide de trois hydrophones a été développée et validée expérimentalement. Elle permet le suivi d'un nuage de cavitation avec une précision d'environ 2 mm, dans l'eau et dans des tissus. Elle possède des avantages considérables sur la PCI, notamment parce qu'elle est moins coûteuse et moins encombrante (et par conséquent plus facile à mettre en place dans un contexte clinique). Les applications d'un tel dispositif sont nombreuses, car la cavitation ultrasonore est utilisée dans de nombreuses approches thérapeutiques.

La méthode proposée ne permet néanmoins que de détecter une unique source de cavitation et pas de former une image. Son usage principal serait donc de vérifier que la cavitation a lieu au sein des zones ciblées par la thérapie et non pas à la surface de la peau ou à l'intérieur de n'importe quelle structure anatomique favorisant le développement de la cavitation. La qualité de cette méthode nécessite par ailleurs d'être évaluée *in vivo*. En effet, comme elle repose sur une hypothèse de célérité

constante des ondes pendant leur propagation, elle souffre des mêmes problèmes que la PCI cités plus haut, à savoir un modèle de propagation méconnu et devant être adapté au cas par cas.

La source de variabilité majeure de cette étude réside probablement dans le fait que le problème est considéré comme plan. Par conséquent les PCD sont apparentés à des points positionnés au centre de leur surface active. L'intégralité de la surface des transducteurs est néanmoins susceptible de recevoir de l'énergie acoustique, occasionnant des erreurs dans la mesure du retard de l'onde émise depuis le centre du nuage de cavitation. Ce même nuage est lui aussi un objet en trois dimensions et les bulles cavitant à l'extérieur du plan de calcul émettent un signal biaisant les mesures. Ce phénomène peut expliquer pourquoi l'erreur de localisation est moins importante dans les tissus *ex vivo* que dans l'eau : le nuage de cavitation étant plus contraint dans les tissus, son volume hors du plan de mesure est moins important que dans l'eau et l'erreur s'en trouve donc réduite. Dans le cadre d'un problème de trilatération dans un plan, un minimum de 3 PCD est requis pour calculer une solution. La qualité des résultats peut néanmoins être améliorée avec l'utilisation de PCD supplémentaires<sup>18</sup>. Cela permettrait également la détection de la source dans un espace à trois dimensions. Les deux méthodes de résolution présentées sont applicables avec n'importe quel nombre de capteurs supérieur ou égal à trois.

Pour effectuer la translation de ce dispositif à l'écoute en clinique de l'OBHE par ultrasons, l'obstacle le plus important est à nouveau la présence du crâne, à travers lequel la vitesse des ondes est plus importante. Les retards calculés sont donc biaisés en fonction de l'épaisseur de l'os à l'endroit où le PCD est positionné. Les tempes sont donc encore une fois des positions privilégiées pour deux des PCD, du fait de leur faible épaisseur. Le troisième PCD doit ensuite être positionné dans le plan formé par le centre des deux premiers PCD et le lieu supposé du foyer cavitation, ce qui ne privilégie pas nécessairement une zone du crâne dont l'épaisseur est faible. Un défi supplémentaire de l'utilisation clinique d'une telle méthode, similairement à la PCI, est de connaître la position relative des différents PCD et de la tâche focale entre eux. Cela peut être réalisé par l'utilisation de cadre stéréotaxique ou de dispositifs de suivi optique.

Dans le cas du SonoCloud, l'utilité de la méthode est amoindrie par le fait que le volume dans lequel peut avoir lieu des événements de cavitation est important. Connaître l'épicentre des différentes sources de cavitation a par conséquent moins d'intérêt, car l'information apportée est minime et ne permet pas de corrélation entre la position de ces sources et les zones d'ouvertures ou d'effets secondaires indésirables. Il a d'ailleurs été remarqué que calculer la valeur de la fonction de coût à tous les endroits du plan de calcul ne permettait pas de dresser une image passive de cavitation fiable. De plus l'augmentation de la taille du nuage peut causer des erreurs de localisation importante. Ces observations sont illustrées par la Figure 61.

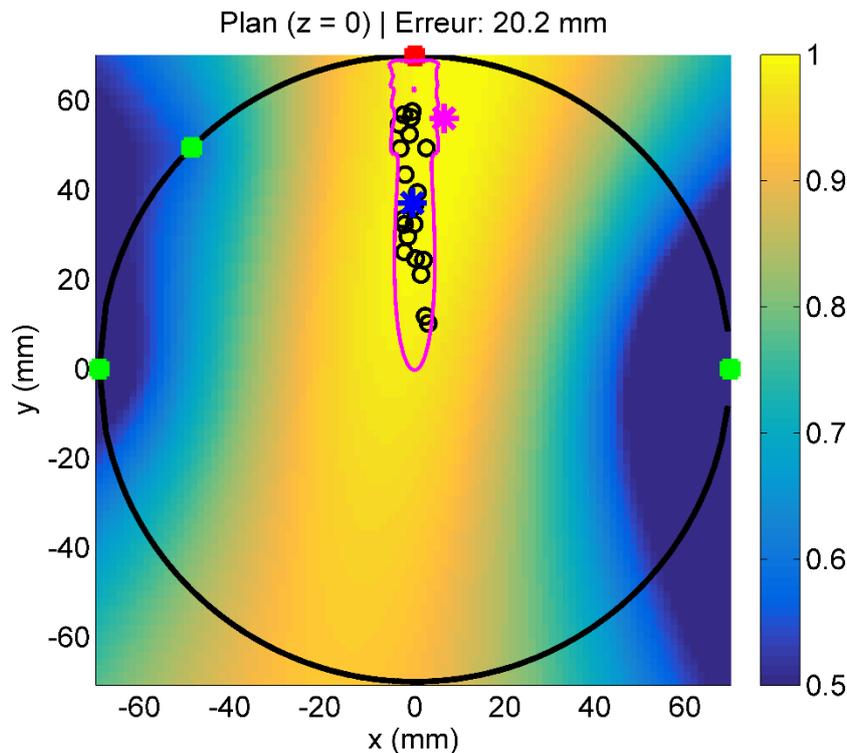


Figure 61 – Imagerie de la cavitation dans un contexte de traitement SonoCloud (carré rouge) à l'aide de trois PCD (carrés verts) pour 20 sources (cercles noirs) disposées aléatoirement dans le champ à -12 dB (contours magentas) dans le plan de mesure. La fonction de coût a été calculée sur tout le plan de mesure puis normalisée par la valeur maximum. La cartographie correspond à cette valeurs soustraite à 1, afin de permettre une comparaison avec les images de PCI montrées dans la partie précédente. L'étoile bleue symbolise l'épicentre des différentes sources et l'étoile magenta la solution renvoyée par l'algorithme. La distance entre ces deux points dans cette configuration (erreur de mesure) est de 20.2 mm.

### IV.3. Conclusion concernant la localisation de la cavitation dans le cadre d'un traitement SonoCloud

Au cours de ce chapitre, la multiplicité des sources de cavitation dans le champ acoustique a été étudiée, afin d'affiner la compréhension de l'influence d'un volume de cavitation relativement large sur l'écoute et l'imagerie passives de la cavitation.

Dans un premier temps, la PCI a été évaluée par simulations et expériences à la sonde échographique dans un contexte de traitement SonoCloud. Un simple algorithme de beamforming, avec pondération des différentes sources a été utilisé. La sonde souffre d'une mauvaise résolution axiale. Plusieurs facteurs influençant la résolution de l'image ont été mis en avant, tels que la fréquence utilisée pour la reconstruction, l'orientation de la sonde par rapport au plan à imager, ainsi que les interférences des différentes sources de cavitation entre elles. Il a été conclu qu'une sonde échographique simplement posé sur la tempe des patients ne permettrait pas d'obtenir des images de l'activité de

cavitation avec une résolution permettant de discerner les différentes sources et effectuer des corrélations avec l'efficacité de l'ouverture. L'utilisation d'antenne de plus d'une dimension, avec une répartition assez vaste des éléments autour du crâne, ainsi que d'algorithmes de filtrage et de reconstruction plus performants est préconisée. De la même manière que pour l'écoute passive de la cavitation étudiée au chapitre précédent, la PCI serait plus facilement réalisable à l'aide d'impulsions de thérapie plus courtes<sup>44</sup>. Cela permettrait de distinguer nettement les signaux émis par chacune des sources de cavitation sans que ces derniers ne se superposent, et ainsi obtenir une meilleure résolution axiale. L'influence des différentes structures anatomiques traversées par les ondes (inhomogénéités de la vitesse du son dans les différents tissus et aberrations de propagation dues au crâne) doit également être étudiée et prise en compte dans le modèle de propagation pour assurer une reconstruction correcte.

Dans un second temps, une méthode de localisation d'un nuage de cavitation dans un plan à l'aide de trois PCD a été évaluée par simulation et validée à l'aide d'expériences *in vitro* et *ex vivo*. Cette méthode est peu onéreuse et permet le suivi en temps réel d'un ensemble de sources contenues dans un volume relativement restreint (environ 50 mm<sup>3</sup>). Elle souffre cependant des mêmes problèmes que la PCI dans un contexte d'écoute transcrânienne. De plus, elle n'est pas transposable directement au cas du SonoCloud, pour lequel la taille du volume contenant les sources de cavitation est considérablement plus important, ce qui biaise grandement la localisation.

Dans un contexte d'OBHE transcrânienne et focalisée, ces méthodes s'avèrent utiles pour surveiller la qualité de la focalisation pendant le traitement, rendue difficile par les distorsions et l'atténuation dues au crâne. Leur précision ne permet cependant pas un diagnostic précis de l'activité de cavitation dans le champ acoustique du SonoCloud. Tout au plus, elles permettent d'encadrer assez largement la position des maxima de cavitation. Une telle utilité est discutable dans le cadre de l'utilisation d'un implant, où le crâne ne perturbe pas la propagation des ondes. L'information de localisation des sources de cavitation apportée, si elle n'est pas plus précise, ne permet pas d'affiner la compréhension du lien existant localement entre l'intensité de la cavitation et l'efficacité de l'OBHE.

La difficulté technique, l'encombrement et le coût de développement que représente l'utilisation en clinique de ces méthodes sont importants. Dans le cas de la PCI, le dispositif d'acquisition est très encombrant. Pour les deux méthodes, un dispositif de suivi optique ou un axe stéréotaxique, ainsi qu'une imagerie du cerveau des patients, sont obligatoires pour connaître la position relative des éléments d'écoute entre eux et par rapport aux structures anatomiques étudiées. La balance entre avantages apportés par la localisation de la cavitation et complexification du traitement est pour le moment trop déséquilibrée pour que ces systèmes soient mis en place.

# Conclusion générale

La BHE est une protection naturelle du système nerveux central. Son étanchéité pose problème dans le cadre du traitement de plusieurs pathologies cérébrales, car elle limite le passage des médicaments et les empêche d'atteindre des concentrations thérapeutiques dans les tissus du cerveau. L'exposition à des ultrasons combinée à l'injection de microbulles dans la circulation sanguine permet néanmoins de la perméabiliser temporairement, et d'améliorer l'efficacité des traitements médicamenteux.

Le premier chapitre de ce manuscrit est un état de l'art des recherches réalisées pour optimiser cette méthode et affiner la compréhension du phénomène d'ouverture. Ces recherches ont lieu depuis plus de dix ans, et la transition des essais précliniques à la clinique est aujourd'hui en plein essor. La faisabilité de l'ouverture a beau avoir été démontrée chez l'Homme, son efficacité est encore améliorable et de nombreuses zones d'ombre existent encore quant aux paramètres de traitement optimaux et aux mécanismes entrant en jeu lors de l'ouverture. Le traitement est par ailleurs compliqué par le crâne que les ondes peinent à traverser.

Afin de contourner cette barrière, l'utilisation d'ultrasons focalisés de haute intensité est privilégiée, et permet de concentrer l'énergie derrière l'os sans provoquer d'effets mécaniques et thermiques indésirables dans les tissus. Cette approche souffre néanmoins d'un temps de traitement important et de coûts élevés, et requiert des systèmes de surveillance de haute technologie à cause des distorsions et de l'atténuation des ondes par le crâne. Pour pallier ces problèmes, la société CarThera a développé une nouvelle approche de l'ouverture, grâce à un dispositif implantable non focalisé : le SonoCloud. Des méthodes de caractérisation des ouvertures réalisées en clinique avec cet implant ont été étudiées et sont présentées dans ce manuscrit.

Dans le deuxième chapitre, le volume d'ouverture de la BHE a été évalué indirectement par observation d'une prise de contraste à l'IRM avec un agent de contraste ne traversant normalement pas la barrière. Une méthode de quantification automatique du volume par traitement et comparaison des images IRM réalisées avant et après le traitement ultrasonore a été développée et validée. Au terme de cette étude, il a été remarqué que la probabilité d'ouverture augmentait avec la pression acoustique locale. Cette dernière ne permet néanmoins pas d'expliquer entièrement le phénomène, car les probabilités d'ouverture observées restent basses. La cavitation étant le mécanisme d'action expliquant le mieux l'ouverture chez l'animal, il a été supposé que l'intensité de cavitation pendant un traitement SonoCloud était corrélée à l'efficacité de l'ouverture.

Dans le troisième chapitre, des données d'écoute clinique de la cavitation avec un simple capteur mono-élément posé contre la tempe des patient ont été analysées. Des signaux caractéristiques d'une

activité de cavitation ont été détectés pour l'intégralité des traitements, même en l'absence d'ouverture constatée sur l'image IRM. Il a donc été conclu que la cavitation n'était pas suffisante à l'obtention d'une ouverture. L'analyse de l'amplitude des signaux n'a pas dévoilé de corrélation entre l'ouverture et l'intensité de cavitation. Néanmoins, il a été supposé qu'il existait une incertitude importante sur l'intensité réelle de la cavitation, notamment due au positionnement du capteur par rapport au foyer de cavitation et à la valeur de transmission de l'os temporal de chaque patient. Afin de quantifier l'incertitude due au positionnement, des essais in vitro ont été réalisés. Une méthode de correction des amplitudes des signaux de cavitation, basée sur la sensibilité en réception théorique du capteur par rapport à son positionnement, a été proposée et validée. Des simulations ont ensuite été réalisées pour évaluer la variabilité des valeurs de transmission de l'os temporal humain. Des échantillons de crâne de cochon dont les valeurs de transmission étaient représentatives de cette variabilité ont ensuite été utilisés in vitro, afin de quantifier l'incertitude des amplitudes des signaux due à l'os temporal pendant les essais cliniques. Les différentes incertitudes quantifiées lors de ce troisième chapitre ont été réalisées avec un unique foyer de cavitation. Le SonoCloud étant un implant non focalisé, le volume du champ acoustique dans lequel une activité de cavitation est susceptible d'être déclenchée est important. Il a donc été supposé que les différents foyers de cavitation peuvent interférer entre eux et constituent un biais supplémentaire dans l'évaluation des amplitudes des signaux de cavitation enregistrés avec le capteur clinique.

Dans le quatrième chapitre, des méthodes de localisation et de différenciation des sources de cavitation ont été évaluées dans un contexte de traitement SonoCloud. L'imagerie passive de la cavitation par beamforming avec une sonde échographique posée sur la tempe du patient a d'abord été simulée. La résolution axiale du dispositif s'est avérée insuffisante pour localiser et différencier plusieurs sources de cavitation au vu de la longueur des signaux de thérapie utilisés. Ce constat a également été fait lors d'expériences in vitro. Une disposition des éléments d'écoute autour de la tête (sur trois dimensions) a été proposée afin de pallier ce problème. Une méthode de localisation d'un nuage de cavitation à l'aide de trois capteurs a ensuite été évaluée et validée par simulations et expériences in vitro. Cette méthode n'est malheureusement pas applicable dans le cas du traitement SonoCloud, à cause de la longueur des signaux de thérapie et de l'importance du volume de la zone dans laquelle les microbulles sont susceptibles de caviter.

Plusieurs méthodes ont été proposées afin d'améliorer la quantification et la localisation passives de la cavitation, mais la difficulté technique, le coût et l'encombrement que représente leur mise en place dans le cadre du traitement SonoCloud est pour le moment trop importante en comparaison avec les bénéfices qu'elles apportent. D'autres travaux in vitro et in vivo doivent être réalisés, afin de mieux comprendre la relation entre l'activité de cavitation et la probabilité d'ouverture de la BHE, et d'affiner la précision des méthodes de caractérisation de l'activité de cavitation dans un contexte clinique.

# Bibliographie

1. Ammi AY, Mast TD, Huang IH, Abruzzo TA, Coussios CC, Shaw GJ, et al: Characterization of Ultrasound Propagation Through Ex-vivo Human Temporal Bone. **Ultrasound Med Biol** **34**:1578–1589, 2008
2. Apfel RE, Holland CK: Gauging the likelihood of cavitation from short-pulse, low-duty cycle diagnostic ultrasound. **Ultrasound Med Biol** **17**:179–185, 1991
3. Arvanitis CD, Livingstone MS, Vykhodtseva NI, McDannold NJ: Controlled Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Disruption Using Passive Acoustic Emissions Monitoring. **PLoS One** **7**:e45783, 2012
4. Asquier N, Bouchoux G, Canney M, Martin C, Law-Ye B, Leclercq D, et al: Blood-brain barrier disruption in humans using an implantable ultrasound device: quantification with MR images and correlation with local acoustic pressure. **J Neurosurg** **1**:1–9, 2019
5. Aubry J-F, Tanter M, Pernot M, Thomas J-L, Fink M: Experimental demonstration of noninvasive transskull adaptive focusing based on prior computed tomography scans. **J Acoust Soc Am** **113**:84–93, 2003
6. Bacon DR: Measurements on a Specific Acoustic Pulse Part 2: Measurements, in Preston RC (ed): **Output Measurements for Medical Ultrasound**. Berlin, Germany: Springer Verlag, 1991
7. Bakay L, Hueter TF, Ballantine HT, Sosa D: Ultrasonically Produced Changes in the Blood-Brain Barrier. **Arch Neurol Psychiatry** **76**:457–467, 1956
8. Ballantine HT, Bell E, Manlapaz J: Progress and Problems in the Neurological Applications of Focused Ultrasound. **J Neurosurg** **17**:858–876, 1960
9. Bhatt A: Management of Peritoneal Metastases- Cytoreductive Surgery, HIPEC and Beyond. 2018
10. Bing KF, Howles GP, Qi Y, Palmeri ML, Nightingale KR: Blood-Brain Barrier (BBB) Disruption Using a Diagnostic Ultrasound Scanner and Definity® in Mice. **Ultrasound Med Biol** **35**:1298–1308, 2009
11. Bouchoux G, Shivashankar R, Abruzzo TA, Holland CK: In silico study of low-frequency transcranial ultrasound fields in acute ischemic stroke patients. **Ultrasound Med Biol** **40**:1154–1166, 2014
12. Bousquet JC, Saini S, Stark DD, Hahn PF, Nigam M, Wittenberg J, et al: Gd-DOTA: characterization of a new paramagnetic complex. **Radiology** **166**:693–698, 1988
13. Brennen CE: Fission of collapsing cavitation bubbles. **J Fluid Mech** **472**:153–166, 2002
14. Burgess MT, Apostolakis I, Konofagou EE: Power cavitation-guided blood-brain barrier opening with focused ultrasound and microbubbles. **Phys Med Biol** **63**:065009, 2018
15. Carpentier A, Canney M, Vignot A, Reina V, Beccaria K, Horodyckid C, et al: Clinical trial of blood-brain barrier disruption by pulsed ultrasound. **Sci Transl Med** **8**:343re2–343re2, 2016
16. Caskey CF, Stieger SM, Qin S, Dayton PA, Ferrara KW: Direct observations of ultrasound microbubble contrast agent interaction with the microvessel wall. **J Acoust Soc Am** **122**:1191–1200, 2007

17. Chakrabarti I, Cockburn M, Cozen W, Wang Y-P, Preston-Martin S: A population-based description of glioblastoma multiforme in Los Angeles County, 1974-1999. **Cancer** **104**:2798–2806, 2005
18. Chan YT, Ho KC: A Simple and Efficient Estimator for Hyperbolic Location. **IEEE Trans Signal Process** **42**:1905–1915, 1994
19. Chen H, Konofagou EE: The size of blood-brain barrier opening induced by focused ultrasound is dictated by the acoustic pressure. **J Cereb blood flow Metab** **34**:1197–204, 2014
20. Cho HS, Lee HY, Han M, Choi JR, Ahn S, Lee T, et al: Localized Down-regulation of P-glycoprotein by Focused Ultrasound and Microbubbles induced Blood-Brain Barrier Disruption in Rat Brain. **Sci Rep** **6**:31201, 2016
21. Choi JJ, Feshitan JA, Baseri B, Wang S, Tung Y-S, Borden MA, et al: Microbubble-size dependence of focused ultrasound-induced bloodBrain barrier opening in mice in vivo. **IEEE Trans Biomed Eng** **57**:145–154, 2010
22. Choi JJ, Selert K, Gao Z, Samiotaki G, Baseri B, Konofagou EE: Noninvasive and localized blood-brain barrier disruption using focused ultrasound can be achieved at short pulse lengths and low pulse repetition frequencies. **J Cereb Blood Flow Metab** **31**:725–737, 2011
23. Chu P-C, Chai W-Y, Tsai C-HH, Kang S-T, Yeh C-K, Liu H-LL: Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening: Association with Mechanical Index and Cavitation Index Analyzed by Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic-Resonance Imaging. **Sci Rep** **6**:33264, 2016
24. Church CC: Frequency, pulse length, and the mechanical index. **Acoust Res Lett Online** **6**:162–168, 2005
25. Clement GT, Hynynen K: A non-invasive method for focusing ultrasound through the human skull. **Phys Med Biol** **47**:1219–1236, 2002
26. Clement GT, Liu Y: Scattering from microbubble clouds: A fast multipole model with experimental validation, Barcelona: 19th Symposium of the International Society of Therapeutic Ultrasound, 2019
27. Collis J, Manasseh R, Liovic P, Tho P, Ooi A, Petkovic-Duran K, et al: Cavitation microstreaming and stress fields created by microbubbles. **Ultrasonics** **50**:273–279, 2010
28. Coviello CM, Kozick RJ, Choi JJ, Gyöngy M, Jensen C, Smith PP, et al: Passive acoustic mapping utilizing optimal beamforming in ultrasound therapy monitoring. **J Acoust Soc Am** **137**:2573, 2015
29. Coviello CM, Kozick RJ, Hurrell A, Smith PP, Coussios C-C: Thin-film sparse boundary array design for passive acoustic mapping during ultrasound therapy. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **59**:2322–2330, 2012
30. Crake C, Brinker ST, Coviello CM, Livingstone MS, McDannold NJ: A dual-mode hemispherical sparse array for 3D passive acoustic mapping and skull localization within a clinical MRI guided focused ultrasound device. **Phys Med Biol** **63**:065008, 2018
31. Crum LA, Eller AI: Motion of Bubbles in a Stationary Sound Field. **J Acoust Soc Am** **48**:181–189, 1970
32. Davidson BJ, Riley N: Cavitation microstreaming. **J Sound Vib** **15**:217–233, 1959

33. De Santis P, Sette D, Wanderlingh F: Cavitation Detection: The Use of the Subharmonics. **J Acoust Soc Am** **42**:514–516, 1967
34. Deng L, O'Reilly MA, Jones RM, An R, Hynynen K: A multi-frequency sparse hemispherical ultrasound phased array for microbubble-mediated transcranial therapy and simultaneous cavitation mapping. **Phys Med Biol** **61**:8476–8501, 2016
35. Downs ME, Buch A, Karakatsani ME, Konofagou EE, Ferrera VP: Blood-Brain Barrier Opening in Behaving Non-Human Primates via Focused Ultrasound with Systemically Administered Microbubbles. **Sci Rep** **5**:15076, 2015
36. Dréan A, Goldwirt L, Verreault M, Canney M, Schmitt C, Guehenec J, et al: Blood-brain barrier, cytotoxic chemotherapies and glioblastoma. **Expert Rev Neurother** **16**:1285–1300, 2016
37. Dubois LG, Campanati L, Righy C, D'Andrea-Meira I, e Spohr TCL de S, Porto-Carreiro I, et al: Gliomas and the vascular fragility of the blood brain barrier. **Front Cell Neurosci** **8**:418, 2014
38. Duck FA: Acoustic Properties of Tissue at Ultrasonic Frequencies, in **Physical Properties of Tissues**. London: Academic Press, 1990, pp 73–135
39. Evan AP, Willis LR, McAteer JA, Bailey MR, Connors BA, Shao Y, et al: Kidney damage and renal functional changes are minimized by waveform control that suppresses cavitation in shock wave lithotripsy. **J Urol** **168**:1556–1562, 2002
40. Fan CH, Ting CY, Chang YC, Wei KC, Liu H-LL, Yeh C-K: Drug-loaded bubbles with matched focused ultrasound excitation for concurrent blood-brain barrier opening and brain-tumor drug delivery. **Acta Biomater** **15**:89–101, 2015
41. Folds DL, Loggins CD: Transmission and reflection of ultrasonic waves in layered media. **J Acoust Soc Am** **62**:1102–1109, 1977
42. Friston KJ (Karl J., Ashburner J, Kiebel S, Nichols T, Penny WD: **Statistical Parametric Mapping : The Analysis of Funtional Brain Images**. Elsevier/Academic Press, 2007
43. Gateau J, Aubry JF, Chauvet D, Boch AL, Fink M, Tanter M: In vivo bubble nucleation probability in sheep brain tissue. **Phys Med Biol** **56**:7001–7015, 2011
44. Gateau J, Aubry JF, Pernot M, Fink M, Tanter M: Combined passive detection and ultrafast active imaging of cavitation events induced by short pulses of high-intensity ultrasound. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **58**:517–532, 2011
45. Gelman S, Fowler KC, Smith LR: Regional blood flow during isoflurane and halothane anesthesia. **Anesth Analg** **63**:557–65, 1984
46. Gilmore FR: The growth or collapse of a spherical bubble in a viscous compressible liquid. 1952
47. Goertz DE, de Jong N, Van Der Steen AFW: High frequency attenuation and size distribution measurements of definity and manipulated definity populations, in **Proceedings - IEEE Ultrasonics Symposium**. Elsevier, 2006, Vol. 1, pp 1552–1555
48. Goldwirt L, Beccaria K, Carpentier A, Idbaih A, Schmitt C, Levasseur C, et al: Preclinical impact of bevacizumab on brain and tumor distribution of irinotecan and temozolomide. **J Neurooncol** **122**:273–281, 2015

49. Goldwirt L, Canney M, Horodyckid C, Poupon J, Mourah S, Vignot A, et al: Enhanced brain distribution of carboplatin in a primate model after blood-brain barrier disruption using an implantable ultrasound device. **Cancer Chemother Pharmacol** **77**:211–216, 2016
50. Grech R, Cassar T, Muscat J, Camilleri KP, Fabri SG, Zervakis M, et al: Review on solving the inverse problem in EEG source analysis. **J Neuroeng Rehabil** **5**:25, 2008
51. Gyöngy M, Coussios C-C: Passive cavitation mapping for localization and tracking of bubble dynamics. **J Acoust Soc Am** **128**:EL175–EL180, 2010
52. Gyöngy M, Coussios C-C: Passive spatial mapping of inertial cavitation during HIFU exposure. **IEEE Trans Biomed Eng** **57**:48–56, 2010
53. Gyöngy M, Coviello CM: Passive cavitation mapping with temporal sparsity constraint. **J Acoust Soc Am** **130**:3489–3497, 2011
54. Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. **Cell** **100**:57–70, 2000
55. Haworth KJ, Bader KB, Rich KT, Holland CK, Mast TD: Quantitative frequency-domain passive cavitation imaging. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **64**:177–191, 2017
56. Heye AK, Culling RD, Valdés Hernández MDC, Thrippleton MJ, Wardlaw JM: Assessment of blood-brain barrier disruption using dynamic contrast-enhanced MRI. A systematic review. **NeuroImage Clin** **6**:262–274, 2014
57. Hilgenfeldt S, Lohse D, Zomack M: Sound scattering and localized heat deposition of pulse-driven microbubbles. **J Acoust Soc Am** **107**:3530–3539, 2000
58. Hillen F, Griffioen AW: Tumour vascularization: sprouting angiogenesis and beyond. **Cancer Metastasis Rev** **26**:489–502, 2007
59. Holland CK, Apfel RE: Thresholds for transient cavitation produced by pulsed ultrasound in a controlled nuclei environment. **J Acoust Soc Am** **88**:2059–2069, 1990
60. Horodyckid C, Canney M, Vignot A, Boisgard R, Drier A, Huberfeld G, et al: Safe long-term repeated disruption of the blood-brain barrier using an implantable ultrasound device: a multiparametric study in a primate model. **J Neurosurg** **126**:1351–1361, 2017
61. Huang Y, Alkins R, Schwartz ML, Hynynen K: Opening the Blood-Brain Barrier with MR Imaging-guided Focused Ultrasound: Preclinical Testing on a Trans-Human Skull Porcine Model. **Radiology** **282**:123–130, 2017
62. Hynynen K, McDannold NJ, Clement G, Jolesz FA, Zadicario E, Killiany R, et al: Pre-clinical testing of a phased array ultrasound system for MRI-guided noninvasive surgery of the brain-A primate study. **Eur J Radiol** **59**:149–156, 2006
63. Hynynen K, McDannold NJ, Vykhodtseva NI, Jolesz FA: Noninvasive MR Imaging-guided Focal Opening of the Blood-Brain Barrier in Rabbits. **Radiology** **220**:640–646, 2001
64. Idbaih A, Canney M, Bouchoux G, Desseaux C, Vignot A, Lafon C, et al: Safety and feasibility of temporary blood-brain barrier disruption with the SonoCloud-1/3 implantable ultrasound device in recurrent glioblastoma. **Neuro Oncol** **21**:iii34–iii35, 2019
65. Idbaih A, Canney M, Belin L, Desseaux C, Vignot A, Bouchoux G, et al: Safety and Feasibility of Repeated and Transient Blood-Brain Barrier Disruption by Pulsed Ultrasound in Patients with Recurrent Glioblastoma. **Clin Cancer Res**:clincanres.3643.2018, 2019

66. Jones RM, Deng L, Leung K, McMahon D, O'Reilly MA, Hynynen K: Three-dimensional transcranial microbubble imaging for guiding volumetric ultrasound-mediated blood-brain barrier opening. **Theranostics** **8**:2909–2926, 2018
67. Jones RM, O'Reilly MA, Hynynen K: Experimental demonstration of passive acoustic imaging in the human skull cavity using CT-based aberration corrections. **Med Phys** **42**:4385–4400, 2015
68. Jones RM, O'Reilly MA, Hynynen K: Transcranial passive acoustic mapping with hemispherical sparse arrays using CT-based skull-specific aberration corrections: a simulation study. **Phys Med Biol** **58**:4981–5005, 2013
69. Jones SF, Evans GM, Galvin KP: Bubble nucleation from gas cavities - A review. **Adv Colloid Interface Sci** **80**:27–50, 1999
70. Juntu J, Sijbers J, Dyck D, Gielen J: Bias Field Correction for MRI Images, Springer, Berlin, Heidelberg, 2008, pp 543–551
71. Keller JB, Miksis M: Bubble oscillations of large amplitude. **J Acoust Soc Am** **68**:628–633, 1980
72. Lafond M: Confocal Ultrasound for the Potentiation of Chemotherapy by Ultrasonic Cavitation without External Nucleation Agents. 2016
73. Lafond M, Asquier N, Mestas JLA, Carpentier A, Umemura SI, Lafon C: Evaluation of a Three-Hydrophone Method for 2-D Cavitation Localization. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **65**:1093–1101, 2018
74. Leighton TG, Apfel RE: The Acoustic Bubble. **J Acoust Soc Am** **96**:2616–2616, 1994
75. Li X, Deng ZD, Rauchenstein LT, Carlson TJ: Contributed Review: Source-localization algorithms and applications using time of arrival and time difference of arrival measurements. **Rev Sci Instrum** **87**:041502, 2016
76. Lipsman N, Meng Y, Bethune AJ, Huang Y, Lam B, Masellis M, et al: Blood–brain barrier opening in Alzheimer’s disease using MR-guided focused ultrasound. **Nat Commun** **9**:2336, 2018
77. Liu H-LL, Pan CH, Ting CY, Hsiao MJ: Opening of the Blood-Brain Barrier by Low-Frequency (28-kHz) Ultrasound: A Novel Pinhole-Assisted Mechanical Scanning Device. **Ultrasound Med Biol** **36**:325–335, 2010
78. MacLean WR: Absolute Measurement of Sound Without a Primary Standard. **J Acoust Soc Am** **12**:140–146, 1940
79. Mainprize T, Lipsman N, Huang Y, Meng Y, Bethune AJ, Ironside S, et al: Blood-Brain Barrier Opening in Primary Brain Tumors with Non-invasive MR-Guided Focused Ultrasound: A Clinical Safety and Feasibility Study. **Sci Rep** **9**:321, 2019
80. Makino K, Mossoba MM, Riesz P: Chemical Effects of Ultrasound on Aqueous Solutions. Evidence for  $\cdot\text{OH}$  and  $\cdot\text{H}$  by Spin Trapping. **J Am Chem Soc** **104**:3537–3539, 1982
81. Mannaris C, Bau L, Grundy M, Gray M, Lea-Banks H, Seth A, et al: Microbubbles, Nanodroplets and Gas-Stabilizing Solid Particles for Ultrasound-Mediated Extravasation of Unencapsulated Drugs: An Exposure Parameter Optimization Study. **Ultrasound Med Biol** **45**:954–967, 2019
82. Marmottant P, Hilgenfeldt S: Controlled vesicle deformation and lysis by single oscillating bubbles. **Nature** **423**:153–156, 2003

83. Marmottant P, van der Meer S, Emmer M, Versluis M, de Jong N, Hilgenfeldt S, et al: A model for large amplitude oscillations of coated bubbles accounting for buckling and rupture. **J Acoust Soc Am** **118**:3499–3505, 2005
84. Marquet F, Aubry JF, Pernot M, Fink M, Tanter M: Optimal transcostal high-intensity focused ultrasound with combined real-time 3D movement tracking and correction. **Phys Med Biol** **56**:7061–7080, 2011
85. Marquet F, Teichert T, Wu S-Y, Tung Y-S, Downs ME, Wang S, et al: Real-time, transcranial monitoring of safe blood-brain barrier opening in non-human primates. **PLoS One** **9**:e84310, 2014
86. Marquet F, Tung Y-S, Teichert T, Ferrera VP, Konofagou EE: Noninvasive, transient and selective Blood-Brain barrier opening in Non-Human primates in vivo. **PLoS One** **6**:e22598, 2011
87. Marty B, Larrat B, Van Landeghem M, Robic C, Robert P, Port M, et al: Dynamic study of blood-brain barrier closure after its disruption using ultrasound: A quantitative analysis. **J Cereb Blood Flow Metab** **32**:1948–1958, 2012
88. Maynard JD, Williams EG, Lee Y: Nearfield acoustic holography: I. Theory of generalized holography and the development of NAH. **J Acoust Soc Am** **78**:1395–1413, 1985
89. McDannold NJ, Arvanitis CD, Vykhodtseva NI, Livingstone MS: Temporary disruption of the blood-brain barrier by use of ultrasound and microbubbles: Safety and efficacy evaluation in rhesus macaques. **Cancer Res** **72**:3652–3663, 2012
90. McDannold NJ, Vykhodtseva NI, Hynynen K: Blood-Brain Barrier Disruption Induced by Focused Ultrasound and Circulating Preformed Microbubbles Appears to Be Characterized by the Mechanical Index. **Ultrasound Med Biol** **34**:834–840, 2008
91. McDannold NJ, Vykhodtseva NI, Hynynen K: Targeted disruption of the blood-brain barrier with focused ultrasound: association with cavitation activity. **Phys Med Biol** **51**:793–807, 2006
92. McDannold NJ, Vykhodtseva NI, Jolesz FA, Hynynen K: MRI investigation of the threshold for thermally induced blood-brain barrier disruption and brain tissue damage in the rabbit brain. **Magn Reson Med** **51**:913–923, 2004
93. Menze BH, Jakab A, Bauer S, Kalpathy-Cramer J, Farahani K, Kirby J, et al: The Multimodal Brain Tumor Image Segmentation Benchmark (BRATS). **IEEE Trans Med Imaging** **34**:1993–2024, 2015
94. Miller MW, Miller DL, Brayman AA: A review of in vitro bioeffects of inertial ultrasonic cavitation from a mechanistic perspective. **Ultrasound Med Biol** **22**:1131–1154, 1996
95. Minnaert M: On musical air-bubbles and the sounds of running water. **London, Edinburgh, Dublin Philos Mag J Sci** **16**:235–248, 1933
96. Neppiras EA: Subharmonic and other low-frequency signals from sound-irradiated liquids. **J Sound Vib** **10**:176–186, 1969
97. Nigmatulin RI, Taleyarkhan RP, Lahey RT: Evidence for nuclear emissions during acoustic cavitation revisited. **Proc Inst Mech Eng Part A J Power Energy** **218**:345–364, 2004
98. Noltingk BE, Neppiras EA: Cavitation produced by Ultrasonics. **Proc Phys Soc Sect B** **63**:674–685, 1950
99. O'Reilly MA, Hough O, Hynynen K: Blood-Brain Barrier Closure Time After Controlled Ultrasound-Induced Opening Is Independent of Opening Volume. **J Ultrasound Med** **36**:475–483, 2017

100. O'Reilly MA, Hynynen K: A PVDF receiver for ultrasound monitoring of transcranial focused ultrasound therapy. **IEEE Trans Biomed Eng** **57**:2286–2294, 2010
101. O'Reilly MA, Hynynen K: Blood-Brain Barrier: Real-time Feedback-controlled Focused Ultrasound Disruption by Using an Acoustic Emissions-based Controller. **Radiology** **263**:96–106, 2012
102. O'Reilly MA, Jones RM, Hynynen K: Three-dimensional transcranial ultrasound imaging of microbubble clouds using a sparse hemispherical array. **IEEE Trans Biomed Eng** **61**:1285–1294, 2014
103. Obreschkow D, Tinguely M, Dorsaz N, Kobel P, de Bosset A, Farhat M: Universal Scaling Law for Jets of Collapsing Bubbles. **Phys Rev Lett** **107**:204501, 2011
104. Olumolade OO, Wang S, Samiotaki G, Konofagou EE: Longitudinal Motor and Behavioral Assessment of Blood-Brain Barrier Opening with Transcranial Focused Ultrasound. **Ultrasound Med Biol** **42**:2270–2282, 2016
105. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Rouse C, Chen Y, Dowling J, et al: CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007–2011. **Neuro Oncol** **16**:iv1–iv63, 2014
106. Pichardo S, Sin VW, Hynynen K: Multi-frequency characterization of the speed of sound and attenuation coefficient for longitudinal transmission of freshly excised human skulls. **Phys Med Biol** **56**:219–250, 2011
107. Plesset MS: The Dynamics of Cavitation Bubbles. **J Appl Mech** **16**:277–282, 1949
108. Podell S, Burrascano C, Gaal M, Golec B, Maniquis J, Mehlhaff P: Physical and biochemical stability of Optison®, an injectable ultrasound contrast agent. **Biotechnol Appl Biochem** **30**:213–223, 1999
109. Postema M, Van Wamel A, Lancée CT, De Jong N: Ultrasound-induced encapsulated microbubble phenomena. **Ultrasound Med Biol** **30**:827–840, 2004
110. Prentice P, Cuschieri A, Dholakia K, Prausnitz M, Campbell P: Membrane disruption by optically controlled microbubble cavitation. **Nat Phys** **1**:107–110, 2005
111. Prieur F, Zorgani A, Catheline S, Souchon R, Mestas JL, Lafond M, et al: Observation of a cavitation cloud in tissue using correlation between ultrafast ultrasound images. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **62**:1256–1264, 2015
112. Prokop AF, Soltani A, Roy RA: Cavitation Mechanisms in Ultrasound-Accelerated Fibrinolysis. **Ultrasound Med Biol** **33**:924–933, 2007
113. Raub TJ, Kuentzel SL, Sawada GA: Permeability of bovine brain microvessel endothelial cells in vitro: barrier tightening by a factor released from astrogloma cells. **Exp Cell Res** **199**:330–40, 1992
114. Raymond SB, Skoch J, Hynynen K, Bacskai BJ: Multiphoton imaging of ultrasound/Optison mediated cerebrovascular effects in vivo. **J Cereb Blood Flow Metab** **27**:393–403, 2007
115. Reni M, Mazza E, Zanon S, Gatta G, Vecht CJ: Central nervous system gliomas. **Crit Rev Oncol Hematol** **113**:213–234, 2017
116. Salgaonkar VA, Datta S, Holland CK, Mast TD: Passive cavitation imaging with ultrasound arrays. **J Acoust Soc Am** **126**:3071–83, 2009

117. Samiotaki G, Acosta C, Wang S, Konofagou EE: Enhanced Delivery and Bioactivity of the Neurturin Neurotrophic Factor through Focused Ultrasound—Mediated Blood—Brain Barrier Opening in vivo. **J Cereb Blood Flow Metab** **35**:611–622, 2015
118. Samiotaki G, Vlachos F, Tung Y-S, Konofagou EE: A quantitative pressure and microbubble-size dependence study of focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening reversibility in vivo using MRI. **Magn Reson Med** **67**:769–777, 2012
119. Sboros V: Response of contrast agents to ultrasound. **Adv Drug Deliv Rev** **60**:1117–1136, 2008
120. Schneider M: Characteristics of SonoVue™. **Echocardiography** **16**:743–746, 1999
121. Schneider M: SonoVue, a new ultrasound contrast agent. **Eur Radiol** **9**:S347–S348, 1999
122. Schneider M, Anantharam B, Arditi M, Bokor D, Broillet A, Bussat P, et al: BR38, a new ultrasound blood pool agent. **Invest Radiol** **46**:486–494, 2011
123. Şen T, Tüfekçioğlu O, Koza Y: Mechanical index. **Anatol J Cardiol** **15**:334–6, 2015
124. Sheikov NA, McDannold NJ, Jolesz F, Zhang Y, Tam K, Hynynen K: Brain arterioles show more active vesicular transport of blood-borne tracer molecules than capillaries and venules after focused ultrasound-evoked opening of the blood-brain barrier. **Ultrasound Med Biol** **32**:1399–1409, 2006
125. Sheikov NA, McDannold NJ, Vykhodtseva NI, Jolesz F, Hynynen K: Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles. **Ultrasound Med Biol** **30**:979–989, 2004
126. Sherman CH, Butler JL, Sherman CH, Butler JL: Acoustic Radiation from Transducers, in **Transducers and Arrays for Underwater Sound**. New York, NY: Springer New York, 2007, pp 438–466
127. Shin J, Kong C, Cho JS, Lee J, Koh CS, Yoon MS, et al: Focused ultrasound-mediated noninvasive blood-brain barrier modulation: Preclinical examination of efficacy and safety in various sonication parameters. **Neurosurg Focus** **44**:E15, 2018
128. Sprowls SA, Arsiwala TA, Bumgarner JR, Shah N, Lateef SS, Kielkowski BN, et al: Improving CNS Delivery to Brain Metastases by Blood–Tumor Barrier Disruption. **Trends in Cancer** **5**:495–505, 2019
129. Strutt JW: The Theory of Sound: Volume 1. 1877
130. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, et al: Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. **N Engl J Med** **352**:987–996, 2005
131. Suarez Escudero D, Goudot G, Vion M, Tanter M, Pernot M: 2D and 3D real-time passive cavitation imaging of pulsed cavitation ultrasound therapy in moving tissues. **Phys Med Biol** **63**:235028, 2018
132. Sun T, Samiotaki G, Wang S, Acosta C, Chen CC, Konofagou EE: Acoustic cavitation-based monitoring of the reversibility and permeability of ultrasound-induced blood-brain barrier opening. **Phys Med Biol** **60**:9079–94, 2015
133. Taylor AJ, Salerno M, Dharmakumar R, Jerosch-Herold M: T1 Mapping Basic Techniques and Clinical Applications. **JACC Cardiovasc Imaging** **9**:67–81, 2016
134. Tho P, Manasseh R, Ioo A: Cavitation microstreaming patterns in single and multiple bubble systems. **J Fluid Mech** **576**:191–233, 2007

135. Treat LH, McDannold NJ, Vykhodtseva NI, Zhang Y, Tam K, Hynynen K: Targeted delivery of doxorubicin to the rat brain at therapeutic levels using MRI-guided focused ultrasound. **Int J Cancer** **121**:901–907, 2007
136. Tringali S, Pouget JF, Bertholon P, Dubreuil C, Martin C: Value of temporal bone density measurements in otosclerosis patients with normal-appearing computed tomographic scan. **Ann Otol Rhinol Laryngol** **116**:195–198, 2007
137. Tsai C-HH, Zhang J-WW, Liao Y-YY, Liu H-LL: Real-time monitoring of focused ultrasound blood-brain barrier opening via subharmonic acoustic emission detection: Implementation of confocal dual-frequency piezoelectric transducers. **Phys Med Biol** **61**:2926–2946, 2016
138. Tung Y-S, Marquet F, Teichert T, Ferrera VP, Konofagou EE: Feasibility of noninvasive cavitation-guided blood-brain barrier opening using focused ultrasound and microbubbles in nonhuman primates. **Appl Phys Lett** **98**:163704, 2011
139. Tung Y-S, Vlachos F, Choi JJ, Deffieux T, Selert K, Konofagou EE: In vivo transcranial cavitation threshold detection during ultrasound-induced blood-brain barrier opening in mice. **Phys Med Biol** **55**:6141–6155, 2010
140. Tung Y-S, Vlachos F, Feshitan JA, Borden MA, Konofagou EE: The mechanism of interaction between focused ultrasound and microbubbles in blood-brain barrier opening in mice. **J Acoust Soc Am** **130**:3059, 2011
141. van Wamel A, Kooiman K, Hartevelde M, Emmer M, ten Cate FJ, Versluis M, et al: Vibrating microbubbles poking individual cells: Drug transfer into cells via sonoporation. **J Control Release** **112**:149–155, 2006
142. Vignon F, Shi W, Powers JE, Everbach EC, Liu J, Gao S, et al: Microbubble cavitation imaging. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **60**:661–670, 2013
143. Vlachos F, Tung Y-S, Konofagou EE: Permeability dependence study of the focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening at distinct pressures and microbubble diameters using DCE-MRI. **Magn Reson Med** **66**:821–830, 2011
144. Vykhodtseva NI, Hynynen K, Damianou C: Histologic effects of high intensity pulsed ultrasound exposure with subharmonic emission in rabbit brain in vivo. **Ultrasound Med Biol** **21**:969–979, 1995
145. Vykhodtseva NI, McDannold NJ, Hynynen K: Progress and problems in the application of focused ultrasound for blood-brain barrier disruption. **Ultrasonics** **48**:279–296, 2008
146. Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, Cloughesy TF, Sorensen AG, Galanis E, et al: Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. **J Clin Oncol** **28**:1963–1972, 2010
147. Wijnhoud AD, Franckena M, van der Lugt A, Koudstaal PJ, Dippel en DWJ: Inadequate Acoustical Temporal Bone Window in Patients with a Transient Ischemic Attack or Minor Stroke: Role of Skull Thickness and Bone Density. **Ultrasound Med Biol** **34**:923–929, 2008
148. Wolfrum B, Mettin R, Kurz T, Lauterborn W: Observations of pressure-wave-excited contrast agent bubbles in the vicinity of cells. **Appl Phys Lett** **81**:5060–5062, 2002
149. Wu S-Y, Aurup C, Sanchez CS, Grondin J, Zheng W, Kamimura H, et al: Efficient blood-brain barrier opening in primates with neuronavigation-guided ultrasound and real-time acoustic mapping. **Sci Rep** **8**:7978, 2018

150. Wu S-Y, Sanchez CS, Samiotaki G, Buch A, Ferrera VP, Konofagou EE: Characterizing Focused-Ultrasound Mediated Drug Delivery to the Heterogeneous Primate Brain In Vivo with Acoustic Monitoring. **Sci Rep** **6**:37094, 2016
151. Wu S-Y, Tung Y-S, Marquet F, Downs ME, Sanchez CS, Chen CC, et al: Transcranial cavitation detection in primates during blood-brain barrier opening-a performance assessment study. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **61**:966–978, 2014
152. Yasui K, Tuziuti T, Lee J, Kozuka T, Towata A, Iida Y: Numerical simulations of acoustic cavitation noise with the temporal fluctuation in the number of bubbles. **Ultrason Sonochem** **17**:460–472, 2010
153. Youden WJ: Index for rating diagnostic tests. **Cancer** **3**:32–35, 1950
154. Zhen Xu, Ludomirsky A, Eun LY, Hall TL, Tran BC, Fowlkes JB, et al: Controlled ultrasound tissue erosion. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control** **51**:726–736, 2004