



**HAL**  
open science

# Etude de la cavitation ultrasonore pour le traitement de la presbytie et développement d'une méthode d'élastographie du cristallin

Alice Ganeau

► **To cite this version:**

Alice Ganeau. Etude de la cavitation ultrasonore pour le traitement de la presbytie et développement d'une méthode d'élastographie du cristallin. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2023. Français. NNT : 2023LYO10235 . tel-04880855

**HAL Id: tel-04880855**

**<https://theses.hal.science/tel-04880855v1>**

Submitted on 11 Jan 2025

**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.



N° d'ordre NNT :

# **THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

**Ecole Doctorale N° 205  
Ecole Doctorale Interdisciplinaire Science-Santé (EDISS)**

**Discipline** : Santé

Soutenue publiquement le 17/11/2023, par :

**Alice Ganeau**

---

## **Etude de la cavitation ultrasonore pour le traitement de la presbytie et développement d'une méthode d'élastographie du cristallin**

Devant le jury composé de :

Muller, Marie,	Assistant professor, North Carolina State University,	<i>Rapportrice</i>
Vappou, Jonathan,	Chargé de recherche CNRS, ICUBE, Université de Strasbourg	<i>Rapporteur</i>
Liebgott, Hervé,	Professeur, CREATIS,	<i>Président du jury</i>
Creuzot-Garcher, Catherine,	PUPH, CGSA, CHU de Dijon	<i>Examinatrice</i>
Gain, Philippe,	PUPH, BiiO, CHU de St Etienne	<i>Invité</i>
Lafon, Cyril,	Directeur de recherche INSERM, LabTAU,	<i>Directeur de thèse</i>
Catheline, Stefan,	Directeur de recherche INSERM, LabTAU,	<i>Co-encadrant de thèse</i>
Lafond, Maxime,	Chargé de recherche INSERM, LabTAU,	<i>Co-encadrant de thèse</i>

## Remerciements :

Je souhaiterais remercier, dans un premier temps, les membres du jury : Pr. Hervé Liebgott, Pr. Catherine Creuzot-Garcher, Pr. Phillipe Gain, Dr. Jonathan Vappou et Dr. Marie Muller pour avoir accepté d'évaluer ces travaux de thèse lors de la soutenance, pour les discussions scientifiques qui s'en sont suivies et qui m'ont permises d'avoir un autre regard sur ce projet de recherche. Un remerciement sincère à Marie Muller et Jonathan Vappou pour avoir lu et corrigé mon manuscrit de thèse.

Ces travaux de thèse n'auraient pas pu être menés à bien sans mes trois encadrants qui ont, tous à leur manière, su me guider, me rassurer et m'aider lorsque j'en avais besoin. Merci à Cyril Lafon pour m'avoir lancé sur le projet, pour sa confiance, son goût pour la compétition et pour les « teambuildings ». Merci à Stefan Catheline, pour m'avoir initié à la théorie du retournement temporel, pour son écoute, sa disponibilité, son optimisme sans faille et les réunions mousseuses du vendredi soir au Kaffe Berlin. Enfin, merci à Maxime Lafond pour m'avoir remotivé lorsque je n'y croyais plus, pour sa patience, sa disponibilité sur les manip, mais aussi pour les sorties running. On ne sera jamais lassé de voir des nuages de bulles caver dans le cristallin. Merci pour le traquenard de la Sainté Lyon : y'a plus qu'à ! Je voulais également remercier François Legrand, post-doctorant sur le projet. Merci pour ses conseils avisés, pour m'avoir rassuré, pour m'avoir coaché, pour m'avoir aidé sur les expérimentations, pour les simulations et pour les photos « cute ». Tu deviendras, sans hésiter, un excellent chercheur. Merci également à Clément Foullounoux pour ta curiosité scientifique, ton aide précieuse sur ces derniers mois de thèse. Je te souhaite de belles années au sein du LabTAU.

Ce projet de thèse est un travail de collaboration entre différents domaines de recherche : les ultrasons et l'ophtalmologie. Ainsi, je souhaitais également remercier les membres du BiiO, laboratoire de St Etienne, spécialisé dans la Bio-Ingénierie et l'Imagerie pour l'Ophtalmologie, dirigé par le Pr. Philippe Gain et le Pr. Gilles Thuret. Merci à Frédéric Mascarelli, pour sa rigueur et sa curiosité scientifique, pour les conférences sur le cristallin qui m'ont permises de comprendre que sous cet organe en l'apparence simple, se cachait une forte complexité. Merci à Olfa Ben Moussa et Sylvain Poinard avec qui j'ai commencé les premières expériences sur le cristallin. Merci à Marielle Mentek et Louise Coullomb pour m'avoir permis de récupérer des échantillons.

Je tenais également à remercier la « team » Veinsound composée de Bernard Grellier, Paul Grellier et Loïc Daunizeau. Merci pour votre aide précieuse sans laquelle les premiers résultats n'auraient pas pu être obtenus. Merci également à Sébastien Maneville et Thibaut Divoux pour votre accueil au sein du laboratoire de Physique de l'ENS.

Ces travaux de thèse clôturent 5 années au sein de la grande famille du LabTAU, où j'ai pu évoluer en tant que stagiaire, puis ingénieure d'étude et enfin thésarde. Je souhaitais ainsi remercier mes encadrants : David Melodelima et Victor Barrere pour les débuts, et Apoutou N'Djin pour la suite. Au-delà du côté scientifique, une véritable entraide et amitié est née. Merci au bureau de la rage composé de Gabrielle, Sophie, Audrey et également Myléva, dit Mymy la squatteuse. Merci pour ces moments de joie, de rire et bien sûr de rage ! Merci Mymy pour m'avoir supporté sur les derniers mois, merci pour m'avoir remotivé pendant la rédaction et mes moments de « down » : un véritable rayon de soleil ! Le bureau de la rage va perdurer : bon courage à Elorri et Sibylle. Merci à Manon, Tom, Ivan,

Andrew, Adrien, Bruno, Marine, Antoine, Victor et tous les membres du laboratoire pour les moments partagés ensemble à la cafet, les sessions Kaffe Berlin, les sessions running... Merci aux « anciens » : Jade, Marine, Tristan, Guillaume ... Un remerciement tout particulier à l'équipe de choc des gestionnaires : Catherine, Leila, Sandrine. Merci pour votre dévouement et votre patience face aux dédales des démarches administratives. Merci Catherine pour ton écoute attentive et tes encouragements quotidiens. Merci également à Magali et Jacqueline, toujours là pour nous aider lorsqu'on panique en biologie ou en chimie. Merci à Françoise, Yamina, Soufiane, Rémi pour leur aide précieuse et leur accueil chaleureux.

Je ne pourrais pas ne pas remercier mes amis. Merci à Nina et Louise, les compères de Biomed : notre amitié est d'autant plus forte aujourd'hui. Merci au groupe des WHOOP. Merci pour votre accueil, pour les week-ends de dingue à 30 personnes. Un remerciement tout particulier à Anaïs, Manue, Loïs, Tiphaine, Marc pour vous être déplacé à la soutenance. Merci aussi au groupe des Lyonnais : Baruch, Mamat, Audrey, ... et les expats Simon et Marion.

Merci à ma famille, mes parents pour m'avoir soutenu tout au long de mes études. Merci à Louise pour tes conseils de Docteure accomplie. Merci à la famille Lima pour leur accueil chaleureux. Enfin, je souhaitais remercier Alexandre, plus connu sous le nom de « Lima ». Merci de m'avoir supporté pendant ces 3 ans et de me supporter encore. Merci pour ta bienveillance, pour ta patience infinie, ton écoute attentive, tes paroles réconfortantes et ton amour inconditionnel.

# Table des matières

Remerciements :.....	2
Tables des illustrations .....	7
Glossaire et abréviations : .....	11
Introduction générale :.....	12
Chapitre I : Etat de l'art.....	14
Introduction :.....	14
1. La Presbytie.....	14
1.1 Fonctionnement du système oculaire et accommodation .....	14
1.2 La presbytie : perte d'accommodation et rigidification du cristallin.....	17
1.3 Solutions optiques et traitements pour diminuer les effets de la presbytie.....	24
1.4 Conclusion et perspectives .....	27
2. Vers l'utilisation des ultrasons de haute intensité pour le traitement de la presbytie .....	28
2.1 Description des ultrasons thérapeutiques ou HIFU .....	28
2.2 Utilisation des HIFU dans le domaine de l'ophtalmologie .....	43
2.3 Vers l'utilisation des HIFU pour le traitement de la presbytie .....	45
3. Mesure de l'élasticité du cristallin .....	45
3.1 Rappel sur la méthode : élastographie par ondes de cisaillement .....	46
3.2 Etat de l'art des méthodes de mesure d'élasticité du cristallin par les ondes de compression et de cisaillement .....	54
3.3 Conclusion et perspectives .....	56
Conclusion du Chapitre I :.....	57
Références Bibliographiques du Chapitre I :.....	58
Chapitre II : Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin .....	65
Introduction :.....	65
1. Expérimentation avec un dispositif confocal 3 transducteurs .....	65
1.1 Description du dispositif : .....	65
1.2 Matériels et méthode : .....	66
1.3 Résultats : .....	69
1.4 Discussion : .....	73
2. Expérimentation avec un dispositif confocal 4 transducteurs .....	74

2.1	<b>Matériel et méthode :</b> .....	74
2.2	<b>Résultats :</b> .....	76
2.3	<b>Discussion :</b> .....	80
3.	Détermination du niveau de seuil de déclenchement de la cavitation dans le cristallin par imagerie passive .....	82
3.1	<b>Matériel et méthode</b> .....	83
3.2	<b>Résultats</b> .....	85
3.3	<b>Discussion</b> .....	87
	Conclusion du Chapitre II :.....	89
	Références bibliographiques du Chapitre II : .....	90
	Chapitre III : Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie .....	91
	Introduction :.....	91
1.	Caractérisation en pression .....	91
1.1	<b>Description du transducteur</b> .....	91
1.2	<b>Caractérisation en pression : mesure à l'hydrophone optique et étude numérique</b> .....	93
1.3	<b>Conclusion et perspectives</b> .....	100
2.	Mesure du seuil de déclenchement de cavitation dans le cristallin.....	101
2.1	<b>Matériel et méthode</b> .....	101
2.2	<b>Résultats :</b> .....	104
2.3	<b>Conclusion et discussion</b> .....	108
3.	Etude de la dissolution des nuages de bulles dans le cristallin .....	110
3.1	<b>Matériel et méthode</b> .....	110
3.2	<b>Résultats</b> .....	110
3.3	<b>Conclusion et perspectives</b> .....	112
	Conclusion du Chapitre III :.....	114
	Références bibliographiques du Chapitre III : .....	116
	Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin .....	117
	Introduction :.....	117
1.	Expérimentations préliminaires : effet de la cavitation ultrasonore sur l'élasticité de gels d'ovalbumine.....	117
1.1	<b>Matériel et méthode</b> .....	118
1.2	<b>Résultats</b> .....	120
1.3	<b>Discussion</b> .....	123

2.	Application des algorithmes d'élastographie par corrélation de bruit aux ondes de surface ..	124
2.1	<b>Méthode</b> .....	124
2.2	<b>Résultats</b> .....	129
2.3	<b>Conclusion</b> .....	132
3.	Application aux ondes de surfaces sur une interface curviligne : inclusions numériques et billes	133
3.1	<b>Méthode</b> .....	133
3.2	<b>Résultats</b> .....	135
3.3	<b>Discussion</b> .....	137
4.	Application à des échantillons de cristallins porcins .....	138
4.1	<b>Méthode</b> .....	138
4.2	<b>Résultats</b> .....	138
4.3	<b>Discussion</b> .....	141
5.	Suivi d'un changement d'élasticité dans le cristallin .....	143
5.1	<b>Rigidification par incubation à 50°C</b> .....	143
5.2	<b>Rigidification par traitement HIFU thermique</b> .....	147
	Conclusion du Chapitre IV :.....	155
	Références Bibliographiques du Chapitre IV :.....	157
	Conclusion générale : .....	160
	Résumé : 162	
	Abstract: 163	

# Tables des illustrations

Figure I-1 : Schéma anatomique de l'œil .....	15
Figure I-2 : Analogie entre le système oculaire et l'appareil photographique .....	15
Figure I-3 : Schéma de principe du phénomène d'accommodation : .....	16
Figure I-4 : Schéma de principe des différents défauts visuels : .....	17
Figure I-5 : Evolution de l'amplitude d'accommodation en fonction de l'âge. ....	17
Figure I-6 : Schéma de l'anatomie cellulaire du cristallin.....	19
Figure I-7 : Schéma morphologique du cristallin .....	20
Figure I-8 : Morphologie des fibres d'un cristallin humain jeune.....	20
Figure I-9 : Photographies extraites des expérimentations de lens spinner. ....	21
Figure I-10 : Expérimentations de micro-indentation.....	22
Figure I-11 : Fraction de cristallines $\alpha$ soluble dans le noyau de cristallins humains en fonction de l'âge. ....	23
Figure I-12 : Différence de diffusion de glutathion entre des cristallins humains jeune et âgé.....	24
Figure I-13 : Schéma de principe des lunettes progressives .....	25
Figure I-14 : Schéma des différentes étapes de la chirurgie RLE par phacoémulsification. ....	25
Figure I-15 : Schéma des étapes de la chirurgie réfractive LASIK de la cornée .....	26
Figure I-16 : Exemples de dispositifs HIFU commercialisés.....	30
Figure I-17 : Schéma présentant les deux régimes de cavitation : le régime stable et le régime inertiel .....	31
Figure I-18 : Schéma de principe d'un diagramme de phase de l'eau .....	31
Figure I-19 : Schémas de principe de plusieurs stratégies de la formation de cavitation dans les tissus. ....	32
Figure I-20 : Principe de l'histrotripsie par onde de choc.....	33
Figure I-21 : Histrotripsie par ébullition et conditions d'insonification nécessaires. ....	33
Figure I-22 : Exemples de deux traitements par cavitation inertielle et ondes de choc. ....	34
Figure I-23 : Schéma récapitulatif des effets biophysiques de la sonoporation générée par la cavitation stable ou inertielle de microbulles.....	35
Figure I-24 : Description de l'image échographique d'un œil porcin ex-vivo.....	36
Figure I-25 : Caractéristiques fréquentielles de signaux d'activité de cavitation. ....	37
Figure I-26 : Schéma de principe de l'algorithme de beamforming du DSI.....	38
Figure I-27 : Exemples de résultats de PAM pendant une insonification ultrasonore .....	39
Figure I-28 : Schémas expliquant l'effet de la non-linéarité sur la vitesse de propagation et sur la forme d'onde.....	40
Figure I-29 : Schéma de principe d'un transducteur sphérique.....	42
Figure I-30 : Schéma de principe de la géométrie confocale. ....	42
Figure I-31 : Schéma du dispositif HIFU pour le traitement du glaucome .....	44
Figure I-32 : Schémas de principe de la propagation des ondes de compression et de cisaillement ....	46
Figure I-33 : Schémas de principe de deux méthodes pour créer des ondes de cisaillement. ....	47
Figure I-34 : Simulation 2D par différences finies de l'équation des ondes élastiques .....	48
Figure I-35 : Principe de l'algorithme d'élastographie par corrélation de bruit.....	49
Figure I-36 : Résultats de l'algorithme d'élastographie par corrélation de bruit pour la simulation .....	50



Figure I-37 : Elastographie passive par ultrasons d'un foie humain in vivo .....	51
Figure I-38 : Elastographie active par OCT de la partie antérieure de l'œil d'un rat in vivo.....	51
Figure I-39 : Elastographie active par microscope d'un ovocyte de souris. ....	52
Figure I-40 : Elastographie passive par IRM d'un cerveau humain in vivo. ....	52
Figure I-41 : Résultats de la méthode Brillouin sur des cristallins de souris in vivo .....	54
Figure I-42 : Image OCT de la partie antérieure d'un globe oculaire ex-vivo de lapin. ....	55
Figure I-43 : Résultats de l'élastographie par suivi d'ondes de surface sur des modèles in vivo de lapin .....	56
Figure II-1 : Photo de la sonde C-3T .....	66
Figure II-2 : Montage expérimental de l'insonification du cristallin avec la sonde C-3T. ....	68
Figure II-3 : Forme d'onde mesurée par l'hydrophone optique pour une tension de commande de 778Vpp .....	69
Figure II-4 : Maximums de pression négative et de pression positive mesurés à la focale du transducteur C-3T en fonction de la tension de commande .....	70
Figure II-5 : Mesure de puissance acoustique de la sonde C-3T. ....	71
Figure II-6 : Images échographiques avant et pendant l'insonification avec la sonde C-3T,.....	71
Figure II-7 : Images d'un cristallin après exposition aux ultrasons. ....	72
Figure II-8 : Coupe histologique d'un cristallin insonifié .....	72
Figure II-9 : Photo de la sonde confocale 4 transducteurs.....	75
Figure II-10 : Montage expérimental de l'insonification de cristallin par la sonde C-4T .....	76
Figure II-11 : Forme d'onde mesurée par l'hydrophone optique pour $U_{ampli} = 391$ Vpp.....	76
Figure II-12 : Graphique présentant la pression maximale et minimale mesurée à l'hydrophone optique en fonction de la tension aux bornes du transducteur. ....	77
Figure II-13 : Image échographique d'un œil porcin de 6 mois avant et après insonification .....	78
Figure II-14 : Mesure du temps de déclenchement d'un nuage de cavitation dans un cristallin porcin jeune.....	78
Figure II-15 : Photo de deux cristallins après exposition aux ultrasons.....	79
Figure II-16 : Coupes histologiques de cristallins exposés à la cavitation ultrasonore .....	79
Figure II-17 : Images échographiques enregistrées à plusieurs temps pendant l'insonification.....	80
Figure II-18 : Probabilité de déclencher de la cavitation en fonction du maximum de pression négative dans l'eau contenant 10 % et 90 % de $O_2$ .....	82
Figure II-19 : Montage expérimental pour la détermination du seuil de cavitation dans le cristallin porcin.....	83
Figure II-20 : Principe de la PSF et des filtres de défloutage. ....	84
Figure II-21 : Cartes d'activité de cavitation pour une tension de commande de 595 Vpp. ....	85
Figure II-22 : Cartes d'activité de cavitation pour une tension de commande de 1922Vpp. ....	86
Figure II-23 : Somme des pixels de l'activité de cavitation en fonction de la tension de commande. ...	86
Figure II-24 : Schéma de principe des erreurs de reconstructions dues à une mauvaise estimation de la vitesse des ultrasons.....	88
Figure III-1 : Schéma et photographie du transducteur Daxsonics .....	92
Figure III-2 : Schéma du montage électrique d'alimentation du transducteur Daxsonics .....	92

Figure III-3 : Schéma des plans de mesure des champs de pression .....	93
Figure III-4 : Interface du logiciel HIFUBEAM .....	94
Figure III-5 : Plan XY et XZ des champs de pression, centrés sur le point focal .....	95
Figure III-6 : Formes d'ondes pour plusieurs tensions TDK .....	96
Figure III-7 : Mesure des maximums de pression positif et négatif en fonction de la tension d'alimentation TDK .....	97
Figure III-8 : Formes d'ondes simulées pour plusieurs $p_0$ .....	97
Figure III-9 : Modélisation linéaire de la corrélation entre la tension de commande $U_{TDK}$ et la pression surfacique $p_0$ .....	99
Figure III-10 : Maximums de pression positive et négative mesurés à l'hydrophone optique et simulés avec HIFUBEAM .....	99
Figure III-11 : Montage expérimental de la mesure de seuil de déclenchement de cavitation .....	101
Figure III-12 : Schéma de principe de l'étude du déclenchement de cavitation en fonction de la position du point focal .....	102
Figure III-13 : Modèle numérique de la partie antérieure de l'œil .....	103
Figure III-14 : B-mode de la sonde Quantel 20MHz lors d'un traitement ultrasonore d'un cristallin porcin .....	104
Figure III-15 : Signal mesuré par le PCD. ....	105
Figure III-16 : Energie des signaux acquis par le PCD en fonction de la tension TDK et pour plusieurs rapports cycliques .....	106
Figure III-17 : Energie des signaux acquis par le PCD en fonction de la tension TDK pour un rapport cyclique de 0.04% .....	106
Figure III-18 : Exemples de résultats de seuil de déclenchement pour plusieurs échantillons avec un rapport cyclique de 0.1% .....	107
Figure III-19 : Carte des températures dans le modèle numérique d'un œil après la simulation numérique d'un traitement ultrasonore avec le transducteur Daxsonics .....	108
Figure III-20 : B-mode d'un nuage de cavitation déclenché dans un échantillon de cristallin porcin..	111
Figure III-21 : Exemples de dynamique de dissolution de nuages de bulles dans différents échantillons pour une insonification de 5s .....	112
Figure III-22 : Photographie de la pièce mécanique fixant la position de la sonde d'imagerie par rapport à la sonde de thérapie et schéma de principe du protocole d'alignement de la focale du transducteur sur l'axe de symétrie du cristallin .....	115
Figure IV-1 : Montage expérimental pour la génération de cavitation au sein d'un gel d'OVA .....	118
Figure IV-2 : B-mode d'un gel d'OVA. Les flèches blanches indiquent la direction de propagation du faisceau de thérapie ultrasonore .....	120
Figure IV-3 : Cartes de vitesse des ondes de cisaillement reconstruites avec l'algorithme de corrélation de bruit .....	120
Figure IV-4 : Cartes des ratios de vitesse de cisaillement après 525 s de traitement et Cartes des activités de cavitation pendant le traitement pour 3 échantillons différents de gels d'OVA .....	122
Figure IV-5 : Photographies des gels d'OVA découpés après une insonification de 1000 s .....	122
Figure IV-6 : Montage expérimental pour la mesure d'élasticité par suivi d'ondes de surface sur des gels plans .....	124

Figure IV-7 : Déplacements reconstruits à la surface du gel plan d'agarose 2%, superposés à l'image B-mode.....	125
Figure IV-8 : Déplacements 1D reconstruits à la surface du gel plan d'agarose 2%.....	125
Figure IV-9 : Estimation de la vitesse des ondes de surface en fonction de la fréquence dans un gel d'agarose 2 %.....	128
Figure IV-10 : Atténuation de l'onde de surface dans un gel de gélatine de 10%.....	129
Figure IV-11 : Résultats de la dispersion des ondes de surface sur plusieurs gels de différentes élasticités.....	130
Figure IV-12 :Corrélation spectrale d'un échantillon de gel de gélatine 15% et densité spectrale.....	131
Figure IV-13 : Caractéristiques de la simulation d'un disque homogène et Moule utilisée pour confectionner les billes de gélatine .....	133
Figure IV-14 : Montage expérimental pour les billes de gélatine .....	134
Figure IV-15 : B-mode de la surface d'une bille de gélatine et de la surface d'une bille et sélection des points le long des normales aux deux contours.....	134
Figure IV-16 : Déplacements le long de l'interface de la bille .....	135
Figure IV-17 : Résultat de la dispersion des ondes de surface pour une inclusion numérique et Résultat de la dispersion des ondes de surface pour des billes de gélatine .....	136
Figure IV-18 : Spectre énergétique des déplacements acquis dans une bille de gélatine 10%.....	137
Figure IV-19 : Spectre énergétique des déplacements acquis dans un cristallin porcin .....	139
Figure IV-20 : Dispersion des ondes à la surface d'un cristallin porcin .....	139
Figure IV-21 : Dispersion des ondes de surface pour des échantillons de différents âges. ....	140
Figure IV-22 : Figures de dispersion pour plusieurs échantillons provenant de l'ICE.....	142
Figure IV-23 : Photographie d'une paire de cristallin après incubation à 50°C.....	144
Figure IV-24 : Comparaison de la dispersion des ondes de surface entre un cristallin incubé à 50°C pendant 12h et un cristallin témoin.....	145
Figure IV-25 : Comparaison de la dispersion des ondes de surface entre un cristallin incubé à 50°C pendant 6h et un cristallin témoin.....	145
Figure IV-26 : Comparaison de la dispersion des ondes de surface entre un cristallin incubé à 50°C pendant 6h et un cristallin témoin.....	146
Figure IV-27 : Montage expérimental pour créer une lésion thermique dans le cristallin.....	148
Figure IV-28 : Instantanés lors de la rotation d'un cristallin à 75 rpm et à 1500 rpm.....	149
Figure IV-29 : Photographies de deux échantillons traités aux HIFU .....	149
Figure IV-30 : Déformabilité antérieure en fonction des durées d'insonification.....	150
Figure IV-31 : Figure de dispersion dans l'échantillon n° 2 avant traitement HIFU et après traitement HIFU .....	151
Figure IV-32 : Elastographie de vitesse le long de l'interface du cristallin, superposée sur le B-mode	152
Figure IV-33 : Vitesse locale le long de l'interface de gels plans .....	153

## Glossaire et abréviations :

**ARFI** : Acoustic Radiation Force Imaging (Imagerie par Force de Radiation Acoustique) est une méthode pour générer des ondes de cisaillement au sein d'un tissu, en utilisant la force de radiation de l'onde acoustique. Elle est utilisée pour mesurer l'élasticité de tissus par élastographie par ondes de cisaillement.

**Beamforming** : « Reconstruction de faisceaux ». Méthode permettant de reconstruire une image échographique à partir des signaux ultrasonores bruts reçus par chaque élément de la sonde d'imagerie.

**DSI** : Délai, Somme et Intégration. Algorithme de beamforming utilisé pour l'imagerie passive de la cavitation.

**HIFU** : High Intensity Focused Ultrasound (Ultrason de Haute Intensité Focalisé) est un ensemble de thérapies utilisant l'interaction des Ultrasons Intenses et Focalisés avec un tissu biologique cible.

**IRM** : Imagerie par Résonance Magnétique.

**OCT** : Optical Coherence Tomography (Tomographie par Cohérence Optique) est une technique d'imagerie optique qui est utilisée, par exemple, dans le domaine ophtalmologique.

**PAM** : Passive Acoustic Mapping (Imagerie passive de la cavitation). Méthode qui permet de cartographier l'activité de cavitation pendant un traitement en utilisant une sonde échographique en écoute passive.

**Speckle ultrasonore ou optique** : Terme désignant le « grain » d'une image optique ou ultrasonore et qui se réfère physiquement aux structures biologiques qui diffusent les ondes ultrasonores ou la lumière.

**Transducteur** : Élément d'un dispositif de thérapie ultrasonore ou d'une sonde échographique, composé d'un matériau piézoélectrique, lui permettant d'émettre des ondes ultrasonores et de les recevoir.

## Introduction générale :

La presbytie, qui se caractérise par une perte d'accommodation du cristallin, affecte tout le monde à partir de 40-45 ans. En effet, il s'agit d'un phénomène inhérent au processus naturel de vieillissement du corps humain, entraînant une dégradation de la vision de près chez la majorité des personnes concernées. Le cristallin, se situant dans la partie antérieure de l'œil, permet de focaliser les rayons lumineux sur la rétine et ainsi de former une image nette. En se déformant, il permet de passer d'une vision de loin à une vision de près. Plus de 1.8 milliard de personnes sont atteintes de presbytie dans le monde. La perte d'accommodation a un impact important dans la vie quotidienne des personnes pour réaliser des tâches précises, pour la lecture et plus récemment pour l'utilisation des appareils numériques. C'est un véritable enjeu de santé publique dans une société où le taux de personnes âgées ne fait qu'augmenter en raison de l'accroissement de l'espérance de vie. L'utilisation de corrections optiques est la solution la plus courante. Mais seulement la moitié de la population atteinte de la presbytie a accès à des solutions optiques adaptées, le plus souvent dans les pays les plus riches, où le système de remboursement des soins médicaux est le plus développé. De plus, elles ne permettent pas de retrouver une vision optimale à toutes distances et sont parfois mal choisies, augmentant le risque de pertes d'équilibre et de chutes. Ils existent également des corrections chirurgicales qui consistent à remodeler la cornée ou à remplacer le cristallin par une prothèse plus souple. Mais, aucune de ces solutions ne traite la véritable cause de la presbytie qui est la rigidification du cristallin. En effet, du fait de sa non vascularisation et du non renouvellement de ses cellules, celui-ci a tendance à accumuler des agrégats de protéines qui ne peuvent se dissoudre. Cette agrégation est l'une des causes de la sclérose du cristallin et de sa perte de déformabilité. Ce phénomène est aggravé par la perte de sa microcirculation interne capable de réguler la dissolution de ces agrégats.

Ces travaux de thèse s'inscrivent au sein du projet « PRESBINNOV », qui vise à développer un nouveau traitement de la presbytie utilisant les ultrasons focalisés de haute intensité. En effet, les HIFU (High Intensity Focused Ultrasound), ont montré leur efficacité pour de nombreuses pathologies grâce à leurs effets sur les structures biologiques. Ils peuvent être utilisés pour nécroser thermiquement des tissus, pour le traitement de certains cancers ou de troubles neurologiques. Dans certaines conditions d'exposition, ils ont également un effet purement mécanique appelé cavitation ultrasonore. Cette formation de nuages de bulles et son oscillation sous l'effet d'un champ ultrasonore peut permettre de détruire mécaniquement les tissus. Ce phénomène physique permet également de modifier la perméabilité de certaines membranes biologiques et cellulaires, augmentant la diffusion de drogues au sein d'un tissu cible. Les ondes ultrasonores peuvent être utilisées de manière non-invasive, à distance de l'organe cible et sans endommager les tissus intermédiaires. De plus, là où le laser est gêné par le manque de transparence optique de certaines structures, les ultrasons pourraient atteindre facilement le cristallin à travers la cornée, la sclère et l'iris. Ainsi, la cavitation ultrasonore pourrait être une solution pour redonner de l'élasticité au cristallin en détruisant directement les agrégats de protéines. Le projet « PRESBINNOV » a été développé en collaboration avec le laboratoire du BiiO (Biologie, Ingénierie et Imagerie pour l'Ophthalmologie) de l'Université de Jean Monnet à St-Etienne, spécialisé dans la biologie et l'imagerie des structures de l'œil. Cette collaboration permet d'apporter une expertise approfondie sur la biologie structurale du cristallin ainsi que sur des techniques d'imagerie à l'échelle cellulaire (histologie et marquage fluorescent protéique). Ces techniques pourront permettre de visualiser les effets des ultrasons sur sa structure cellulaire. Ce projet vise également à développer une solution non

invasive pour mesurer l'élasticité du cristallin. L'élastographie par ultrasons pourrait être une solution technique, compatible avec un dispositif thérapeutique ultrasonore. Elle se base sur la mesure de la vitesse des ondes de cisaillement se propageant dans un tissu, pouvant être créées par une source de vibration externe. Cette méthode peut également utiliser les ondes se propageant naturellement dans l'organe du fait des mouvements respiratoires, des battements cardiaques ou de la pulsativité artérielle, la rendant complètement non invasive. Dans le cadre de ce projet, il est nécessaire de développer une méthode compatible avec les propriétés particulières du cristallin. En effet, cet organe est transparent aux ultrasons, sauf à sa surface, et sa taille est relativement petite, inférieure au centimètre. Ainsi, les méthodes d'élastographie classique ne sont pas directement applicables.

Un premier objectif de ces travaux de thèse est donc de développer un dispositif ultrasonore, adapté à la taille de l'œil et permettant de générer de la cavitation ultrasonore au sein du cristallin. Le deuxième objectif est également d'étudier les effets d'un tel traitement sur ses structures, sur son élasticité et sur son éventuel ramollissement. Le développement d'une méthode de mesure d'élasticité du cristallin par élastographie ultrasonore est également au cœur de cette étude.

Le premier chapitre de ce manuscrit introduit donc le contexte médical de l'étude en se focalisant sur les causes biologiques et les conséquences de la presbytie. Une description des effets des HIFU sur les tissus biologiques permettra de mieux comprendre l'intérêt de ces nouvelles thérapies pour un potentiel traitement de la presbytie. Enfin, une revue de la littérature est également présentée pour décrire les méthodes d'élastographie par ondes de cisaillement existantes et leur adaptation pour la mesure de l'élasticité du cristallin.

Le deuxième chapitre présente des expérimentations préliminaires dont l'objectif est de montrer la faisabilité d'initier un nuage de bulles par ultrasons dans le cristallin. Plusieurs dispositifs ultrasonores sont testés. De plus, ces études permettent d'appréhender différentes méthodes d'imagerie pour suivre ces traitements : l'imagerie échographique, l'imagerie passive de l'activité de cavitation ou encore l'imagerie microscopique pour la caractérisation des lésions induites par les HIFU.

Le Chapitre III vise à caractériser une sonde de thérapie ultrasonore dont la géométrie est adaptée à la taille et à la forme d'un globe oculaire et donc compatible avec une future application clinique ophtalmologique. Des expérimentations sont également mises en place pour valider sa capacité à initier des nuages de cavitation au sein du cristallin. Des premières études sur la dynamique des nuages de bulles sont mises en œuvre dans l'objectif de développer un suivi en temps réel d'un futur traitement.

Le Chapitre IV se focalise sur le développement d'une méthode d'élastographie par ultrasons. Dans un premier temps, l'élastographie par corrélation de bruit est évaluée pour la détection de lésions induites par cavitation ultrasonore dans des gels. Ces derniers modélisent l'agrégation de protéines survenant dans les cristallins presbytes. Puis, cette méthode de mesure d'élasticité est adaptée aux caractéristiques du cristallin. Un algorithme n'utilisant que les ondes se propageant à la surface du cristallin et permettant d'étudier leur dispersion sur une large gamme de fréquences est développée. Des modèles expérimentaux sont d'abord utilisés et se complexifient ensuite pour se rapprocher de la forme et de la taille d'un cristallin. Puis, cette approche est appliquée sur des cristallins porcins excisés de l'œil. Des études permettent également d'évaluer cette méthode pour détecter des changements d'élasticité locaux au sein de cet organe.

# Chapitre I : Etat de l'art

## Introduction :

Le premier objectif de ces travaux de thèse est de développer une nouvelle stratégie de traitement de la presbytie utilisant les ultrasons thérapeutiques. La presbytie étant causée principalement par une rigidification du cristallin, le deuxième objectif est de développer une méthode pour monitorer un potentiel traitement par élastographie par ondes de cisaillement. Pour mieux comprendre l'intérêt de ces nouvelles approches, la première partie de ce chapitre présentera de façon générale la presbytie et ses conséquences sur la perte d'accommodation. Puis, on se focalisera sur l'organisation macroscopique et microscopique du cristallin afin de bien comprendre les causes biologiques entraînant sa rigidification. Ainsi, des potentielles cibles de traitement seront identifiées. La deuxième partie présentera brièvement les différents effets biologiques des ultrasons thérapeutiques et les phénomènes physiques sous-jacents. L'intérêt de l'utilisation des ultrasons thérapeutiques dans le domaine de l'ophtalmologie sera également discuté. Puis, un lien sera établi entre les potentielles cibles pour un traitement de la presbytie et les avantages des ultrasons thérapeutiques. Enfin, la dernière partie de chapitre aura pour objectif d'expliquer les méthodes de mesure d'élasticité des tissus biologiques par le biais de la mesure de la vitesse des ondes de cisaillement. Les problématiques soulevées par les propriétés physiques du cristallin seront mises en parallèle avec l'élastographie.

## 1. La Presbytie

### 1.1 **Fonctionnement du système oculaire et accommodation**

Le globe oculaire est composé de 3 tuniques concentriques (*Figure I-1*). La première est composée de la sclère, correspondant au blanc de l'œil, et de la cornée. Ces couches fibreuses ont un véritable rôle de barrière entre l'extérieur et les structures internes de l'œil. La cornée est transparente à la lumière. De plus, sa courbure et son indice de réfraction permettent de focaliser les rayons lumineux, avec une puissance dioptrique équivalente à environ deux tiers de celle de l'œil dans son ensemble. La deuxième tunique, appelée aussi uvée, est composée du corps ciliaire, de la choroïde et de l'iris. Cette tunique est très vascularisée et permet ainsi la nutrition des différents éléments de l'œil, via la choroïde qui est en contact direct avec la rétine et via le corps ciliaire qui produit l'humeur aqueuse. Le corps ciliaire est également composé d'une partie musculaire, jouant un rôle lors de l'accommodation. L'iris est une membrane circulaire et contractile, qui donne la partie colorée visible de l'œil. Enfin, la dernière tunique, la rétine, est composée d'un empilement de cellules nerveuses spécialisées, comme les photorécepteurs (cônes et bâtonnets), qui transforment les signaux lumineux en signaux électriques. Ces signaux électriques se propagent ainsi jusqu'au nerf optique, relié au système nerveux central. Le globe oculaire contient également de l'humeur aqueuse, un liquide, ainsi que de l'humeur vitrée, qui présente plutôt une consistance semblable à celle d'un gel. Elles permettent de maintenir la pression intra-oculaire et la forme du globe oculaire. Ces deux corps transparents sont séparés par le cristallin, dont le rôle est de moduler la puissance dioptrique de l'œil par l'accommodation.

## Chapitre I: Etat de l'art

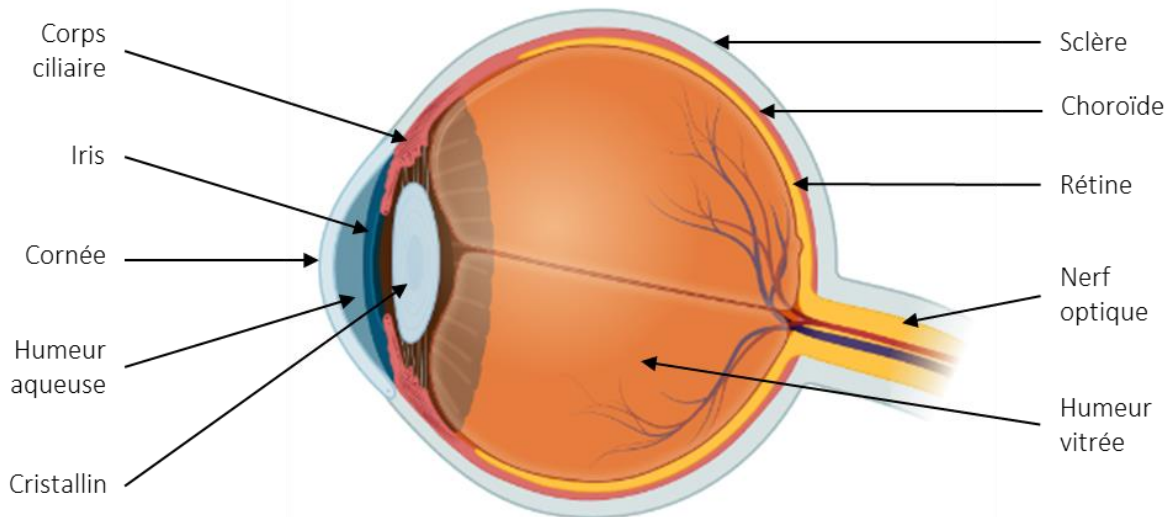


Figure I-1 : Schéma anatomique de l'œil

Pour comprendre le processus de la vision, on peut comparer le système oculaire à un appareil photographique (Figure I-2). L'iris joue le rôle du diaphragme. En se contractant, elle module la quantité de lumière qui peut pénétrer dans l'œil. La cornée et le cristallin peuvent être apparentés à la lentille de l'appareil photo, qui rend l'image de l'objet observé nette. Plus précisément, le cristallin est une lentille biconvexe pouvant moduler la longueur focale de l'œil lors de l'accommodation. Enfin, les rayons lumineux sont captés par la surface photosensible : la rétine, qui transforme le signal lumineux en signal électrique. Celui-ci est ensuite traité par le système nerveux central qui va restituer une image de l'objet dans le bon sens.

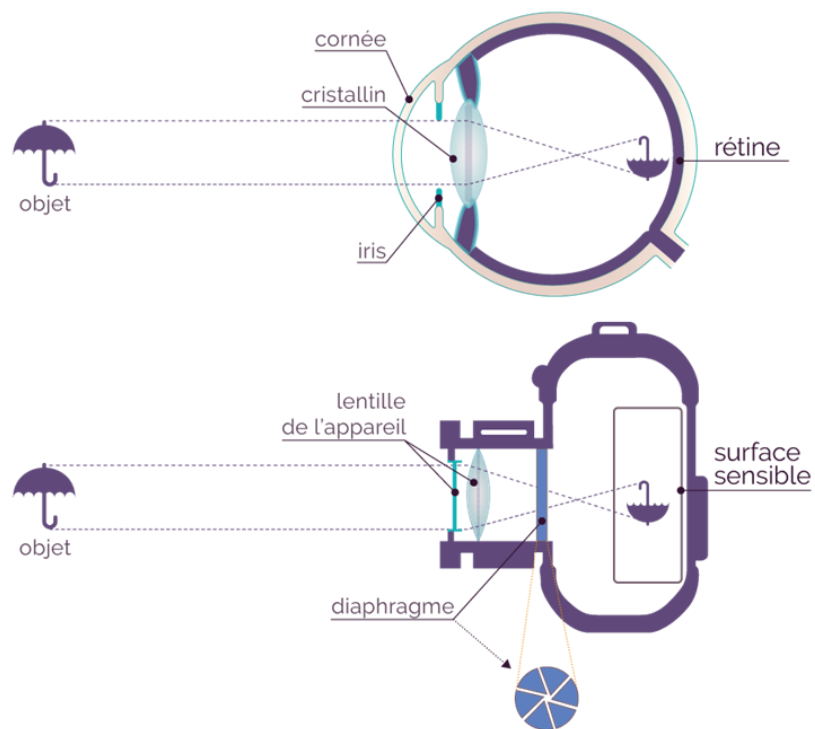
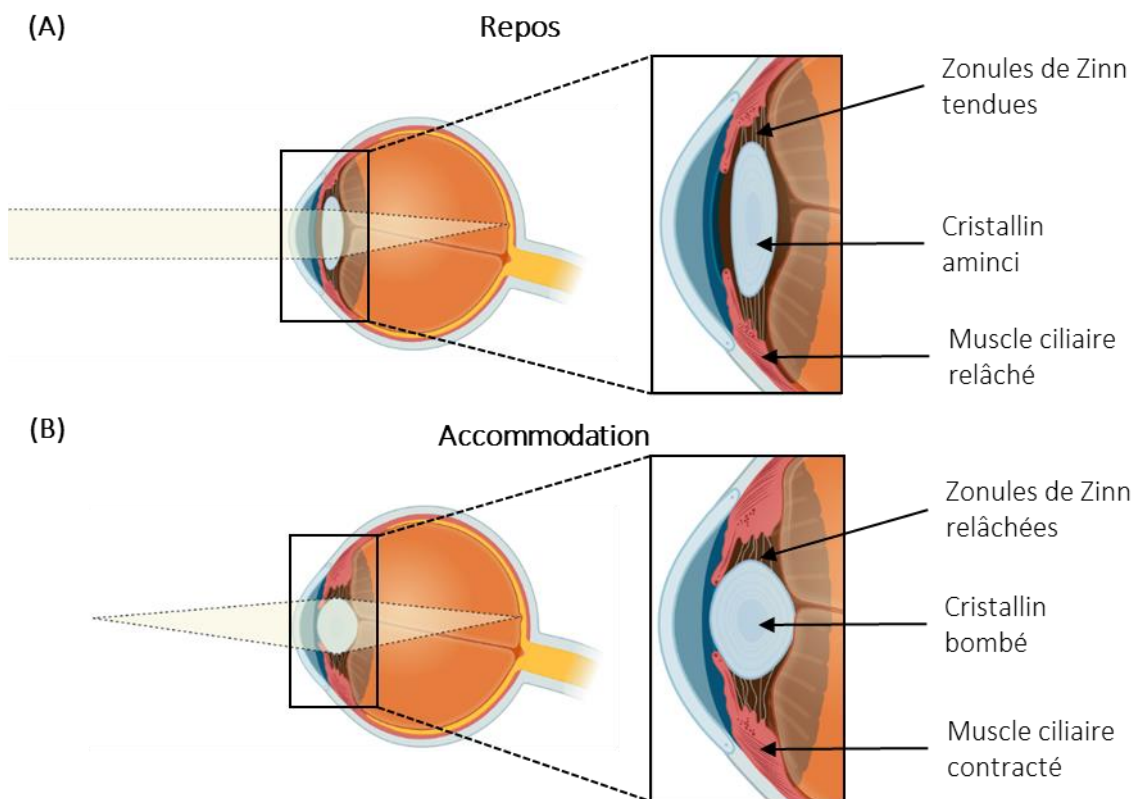


Figure I-2 : Analogie entre le système oculaire et l'appareil photographique



## Chapitre I: Etat de l'art

Pour assurer une vision nette à la fois de loin et de près, le cristallin se déforme pour focaliser les rayons lumineux sur la rétine (*Figure I-3*). La théorie d'Helmholtz (1924) est aujourd'hui largement utilisée pour décrire le phénomène d'accommodation<sup>1</sup>. Pour la vision de loin, les muscles du corps ciliaire se relâchent, ce qui va tendre les zonules de Zinn (*Figure I-3A*). Ces fibres qui relient le cristallin au corps ciliaire transmettent cette tension, ce qui entraîne un allongement et un amincissement du cristallin. Dans cette configuration, le pouvoir de focalisation est faible. Dans le cas de l'accommodation (*Figure I-3B*), les muscles ciliaires vont, cette fois, se contracter, ce qui va relâcher les zonules de Zinn. Cette relaxation entraîne un relâchement du cristallin, qui va alors se bomber et permettre une focalisation plus puissante. Le processus d'accommodation est donc lié à la capacité du cristallin à se déformer pour changer son rayon de courbure.



*Figure I-3 : Schéma de principe du phénomène d'accommodation :  
(A) Au repos pour la visualisation de loin, (B) Accommodation pour la visualisation de près.*

Dans le cas parfait d'un œil emmétrope (*Figure I-4A*), le punctum remotum, point le plus éloigné que l'œil puisse voir net sans accommodation, correspond à l'infini. Inversement, le punctum proximum est le point le plus proche que l'on peut voir distinctement avec un niveau d'accommodation maximal. Ces deux distances sont en parties dépendantes du rapport entre le pouvoir de convergence de l'œil et de sa longueur, qui est propre à chaque individu. Cette variation peut entraîner des défauts visuels comme :

- La myopie (*Figure I-4B*) : les rayons lumineux se focalisent avant la rétine, ce qui entraîne une vision de loin flou. Cela peut être dû à une longueur excessive de l'œil par rapport à sa capacité de convergence (myopie axiale) ou à un pouvoir de convergence trop élevé du système oculaire par rapport à la longueur axiale de l'œil (myopie réfractive).

## Chapitre I: Etat de l'art

- L'hypermétropie (Figure I-4C) : les rayons lumineux se focalisent après la rétine, ce qui entraîne une vision de près flou. L'hypermétropie peut être également axiale ou réfractive. Les patients souffrent souvent de céphalées et de fatigue visuelle, dues aux efforts nécessaires pour accommoder en permanence.

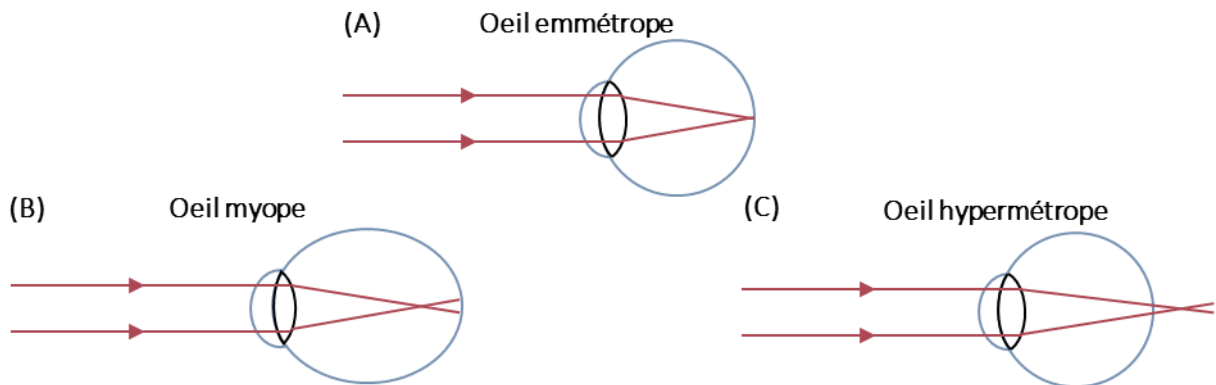


Figure I-4 : Schéma de principe des différents défauts visuels :  
(A) : Pas de défauts, (B) : Myopie dû à un globe oculaire trop long, (C) : Hypermétropie

Dans la plupart des cas, ces défauts visuels sont transmis génétiquement, mais ils peuvent également apparaître ou évoluer au cours du temps. C'est le cas particulier de la presbytie, qui apparaît à la quarantaine et qui se traduit par une difficulté croissante pour visualiser de près. Ce trouble visuel est présenté dans la section suivante.

### 1.2 La presbytie : perte d'accommodation et rigidification du cristallin

La presbytie correspond à une perte progressive de la capacité de l'œil à faire la « mise au point » sur un objet proche, c'est-à-dire à accommoder. Ce défaut visuel n'est pas une pathologie, il s'agit d'un processus de vieillissement qui commence dès la naissance. La Figure I-5 représente l'amplitude d'accommodation mesurée par plusieurs études, en fonction de l'âge.

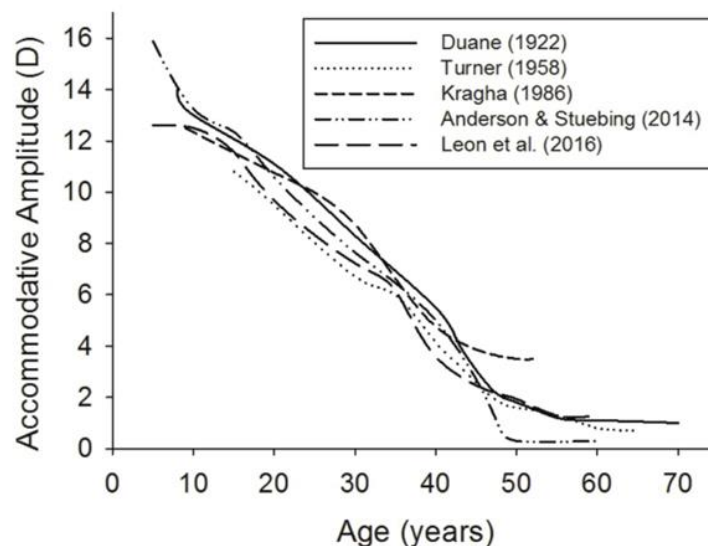


Figure I-5 : Evolution de l'amplitude d'accommodation en fonction de l'âge.  
Figure issue de l'étude de Wolffsohn et al.<sup>2</sup>

## Chapitre I: Etat de l'art

Pour caractériser la perte du pouvoir d'accommodation de l'œil, la mesure de dioptrie est utilisée. La dioptrie (D) est une unité de mesure du pouvoir de réfraction d'une lentille, qui est égale à l'inverse de la distance focale réciproque d'une lentille, mesurée en  $m^{-1}$ . Dans le cas d'un cristallin en accommodation maximale, la distance focale correspond au punctum proximum. Ainsi, le cristallin d'un individu de 20 ans a une amplitude d'accommodation comprise dans la gamme 10-12D. Cette amplitude d'accommodation diminue ensuite avec l'âge<sup>3,4</sup>. L'un des premiers symptômes visibles est le recul du plan de lecture. Les personnes atteintes ont alors tendance à tendre les bras pour lire les caractères et ainsi moins solliciter l'accommodation. Ensuite, il devient souvent nécessaire de recourir à une assistance artificielle d'accommodation, telle que le port de lunettes, afin de bénéficier d'une vision nette et confortable de près. Étant liée au processus de vieillissement, la presbytie affectera inévitablement chacun. La revue statistique sur la prévalence de la presbytie, de T.R.Fricke<sup>5</sup>, estime, qu'en 2015, 1.8 milliard de personnes à travers le monde étaient atteintes de presbytie. Il est à noter que pour les personnes myopes, les effets de perte d'accommodation dus à la presbytie sont souvent compensés. Les besoins mondiaux d'une correction pour la presbytie en 2015 ont été estimés à 45%. Cependant, l'accès à une correction optique est très inégalitaire dans le monde. On a plus de chance d'y avoir accès dans un pays où les dépenses de santé sont les plus élevées et les inégalités moindres. La presbytie est donc un véritable enjeu de santé publique. La presbytie impacte tous les jours les patients pour lire, pour utiliser des appareils numériques comme les téléphones portables ou encore pour la pratique d'une activité sportive<sup>6</sup>. Certaines études ont même rapporté une baisse de la productivité des travailleurs presbytes, pouvant être améliorée par le port de lunettes<sup>7</sup>. Cependant, même si le port de lunettes est la solution la plus utilisée, il a été observé que cette correction pouvait augmenter le risque de blessures chez les personnes âgées dues aux chutes<sup>8</sup>.

La presbytie est donc provoquée par une perte d'accommodation du système oculaire, et l'une des hypothèses biomécaniques les plus couramment acceptées est la diminution de la déformabilité du cristallin. Ainsi, une première sous-section décrira la structure macroscopique et microscopique du cristallin pour mieux comprendre la complexité de cet organe. Après avoir démontré que le cristallin perd de sa capacité à se déformer par sa rigidification, une dernière sous-section présentera les éventuelles causes biologiques.

### a) Focus sur le cristallin (description macroscopique et microscopique)

Afin de mieux comprendre les changements biomécaniques se produisant au sein du cristallin humain lors de son vieillissement, cette section se focalisera sur une description macroscopique du cristallin, puis une description à l'échelle cellulaire.

Le cristallin est donc une lentille transparente biconvexe donc l'épaisseur au centre est d'environ 4 mm et la largeur à l'équateur est d'environ 10 mm. La surface postérieure est plus bombée que la surface antérieure avec, respectivement, un rayon de courbure compris entre 5 et 8 mm et 8 et 14 mm<sup>9,10</sup>. Le pouvoir de réfraction du cristallin, responsable de la focalisation de la lumière sur la rétine, dépend en partie de sa courbure mais également de la répartition spatiale de l'indice de réfraction dans le cristallin. En effet, le cristallin est anisotrope : son indice de réfraction décroît du centre vers les pôles et l'équateur. En moyenne, l'indice de réfraction au centre est de 1.41 contre 1.38 à la périphérie<sup>4,11</sup>. Ces différents indices de réfraction confèrent au cristallin une puissance de réfraction supérieure à un cristallin qui aurait un indice uniforme. Les caractéristiques optiques (transparence, gradient d'indice de réfraction) sont directement le résultat d'une architecture particulière des cellules spécialisées du cristallin. L'anatomie cellulaire est schématisée sur la *Figure I-6*.

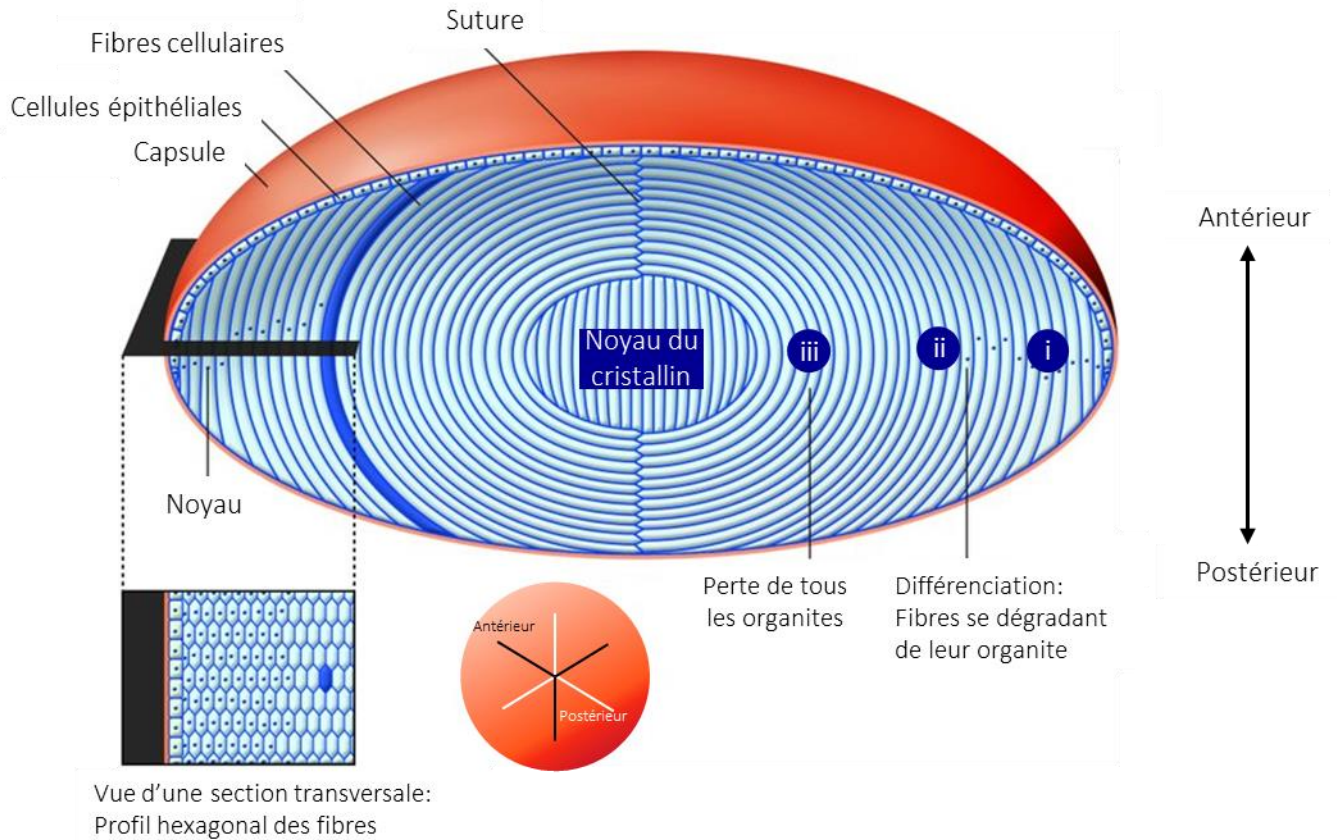


Figure I-6 : Schéma de l'anatomie cellulaire du cristallin.  
Figure adaptée de l'article de S.Song et al.<sup>12</sup>

Le cristallin est un tissu avasculaire entouré d'une membrane poreuse : la capsule. Sous la capsule du pôle antérieur se trouve une couche unique de cellules épithéliales. Le reste du cristallin est composé de fibres cellulaires qui proviennent de la différenciation des cellules épithéliales, au niveau de l'équateur, lors du développement embryonnaire. Ces fibres plates et de forme hexagonale sont positionnées de manière très ordonnée dans le cristallin avec un espace inter-fibre qui est plus petit que la longueur d'onde de la lumière (Figure I-6 : Vue d'une section transversale). Ces cellules différenciées subissent des changements significatifs au niveau du cytoplasme et des protéines exprimées. Elles perdent leurs organites comme le noyau ou les mitochondries, qui sont des diffuseurs pour la lumière<sup>13</sup> (Figure I-6 : i, ii, iii) et ainsi deviennent des fibres matures. Ces fibres matures s'allongent pour former des sutures avec les fibres du même hémisphère. Ce processus de différenciation est continu et conduit à l'internalisation des cellules fibres. En conséquence, un gradient d'âge se forme, englobant tous les stades de différenciation des fibres tout au long de la vie d'une personne. Ainsi, le cristallin est composé de différentes couches qu'on peut différencier par leur âge. Cet arrangement peut être comparé à la structure d'un oignon : une superposition de couches autour d'un noyau central, correspondant aux premières couches les plus anciennes. La Figure I-7 est une représentation schématique de ces différentes couches.

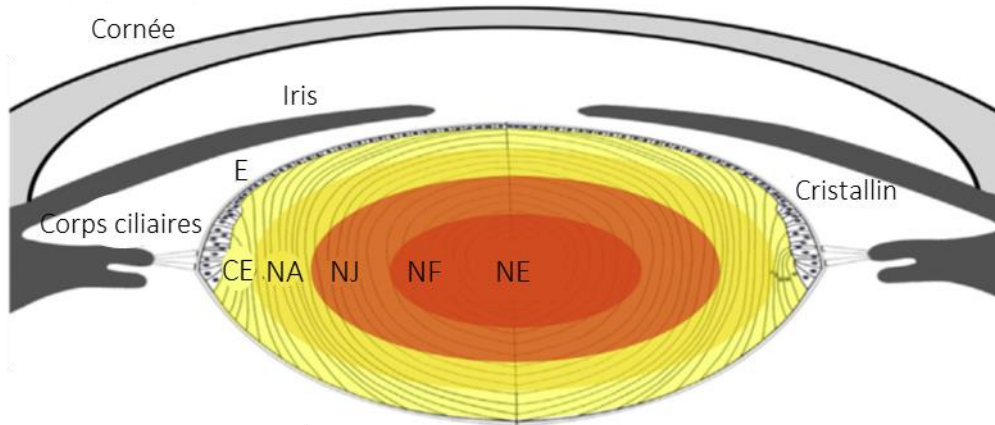


Figure I-7 : Schéma morphologique du cristallin :  
 Noyau Embryonnaire (NE), Noyau Fœtal (NF), Noyau Juvénile (NJ), Noyau Adulte (NA), Cortex Externe (CE). Figure adaptée de l'article de Donaldson et al.<sup>14</sup>

Cette croissance du cristallin se découpe en deux phases<sup>15</sup>. Une première phase de croissance exponentielle a lieu pendant la gestation. Elle se stoppe 3 mois après la naissance, donnant le noyau central (contenant le NE, le NF et le NJ). Puis une deuxième phase de croissance linéaire produit le NA et le CE qui ont des propriétés physiques et biochimiques différentes des couches les plus internes. L'équipe de Lim et al.<sup>16</sup> a permis de visualiser les différences morphologiques entre les différentes couches d'un cristallin humain d'un donneur de 16 ans. Ce résultat est présenté Figure I-8.

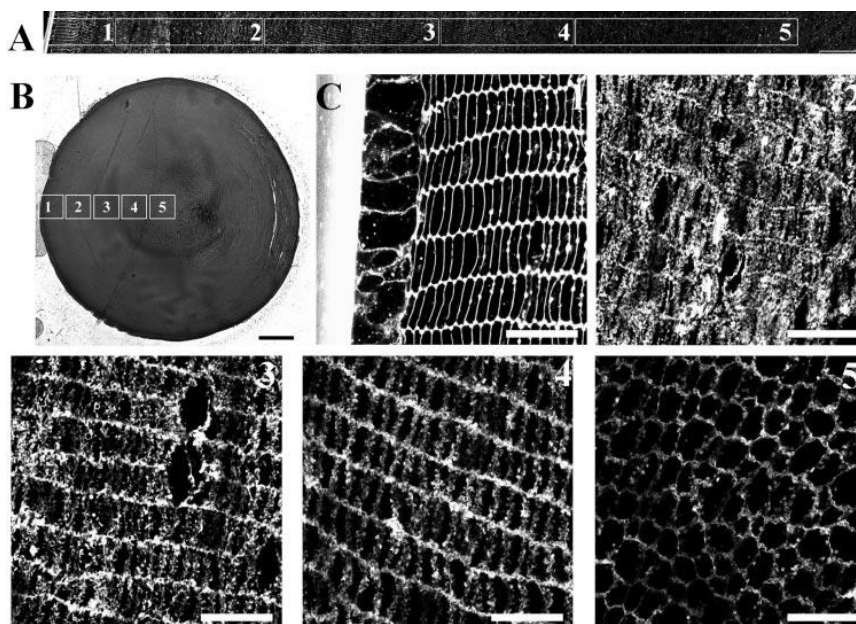


Figure I-8 : Morphologie des fibres d'un cristallin humain jeune.  
 Sections équatoriales (A, C), marquées avec WGA ou (B) colorées au bleu de toluidine. (A) : Montage de 26 images confocales superposées mettant en évidence les 5 régions du cristallin humain. Echelle : 250  $\mu\text{m}$ . (B) Sections marquées au bleu de toluidine montrant les 5 régions d'une coupe de cristallin. Echelle 1000  $\mu\text{m}$ . (C) Haute résolution d'images confocales des différentes régions du cristallin humain prise du montage (A). Echelle 25  $\mu\text{m}$ . 1 : Cortex externe, 2 : Noyau adulte, 3 : Noyau juvénile, 4 : Noyau fœtal, 5 : Noyau embryonnaire. Figure extraite de l'étude de Lim et al.<sup>16</sup>



## Chapitre I: Etat de l'art

La différence de morphologie des fibres est clairement observable sur les différentes coupes histologiques du cristallin, observées au microscope confocal. Le degré de compaction et le degré d'interdigitation sont distincts d'une couche à une autre. Les fibres cristalliniennes sont composées d'une grande quantité de protéines dont 90% sont les cristallines  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ . Ces protéines sont responsables du fort index de réfraction du cristallin. Leur proportion est différente d'une couche à une autre et cette concentration évolue tout au long de la vie<sup>17</sup>. Pour maintenir les propriétés physiologiques et la transparence du cristallin, ces protéines doivent rester dans une certaine conformation dite « folded » (plié) et solubles<sup>18</sup>.

### b) Changement biomécanique : rigidification au cours du vieillissement

La presbytie, qui est une perte des capacités d'accommodation peut être expliquée par la rigidification du cristallin au cours de son vieillissement. En effet, plusieurs études ont montré que la déformabilité du cristallin diminuait au cours du temps. Une des premières méthodes à l'avoir montré est le test du lens spinner. Le principe est de faire tourner le cristallin à très haute vitesse (jusqu'à 1600 tours/min) et d'observer la déformation qu'il subit sous l'effet de la force centrifuge. Les contraintes exercées par ce type de test sont censées simuler celles produites *in vivo* par la traction des zonules de Zinn. Fisher<sup>19</sup> a mesuré les déformations au pôle et à l'équateur du cristallin en comparant des photographies prises au repos et lors de la rotation. Des différences significatives ont été trouvées entre les modules de Young d'échantillons de cristallins humains jeunes et vieux. Des modèles ont également été développés pour évaluer le module de cisaillement du noyau et du cortex du cristallin<sup>20</sup>.

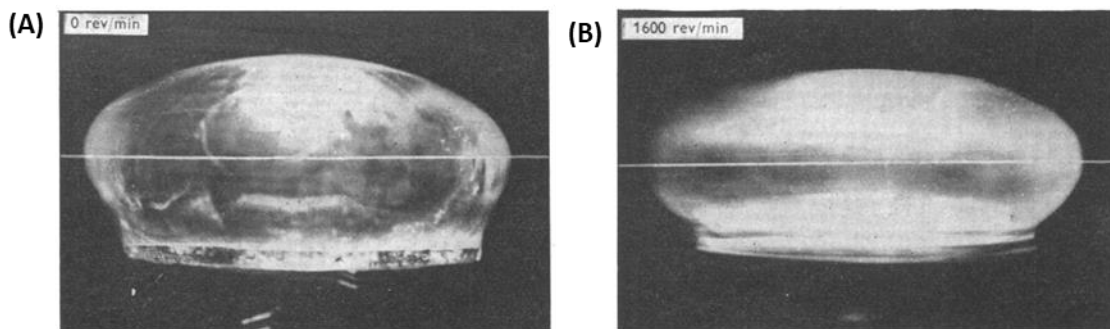


Figure I-9 : Photographies extraites des expérimentations de lens spinner.  
(A) : Cristallin au repos et (B) : en rotation. Etude de Fisher et al.<sup>19</sup>.

D'autres études, utilisant l'indentation et des analyses dynamiques ont montré que le module d'élasticité et la viscosité augmentaient avec l'âge des échantillons de cristallins<sup>3,21,22</sup>. Le principe de cette méthode est d'appliquer une contrainte mécanique, connue, selon la direction où on souhaite tester l'élasticité, avec un indenteur (le plus souvent une plaque) et de mesurer la déformation induite dans le matériau, selon cette même direction. La loi de Hooke, permet de relier la contrainte mécanique à la déformation induite. Elle est définie pour un milieu élastique, homogène, linéaire et isotrope, telle que :

$$\sigma = E \cdot \epsilon,$$

Équation I-1

## Chapitre I: Etat de l'art

avec  $\sigma$ , la contrainte exercée en Pa,  $\epsilon$ , la déformation mesurée (sans unité) et  $E$ , le module de Young en Pa. L'analyse dynamique est similaire mais au lieu d'appliquer une force statique, un déplacement sinusoïdal dont la fréquence est inférieure à 50 Hz, est appliqué sur l'échantillon, permettant d'obtenir des informations sur la viscosité du milieu. Le même principe d'indentation a été appliqué à l'échelle du micromètre pour en déduire une élasticité locale du cristallin<sup>23-25</sup>. Dans ce cas, le cristallin est coupé en deux et le micro-indenteur (dont le diamètre est compris entre 125  $\mu\text{m}$  et 1 mm) est déplacé sur l'ensemble de la surface de la section pour mesurer la dureté locale. Les résultats ont montré l'existence d'un gradient d'élasticité dans des échantillons de cristallins âgés avec un noyau plus dur que le cortex. Inversement, dans des échantillons plus jeunes, en dessous de 30 ans, le noyau est plus mou que le cortex. La Figure I-10 représente le résultat d'une de ces études dans un échantillon provenant d'un donneur âgé.

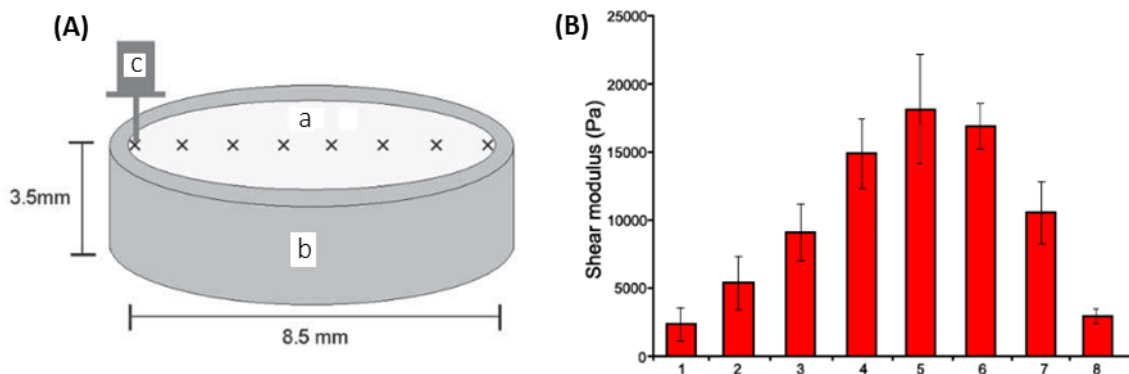


Figure I-10 : Expérimentations de micro-indentation.

Figure issue de l'article de Heys et al.<sup>24</sup>. (A) : Schéma du protocole de mesure de la dureté locale, (a) section équatoriale du cristallin, (b) support de l'échantillon, (c) micro-indenteur. Les croix représentent les points de mesure de l'élasticité. (B) : Résultat du profil d'élasticité le long de la section équatoriale d'un échantillon humain de 64 ans.

Une dernière méthode, proche du principe de l'indentation, est l'estimation d'une élasticité locale du cristallin par l'étude du déplacement de bulles sous l'effet d'une impulsion acoustique. Le principe est de créer une bulle à l'intérieur du cristallin par laser. Puis, une impulsion acoustique focalisée sur la bulle va induire un déplacement de celle-ci. Une estimation du module de Young est réalisée à partir du maximum de déplacement et de la relaxation de la bulle. Des résultats similaires aux méthodes d'indentation ont été trouvés dans ces études<sup>26-28</sup> avec un gradient d'élasticité du cortex vers le noyau et des différences d'élasticité entre des échantillons jeunes et âgés.

Beaucoup d'études ont également regardé le rôle de la capsule sur l'accommodation et la presbytie. Lorsque le cristallin est isolé de l'œil, sa position est celle qu'il aurait lors de l'accommodation : il est bombé. Si le cristallin est décapsulé (capsule retirée), celui-ci a tendance à s'aplatir. Ainsi, la capsule joue un rôle important pour le maintien de la forme du cristallin en lui appliquant une pression. Cette observation a été faite sur des échantillons jeunes. Il semble que cela soit moins le cas pour des cristallins âgés dont la forme et la distance focale ne varient presque pas qu'il soit décapsulé ou non<sup>3</sup>. Il est également à noter que plusieurs études se sont intéressées à mesurer l'élasticité de la capsule sur plusieurs échantillons de différents âges. Les résultats sont contradictoires. En effet, Fisher<sup>29</sup> a montré que la capsule devient plus molle au cours du vieillissement alors que des études plus récentes ont montré l'inverse<sup>30</sup>. Deux hypothèses émergent quant au rôle du vieillissement

de la capsule dans le développement de la presbytie. Celle la plus communément acceptée, est bien que pour des yeux d'individus jeunes, c'est la capsule qui détermine le changement de forme du cristallin alors que pour des yeux d'individus âgés, c'est le contenu du cristallin qui régit l'amplitude d'accommodation<sup>31</sup>. L'ensemble de ces études fondamentales ont permis de comprendre que la rigidification du cœur du cristallin était une des causes principales de la perte d'accommodation du cristallin. La prochaine section s'intéressera aux phénomènes biologiques qui entraînent cette rigidification, essentiels pour définir les cibles d'un potentiel traitement de la presbytie.

### c) Les différents phénomènes biologiques entraînant une rigidification et la presbytie

La croissance du cristallin, qui a lieu tout au long de la vie, est caractérisée par l'ajout de cellules cristalliniennes qui vont alors se différencier, petit à petit, jusqu'à devenir des fibres sans organites au centre du cristallin. Au sein de ces cellules, il existe une forte concentration de protéines dont les cristallines  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ . Du fait de l'absence de renouvellement des cellules au sein du cristallin, les protéines subsisteront toute la vie d'un individu sans être renouvelées. Ces protéines accumulent, au cours du temps, des altérations moléculaires et des modifications post-traductionnelles lors de leur synthèse. Cependant, dues à l'absence de machinerie cellulaire, ces modifications ne sont pas repérées par les cellules et subsistent. Ces changements dans la structure moléculaire des protéines peuvent aboutir à leur agrégation. Ainsi la proportion de cristallines solubles diminue avec le vieillissement, du fait de la formation d'agrégats de hauts poids moléculaires. Bron et al.<sup>17</sup> rapportent que 80% des cristallines  $\alpha$  ne sont plus solubles autour de 35-40 ans (Figure I-11).

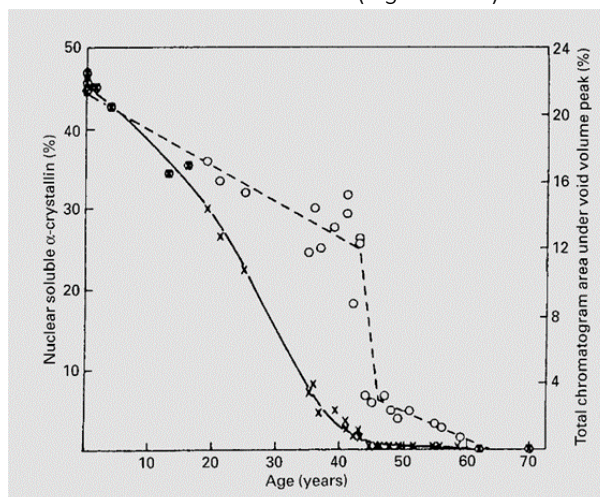


Figure I-11 : Fraction de cristallines  $\alpha$  soluble dans le noyau de cristallins humains en fonction de l'âge. Résultats de l'article de revue de Bron et al.<sup>17</sup>.

L'une des liaisons qui se forment est les ponts disulfures donnant alors des protéines disulfures. Il a été montré dans l'étude de Garner et al.<sup>32</sup> que l'utilisation d'antioxydants pour la dissolution des protéines disulfures, dans des cristallins *in vitro* de souris, permettait de diminuer la rigidité des cristallins. Ainsi, l'agrégation des protéines pourrait être une des causes de la rigidification du cristallin. Dans certains cas, les protéines forment des agrégats dont le poids moléculaire est suffisamment haut pour empêcher la bonne diffusion de la lumière visible<sup>18</sup>. C'est l'une des causes du développement de la cataracte sénile dont la conséquence est l'opacification du cristallin<sup>33</sup>. D'autres phénomènes biologiques peuvent également accélérer l'agrégation des protéines.



## Chapitre I: Etat de l'art

Le cristallin n'est pas vascularisé mais il existe tout de même une microcirculation au sein des couches cristalliniennes. Elle est générée par la circulation d'un flux ionique  $\text{Na}^+$  qui entre par les deux pôles du cristallin via les espaces extracellulaires et ressort par voie intracellulaire. Ce courant ionique circulant engendre un flux d'eau extracellulaire vers le noyau du cristallin et une élimination des déchets par un flux intracellulaire<sup>34</sup>. Ainsi, cette microcirculation est suffisante pour transporter des nutriments et des molécules jouant un rôle dans la dissolution des agrégats de protéines<sup>35,36</sup>. Cependant, ce système de microcirculation vieillit progressivement et une barrière de diffusion entre le cortex et le noyau se crée. L'étude de Sweeney et al.<sup>37</sup> a présenté des résultats de diffusion du glutathion (principale molécule antioxydante du cristallin) dans des cristallins humains *in vitro* d'individus jeunes et âgés (Figure I-12). Ces représentations permettent d'observer directement la présence d'une barrière biologique, située entre le cortex et le noyau, dans des échantillons âgés.

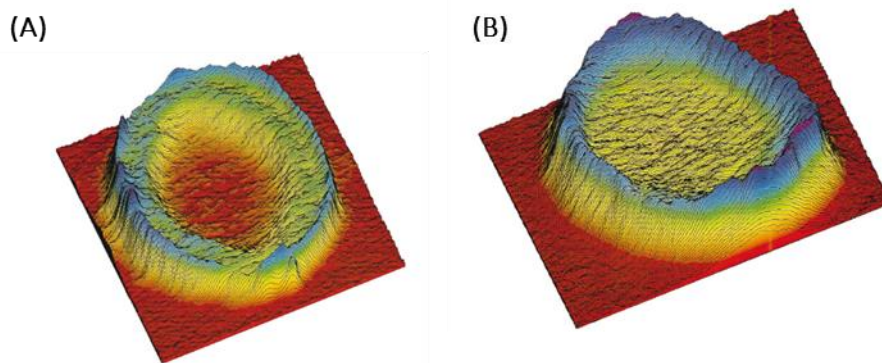


Figure I-12 : Différence de diffusion de glutathion entre des cristallins humains jeune et âgé. Résultats de l'étude de Sweeney et al.<sup>37</sup>. Représentation de la densité de glutathion dans une coupe axiale d'un cristallin âgé (A) et jeune (B). Le rouge est équivalent à l'arrière-plan et le bleu correspond aux valeurs les plus hautes de densité de glutathion.

Les résultats de cette étude démontrent que la diffusion du glutathion est réduite dans le noyau des cristallins chez les individus âgés.

### 1.3 Solutions optiques et traitements pour diminuer les effets de la presbytie

#### a) Solutions optiques :

La paire de lunettes est l'option la plus utilisée et la plus accessible pour corriger les effets de la presbytie. Différents types de lunettes existent en fonction de la complexité de la correction optique. Les verres comportant un seul point focal sur l'entièreté de la lentille, sont capables de corriger la vue pour une seule distance. Souvent utiliser pour la lecture, elle nécessite d'enlever ses lunettes ou d'utiliser une deuxième paire de lunettes pour visualiser à une autre distance. Les lunettes bifocales, trifocales ou progressives offrent la possibilité de corriger la vision à différentes distances grâce à la présence de plusieurs zones de puissance optique (deux zones focales, trois zones focales ou un gradient de zones focales). Elles permettent donc d'utiliser une seule paire de lunettes pour visualiser des objets situés à différentes distances (Figure I-13). Cependant, ces types de verres peuvent être plus coûteux que les verres simples. De plus, du fait de zones optiques restreintes, ils nécessitent une période

## Chapitre I: Etat de l'art

d'adaptation pour s'habituer à ajuster la position du regard. Cela peut impacter l'expérience visuelle d'un individu lorsqu'il conduit ou lorsqu'il effectue des tâches spécifiques sur son lieu de travail<sup>38</sup>.

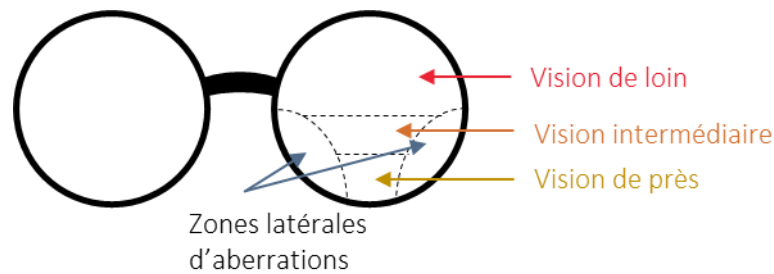


Figure I-13 : Schéma de principe des lunettes progressives

### b) Solutions chirurgicales :

- Chirurgie de remplacement de la lentille réfractive (RLE : Refractive Lens Exchange) :  
La chirurgie RLE consiste à remplacer le cristallin par un lentille intra-oculaire (IOL). Cette chirurgie est semblable à celle pratiquée pour la cataracte. Cette procédure est réalisée sous anesthésie locale. Elle consiste à réaliser une micro-incision à travers la cornée. Puis, le chirurgien procède à une petite ouverture sur la capsule du cristallin par laquelle est retiré le matériel biologique du cristallin. La phacoémulsification est une des techniques chirurgicales les plus pratiquées au monde pour fragmenter le cristallin, l'aspirer et ensuite déployer l'IOL (Figure I-14). Dans le cas de la presbytie, ces IOL peuvent être monofocales, multifocales ou posséder des propriétés accommodatives.

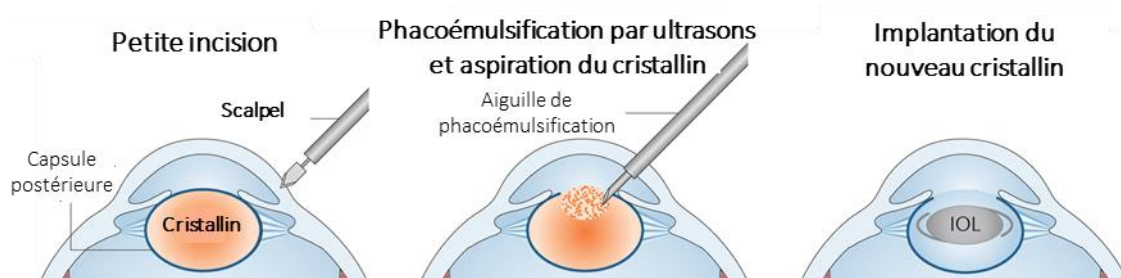


Figure I-14 : Schéma des différentes étapes de la chirurgie RLE par phacoémulsification.

Figure modifiée de l'article de Lam et al.<sup>39</sup>

Les patients sont plutôt satisfaits de la chirurgie. Une étude sur 220 personnes a montré que 90% des patients ayant subi une RLE avaient trouvé que cette procédure avait amélioré leur vie et la recommanderaient à leur entourage. Cependant, il reste des inconvénients tels que des erreurs résiduelles de réfraction et des symptômes de sécheresse oculaire<sup>38</sup>.

## Chapitre I: Etat de l'art

### - Chirurgie de la cornée<sup>38</sup> :

La chirurgie de la cornée pour la presbytie inclut l'implantation chirurgicale d'un inlay dans la cornée d'un œil. L'inlay est une couche mince et transparente modifiant la distance focale de l'œil pour visualiser à nouveau de près. Cette procédure présente des avantages tels que la réversibilité et la répétabilité. Permettant d'être indépendant vis-à-vis des lunettes pour la vision de près, elle nécessite de faire un compromis sur la vision de loin et la vision nocturne. De plus, il y a un risque de développer a posteriori une opacité cornéenne. Le deuxième type de procédure cornéenne est la chirurgie laser réfractive dont le but est d'enlever du tissu cornéen et de remodeler la cornée pour gagner en accommodation (*Figure I-15*). Une des stratégies pour la presbytie est de corriger un œil pour la vision de loin et l'autre pour la vision de près. Cette approche est appelée correction monivision<sup>40</sup>. Ainsi, cela permet de répondre aux besoins des patients myopes et presbytes. En effet, après une chirurgie réfractive se focalisant sur l'amélioration d'une seule distance focale, les patients myopes sont toujours dépendants de lunettes. 92% à 96% des patients ayant subi ce type de chirurgie en ont été satisfaits<sup>41</sup>. Cependant, une double correction peut diminuer l'acuité visuelle et la stéréopsie (perception du relief et de la profondeur). Une autre stratégie en cours de développement est de modeler la cornée pour obtenir une correction multifocale<sup>40</sup>. C'est un peu le même principe que pour les lunettes progressives avec des zones de la cornée traitées pour la vision de loin et d'autres pour la vision de près. Des études sont encore en cours pour promouvoir son utilisation plus généralisée dans la chirurgie de la cornée.

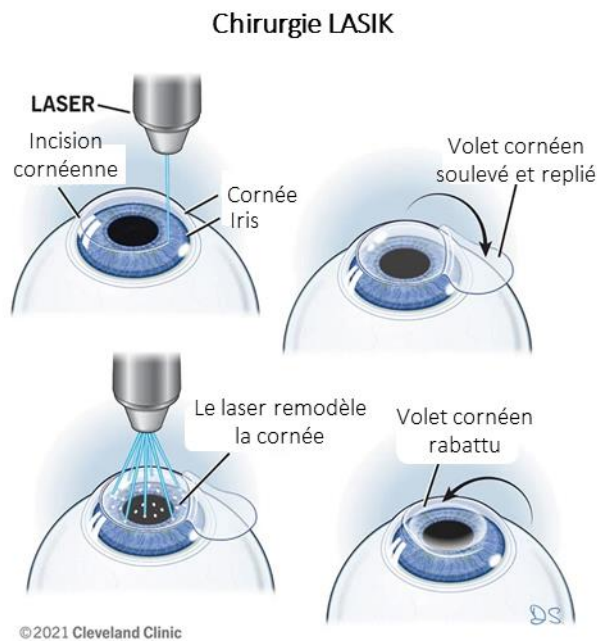


Figure I-15 : Schéma des étapes de la chirurgie réfractive LASIK de la cornée

### - Procédures de correction de la sclère<sup>38</sup> :

Ces procédures reposent sur la deuxième théorie de l'accommodation, qui défend l'opposé de la théorie d'Helmholtz : l'accommodation s'accompagnerait d'une mise en tension des zonules et d'une contraction des muscles ciliaires. Le but de ces procédures est donc d'augmenter le diamètre équatorial scléral pour restaurer la tension zonulaire avec des micro-implants au

## Chapitre I: Etat de l'art

niveau de la sclère. Néanmoins, ces approches suscitent la controverse en raison de leurs fondements théoriques.

### c) Traitements pharmacologiques :

Le traitement pharmacologique de la presbytie pourrait représenter une option pour ceux qui désirent une solution sans lunettes et une méthode pratique, avec un risque réduit d'effets indésirables liés aux chirurgies. Il existe deux types d'agents pharmacologiques : les agents miotiques et les agents qui agissent directement sur la rigidification du cristallin<sup>42</sup>. On s'intéressera seulement au deuxième type, puisqu'il cible directement un des mécanismes biologiques causant la rigidification du cristallin. En effet, les molécules testées, des antioxydants, pourraient réduire les liaisons disulfures, causant l'agrégation des protéines du cristallin. L'étude sur l'incubation de cristallins de souris dans de l'acide lipoïque a montré une réduction des liaisons disulfures et une diminution de la rigidité de cristallin<sup>32</sup>. Les résultats des études cliniques, bien que rares, présentent des contradictions significatives d'une étude à l'autre. Le Lanostérol, une molécule qui intervient dans la synthèse du cholestérol, pourrait être prometteur pour désagréger les protéines. L'étude de Zhao et al.<sup>43</sup> a montré des résultats positifs dans des cristallins de lapins disséqués et sur des modèles canins *in vivo* porteurs de sévères cataractes. L'application de Lanostérol a permis de diminuer l'opacification de ces cristallins. L'équipe de Shanmugam et al.<sup>44</sup> a essayé de reproduire le même type d'essais sur le noyau de cristallins humains cataracté *in vitro*. Cependant, le Lanosterol n'a pas permis de réduire l'opacification des échantillons. De plus, l'impact de cette drogue sur l'élasticité du cristallin n'a pas été étudié. Il se pourrait qu'une concentration plus élevée, adaptée à la taille plus importante du cristallin humain, soit plus appropriée que celle utilisée dans l'étude de Zhao et al.<sup>43</sup>. Enfin, la solution pharmaceutique la plus avancée est l'UNR 488 de Novartis qui est testée en phase II clinique<sup>45-47</sup>. Les résultats sont assez contradictoires d'une étude à l'autre pour cette molécule. Cette variabilité de résultats pourrait être liée à la différence d'âges des patients traités<sup>42</sup>. Ainsi des études comportant des cohortes plus importantes doivent être réalisées pour conclure sur l'efficacité et la sûreté de ce traitement pharmacologique. Pour l'ensemble des essais pharmacologiques visant à diminuer l'agrégation de protéines, on peut également émettre l'hypothèse que la diffusion efficace de drogues au sein du cristallin humain soit diminuée par les barrières naturelles telles que la barrière cortex-noyau<sup>37</sup>.

## 1.4 Conclusion et perspectives

L'objectif de cette partie était de présenter la presbytie et son impact sur la vision de près. La presbytie est donc liée au vieillissement du cristallin qui perd en déformabilité du fait de la rigidification de celui-ci. Les causes biologiques de cette rigidification sont nombreuses et complexes mais reposent surtout sur les conséquences d'une non régénération des fibres cristalliniennes et de leurs protéines. Il a été observé qu'au cours du vieillissement les protéines avaient tendance à s'agréger et ainsi à rigidifier le cristallin. Concernant les traitements pour la presbytie, ils sont quasi inexistantes. En effet, seules des solutions optiques existent, soit le port de lunettes, le remplacement du cristallin par une IOL ou encore le remodelage de la cornée. Ces solutions ne permettent pas de retrouver une qualité de vision à toutes les distances et nécessitent de trouver un compromis. Cette situation peut rapidement devenir un véritable problème lorsqu'il s'agit d'accomplir des tâches nécessitant de la précision, et elle est susceptible de conduire à des chutes dans les activités de la vie quotidienne. Il manque une réelle solution qui ciblerait les causes biologiques de la presbytie : c'est-à-dire l'agrégation des protéines. Des

traitements pharmacologiques sont encore à l'étude pour dissoudre ces agrégats mais la difficulté à diffuser des drogues au sein du cristallin est aggravée par les barrières naturelles du cristallin. Ainsi, il est nécessaire de trouver une nouvelle stratégie pour redonner de l'élasticité au cristallin en détruisant ces agrégats. Une autre piste serait de réactiver la micro-circulation intra-cristallinienne pour permettre une délivrance de drogue plus efficace. Les ultrasons thérapeutiques, qui peuvent être utilisés de manière non-invasive, pourraient être une alternative grâce à leurs différents effets sur les structures biologiques. En effet, ils peuvent permettre par des effets thermiques ou mécaniques de détruire des tissus biologiques mais peuvent également diminuer la perméabilité de membranes biologiques. La prochaine partie vise à présenter les différentes applications des ultrasons thérapeutiques et les différentes pistes d'utilisation pour un potentiel traitement de la presbytie.

## 2. Vers l'utilisation des ultrasons de haute intensité pour le traitement de la presbytie

L'objectif de cette partie est de présenter le domaine des ultrasons thérapeutiques et les principes physiques sous-jacents. Une partie plus importante sera consacrée aux principes physiques de la cavitation ultrasonore, ainsi que les techniques permettant de la monitorer. Puis, la deuxième section se focalisera sur les applications des ultrasons thérapeutiques dans le domaine de l'ophtalmologie. Enfin, une dernière section apportera des pistes d'étude afin d'utiliser les ultrasons thérapeutiques pour le traitement de la presbytie.

### 2.1 Description des ultrasons thérapeutiques ou HIFU

Les ultrasons sont des ondes mécaniques dont la fréquence se situe au-dessus du spectre auditif, avec une fréquence allant de 20 kilohertz jusqu'à la centaine de mégahertz. Dans le domaine du biomédical, les ultrasons sont communément utilisés pour l'échographie. Ces ondes ne présentent pas de danger, elles sont non ionisantes, contrairement aux rayons X utilisés pour la radiographie. Elles permettent de manière non invasive d'imager des organes se trouvant en surface ou plus en profondeur, en utilisant une sonde échographique. Au-delà du rôle de diagnostic, les ultrasons sont également utilisés pour le traitement de certaines pathologies comme les cancers, les maladies neurologiques (les tremblements parkinsoniens, les tremblements essentiels)<sup>48</sup>... Les ultrasons thérapeutiques sont regroupés sous le terme d'HIFU pour Ultrasons Focalisés de Haute Intensité. Le dispositif ultrasonore émet des ondes focalisées en un point avec une intensité pouvant atteindre plusieurs dizaines de W/cm<sup>2</sup>. En fonction des paramètres d'insonification et de l'intensité de l'onde, un effet thermique ou mécanique peut être obtenu. Cette section présente le principe de ces deux types d'effet ainsi que les applications existantes.

#### a) *Effet thermique*

Lorsque les ondes ultrasonores se propagent dans un tissu biologique, leur amplitude est atténuée par trois phénomènes : la réflexion/transmission, la diffusion et l'absorption. Ainsi, l'amplitude d'une onde plane, définit comme la pression,  $p$ , en Pa, est atténuée, de telle sorte que :

$$p(z) = p_0 \cdot e^{-\alpha z},$$

*Équation I-2*

## Chapitre I: Etat de l'art

avec  $z$ , la profondeur du milieu traversé en m et  $p_0$ , la pression initiale en Pa. Du fait d'impédances acoustiques différentes entre les tissus, une portion de l'onde est réfléchiée lorsqu'elle rencontre une interface entre deux tissus. L'énergie de l'onde peut également être diffusée par des objets dont la taille est petite par rapport à la longueur d'onde,  $\lambda$ . Enfin, les tissus absorbent également une partie de l'énergie ultrasonore, qui est alors transformée en chaleur. C'est ce phénomène d'absorption qui prédomine parmi toutes les interactions entre les ondes ultrasonores et les tissus. Ainsi, le coefficient d'atténuation  $\alpha$  est le plus souvent estimé comme étant égal à l'absorption. Ce coefficient varie en fonction de la fréquence, tel que :

$$\alpha = \alpha_0 f^b,$$

Équation I-3

avec  $\alpha_0$ , le coefficient d'atténuation en  $\text{Np.m}^{-1}.\text{MHz}^{-b}$ ,  $f$ , la fréquence en MHz et  $b$ , le coefficient de non-linéarité de l'atténuation, sans unité, et souvent proche de 1. On peut alors en déduire la quantité de chaleur,  $Q$  ( $\text{W.m}^{-3}$ ), provenant de l'énergie acoustique absorbée par le tissu telle que :

$$Q(z) = \frac{\partial I(z)}{\partial z} = 2 \cdot \alpha \cdot f \cdot I(z) \quad \text{avec} \quad I(z) = \frac{p^2(z)}{2 \cdot Z} = I_0 \cdot e^{-2\alpha f z},$$

Équation I-4

avec  $I$ , l'intensité acoustique en  $\text{W.m}^{-2}$ . Ainsi, en appliquant des ultrasons focalisés de haute intensité en continu dans un tissu, la température augmente localement dans le tissu cible jusqu'à la nécrose des tissus par coagulation, causant des dommages irréversibles. L'équation de la BHT (Bio Heat Transfer Equation) décrit le bilan thermique d'un tissu biologique, soumis aux HIFU, et permet alors de simuler son augmentation de température,  $T$  pendant un traitement :

$$Q + k\nabla^2 T - \omega_s c_s (T - T_s) = \rho c_t \frac{\partial T}{\partial t},$$

Équation I-5

avec  $Q$ , l'apport de chaleur par les HIFU en  $\text{W.m}^{-3}$ . Le terme  $k\nabla^2 T$  représente la conduction thermique du tissu avec  $k$ , la conductivité thermique du tissu en  $\text{W.m}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ . Le terme  $\omega_s c_s (T - T_s)$  quantifie l'effet de la perfusion du sang avec  $\omega_s$ , le taux de perfusion local en  $\text{kg.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$ ,  $c_s$  la chaleur spécifique du sang en  $\text{J.kg}^{-1}.\text{°C}^{-1}$  et  $T_s$ , la température du sang en  $\text{°C}$ . Enfin, le terme  $\rho c_t (\partial T / \partial t)$  représente la variation d'énergie avec  $\rho$ , la masse volumique en  $\text{kg.m}^{-3}$  et  $c_t$ , la chaleur spécifique du tissu en  $\text{J.kg}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ .

Les applications les plus avancées des HIFU thermiques sont l'ablation de tumeurs, comme les tumeurs cancéreuses de la prostate avec le dispositifs Focal One, intra-rectal et Tulsa Pro, intra-urétral (Figure I-16A-B). Il existe également des applications neurologiques comme l'ablation d'une partie du cerveau responsable des tremblements essentiels avec le dispositif Exablate Neuro de Insightec (Figure I-16C). Les dispositifs sont très variables en ce qui concerne leur forme (sonde intra-cavitaire, sonde externe) ainsi que par le type d'imagerie utilisé pour guider le traitement (imagerie ultrasonore ou IRM). Une grande diversité d'études est actuellement en cours pour développer cette méthode pour d'autres pathologies et d'autres cancers. La fondation de la FUS (Focused Ultrasound Foundation) regroupe l'ensemble de ces études dans un document état de l'art<sup>48</sup>.

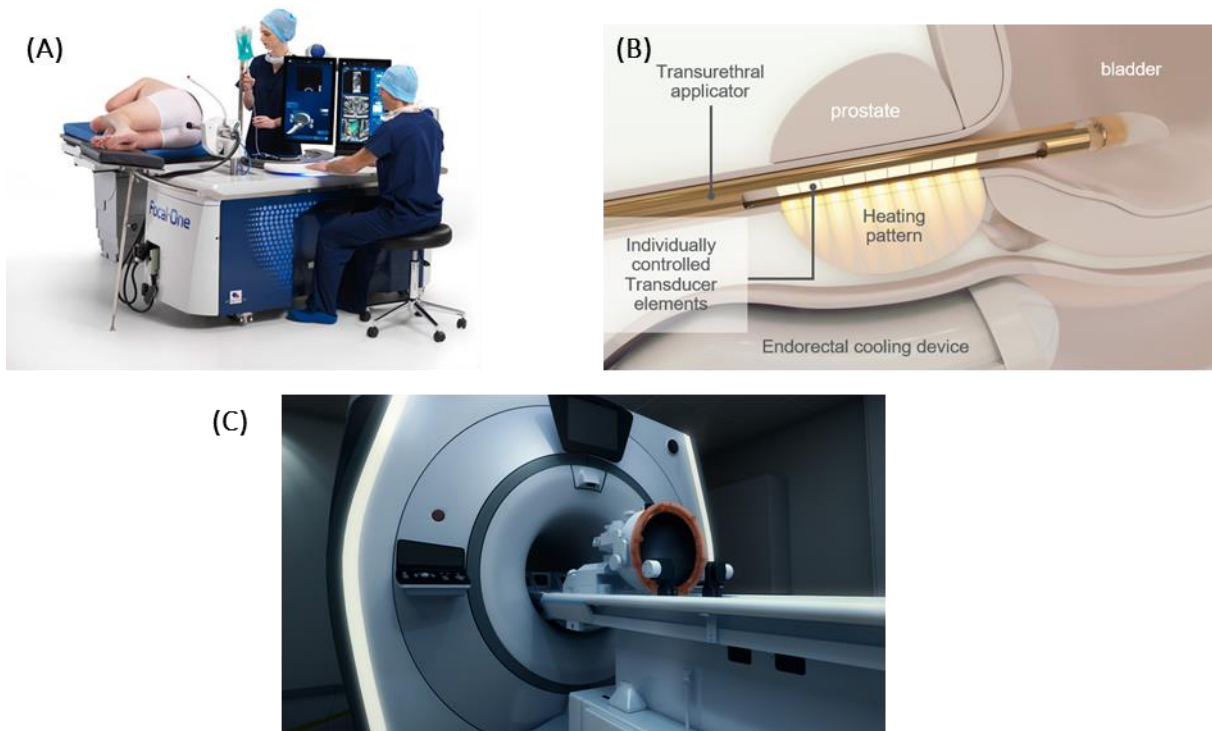


Figure I-16 : Exemples de dispositifs HIFU commercialisés.

Pour le traitement de la prostate : (A) Focal One de la société Edap TMS<sup>49</sup>, (B) Tulsa Pro de la société *Profound Medical*<sup>50</sup> et pour le traitement des tremblements essentiels : (C) Exablate Neuro de la société *Insightec*<sup>51</sup>

### b) Effet mécanique : la cavitation ultrasonore

#### Cavitation ultrasonore et oscillations de bulles :

Le deuxième effet des ultrasons est un effet mécanique qu'on appelle cavitation. La cavitation est associée à l'interaction existant entre un champ ultrasonore et une bulle. En effet, si on soumet une bulle à un champ ultrasonore, celle-ci va osciller sous l'effet de la surpression et de la dépression de l'onde ultrasonore. En fonction de l'amplitude de l'onde, deux régimes d'activité de cavitation peuvent être décrits (Figure I-17) :

- Le régime stable : les bulles oscillent autour d'un rayon d'équilibre sous l'effet d'une amplitude d'onde modérée. Elles se contractent sous l'effet de la surpression puis se dilatent sous l'effet de la dépression. L'un des effets de ces oscillations est la création de microstreaming (micro-flux) autour de la bulle qui vont entrer en interactions avec les surfaces et les tissus environnants. Cela peut alors entraîner une disruption momentanée des membranes biologiques comme la barrière hémato-encéphalique ou les membranes des cellules, permettant la diffusion de drogues.
- Le régime inertiel : Les bulles implosent sur elles-mêmes. Les bulles s'expandent de manière incontrôlée sous l'action des ondes ultrasonores. Cela réduit la pression intra-cavité jusqu'à ce que l'interface gaz-liquide ne soit plus capable de supporter l'inertie du liquide environnant, entraînant leur implosion. L'implosion de la bulle peut entraîner une élévation locale de la température de plusieurs milliers de Kelvin et la création de micro-jets qui vont détruire

## Chapitre I: Etat de l'art

localement les tissus environnants. L'histotripsie est l'une des applications thérapeutiques utilisant les effets de ce régime inertiel pour liquéfier les tissus<sup>52</sup>. On peut également utiliser la cavitation inertielle pour augmenter la diffusion de drogues dans les tissus<sup>53</sup>.

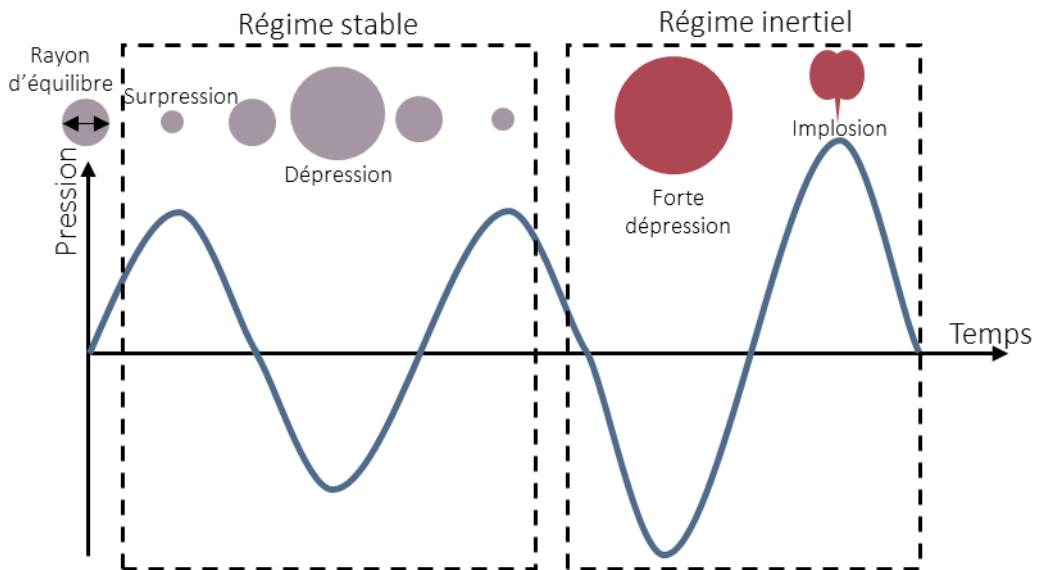


Figure I-17 : Schéma présentant les deux régimes de cavitation : le régime stable et le régime inertiel

### Cavitation ultrasonore et formation de nuage de bulles :

Le terme de cavitation ultrasonore est également associé au phénomène de nucléation de nuage de bulles sous l'effet d'un champ ultrasonore. En effet, en focalisant des ultrasons de haute intensité, des bulles de gaz peuvent être créées au sein d'un tissu. La nucléation de bulles de gaz peut se produire de deux manières, comme indiqué sur le schéma de principe du diagramme de phase de l'eau (

Figure I-18). On peut soit augmenter la température et ainsi créer des bulles par ébullition ou soit diminuer la pression localement et créer des bulles par dépression.

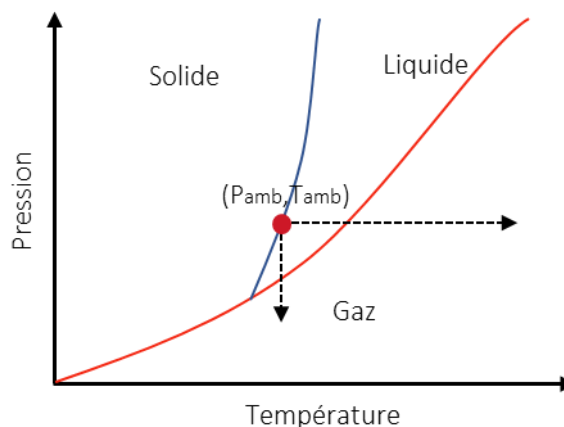
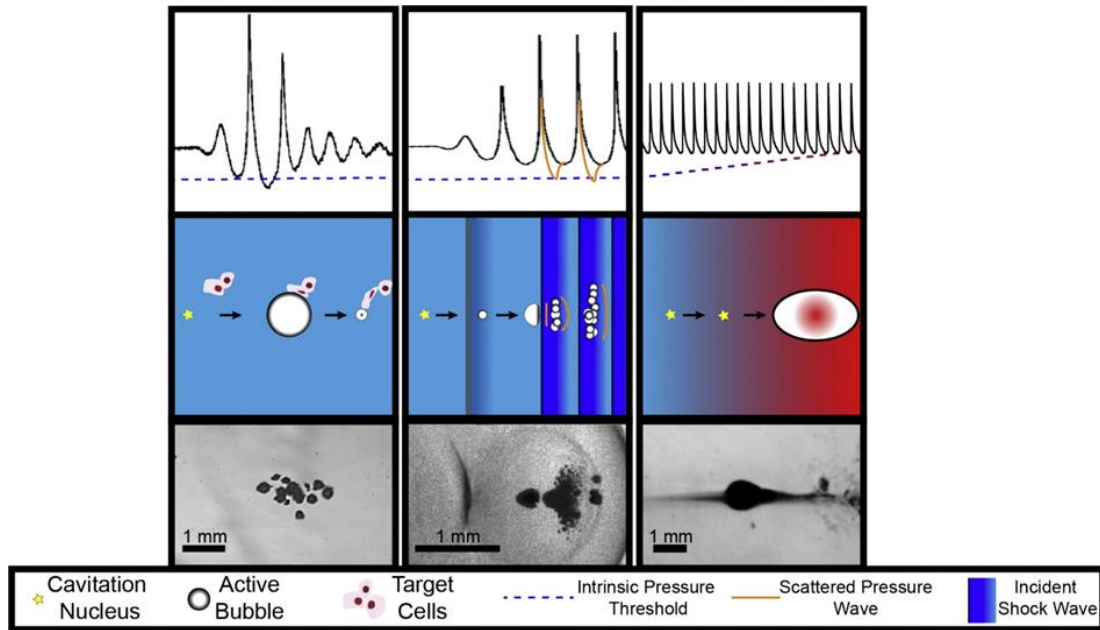


Figure I-18 : Schéma de principe d'un diagramme de phase de l'eau et des conditions pour passer de l'état solide à gazeux



C'est ce dernier principe qui est utilisé pour créer des bulles de cavitation par ultrasons. En effet, une zone d'un tissu soumise à une onde ultrasonore subira des périodes d'intense pression alternant avec des moments de très faible pression, où des bulles de gaz peuvent être créées. Dans les tissus, la formation de cavitation est facilitée par la présence de gaz dissous sous forme de bulles nanométriques, qui sont renforcés par les phases de dépression de l'onde. La *Figure I-19* illustre 3 stratégies pour induire un nuage de cavitation dans les tissus sous l'action d'un champ ultrasonore intense et pulsé.



*Figure I-19 : Schémas de principe de plusieurs stratégies de la formation de cavitation dans les tissus. Ligne du haut : Profils de pression dans le tissu ; Ligne du milieu : effets physiques sur les bulles ; Ligne du bas : images optiques de la formation de cavitation. Colonne de gauche : Intrinsic threshold histotripsy ; Colonne du milieu : shock scattering histotripsy ; Colonne de droite : Boiling histotripsy Figure issue de l'étude de Bader et al.<sup>54</sup>*

Ces approches comprennent la cavitation par *intrinsic threshold*, la cavitation par *shock scattering* et la cavitation par *boiling histotripsy*. Il est important de noter que l'émission ultrasonore se présente sous forme de séquences d'impulsions, qu'on appelle pulse ultrasonore ou *burst*. Pour chaque méthode, des germes de cavitation sont présents dans le milieu. On peut également observer sur la *Figure I-19* que les formes d'ondes ultrasonores présentent une forte asymétrie, caractéristique du phénomène de propagation non-linéaire. Ce phénomène sera décrit plus précisément dans une sous-partie présentant le principe de simulation numérique de la propagation des ondes ultrasonores non-linéaires. Ces stratégies de formation de cavitation ont été étudiées dans l'étude de Bader et al.<sup>54</sup> et sont présentées ci-dessous.

*Intrinsic – threshold histotripsy* ou histotripsy par seuil intrinsèque. Le pulse ultrasonore comprend une seule phase de dépression intense (durée d'un pulse : 0.33 à 10  $\mu$ s), qui est suffisante pour créer de la cavitation de nano-bulles dissoutes dans le milieu. Dans ce cas on a atteint le seuil de déclenchement de cavitation intrinsèque du milieu insonifié.

Schock-scattering histotripsy ou histotripsie par diffusion de chocs. Les pulses ultrasonores peuvent durer entre 3 et 20  $\mu\text{s}$  et sont répétés avec une période de répétition allant de 1 à 10 ms (Figure I-20A). Sur la Figure I-20B, issue de l'article de Maxwell et al.<sup>55</sup>, les différentes étapes de la formation d'un nuage de bulles sont représentées. L'amplitude de la phase de dépression est suffisante pour créer des premières bulles dans la zone focale (étape 1). Ces bulles vont alors réfléchir les ondes incidentes (étapes 2 et 3) et celles-ci vont interférer constructivement avec les prochaines ondes incidentes. Dans les régions d'interférences, la pression négative locale atteint alors le seuil de déclenchement intrinsèque du milieu, permettant de créer de nouvelles bulles plus en amont (étape 4). Puis le processus se répète à nouveau.

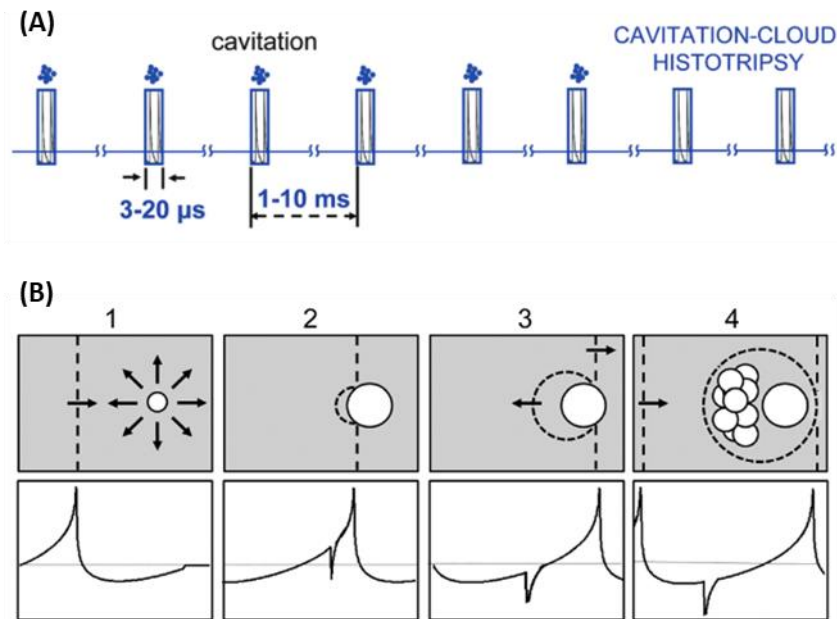


Figure I-20 : Principe de l'histotripsie par onde de choc.

(A) Conditions d'insonification nécessaires (Figure issue de l'article de Maxwell et al.<sup>52</sup>). (B) Schéma de principe des étapes de la formation d'un nuage de cavitation par ondes de choc (schémas du haut) et la distribution de la pression sur l'axe acoustique (schéma du bas) (Figure issue de l'article de Maxwell et al.<sup>55</sup>).

Boiling histotripsy ou histotripsie par ébullition. Les impulsions ultrasonores peuvent durer entre 1 et 20 ms avec une période de répétition comprise entre 1 et 2 s (Figure I-21). Du fait de la non linéarité de l'onde et du transfert de l'énergie vers de plus hautes fréquences harmoniques, l'onde ultrasonore est rapidement absorbée par le tissu. Ainsi la température locale du tissu augmente rapidement jusqu'à réduire le seuil de déclenchement intrinsèque de la cavitation. Des bulles se forment à la focale lorsque ce seuil diminue suffisamment pour coïncider avec le niveau de dépression de l'onde incidente.

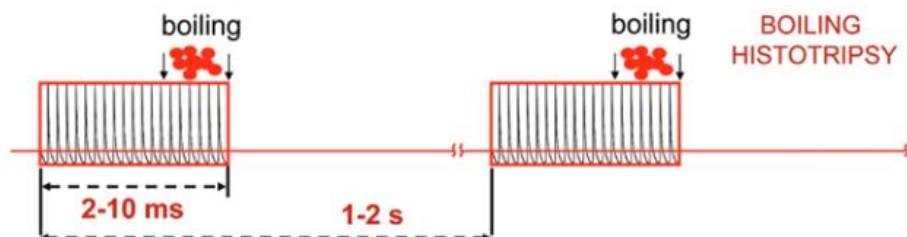


Figure I-21 : Histotripsie par ébullition et conditions d'insonification nécessaires.

(Figure issue de l'article de Maxwell et al.<sup>55</sup>)

### Effets biologiques de la cavitation ultrasonore :

Comme décrit précédemment, la cavitation ultrasonore, qui correspond à l'oscillation de bulles en régime stable ou inertielle, peut avoir divers effets biologiques sur les tissus environnants. En régime inertielle, l'explosion des bulles implique une destruction locale des tissus par fragmentation ou par liquéfaction. Ce phénomène a été dans un premier temps appliqué à la destruction de calculs rénaux avec la lithotripsie extra-corporelle. Ce type de traitement est aujourd'hui couramment utilisé en clinique<sup>56</sup>. Il nécessite de créer des ondes de choc suffisamment intenses pour initier directement un nuage de bulles. L'activité inertielle de ces bulles va fragmenter les calculs rénaux et les résidus sont ensuite évacués par les urines. Ce domaine d'application est encore en cours d'étude afin d'améliorer son efficacité<sup>57</sup>. La destruction de tissu par effets mécaniques est aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études pour traiter différents types de cancer comme le cancer de la prostate, du foie...<sup>58</sup>.

Une autre application est également la destruction de thromboses (formation de caillots sanguins)<sup>59</sup>, causant des accidents vasculaires cérébraux. L'histotripsie présente de réels avantages par rapport à l'ablation thermique des tissus par HIFU, notamment la capacité de surveiller le traitement en temps réel, l'absence de surélévation de la température dans le tissu cible et les tissus environnants, ainsi que la facilitation de la résorption des tissus fragmentés, après traitement.

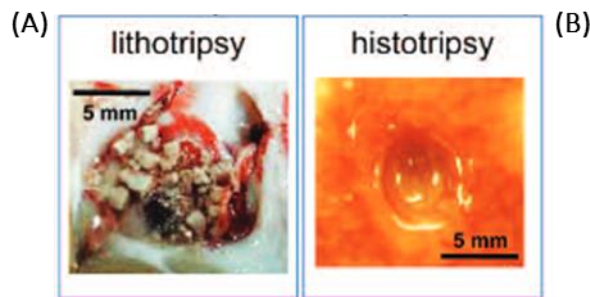


Figure I-22 : Exemples de deux traitements par cavitation inertielle et ondes de choc.

(A) Fragmentation d'un calcul rénal par lithotripsie. (B) : Liquéfaction d'un tissu mou par histotripsie.

Figure extraite de l'article de Maxwell et al.<sup>52</sup>

La cavitation ultrasonore peut également améliorer la délivrance de drogue par différents mécanismes. En effet, l'activité de cavitation inertielle peut non seulement détruire mécaniquement les cellules voisines mais également induire la perméabilisation des membranes cellulaires. Ainsi, les drogues peuvent plus facilement pénétrer à l'intérieur des cellules. Ce phénomène est appelé la sonoporation. Ce phénomène physique qui altère la porosité de la membrane n'est pas encore bien compris mais pourrait être lié à l'implosion des bulles et aux micro-jets qui perturberaient les membranes<sup>60</sup>. Dans un régime stable, les bulles oscillent de manière asymétrique et différentes interactions bulles-cellules telles que les forces de poussée et de traction ou encore le microstreaming pourraient expliquer le phénomène de sonoporation. Le microstreaming pourrait également induire des effets biologiques comme la libération d'espèces oxygènes réactives qui renforceraient alors la perméabilité en stimulant des canaux ioniques. Les forces de cisaillement créées par l'oscillation de bulles pourraient également avoir un effet sur l'endocytose de la cellule. L'ensemble de ces effets biophysiques est répertorié sur la Figure I-23 de l'article de revue de Yang et al.<sup>61</sup>. Pour la délivrance de drogue via la cavitation, le plus souvent des microbulles sont directement injectées dans l'organisme. Ces bulles sont ensuite excitées par l'émission d'ultrasons. C'est ce même principe qui est utilisé pour l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique se trouvant dans le cerveau<sup>62</sup>. La perméabilité de cette barrière induite transitoirement

## Chapitre I: Etat de l'art

par les ultrasons a permis de délivrer plus efficacement des traitements de chimiothérapie contre le glioblastome. D'autres études sont en cours pour la délivrance de traitements contre d'autres pathologies cérébrales<sup>63</sup>.

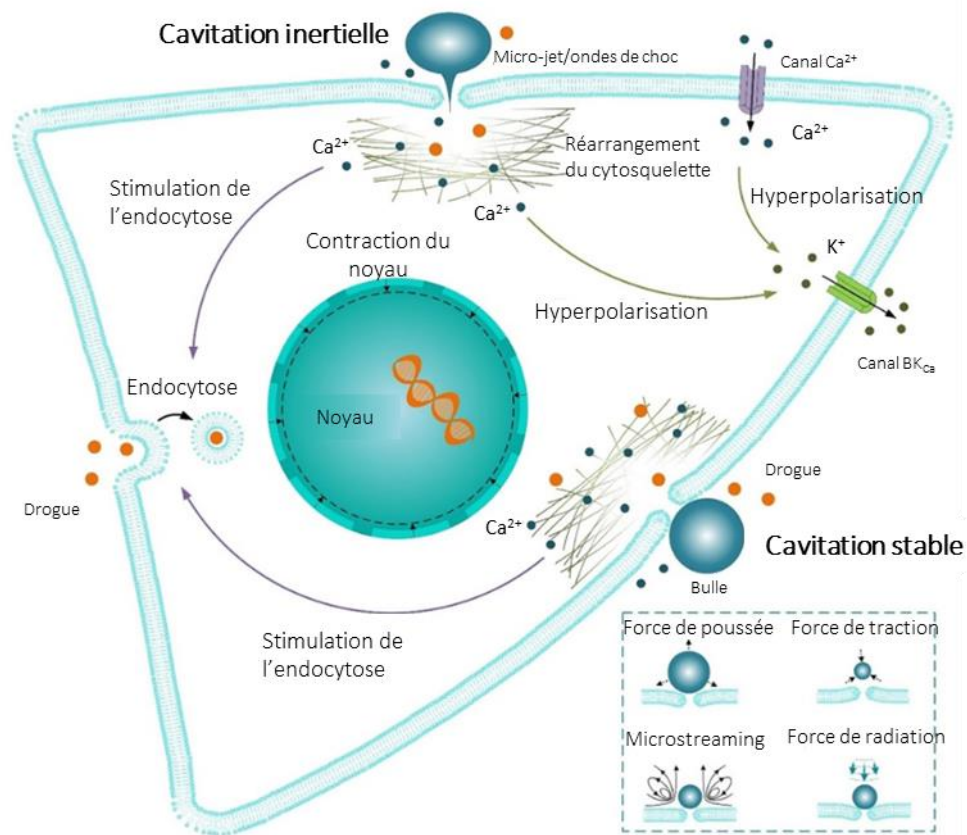


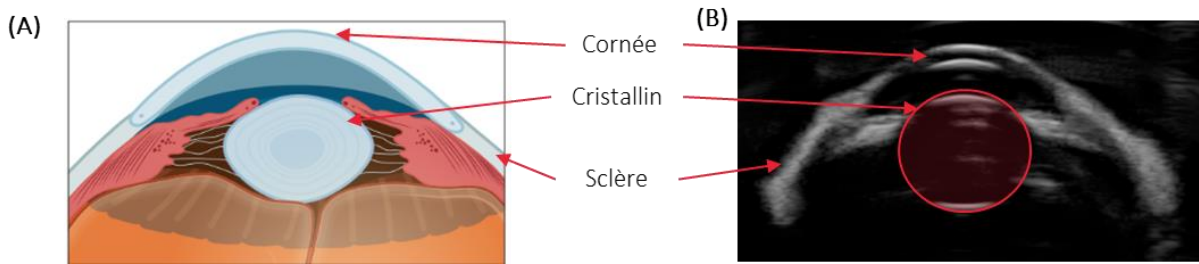
Figure I-23 : Schéma récapitulatif des effets biophysiques de la sonoporation générée par la cavitation stable ou inertielle de microbulles. Figure adaptée de l'article de revue de Yang et al.<sup>61</sup>

### Méthodes de suivi de l'activité de cavitation :

Dans l'optique du développement d'un traitement pour la presbytie, il est important de suivre, en temps réel, l'activité de cavitation ultrasonore dans le cristallin. Ainsi, cette partie présentera les principales méthodes existantes pour monitorer l'activité de cavitation lors d'un traitement.

#### - L'imagerie active :

L'imagerie active ultrasonore, aussi appelée échographie ou imagerie B-mode, est une technique largement utilisée pour le suivi de cavitation. Le principe de cette technique d'imagerie médicale repose sur l'utilisation d'une sonde multi-éléments émettant de courtes impulsions ultrasonores. Ces impulsions se propagent dans le milieu biologique, et interagissent avec différents diffuseurs et structures biologiques présentant des impédances acoustiques variées. Une partie de l'onde est réfléchi, et se rétro propage jusqu'aux éléments de la sonde d'imagerie. En acquérant ces signaux rétrodiffusés, des algorithmes de reconstruction appelés algorithmes de beamforming (formation de voies) permettent de créer une image. L'idée centrale est de déterminer la distance des réflecteurs en calculant le temps de vol des ondes ultrasonores. La Figure I-24 est un exemple d'une échographie d'un œil porcin, comparé au schéma anatomique de la partie antérieure du globe oculaire.



On peut observer que le cristallin est un organe complètement transparent aux ultrasons. En effet contrairement à la sclère, il n'y a pas de diffuseurs ultrasonores (*speckle*), les structures à l'intérieur du cristallin étant de trop petits diffuseurs pour les ondes ultrasonores. Cependant, le cristallin peut être repéré par ces deux interfaces antérieure et postérieure. L'imagerie active permet d'imager les bulles de cavitation qui apparaissent comme des points brillants ou des zones hyperéchogènes. Ainsi, l'imagerie de cavitation avec le B-mode semble plutôt adaptée pour le cristallin. En effet, les bulles seront encore plus visibles du fait de l'absence de *speckle*. Cependant, le principal inconvénient de l'imagerie active pour le suivi de cavitation est qu'elle est bruitée par le traitement HIFU. Les faisceaux ultrasonores de thérapie apparaissent par intermittence sur l'imagerie B-mode, rendant difficile la visualisation du nuage. C'est pourquoi, ce type d'imagerie est plutôt utilisé entre les impulsions de thérapie ou à la fin d'un traitement pour observer la dissolution et les résidus du nuage de cavitation.

- L'écoute passive par PCD :

Pour mesurer l'activité de cavitation, on peut également utiliser l'écoute passive. Le principe est d'écouter le signal émis par une source acoustique, qui est dans notre cas des bulles de cavitation. Pour cela, on peut utiliser un PCD (Passive Cavitation Detector). C'est un transducteur mono-élément qui permet d'acquérir passivement des signaux comme un microphone. L'analyse de ces signaux permet de quantifier l'activité de cavitation. Une étude fréquentielle permet également d'en déduire des indices de cavitation stable ou inertielle<sup>64</sup>. En effet, le spectre fréquentiel associé au régime stable est différent de celui du régime inertielle. En régime stable, l'oscillation non-linéaire de la bulle est caractérisée par l'émission d'une onde ultrasonore dont les fréquences de résonances correspondent aux sous-harmoniques et ultra-harmoniques. Dans le cas d'un régime inertielle, l'implosion de la bulle est caractérisée par l'émission d'une onde de choc qui réhausse le bruit sur toute la bande passante.

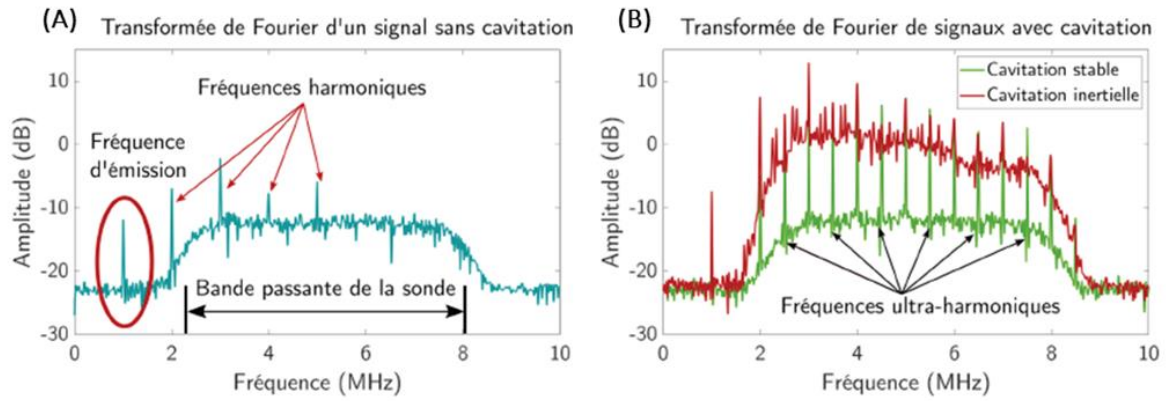


Figure I-25 : Caractéristiques fréquentielles de signaux d'activité de cavitation.

Exemple de transformée de Fourier de signaux sans (A) et avec cavitation (B), mesurée expérimentalement. La cavitation est initiée par un faisceau HIFU dont la fréquence centrale est de 1 MHz. Figure issue de la thèse d' Audrey Sivadon<sup>65</sup>

Cependant, cette méthode ne permet pas de localiser la cavitation, ce qui pourrait être nécessaire lors d'un traitement ultrasonore du cristallin.

- L'imagerie passive :

Afin de quantifier et localiser l'activité de cavitation, il existe l'imagerie passive par ultrasons (PAM : Passive Acoustic Mapping). Le principe est d'utiliser chaque élément d'une sonde d'imagerie ultrasonore comme PCD. Avec des méthodes de beamforming adaptées à l'écoute passive, des cartes d'activité de cavitation peuvent être reconstruites. L'algorithme de reconstruction utilisé est appelé le DSI pour Délai, Somme et Intégration. Il est similaire aux algorithmes de beamforming, utilisés pour les images B-mode. La difficulté principale est de retrouver un temps de vol des ondes acquises sans avoir de référence temporelle. Le principe de cet algorithme sera brièvement présenté dans le paragraphe suivant. Une explication plus approfondie est décrite dans l'article de Gyöngy et Coussios<sup>66</sup> et dans le travail de thèse d'Audrey Sivadon<sup>65</sup>. La Figure I-26, provenant de l'article de Haworth<sup>67</sup>, représente le principe de l'algorithme du DSI. Pour former une image, les signaux temporels reçus par les éléments de la sonde d'imagerie sont individuellement retardés, en se basant sur le temps de propagation entre les éléments et la localisation spatiale du pixel considéré. Les signaux sont ensuite additionnés à travers chaque élément. Si le pixel correspond à l'emplacement de la source, les signaux vont alors s'ajouter constructivement grâce à leur nature cohérente (Figure I-26B). Inversement, si le pixel considéré est loin de la source de cavitation, les signaux ne vont pas s'ajouter de manière constructive et l'amplitude sera plus faible (Figure I-26C).



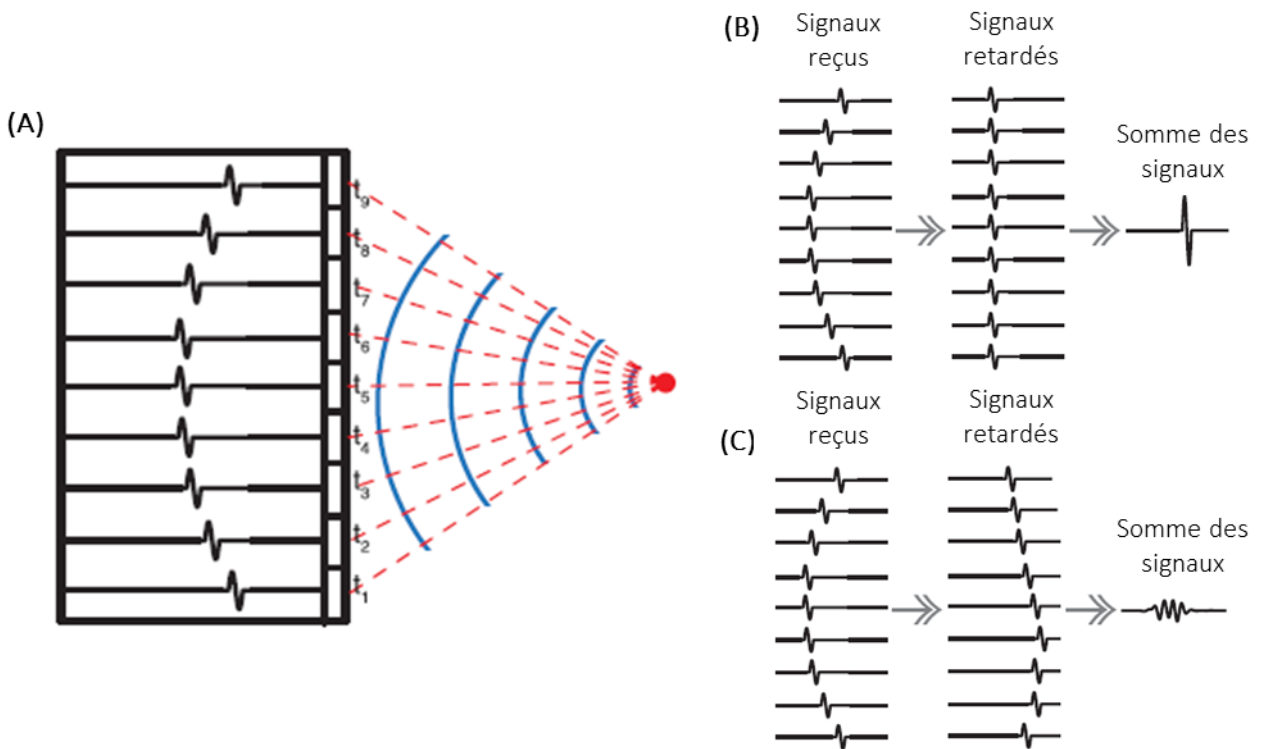


Figure I-26 : Schéma de principe de l'algorithme de beamforming du DSI

Figure adaptée de l'article de Haworth<sup>67</sup>. (A) : Une source émet un pulse, reçu par les différents éléments de la sonde d'imagerie. Les pointillés rouges représentent la propagation de l'onde jusqu'à un élément, correspondant à un temps de vol  $t_i$ . (B) : Le pixel considéré correspond à la source, la somme des signaux retardés est constructive. (C) : Le pixel considéré est loin de la source, la somme des signaux n'est pas constructive.

Arithmétiquement, la puissance estimée pour chaque pixel peut être calculée par la relation suivante :

$$P(r) = \frac{1}{T} \int_{t_0}^{t_0+T} \left( \sum_i p_i \left( t + \frac{d_i(r)}{c} \right) \right)^2 dt,$$

Équation I-6

où  $T$  est le temps d'intégration,  $t_0$  est le temps initial de l'intégration,  $i$  est le  $i^{\text{ème}}$  élément de la sonde et  $p_i(t)$  est le signal reçu par l'élément de la sonde d'imagerie,  $i$ , au temps,  $t$ , avec une vitesse de propagation des ultrasons,  $c$ . Une des limites de cet algorithme dans le domaine temporel est le temps de calcul important car il nécessite d'intégrer sur toute la durée du signal acquis. Cet algorithme peut être adapté au domaine fréquentiel, améliorant alors ce temps de calcul. De plus, cette approche permet de choisir sur quelles fréquences on souhaite reconstruire les cartes d'activité de cavitation. Cela peut permettre, aussi, de différencier la cavitation stable de la cavitation inertielle. Cet algorithme a été décrit, dans l'étude de Haworth et al.<sup>67</sup>. Son principe fondamental est la relation liant la transformée de Fourier du retard temporel au déphasage. Ainsi la puissance estimée pour un pixel à une fréquence,  $f$ , peut être réécrite de la manière suivante :

## Chapitre I: Etat de l'art

$$P(r, f) = \left( \sum_i P_i(f) \cdot e^{i2\pi f \frac{d_i(r)}{c}} \right)^2,$$

Équation I-7

avec  $P_i(f)$ , la transformée de Fourier du signal temporel  $p_i$ , et le terme  $e^{i2\pi f \frac{d_i(r)}{c}}$ , le déphasage, provenant de la transformée de Fourier du décalage temporel. Pour obtenir la puissance sur une bande de fréquence  $[f_1, f_2]$ , on obtient, alors :

$$P(r) = \int_{f_1}^{f_2} P(r, f) df.$$

Équation I-8

L'une des limites des algorithmes du DSI, que ce soit dans le domaine temporel ou dans le domaine fréquentiel est la faible résolution axiale. En effet, la carte d'activité de cavitation d'une source ponctuelle donne une tache centrée sur la source et allongée dans la direction axiale de la sonde d'imagerie. Sur la *Figure I-27*, on peut observer des résultats de l'étude de Gray et al.<sup>68</sup>. La carte d'activité de cavitation (A) montre bien le manque de résolution axiale dont souffre l'algorithme du DSI.

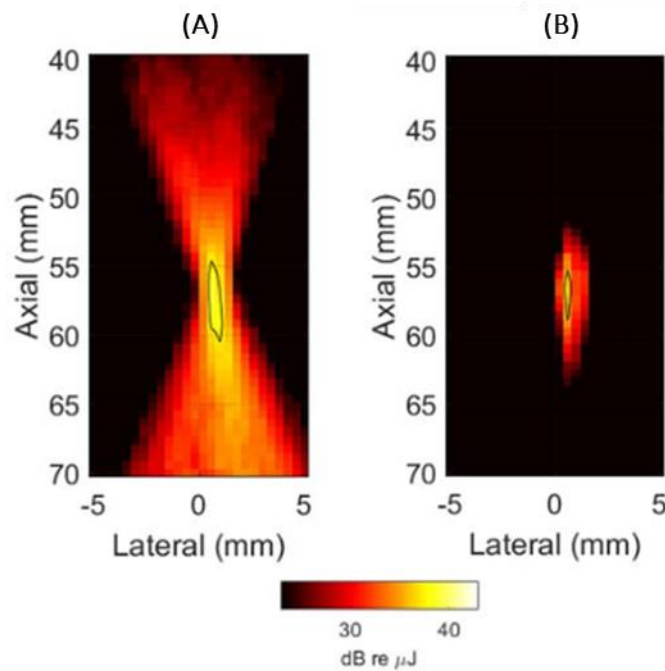


Figure I-27 : Exemples de résultats de PAM pendant une insonification ultrasonore  
Figure de l'étude de Gray<sup>68</sup>. (A) : PAM avec l'algorithme du DSI dans le domaine temporel. (B) PAM  
avec l'algorithme de RCB dans le domaine temporel

Pour améliorer cette résolution, on peut utiliser des algorithmes de beamforming adaptatifs comme la méthode de Capon ou de Robust Capon (RCB : Robust Capon Beamformer). La *Figure I-27B* est le résultat de l'application de l'algorithme RCB pour reconstruire la même source de cavitation que la carte (A). Une nette amélioration de la résolution axiale peut être observée. Cependant, ce type d'algorithme augmente excessivement le temps de calcul.



Modélisation des effets de non-linéarité :

Contrairement aux HIFU thermiques, pour obtenir un effet mécanique, les ultrasons sont plus intenses avec des pressions négatives de l'ordre de -20 MPa et des pressions positives pouvant aller jusqu'à 100 MPa. Ainsi, la propagation des ultrasons n'est plus linéaire. La particularité du régime non-linéaire est que la vitesse n'est pas constante mais dépendante des phases de compression et de détente de l'onde. Ainsi, en phase de suppression, la vitesse est plus élevée qu'en phase de dépression (Figure I-28).

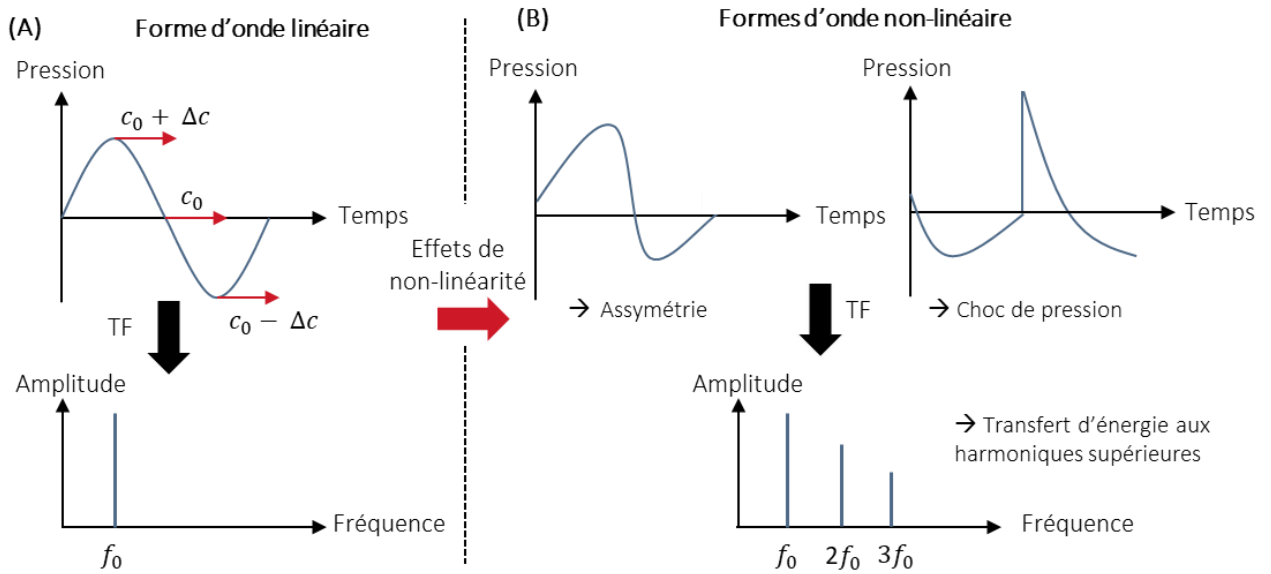


Figure I-28 : Schémas expliquant l'effet de la non-linéarité sur la vitesse de propagation et sur la forme d'onde. (A) représente un signal sinusoïdal et sa transformée de Fourier. Si on applique les conditions de non-linéarité sur la vitesse (flèches rouges), le profil de pression devient non-linéaire (B) et l'énergie est transférée sur les fréquence harmoniques.

En régime non-linéaire, une partie de l'énergie de la fréquence fondamentale est transférée aux fréquences harmoniques supérieures, du fait d'une forme d'onde non sinusoïdale. Le profil de pression devient asymétrique. Pour des amplitudes très intenses la forme d'onde non-linéaire peut également présenter un choc de pression, avec une pente quasi-verticale entre le maximum de pression négative et positive<sup>69</sup> (Figure I-28B-droite).

Ainsi, l'étude de la propagation des ondes en régime non-linéaire est un sujet important pour caractériser quantitativement le champ de pression créé par un dispositif ultrasonore de thérapie. L'objectif de cette sous-section est de présenter brièvement la méthode utilisée pour simuler numériquement un champ de pression en régime non-linéaire. Cette explication est tirée des différentes études réalisées par Yuldashev et al.<sup>70,71</sup>. L'équation de Westervelt modélise la propagation non-linéaire d'une onde ultrasonore telle que :

$$\frac{\partial^2 p}{\partial \tau \partial z} = \frac{c_0}{2} \Delta p + \frac{\beta}{2\rho_0 c_0^3} \frac{\partial^2 p^2}{\partial \tau^2} + \frac{\delta}{2c_0^3} \frac{\partial^3 p}{\partial \tau^3},$$

Équation I-9

avec :

- $p$ , la pression acoustique,
- $z$ , la coordonnée spatiale le long de l'axe acoustique,
- $\tau = t - z/c_0$  avec  $t$ , le temps,
- $\Delta p$  est l'opérateur de Laplace de  $p$  ( $\Delta p = \frac{\partial^2 p}{\partial z^2} + \frac{\partial^2 p}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 p}{\partial x^2}$ , avec  $x$  et  $y$ , les coordonnées spatiales latérales),
- $\rho_0$ , la masse volumique du milieu étudié,
- $c_0$ , la vitesse des ultrasons dans le milieu étudié,
- $\beta$ , le coefficient de non-linéarité,
- $\delta$ , le coefficient d'absorption du milieu étudié,

Les conditions aux limites de cette simulation numérique sont définies par un plan initial ( $x, y, z = z_0$ ). Ce plan doit être situé suffisamment loin de la zone focale de l'émetteur ultrasonore, où les effets non-linéaires sont les plus importants. On calcule la pression dans ce plan avec l'intégrale de Rayleigh. Puis, le principe est de se déplacer le long de l'axe acoustique avec un pas  $\Delta z$  et de résoudre numériquement l'équation de propagation non-linéaire. La résolution numérique de l'équation de Westervelt est basée sur une méthode où l'Équation I-9 est séparée en plusieurs termes. Ainsi, chaque équation est résolue séparément pour chaque pas spatial  $\Delta z$ , dans le domaine temporel ou le domaine fréquentiel. Pour chaque point de la grille spatiale ( $x, y, z$ ), le champ de pression est défini sous la forme d'un ensemble d'amplitudes harmoniques complexes  $p_n$  tel que :

$$p(\tau, x, y, z) = \sum_{n=-N_{max}}^{N_{max}} p_n(r, z) \cdot e^{-i\omega_n \tau},$$

*Équation I-10*

avec  $i$ , la valeur imaginaire unitaire et  $\omega_n$ , la fréquence angulaire de la  $n^{\text{ième}}$  harmonique. Le principe est de choisir un nombre maximal d'harmoniques  $N_{max}$  pour définir correctement le champ de pression à la focale de l'émetteur ultrasonore, une zone hautement non-linéaire. Ainsi, les méthodes numériques permettent de simuler le champ de pression créé à la focale de transducteur simple (sphérique) mais également plus complexe, comme les transducteurs confocaux. La géométrie et les avantages de ces transducteurs seront présentés dans la sous-section suivante.

### Cas particulier des transducteurs confocaux :

Lors de précédents travaux de thèse au sein du LabTAU, la modélisation de la propagation non-linéaire a permis de développer de nouveaux transducteurs dits confocaux<sup>72</sup>. Ces transducteurs sont composés de plusieurs transducteurs unitaires dont l'alignement est essentiel pour obtenir les effets escomptés. Le plus souvent, les transducteurs unitaires sont des transducteurs sphériques. Ils sont caractérisés par un rayon de focalisation, correspondant à la distance entre le transducteur et le point où la pression générée est la plus intense, et par un diamètre d'ouverture (*Figure I-29*).

## Chapitre I: Etat de l'art

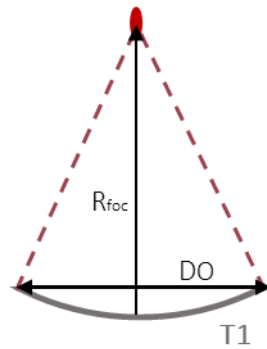


Figure I-29 : Schéma de principe d'un transducteur sphérique.

$R_{foc}$  : rayon de focalisation,  $DO$  : Diamètre d'Ouverture

Dans le cas d'une géométrie confocale, les transducteurs sphériques sont positionnés le long d'une surface sphérique dont le rayon correspond aux rayons de focalisation des transducteurs unitaires. Ainsi leur point de focalisation se croise en un même endroit (Figure I-30).

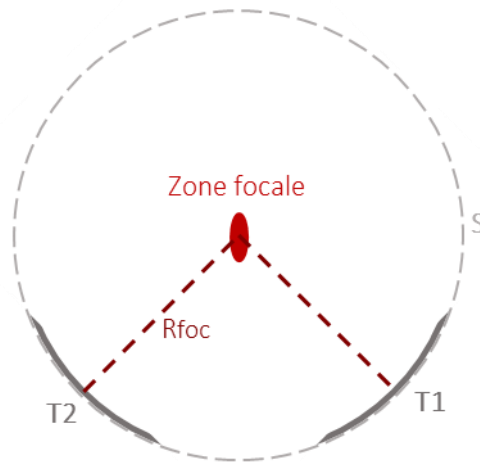


Figure I-30 : Schéma de principe de la géométrie confocale.

$T1$  et  $T2$  sont les transducteurs unitaires,  $R_{foc}$  est le rayon de focalisation des transducteurs et  $S$  est le cercle sur lequel sont positionnés les transducteurs

La géométrie confocale comparée à un transducteur mono-élément équivalent comporte plusieurs avantages. Elle permet de diminuer les effets de distorsion non-linéaire de la forme d'onde, avec une augmentation du pic de pression négative et une diminution du pic de pression positive. Par conséquent pour générer une même pression négative, un transducteur à géométrie confocale requiert moins de puissance acoustique qu'un transducteur mono-élément. Du fait de cette diminution des distorsions non-linéaire, il y a également moins de transition énergétique du signal vers les fréquences harmoniques. Ainsi on obtient une diminution de l'absorption de l'onde par le tissu atténuant et une réduction des éventuels effets thermiques dû à l'application des HIFU. De plus, le point focal est plus stable spatialement même lorsque le niveau de pression est augmenté. Dans le cas d'un transducteur mono-élément, le point focal a tendance à se rapprocher du transducteur. Enfin, la région focale d'un transducteur confocal présente une figure d'interférence, composée d'un lobe central et de plusieurs

lobes secondaires. Cette configuration peut alors permettre de piéger les bulles de cavitation. Ce type de géométrie de transducteur sera utilisé dans le Chapitre II.

### 2.2 Utilisation des HIFU dans le domaine de l'ophtalmologie

Les ultrasons sont largement utilisés en ophtalmologie pour le diagnostic de certaines pathologies telles que le décollement de la rétine ou la dislocation du cristallin. Lorsque les composants de l'œil manquent de transparence, comme dans le cas du cristallin cataracté, l'échographie peut constituer une alternative à l'imagerie optique. Ces dernières années, les ultrasons thérapeutiques ont commencé à être développés dans le domaine ophtalmologique. Les pathologies oculaires sont un véritable enjeu socio-économique dans le monde entier. Des milliards de personnes en sont atteintes et le coût des traitements, dont l'efficacité est souvent limitée, représente jusqu'à 4 milliards de dollars<sup>73</sup>. Ce constat concerne les problèmes visuels (myopie, presbytie...) mais également des maladies comme le glaucome, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la cataracte ou encore la rétinopathie diabétique. L'utilisation des ultrasons thérapeutiques pourrait être une alternative aux traitements classiques. Quelques exemples et axes de recherche sont présentés dans cette section.

#### - HIFU thermique pour le traitement du glaucome :

Une des applications ophtalmologiques les plus avancées des ultrasons thérapeutiques est le traitement du glaucome par ablation thermique des corps ciliaires. La maladie du glaucome est la deuxième cause de cécité au monde. La cause est la présence d'une trop grande quantité d'humeur aqueuse dans l'œil, provenant d'une mauvaise balance entre sa production par les cellules du corps ciliaire et son évacuation par le canal trabéculaire. Cela peut entraîner une augmentation de la pression intra-oculaire menant à une dégénération du nerf optique et ainsi à la cécité. Des traitements pharmacologiques visant à réduire la production d'humeur aqueuse sont fréquemment utilisés mais leur efficacité est très variable d'un patient à un autre. Une autre option est chirurgicale et consiste à créer une petite fistule à travers la sclère pour laisser s'écouler le liquide en dehors de la cavité oculaire. Cependant, ce traitement est très invasif et provoque de nombreux effets secondaires. Le développement des ultrasons thérapeutiques est une alternative non-invasive qui permet de détruire thermiquement les cellules ciliaires. Cette approche a été étudiée dans les années 80<sup>74</sup>. Il a été montré que les ultrasons avaient de nombreux avantages, comparés au laser, qui a déjà été utilisé pour l'ablation des corps ciliaires. En effet, il permet de focaliser l'énergie au travers de tissus non transparents optiquement. Une nouvelle procédure utilisant les ultrasons thermiques a été développée par Charrel et al<sup>75</sup>. Leur nouveau dispositif ultrasonore est composé de six émetteurs ultrasonores et permet de traiter la totalité des corps ciliaires sans bouger le dispositif. De plus, sa taille est adaptée à la forme d'un globe oculaire (*Figure I-31*).

## Chapitre I: Etat de l'art

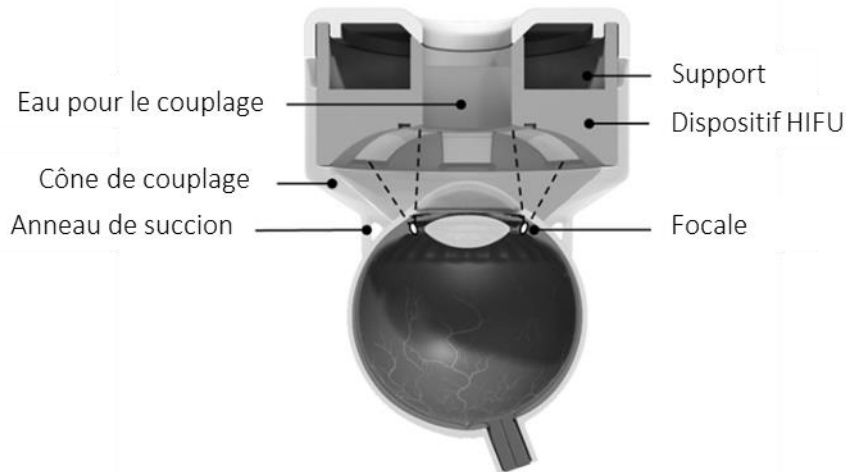


Figure I-31 : Schéma du dispositif HIFU pour le traitement du glaucome  
Figure issue de l'article de Charrel et al.<sup>75</sup>

Des études *in vivo* sur modèles lapins ont permis de valider le traitement<sup>75</sup>. Puis des études cliniques ont été réalisées<sup>76</sup> et ont montré que le traitement était efficace et toléré par les patients. Ce dispositif est aujourd'hui commercialisé par l'entreprise Eye Tech Care.

### - Les ultrasons pour la délivrance de drogue intra-oculaire<sup>73,77</sup> :

Les drogues pour le traitement des maladies oculaires sont aujourd'hui administrées le plus souvent par voie orale et par gouttes. Cependant, la pénétration des traitements est difficile du fait de différentes barrières anatomiques de l'œil comme la conjonctive, la sclère, la barrière hémato-rétinienne et des barrières physiologiques comme le flux de sang choroïdien, les larmes ou le drainage naso-lacrimal. Pour contrer ces barrières les injections péri-oculaires ou intravitréennes sont réalisées mais restent invasives, douloureuses et peuvent causer des infections et la formation de cataracte. La pénétration de drogue dans les tissus oculaires pourrait être améliorée par l'effet mécanique des ultrasons. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* sur modèles animaux ont montré que les ultrasons permettaient d'augmenter la pénétration de drogues à travers la cornée et la sclère. Il est encore difficile de déterminer quels paramètres ultrasonores et quels effets mécaniques (effets de cavitation stable ou inertielle) sont les plus efficaces du fait de la multitude d'essais. D'autres études ont également montré que l'utilisation de microbulles remplies de drogue et détruites par ultrasons permettaient d'améliorer la diffusion de drogue et son ciblage dans le tissu oculaire. Une autre voie de recherche est également d'utiliser les ultrasons pour l'ouverture de la barrière hémato-rétinienne, qui est assez similaire à la barrière hémato-encéphalique<sup>78</sup>. Pour l'instant il n'existe pas d'études cliniques sur la délivrance de drogues par ultrasons, seules des études *in vitro* et précliniques ont été menées.

Les ultrasons pour le traitement des pathologies oculaires ou pour la médiation de drogue à l'intérieur de l'œil semblent avoir un avenir prometteur. Cependant, il existe beaucoup de restrictions sur les dispositifs médicaux ultrasonores développés et utilisés pour le globe oculaire. En effet, la FDA et la fédération internationale des ultrasons pour la médecine et la biologie ont imposé des restrictions strictes en termes d'indice thermique (TI) et d'indice mécanique (MI). Le TI correspond au rapport entre la puissance acoustique totale du dispositif ultrasonore et la puissance acoustique nécessaire à l'élévation de la température du tissu d'1°C. Le MI indique la capacité d'un faisceau ultrasonore à

provoquer des effets biologiques associés au phénomène de cavitation. Il peut également être interprété comme un indicateur du stress mécanique ou dommages causés aux tissus<sup>77</sup>. Dans les yeux, le TI doit être inférieur à 1.0 et le MI doit être inférieur à 0.23, alors que dans d'autres organes la limite est de 1.9 pour le MI. L'étude de Nabili et al.<sup>79</sup> a permis de développer un modèle numérique pour déterminer les paramètres ultrasonores qui respectaient ces restrictions. Ainsi pour une fréquence de 400 kHz avec une intensité acoustique comprise entre 0.3 W/cm<sup>2</sup> et 1 W/cm<sup>2</sup>, une exposition continue de 5 minutes peut augmenter la température de 1°C dans la cornée et de 1.5°C au centre du cristallin. Au-delà de 400 kHz et dans les mêmes conditions, la température s'élève à plus de 1.5°C, ce qui devient dangereux pour les tissus de l'œil. L'adaptation des autres paramètres d'insonification tels que la période de répétition ou le nombre de cycles par impulsion est essentielle pour diminuer les risques de dommages pour le globe oculaire.

### 2.3 Vers l'utilisation des HIFU pour le traitement de la presbytie

Cette partie a permis d'avoir un aperçu des différentes applications des ultrasons thérapeutiques thermiques et mécaniques. Ils peuvent avoir un effet destructeur par l'ablation thermique du tissu ou par l'activité mécanique et chaotique des microbulles. Des effets sur la porosité des membranes biologiques peuvent également être induits par l'activité de cavitation. L'utilisation des HIFU dans le domaine ophtalmologique est déjà bien avancée sur certaines pathologies comme le glaucome mais est encore en cours d'étude pour la délivrance de drogue. Dans la 1<sup>ère</sup> partie présentant la presbytie et les potentielles causes biologiques, des cibles thérapeutiques ont été identifiées. L'une des solutions serait la destruction des agrégats de protéines, responsables de la rigidification nucléaire des cristallins presbytes. L'utilisation des ultrasons thermiques ne semble pas être adaptée dans le cas du cristallin. En effet, il a déjà été montré que la focalisation continue d'ultrasons intenses induisait la création d'une cataracte (opacification du cristallin)<sup>80</sup>. La cavitation serait plus adaptée à ce type de traitement puisque son effet est purement mécanique. La deuxième cible serait de perméabiliser les différentes barrières naturelles du cristallin pour permettre une meilleure diffusion de drogue. En effet, il a été montré que l'utilisation de traitements pharmacologiques pour dissoudre les agrégats de protéines avait un effet sur des modèles animaux mais pas sur des cristallins humains. Une des pistes soulevées par ce manuscrit est que la barrière cortex-noyau dans les cristallins presbytes empêcherait la diffusion de ces traitements. Plus largement, nous aimerions étudier l'impact de l'activité de cavitation sur la microcirculation du cristallin qui est réduite par le vieillissement.

## 3. Mesure de l'élasticité du cristallin

Dans la Partie 1 de ce chapitre, il a été montré que le cristallin se rigidifiait lors du vieillissement, ce qui était une des causes de la perte d'accommodation et de la presbytie. Plusieurs méthodes sont utilisées pour identifier cette rigidification, telles que le *lens spinner* ou les méthodes d'indentation statique et dynamique. Dans l'objectif du développement d'un potentiel traitement de la presbytie par ultrasons, nous souhaitons développer une méthode ultrasonore d'élastographie par ondes de cisaillement. En effet, cette méthode permet d'obtenir des informations sur les propriétés élastiques d'un milieu et plus précisément sur le module de cisaillement qui est l'élasticité ressentie lors de l'examen de palpation pratiquée par les médecins. Ainsi une première section rappellera le lien entre la vitesse des ondes de cisaillement et le module d'élasticité de cisaillement. La seconde section

présentera une revue de la littérature sur les différentes méthodes de mesure d'élasticité du cristallin par l'estimation de la vitesse de propagation des ondes.

### 3.1 Rappel sur la méthode : élastographie par ondes de cisaillement

Pour bien comprendre le lien entre la vitesse de propagation des ondes de cisaillement et les propriétés élastiques d'un milieu, il est important de définir la nature des ondes pouvant se propager dans un matériau. En effet, il existe deux types d'ondes mécaniques, se différenciant par la nature des déformations qu'elles induisent, avec ou sans changement de volume, et leur vitesse :

- Les ondes de compression peuvent être des ondes longitudinales (*Figure I-32A*). Elles sont caractérisées par une propagation provoquant des compressions et des dilatations au sein du matériau. Les déformations induites par ces ondes sont parallèles à la direction de propagation, lorsqu'elles sont longitudinales. Un exemple d'ondes de compression est l'onde ultrasonore émise par une sonde échographique. La vitesse des ondes de compression dans un tissu mou est de l'ordre de 1500 m/s. Elle rend compte de la compressibilité de l'eau présente en majorité dans les tissus.
- Les ondes de cisaillement peuvent être des ondes transverses (*Figure I-32B*). Elles sont caractérisées par une propagation provoquant des déformations perpendiculaires à la direction de propagation, lorsqu'elles sont transverses. Les déformations ne provoquent pas de variations du volume du matériau. La vitesse de ces ondes dans les tissus mous est beaucoup plus basse que celle des ondes de compression (de l'ordre de la dizaine de m/s). Elle rend compte de l'élasticité ressentie lors d'un examen de palpation réalisé par le clinicien.

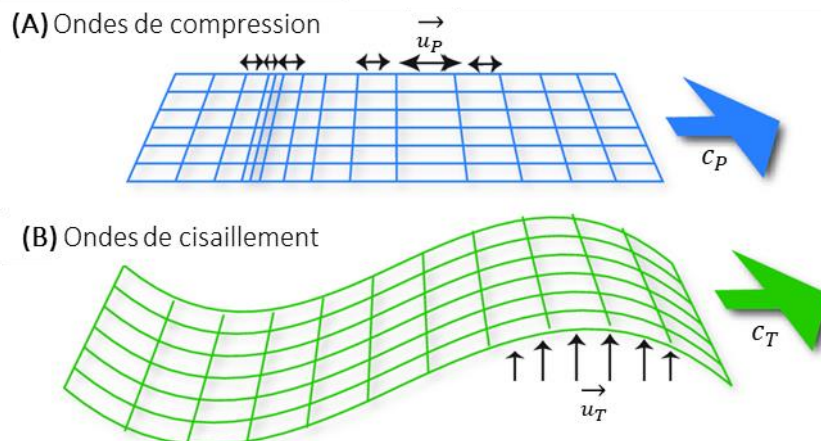


Figure I-32 : Schémas de principe de la propagation des ondes de compression (A) et de cisaillement (B). Figure issue de l'article de Deffieux et al.<sup>81</sup>

Du fait de la différence importante des vitesses de propagation des ondes de compressions et des ondes de cisaillements dans les tissus mous, il est possible d'imager les ondes de cisaillements à l'aide des ondes de compressions. C'est le principe de l'élastographie par ultrasons. On peut également imaginer les ondes de cisaillements grâce aux ondes électromagnétiques avec les méthodes d'élastographie optique ou encore par IRM (Imagerie par Résonance Magnétique). Si on définit un milieu élastique,

## Chapitre I: Etat de l'art

homogène, linéaire et isotrope, on peut relier la vitesse des ondes de compression,  $c_P$ , et la vitesse des ondes de cisaillement,  $c_T$ , aux modules de compression et de cisaillement telles que :

$$c_P = \sqrt{\frac{\lambda + 2\mu}{\rho}} \text{ et } c_T = \sqrt{\frac{\mu}{\rho}},$$

Équation I-11

avec  $\lambda$ , le premier coefficient de Lamé, lié au module de compression,  $\mu$ , le 2<sup>nd</sup> coefficient de Lamé ou appelé module de cisaillement et  $\rho$ , la masse volumique. Les tissus mous sont considérés incompressibles comme les liquides. Ainsi, les modules de compression, caractérisant la compressibilité d'un matériau, sont de l'ordre du GPa. Ils sont nettement supérieurs aux modules de cisaillement dans les tissus mous, qui sont plutôt de l'ordre du kPa. On comprend bien que la mesure de la vitesse des ondes de cisaillement permet de revenir à l'élasticité de cisaillement d'un matériau. Pour les tissus mous, le modèle rhéologique peut être complexifié en rajoutant une composante visqueuse avec par exemple le modèle de Kelvin-Voigt. Ainsi, la vitesse des ondes de cisaillement devient dispersive, c'est à dire qu'elle dépend de la fréquence, telle que :

$$c_T(\omega) = \sqrt{\frac{2(\mu_1^2 + \omega^2\mu_2^2)}{\rho(\mu_1 + \sqrt{\mu_1^2 + \omega^2\mu_2^2})}},$$

Équation I-12

avec  $\mu_1$ , le module d'élasticité de cisaillement en Pa et  $\mu_2$ , le module de viscosité de cisaillement en Pa.s.

Pour estimer l'élasticité de cisaillement d'un milieu, un champ d'ondes de cisaillement doit se propager dans le tissu. Il existe plusieurs méthodes pour créer des ondes de cisaillement<sup>82</sup> (Figure I-33).

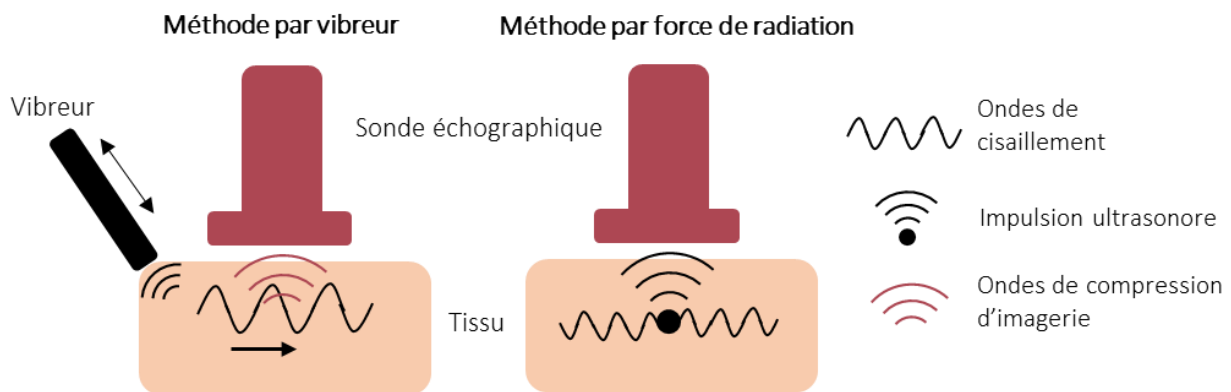


Figure I-33 : Schémas de principe de deux méthodes pour créer des ondes de cisaillement. Avec un vibreur mécanique, à gauche, et avec la force de radiation acoustique, à droite

Un vibreur mécanique directement en contact avec le tissu à caractériser permet de créer une onde de cisaillement impulsionnelle ou harmonique. Cette méthode a été appliquée pour la mesure de l'élasticité du foie fibrosé<sup>83</sup> et est implémentée sur un dispositif clinique : le Fibroscan® de la société Echosens. Une autre méthode pour créer des ondes de cisaillement consiste à utiliser la force de radiation acoustique. Le principe est d'utiliser une sonde échographique et d'émettre une impulsion ultrasonore focalisée en un point. Cette impulsion ultrasonore va créer une force de poussée dans le

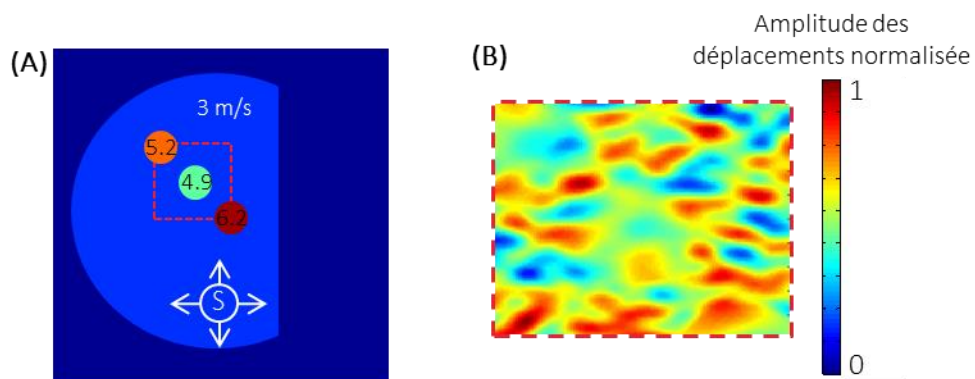


tissu entraînant la propagation d'ondes de cisaillement. Cette méthode a également permis d'estimer l'élasticité de différents organes<sup>84</sup> et a donné lieu à la création de plusieurs échographes cliniques : le Virtual Touch Quantification® de la société Siemens, utilisant l'ARFI (Acoustic Radiation Force Imaging ou Imagerie par Force de Radiation Acoustique) ou encore l'Aixplorer® de la société Supersonic Imagine, utilisant la méthode du SSI (Supersonic Shear wave Imaging ou Imagerie par ondes de cisaillement Supersonique), couplée à une imagerie ultra-rapide (plus de 5000 images/seconde). Enfin, la dernière méthode est d'utiliser les ondes se propageant naturellement dans le corps humain et qui sont créées par les battements cardiaques, la pulsatilité artérielle et la respiration. L'équipe de Catheline et al.<sup>85</sup> est l'une des premières à avoir développé cette approche avec le développement de la théorie de l'élastographie par corrélation de bruit. Le paragraphe suivant présente le principe de cette méthode.

### Elastographie par corrélation de bruit :

L'élastographie par corrélation de bruit est un algorithme issu de la sismologie. Le principe est d'enregistrer avec des capteurs, répartis à la surface de la terre, les ondes qui se propagent à sa surface (séismes, activités humaines...). A partir de ce champ diffus de déplacements, les algorithmes de corrélation de bruit sont capables de cartographier la vitesse locale de ces ondes et ainsi les propriétés viscoélastiques des milieux. Cette méthode peut être également appliquée aux ondes de cisaillement qui se propagent naturellement dans le corps humain. Les algorithmes de corrélation de bruit sont capables de reconstruire localement la vitesse des ondes de cisaillement. Ainsi, une cartographie de la vitesse et des propriétés viscoélastiques d'un organe peut être reconstruite.

Pour expliquer le principe de l'algorithme d'élastographie par corrélation de bruit, l'exemple d'une simulation 2D de l'équation des ondes élastiques sera utilisée<sup>85</sup>. Son explication plus approfondie est décrite dans plusieurs articles<sup>86,87</sup>. La *Figure I-34A* représente les caractéristiques viscoélastiques de la simulation. On définit une cavité, dont la vitesse des ondes de cisaillement est de 3 m/s. A l'extérieur (bleu foncé), un milieu proche du vide est défini, où les ondes ne peuvent se propager. Ainsi les ondes se propageront seulement dans la cavité et se réfléchiront sur ces parois. A l'intérieur, 3 disques sont définis avec des vitesses d'ondes de cisaillement différentes : 4.9 m/s, 5.2 m/s et 6.2 m/s. Une source, S, positionnée dans la cavité émet une impulsion. Après quelques secondes de simulation, l'onde provenant de la source s'est réfléchi contre les parois de la cavité et un champ diffus est obtenu (*Figure I-34B*). Sur l'instantané du champ de déplacement, on ne distingue aucun front d'onde et aucune direction de propagation privilégiée.



*Figure I-34 : Simulation 2D par différences finies de l'équation des ondes élastiques  
(A) : Propriétés élastiques. (B) : Instantané du champ de déplacement, centré sur les inclusions*

On applique à ce champ diffus le principe du retournement temporel. Pour chaque point du champ, qu'on appellera pseudo-source, on peut refocaliser le champ de déplacement. La *Figure I-35A* représente une carte spatiale du retournement temporel du champ de déplacement à  $t = 0$ , pour plusieurs pseudo-sources. Le temps  $t = 0$  correspond au moment où le champ est focalisé à la pseudo-source. La focalisation apparaît dans l'espace comme une tache focale. On peut observer que la taille de ces taches focales est différente d'une pseudo-source à une autre. En effet, la taille spatiale de la tache focale est liée aux propriétés élastiques du milieu et plus particulièrement à la longueur d'onde. Ainsi en refocalisant le champ de déplacement en chaque point du milieu, on est capable de retrouver les propriétés locales de la fonction d'onde : la longueur d'onde et la fréquence.

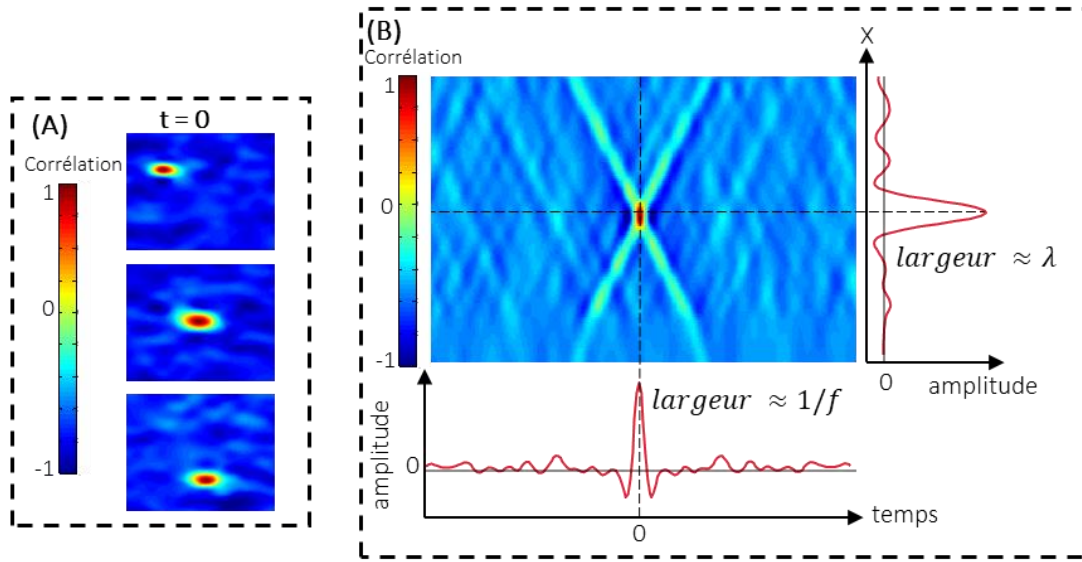


Figure I-35 : Principe de l'algorithme d'élastographie par corrélation de bruit.

(A) : Instantanés du retournement temporel du champ diffus pour plusieurs pseudo-sources, à l'instant où le champ se focalise en une tache focale ( $t=0$ ). (B) : Carte de corrélation pour une pseudo-source et lien entre corrélation spatiale et longueur d'onde et corrélation temporelle et fréquence

Mathématiquement, le retournement temporel est lié à la corrélation du champ de déplacement. Pour un champ de déplacement,  $\phi$ , il s'écrit alors :

$$\psi^{TR}(r, t) = \phi(r_s, -t) \otimes_t \phi(r_0, t),$$

Équation I-13

avec  $r_s$ , la position de la pseudo-source,  $r_0$ , le point d'observation,  $r = r_0 - r_s$ , la distance entre la pseudo-source et le point d'observation et  $\otimes_t$ , le produit de convolution. Ainsi pour une pseudo-source, on obtient une matrice de corrélation. Un exemple de cette matrice est représenté *Figure I-35B* avec en ordonnée l'espace et en abscisse le temps. On remarque que la matrice est décorrélée en tout point sauf au point central, à  $t = 0$  et  $X = 0$ , correspondant à l'autocorrélation du champ et à la focalisation du champ retourné temporellement. Ainsi, si on représente le profil de corrélation à  $t = 0$  selon l'espace  $X$ , on obtient une tache focale spatiale dont la largeur est proportionnelle à la longueur d'onde,  $\lambda$ . Si on représente, cette fois-ci, le profil de corrélation à  $X = 0$ , selon le temps, on obtient une tache focale temporelle dont la largeur est inversement proportionnelle à la fréquence  $f$ . Pour obtenir une cartographie de  $\lambda$  et  $f$ , on calcule les courbures de ces taches focales en déterminant  $V^{TR}$ , le champ de vitesse particulière retourné temporellement et  $\xi^{TR}$ , le champ de déformation retourné

## Chapitre I: Etat de l'art

temporellement. En effet,  $V^{TR}$  est la dérivée seconde de  $\psi^{TR}$  par rapport au temps et correspond donc à la courbure temporelle du champ de déplacement retourné temporellement.  $\xi^{TR}$  est la dérivée seconde de  $\psi^{TR}$  par rapport à l'espace et correspond donc à la courbure spatiale du champ de déplacement retourné temporellement. Ainsi on peut définir quantitativement  $\lambda$  et  $f$  au niveau de la pseudo-source  $r_s$ , tels que :

$$\lambda(r_s)^2 \approx -4\pi^2 \times \frac{\psi^{TR}(0,0)}{\xi^{TR}(0,0)},$$

Équation I-14

$$f(r_s)^2 \approx -\frac{1}{4\pi^2} \times \frac{V^{TR}(0,0)}{\psi^{TR}(0,0)}.$$

Équation I-15

Pour chaque pseudo-source, on peut en déduire une longueur d'onde, une fréquence et donc une vitesse. La *Figure I-36* est le résultat de l'application de l'algorithme de corrélation de bruit au champ de déplacement simulé et centré sur les inclusions. On retrouve des estimations de vitesse très proches des paramètres élastiques initiaux.

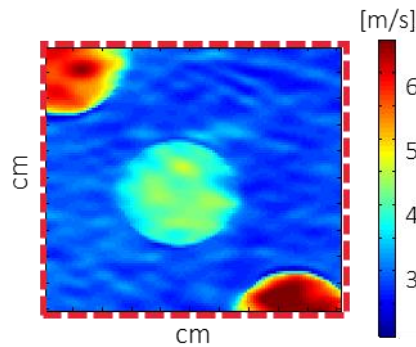


Figure I-36 : Résultats de l'algorithme d'élastographie par corrélation de bruit pour la simulation

### Exemples d'applications de l'élastographie par corrélation de bruit :

Pour évaluer la vitesse des ondes de cisaillement se propageant dans un tissu, un système d'imagerie est utilisé pour imager le tissu. Les différents résultats présentés dans le paragraphe suivant proviennent des algorithmes de corrélations de bruit. Le plus commun est l'imagerie par ultrasons qui est très facile à mettre en place, non invasive et permet d'accéder à des organes profonds du corps humain. La *Figure I-37A-B* montre le résultat de l'étude de Gallot et al.<sup>88</sup> sur l'élastographie passive du foie *in vivo* humain. Une barrette linéaire d'imagerie ultrasonore est positionnée sur la paroi abdominale de l'individu. Dans cette expérience, un échographe ultra-rapide est utilisé, il permet d'acquérir des images à une cadence très rapide (jusqu'à 9000 images/s) comparé aux échographes utilisés dans les applications cliniques (25 images/s). Puis, les algorithmes de corrélation de bruit sont appliqués pour reconstruire une carte de vitesse des ondes de cisaillement.

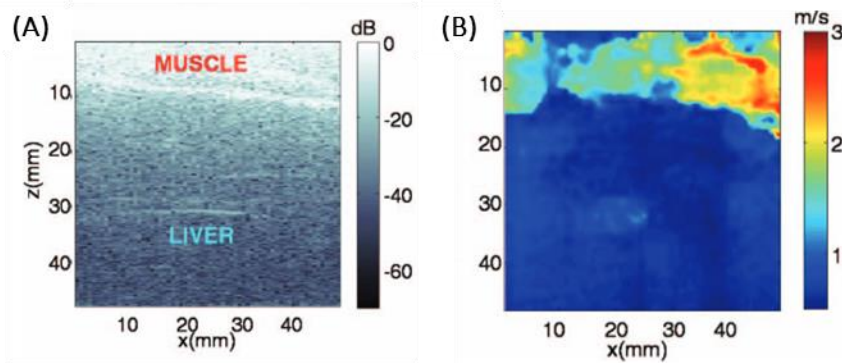


Figure I-37 : Elastographie passive par ultrasons d'un foie humain in vivo  
 (A) B-mode classique de la paroi abdominale et du foie. (B) : carte d'élasticité reconstruite avec des algorithmes de corrélation de bruit. Figure issue de l'étude de Gallot et al.<sup>88</sup>.

Il existe également des techniques d'imagerie optique comme l'OCT (Tomographie à Cohérence Optique), permettant d'imager à une profondeur de quelques millimètres mais avec une résolution de l'ordre du micromètre. Dans l'exemple, présenté dans la Figure I-38, le champ de déplacement est induit dans l'œil par un vibreur mécanique en contact avec l'échantillon. Pour former une image avec un OCT (Figure I-38A), 256 acquisitions sont nécessaires pour chaque ligne de l'image (A-line). Ainsi pour chaque ligne de l'image, le vibreur mécanique est actionné en synchronisation avec l'imagerie.

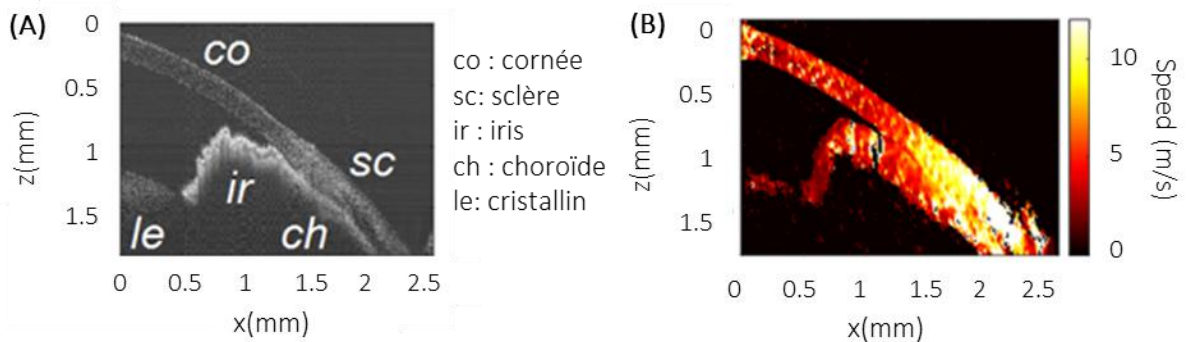


Figure I-38 : Elastographie active par OCT de la partie antérieure de l'œil d'un rat in vivo.  
 (A) : OCT de l'œil. (B) : Carte d'élasticité reconstruite avec des algorithmes de corrélation de bruit.  
 Figure issue de l'étude de Nguyen et al.<sup>89</sup>.

Le microscope optique peut être également utilisé pour l'élastographie à l'échelle cellulaire. Dans l'article de Grasland-Mongrain et al.<sup>90</sup>, l'étude sur l'élasticité d'un ovocyte de souris est présentée (Figure I-39). Dans cet exemple, la cellule est excitée activement avec une tige reliée à un micromanipulateur. Ces méthodes de micro-élastographie pourraient être un moyen de faire le lien entre l'élasticité à l'échelle cellulaire et les effets biomécaniques observés à l'échelle macroscopique.

## Chapitre I: Etat de l'art

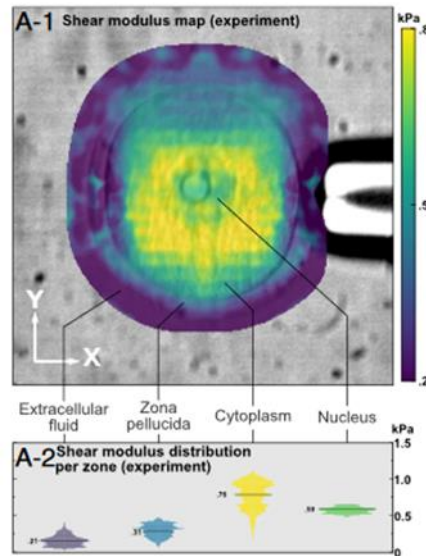


Figure I-39 : Elastographie active par microscope d'un ovocyte de souris.  
Figure issue de l'étude de Grasland-Mongrain et al.<sup>90</sup>

L'IRM a également été utilisé pour estimer l'élasticité des organes qui ne sont pas accessibles à l'imagerie ultrasonore ou optique, tels que le cerveau. Zorgani et al.<sup>91</sup> est l'une des premières équipes à avoir montré la faisabilité de cette approche. Dans leur étude, l'élastographie par corrélation de bruit est complètement passive.

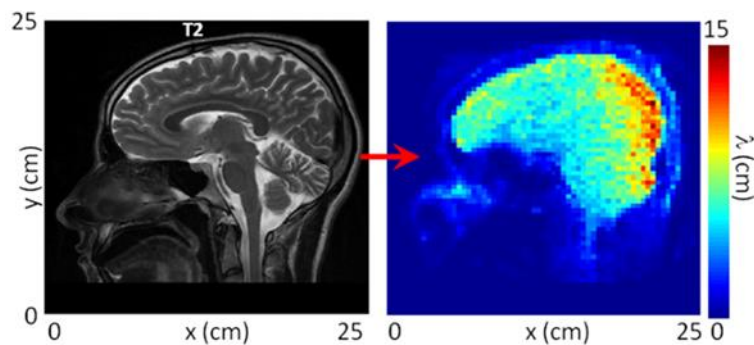


Figure I-40 : Elastographie passive par IRM d'un cerveau humain in vivo.  
Figure issue de l'étude de Zorgani et al.<sup>91</sup>

Sur la Figure I-40, contrairement aux figures précédentes, la carte représentant l'élasticité du cerveau est en longueur d'onde. En effet, dans ce cas, la cadence d'imagerie n'était pas suffisante pour échantillonner correctement la propagation des ondes. On perd ainsi la cohérence temporelle. Cependant, une première approximation de l'élasticité qualitative peut être réalisée en associant de grandes longueurs d'onde à des milieux durs et des petites longueurs d'ondes à des milieux plus mous.

## Chapitre I: Etat de l'art

Le plus souvent, pour définir l'élasticité d'un organe, les cliniciens travaillent avec une autre grandeur : le module de Young. Historiquement, ce module provient de l'élastographie statique. On applique une contrainte mécanique sur un matériau et on mesure la déformation induite dans celui-ci. La loi de Hooke permet de relier le tenseur des contraintes,  $[\sigma]$  au tenseur des déformations,  $[\epsilon]$ . La loi de Hooke généralisée sous forme tensorielle est définie, telle que :

$$\sigma_{ij} = C_{ijkl}\epsilon_{kl},$$

*Équation I-16*

avec  $[C]$ , le tenseur des constantes élastiques d'ordre 4, comportant 81 coefficients. Dans le cas d'un matériau isotrope, cette relation peut être simplifiée, telle que :

$$\sigma_{ij} = \frac{E}{1 + \nu} \left( \epsilon_{ij} + \frac{\nu}{1 - 2\nu} \epsilon_{kk} \delta_{ij} \right),$$

*Équation I-17*

avec  $\delta_{ij}$ , le symbole de Kronecker,  $E$ , le module de Young en Pa et  $\nu$ , le module de Poisson qui caractérise la déformation du matériau perpendiculairement à la direction de la contrainte appliquée. Ces grandeurs peuvent également être reliées aux deux coefficients de Lamé,  $\lambda$  et  $\mu$ , telles que :

$$E = \frac{\mu(3\lambda + 2\mu)}{\lambda + \mu} \text{ et } \nu = \frac{\lambda}{2(\lambda + \mu)}.$$

*Équation I-18*

Dans le cas des tissus mous, le module de compression est très grand devant le module de cisaillement ( $\lambda \gg \mu$ ), on obtient alors :

$$E \approx 3\mu.$$

*Équation I-19*

De plus, l'incompressibilité des tissus mous induit que le coefficient de Poisson tend vers la valeur de 0.5. Ainsi, l'élasticité de Young d'un tissu mou peut être caractérisée seulement par son module de cisaillement.

Cette première partie a permis de présenter le principe de l'élastographie par ondes de cisaillement. Plusieurs articles de la littérature ont décrit des méthodes pour estimer des grandeurs rhéologiques du cristallin soit par l'estimation du module de compression avec l'effet Brillouin soit par l'estimation du module de cisaillement via le suivi des ondes de surface. La section suivante est une revue de la littérature sur ces méthodes de mesure.

### 3.2 Etat de l'art des méthodes de mesure d'élasticité du cristallin par les ondes de compression et de cisaillement

#### a) Méthode de Brillouin : estimation du module de compression

La méthode de Brillouin repose sur l'estimation de la vitesse des ondes de compression se propageant dans un milieu. Le principe repose sur l'effet Brillouin ou la diffusion inélastique de la lumière par les ondes acoustiques. Une onde incidente de lumière est diffusée par une onde acoustique avec un décalage fréquentiel de l'onde diffusée de l'ordre du GHz. L'estimation de ce décalage fréquentiel est proportionnelle à la vitesse des ondes de compression et à son module. Expérimentalement, un faisceau lumineux intense est émis par un laser. Sa propagation, dans le milieu à caractériser, peut alors produire des vibrations et des ondes de compressions dans le milieu, induites par des phénomènes thermiques. On parle de diffusion Brillouin stimulée. C'est sur ce principe que se base l'estimation du module de compression du cristallin par la spectroscopie Brillouin. Plusieurs études ont permis d'estimer les propriétés biomécaniques à travers la profondeur de cristallins animaux *in vitro* et de cristallins humains *in vivo*<sup>92-94</sup>. Des différences de module de compression ont également été déterminées entre des échantillons de cristallins jeunes et âgés (Figure I-41). Sur la Figure 41, on peut observer des mesures du décalage fréquentiel pour plusieurs points le long de l'axe de symétrie de cristallins de souris *in-vivo* jeunes et âgés.

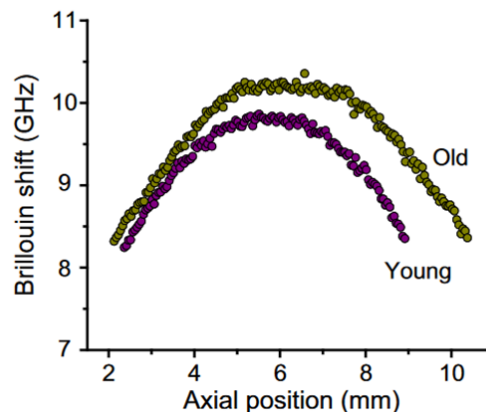


Figure I-41 : Résultats de la méthode Brillouin sur des cristallins de souris *in vivo*  
Figure issue de l'étude de Scarcelli et al.<sup>92</sup>

Ainsi, on peut en déduire que le module d'élasticité de compression est plus important dans des échantillons âgés. De plus, un gradient d'élasticité de compression au sein du cristallin a été identifié avec un décalage fréquentiel plus important dans le noyau que dans le cortex. Dans cette étude, des mesures indépendantes du module de cisaillement ont été réalisées avec un rhéomètre. La variation des modules de compression semble suivre une tendance similaire à celle des modules de cisaillement, avec une augmentation du module de compression lorsque le module de cisaillement augmente. Cependant, cette corrélation est à prendre avec précaution. En effet, il faut prendre en considération qu'il existe un écart d'au moins un million entre les deux ordres de grandeur de modules d'élasticité. De plus, l'origine de cette corrélation observée est pour l'instant difficile à comprendre car la théorie de l'élasticité définit les modules  $\lambda$  et  $\mu$  comme deux caractéristiques indépendantes de la matière. Le module de compression nous renseigne sur la compressibilité du cristallin et non sur son élasticité de cisaillement, qui est la propriété qu'on souhaite mesurer.



### b) Mesure de la vitesse des ondes de surface : estimation du module de cisaillement

Sur l'image échographique d'un œil porcin présentée dans la Partie 2 de ce chapitre (Figure I-24), nous avons pu voir que le cristallin était transparent aux ultrasons, excepté à sa surface. C'est également le cas avec un OCT où seulement la surface du cristallin comporte du speckle (Figure I-42).

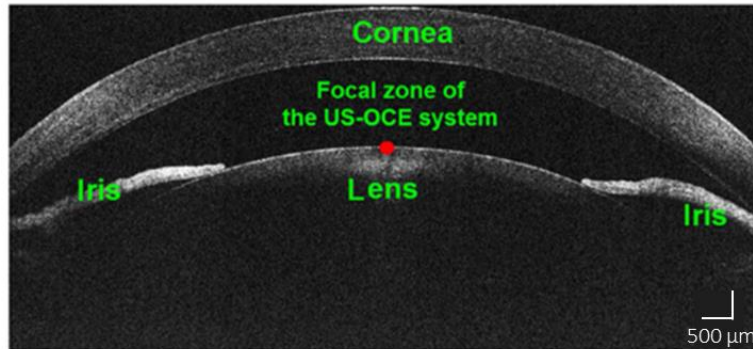


Figure I-42 : Image OCT de la partie antérieure d'un globe oculaire ex-vivo de lapin.  
Image issue de l'étude de Wu et al.<sup>95</sup>

Ainsi, seule la vitesse des ondes se propageant à la surface du cristallin peut être reconstruite. A partir de la vitesse de ces ondes de surface, l'élasticité en profondeur peut être estimée. C'est le même principe que la sismologie qui utilise les ondes se propageant à la surface de la Terre pour étudier les propriétés viscoélastiques des différentes couches de roches, la composant. Dans le cas du cristallin se trouvant dans l'œil, ces ondes de surface peuvent être définies comme des ondes de Scholte qui se propagent à la limite entre un liquide et un solide. En effet, au-dessus de la surface du cristallin, se trouve de l'humeur aqueuse dont les propriétés sont proches de celles de l'eau. Il a été montré que la vitesse des ondes de Scholte,  $c_{sh}$ , était proportionnelle à la vitesse des ondes de cisaillement<sup>96</sup> telle que:

$$c_{sh} \approx 0.84c_T.$$

Équation I-20

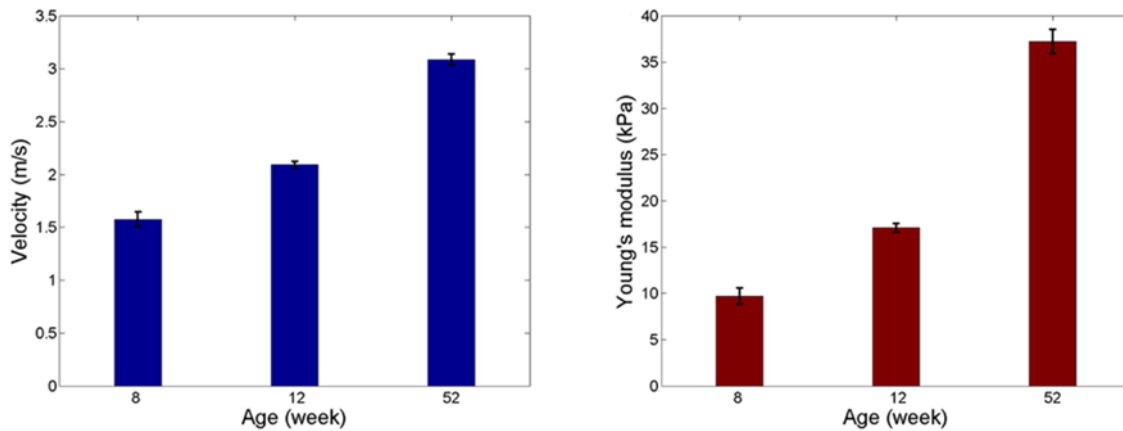
Ainsi, à partir de la mesure de la vitesse des ondes de Scholte, on peut en déduire l'élasticité de cisaillement. L'autre particularité du cristallin est qu'il ne peut pas être défini comme un milieu infini. En effet, sa taille est inférieure au cm. Ainsi, des ondes dont la fréquence est suffisamment basse peuvent être guidées par les limites du cristallin. L'étude de Laloy-Borgna et al.<sup>97</sup> sur la propagation des ondes de cisaillement dans des milieux fins a montré l'existence de ce régime d'ondes guidées à basses fréquences. Dans ce cas, les modèles rhéologiques classiques comme celui de Kelvin-Voigt ne sont plus applicables, étant définis pour des milieux infinis.

Plusieurs études se sont intéressées à la mesure de la vitesse des ondes de surface pour estimer des paramètres viscoélastiques de cisaillement du cristallin. L'impulsion mécanique peut être créée au moyen de l'ARFI<sup>98-100</sup> ou d'un jet d'air<sup>101,102</sup>, permettant de générer des ondes à la surface du cristallin. C'est le cas pour la Figure I-42, provenant de l'étude de Wu et al.<sup>95</sup>, où le point rouge représente le point focal du transducteur ultrasonore utilisé pour générer l'impulsion mécanique. Les cristallins sont imagés par ultrasons ou par OCT. La vitesse est estimée par temps de vol. Ces vitesses sont représentatives de la vitesse des ondes de Scholte ou de Rayleigh (conditions aux limites air-solide), en fonction du montage expérimental. Un module de cisaillement puis de Young est le plus souvent déduit de ces mesures. Ainsi



## Chapitre I: Etat de l'art

les différentes études ont trouvé des valeurs de modules de Young comprises entre 5 et 10 kPa pour des modèles porcins et entre 2 et 35 kPa pour des modèles lapins. Ces études ont permis de différencier des échantillons de cristallins de différents âges<sup>98,100</sup>, comme le montre la *Figure I-43*.



*Figure I-43 : Résultats de l'élastographie par suivi d'ondes de surface sur des modèles in vivo de lapin  
Figure issue de l'étude de Li et al<sup>98</sup>*

Des protocoles ont également été mis en place pour rigidifier artificiellement des cristallins soit de manière réversible en formant des cataractes froides nucléaires<sup>98,101,102</sup>, soit de manière irréversible en créant des cataractes au niveau du cortex par échauffement au micro-onde<sup>101</sup>. Les cataractes froides sont réalisées en mettant le cristallin au froid. Les protéines s'agrègent de manière réversible créant une opacification et une rigidification réversible du cristallin. Les cataractes par échauffement impliquent l'agrégation irréversible des protéines du cristallin créant une opacification et une rigidification. La plupart des études ne s'intéressent pas à la fréquence des ondes se propageant à la surface du cristallin, alors que des phénomènes de guidage sont à prendre en compte lorsqu'il s'agit d'estimer des valeurs quantitatives de viscoélasticité.

### 3.3 Conclusion et perspectives

L'objectif de cette partie était de présenter le principe de la mesure d'élasticité par élastographie par ondes de cisaillement. Au travers des principes physiques et des différentes études menées sur le sujet, plusieurs problématiques ont été soulevées concernant l'application de cette méthode pour le cristallin. La première est l'absence de *speckle* ultrasonore ou optique au sein du cristallin excepté à sa surface. Cela implique d'utiliser les ondes se propageant à la surface du cristallin pour estimer une élasticité globale de celui-ci. Une deuxième solution est d'estimer le module de compression par la méthode Brillouin mais cette méthode ne permet pas d'évaluer quantitativement le module de cisaillement. La deuxième problématique est la taille du cristallin qui est inférieure au cm. Cela implique que les ondes à basse fréquence peuvent être guidées par les limites du cristallin. Ainsi, déterminer des valeurs quantitatives de viscoélasticité devient difficile. Dans ce cas, les modèles rhéologiques classiques sont à utiliser avec précaution. Au regard de toutes ces remarques, nous essaierons dans ce travail de thèse d'étudier plus précisément l'influence de la fréquence des ondes se propageant à la surface du cristallin pour estimer l'impact du guidage sur les mesures d'élasticité. Ainsi le Chapitre IV présentera le développement d'une méthode d'analyse fréquentielle, basée sur l'élastographie par corrélation de

## Chapitre I: Etat de l'art

bruit. Cette méthode sera également évaluée dans le cadre d'un potentiel monitoring de traitement de la presbytie.

### Conclusion du Chapitre I :

Ce Chapitre I avait pour objectif de montrer l'intérêt des ultrasons thérapeutiques afin de développer une nouvelle approche pour le traitement de la presbytie. La presbytie, qui est liée au vieillissement naturel du cristallin et plus précisément à sa rigidification, est aujourd'hui majoritairement compensée par le port de lunettes et plus rarement traitée par une chirurgie. Cependant, ces solutions thérapeutiques sont loin d'être parfaites et nécessitent souvent un compromis entre la vision de près, de loin, la perception du relief et de la profondeur. Cibler les causes biologiques, en détruisant ou dissolvant les agrégats de protéines, semblerait être une solution plus satisfaisante. Les ultrasons thérapeutiques pourraient être un outil intéressant pour redonner de l'élasticité au cristallin au moyen des effets de l'activité de cavitation sur les tissus biologiques. En effet, l'activité de cavitation, qui est l'oscillation de bulles sous l'effet des ultrasons, pourrait être utilisée pour détruire mécaniquement les agrégats de protéines. Une autre approche serait d'utiliser la cavitation pour augmenter la perméabilité du cristallin afin d'accroître l'efficacité de la diffusion de drogue. Plus généralement, la cavitation pourrait permettre de réactiver la microcirculation du cristallin qui est largement réduite lors de son vieillissement et qui accentue le phénomène d'agrégation de protéines. De plus, les ultrasons thérapeutiques sont des ondes non ionisantes et peuvent être utilisés de manière non invasive puisqu'ils sont capables de cibler à distance le tissu traité sans chirurgie. Ainsi, dans un premier temps, le Chapitre II s'attachera à montrer la faisabilité d'initier un nuage de cavitation au sein du cristallin. Cela est nécessaire si l'on souhaite cibler directement les structures biologiques de cet organe, sans injecter des microbulles. Le Chapitre III présentera la caractérisation et l'utilisation d'une sonde adaptée à la forme et à la taille du globe oculaire. Dans un objectif de développer et de valider une nouvelle approche de traitement de la presbytie, il est nécessaire de mettre en œuvre une méthode pour mesurer l'élasticité du cristallin. La troisième partie de ce chapitre avait donc pour objectif de présenter le principe de l'élastographie par ondes de cisaillement. Les caractéristiques physiques du cristallin qui sont sa transparence aux ultrasons et sa taille relativement petite ont montré qu'il fallait adapter cette méthode. En effet, les différentes études réalisées sur le sujet ont développé des mesures d'élasticité seulement à partir des ondes de surface. Cependant, le phénomène de guidage d'ondes qui est important lorsqu'on étudie des objets aussi petits n'est pas bien pris en compte dans la littérature. Ainsi, le Chapitre IV présentera le développement d'une nouvelle méthode d'élastographie qui étudiera sur une large bande passante de fréquence la propagation des ondes de surface sur le cristallin.

Références Bibliographiques du Chapitre I :

1. H. Von Helmholtz, "Mechanism of accommodation.," in *Helmholtz's treatise on physiological optics, Vol 1 (Trans. from the 3rd German ed.)*, J. P. C. Southall, Ed., Rochester: Optical Society of America, 1924, pp. 143–172. doi: 10.1037/13536-012.
2. J. S. Wolffsohn and L. N. Davies, "Presbyopia: Effectiveness of correction strategies," *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 68, pp. 124–143, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.09.004.
3. A. Glasser and M. C. W. Campbell, "Biometric, optical and physical changes in the isolated human crystalline lens with age in relation to presbyopia.," *Vision Res.*, vol. 39, no. 11, pp. 1991–2015, Jun. 1999, doi: 10.1016/s0042-6989(98)00283-1.
4. S. Kasthurirangan, E. L. Markwell, D. A. Atchison, *et al.*, "In Vivo Study of Changes in Refractive Index Distribution in the Human Crystalline Lens with Age and Accommodation," *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 49, no. 6, p. 2531, Jun. 2008, doi: 10.1167/iovs.07-1443.
5. T. R. Fricke, N. Tahhan, S. Resnikoff, *et al.*, "Global Prevalence of Presbyopia and Vision Impairment from Uncorrected Presbyopia," *Ophthalmology*, vol. 125, no. 10, pp. 1492–1499, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.ophtha.2018.04.013.
6. J. S. Wolffsohn, L. N. Davies, and A. L. Sheppard, "New insights in presbyopia: impact of correction strategies," *BMJ Open Ophthalmol.*, vol. 8, no. 1, p. e001122, Jan. 2023, doi: 10.1136/bmjophth-2022-001122.
7. "Impact of Presbyopia and Its Correction in Low- and Middle-Income Countries," *Asia-Pac. J. Ophthalmol.*, 2019, doi: 10.22608/APO.2018449.
8. D. H. Chang, "Multifocal Spectacle and Monovision Treatment of Presbyopia and Falls in the Elderly," *J. Refract. Surg.*, vol. 37, no. S1, Jun. 2021, doi: 10.3928/1081597X-20210408-02.
9. N. Brown, "The change in lens curvature with age," *Exp. Eye Res.*, vol. 19, no. 2, pp. 175–183, Aug. 1974, doi: 10.1016/0014-4835(74)90034-7.
10. M. Dubbelman and G. L. Van der Heijde, "The shape of the aging human lens: curvature, equivalent refractive index and the lens paradox," *Vision Res.*, vol. 41, no. 14, pp. 1867–1877, Jun. 2001, doi: 10.1016/S0042-6989(01)00057-8.
11. C. E. Jones, D. A. Atchison, R. Meder, *et al.*, "Refractive index distribution and optical properties of the isolated human lens measured using magnetic resonance imaging (MRI)," *Vision Res.*, vol. 45, no. 18, pp. 2352–2366, Aug. 2005, doi: 10.1016/j.visres.2005.03.008.
12. S. Song, A. Landsbury, R. Dahm, *et al.*, "Functions of the intermediate filament cytoskeleton in the eye lens," *J. Clin. Invest.*, vol. 119, no. 7, pp. 1837–1848, Jul. 2009, doi: 10.1172/JCI38277.
13. S. Bassnett and M. J. Costello, "The cause and consequence of fiber cell compaction in the vertebrate lens," *Exp. Eye Res.*, vol. 156, pp. 50–57, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.exer.2016.03.009.
14. P. J. Donaldson, A. C. Grey, B. Maceo Heilman, *et al.*, "The physiological optics of the lens," *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 56, pp. e1–e24, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.preteyeres.2016.09.002.
15. R. C. Augusteyn, "Growth of the human eye lens," *Mol. Vis.*, vol. 13, pp. 252–257, Feb. 2007.
16. J. C. Lim, K. L. Walker, T. Sherwin, *et al.*, "Confocal Microscopy Reveals Zones of Membrane Remodeling in the Outer Cortex of the Human Lens," *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 50, no. 9, p. 4304, Sep. 2009, doi: 10.1167/iovs.09-3435.
17. A. J. Bron, G. F. J. M. Vrensen, J. Koretz, *et al.*, "The Ageing Lens," *Ophthalmologica*, vol. 214,

## Chapitre I: Etat de l'art

- no. 1, pp. 86–104, 2000, doi: 10.1159/000027475.
18. E. Serebryany and J. A. King, "The  $\beta$ -crystallins: Native state stability and pathways to aggregation," *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 115, no. 1, pp. 32–41, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2014.05.002.
19. R. F. Fisher, "The elastic constants of the human lens," *J. Physiol.*, vol. 212, no. 1, pp. 147–180, Jan. 1971, doi: 10.1113/jphysiol.1971.sp009315.
20. G. S. Wilde, H. J. Burd, and S. J. Judge, "Shear modulus data for the human lens determined from a spinning lens test," *Exp. Eye Res.*, vol. 97, no. 1, pp. 36–48, Apr. 2012, doi: 10.1016/j.exer.2012.01.011.
21. H. A. Weeber, G. Eckert, F. Soergel, *et al.*, "Dynamic mechanical properties of human lenses," *Exp. Eye Res.*, vol. 80, no. 3, pp. 425–434, Mar. 2005, doi: 10.1016/j.exer.2004.10.010.
22. P. K. Sharma, H. J. Busscher, T. Terwee, *et al.*, "A comparative study on the viscoelastic properties of human and animal lenses," *Exp. Eye Res.*, vol. 93, no. 5, pp. 681–688, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.exer.2011.08.009.
23. H. A. Weeber, G. Eckert, W. Pechhold, *et al.*, "Stiffness gradient in the crystalline lens," *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 245, no. 9, pp. 1357–1366, Sep. 2007, doi: 10.1007/s00417-007-0537-1.
24. K. R. Heys, S. L. Cram, and R. J. W. Truscott, "Massive increase in the stiffness of the human lens nucleus with age: the basis for presbyopia?," *Mol. Vis.*, p. 10.
25. M. A. Reilly and V. N. Ravi, "Microindentation of the young porcine ocular lens," *J. Biomech. Eng.-Trans. Asme*, vol. 131, no. 4, pp. 044502–044502, Apr. 2009, doi: 10.1115/1.3072891.
26. T. N. Erpelding, K. W. Hollman, and M. O'Donnell, "Mapping age-related elasticity changes in porcine lenses using bubble-based acoustic radiation force," *Exp. Eye Res.*, vol. 84, no. 2, pp. 332–341, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.exer.2006.10.007.
27. K. W. Hollman, M. O'Donnell, and T. N. Erpelding, "Mapping elasticity in human lenses using bubble-based acoustic radiation force," *Exp. Eye Res.*, vol. 85, no. 6, pp. 890–893, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.exer.2007.09.006.
28. S. Yoon, S. Aglyamov, A. Karpouk, *et al.*, "The Mechanical Properties of Ex Vivo Bovine and Porcine Crystalline Lenses: Age-Related Changes and Location-Dependent Variations," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 39, no. 6, pp. 1120–1127, Jun. 2013, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.12.010.
29. R. F. Fisher, "Elastic constants of the human lens capsule," *J. Physiol.*, vol. 201, no. 1, pp. 1–19, Mar. 1969, doi: 10.1113/jphysiol.1969.sp008739.
30. S. Krag, T. Olsen, and T. T. Andreassewff, "Biomechanical Characteristics of the Human Anterior Lens Capsule in Relation to Age".
31. N. M. Ziebarth, D. Borja, E. Arrieta, *et al.*, "Role of the Lens Capsule on the Mechanical Accommodative Response in a Lens Stretcher," *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 49, no. 10, p. 4490, Oct. 2008, doi: 10.1167/iovs.07-1647.
32. W. H. Garner and M. H. Garner, "Protein Disulfide Levels and Lens Elasticity Modulation: Applications for Presbyopia," *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 57, no. 6, p. 2851, May 2016, doi: 10.1167/iovs.15-18413.
33. L. T. Chylack, "Mechanisms of Senile Cataract Formation," *Ophthalmology*, vol. 91, no. 6, pp. 596–602, Jun. 1984, doi: 10.1016/S0161-6420(84)34252-X.
34. K. Schey, R. Petrova, R. Gletten, *et al.*, "The Role of Aquaporins in Ocular Lens Homeostasis," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 12, p. 2693, Dec. 2017, doi: 10.3390/ijms18122693.

## Chapitre I: Etat de l'art

35. E. Vaghefi and P. J. Donaldson, "The lens internal microcirculation system delivers solutes to the lens core faster than would be predicted by passive diffusion," *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.*, vol. 315, no. 5, pp. R994–R1002, Nov. 2018, doi: 10.1152/ajpregu.00180.2018.
36. P. J. Donaldson, Y. Chen, R. S. Petrova, *et al.*, "Regulation of lens water content: Effects on the physiological optics of the lens," *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 95, p. 101152, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101152.
37. M. H. J. Sweeney and R. J. W. Truscott, "An Impediment to Glutathione Diffusion in Older Normal Human Lenses: a Possible Precondition for Nuclear Cataract," *Exp. Eye Res.*, vol. 67, no. 5, pp. 587–595, Nov. 1998, doi: 10.1006/exer.1998.0549.
38. J. A. Katz, P. M. Karpecki, A. Dorca, *et al.*, "Presbyopia – A Review of Current Treatment Options and Emerging Therapies," *Clin. Ophthalmol.*, vol. Volume 15, pp. 2167–2178, May 2021, doi: 10.2147/OPHTH.S259011.
39. D. Lam, S. K. Rao, V. Ratra, *et al.*, "Cataract," *Nat. Rev. Dis. Primer*, vol. 1, no. 1, p. 15014, Jun. 2015, doi: 10.1038/nrdp.2015.14.
40. A. A. Torricelli, Barreto, Santhiago, *et al.*, "Surgical management of presbyopia," *Clin. Ophthalmol.*, p. 1459, Sep. 2012, doi: 10.2147/OPHTH.S35533.
41. S. A. Mosquera and J. L. Alió, "Presbyopic correction on the cornea," *Eye Vis.*, vol. 1, no. 1, p. 5, Dec. 2014, doi: 10.1186/s40662-014-0005-z.
42. A. Grzybowski and V. Ruamviboonsuk, "Pharmacological Treatment in Presbyopia," *J. Clin. Med.*, vol. 11, no. 5, p. 1385, Mar. 2022, doi: 10.3390/jcm11051385.
43. L. Zhao, X.-J. Chen, J. Zhu, *et al.*, "Lanosterol reverses protein aggregation in cataracts," *Nature*, vol. 523, no. 7562, pp. 607–611, Jul. 2015, doi: 10.1038/nature14650.
44. Pm. Shanmugam, A. Barigali, J. Kadaskar, *et al.*, "Effect of lanosterol on human cataract nucleus," *Indian J. Ophthalmol.*, vol. 63, no. 12, p. 888, 2015, doi: 10.4103/0301-4738.176040.
45. M. S. Korenfeld, S. M. Robertson, J. M. Stein, *et al.*, "Topical lipoic acid choline ester eye drop for improvement of near visual acuity in subjects with presbyopia: a safety and preliminary efficacy trial," *Eye*, vol. 35, no. 12, pp. 3292–3301, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41433-020-01391-z.
46. "Clinicaltrials.gov. A Dose-Ranging Study to Evaluate the Safety and Efficacy of UNR844 in Subjects with Presbyopia. Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04806503?term=unr844&cond=Presbyopia&draw=2&rank=1> (accessed on 19 December 2021)."
47. "clinicaltrials.gov. A Study of Safety and Efficacy of UNR844 Chloride (UNR844-Cl) Eye Drops in Subjects with Presbyopia. Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03809611> (accessed on 20 November 2021)."
48. Focused Ultrasound Foundation, "State of the field." Focused Ultrasound Foundation, 2022. [Online]. Available: [www.fusfoundation.org](http://www.fusfoundation.org)
49. A. Gelet, S. Crouzet, O. Rouviere, *et al.*, "Focal treatment of prostate cancer using Focal One device: pilot study results," *J. Ther. Ultrasound*, vol. 3, no. S1, p. O54, Dec. 2015, doi: 10.1186/2050-5736-3-S1-O54.
50. L. Klotz, C. P. Pavlovich, J. Chin, *et al.*, "Magnetic Resonance Imaging-Guided Transurethral Ultrasound Ablation of Prostate Cancer," *J. Urol.*, vol. 205, no. 3, pp. 769–779, Mar. 2021, doi: 10.1097/JU.0000000000001362.
51. N. Lipsman, M. L. Schwartz, Y. Huang, *et al.*, "MR-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor: a proof-of-concept study," *Lancet Neurol.*, vol. 12, no. 5, pp. 462–468, May 2013, doi: 10.1016/S1474-4422(13)70048-6.

## Chapitre I: Etat de l'art

52. A. Maxwell, O. Sapozhnikov, M. Bailey, *et al.*, "DISINTEGRATION OF TISSUE USING HIGH INTENSITY FOCUSED ULTRASOUND: TWO APPROACHES THAT UTILIZE SHOCK WAVES," p. 15.
53. J. J. Kwan, R. Myers, C. M. Coviello, *et al.*, "Ultrasound-Propelled Nanocups for Drug Delivery," *Small*, vol. 11, no. 39, pp. 5305–5314, Oct. 2015, doi: 10.1002/sml.201501322.
54. K. B. Bader, E. Vlasisavljevich, and A. D. Maxwell, "For Whom the Bubble Grows: Physical Principles of Bubble Nucleation and Dynamics in Histotripsy Ultrasound Therapy," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 45, no. 5, pp. 1056–1080, May 2019, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.10.035.
55. A. D. Maxwell, T.-Y. Wang, C. A. Cain, *et al.*, "Cavitation clouds created by shock scattering from bubbles during histotripsy," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 130, no. 4, pp. 1888–1898, Oct. 2011, doi: 10.1121/1.3625239.
56. A. J. Coleman and J. E. Saunders, "A survey of the acoustic output of commercial extracorporeal shock wave lithotripters," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 15, no. 3, pp. 213–227, Jan. 1989, doi: 10.1016/0301-5629(89)90066-5.
57. A. D. Maxwell, C. Hunter, B. W. Cunitz, *et al.*, "Factors Affecting Tissue Cavitation during Burst Wave Lithotripsy," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 47, no. 8, pp. 2286–2295, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.04.021.
58. V. A. Khokhlova, J. B. Fowlkes, W. W. Roberts, *et al.*, "Histotripsy methods in mechanical disintegration of tissue: Towards clinical applications," *Int. J. Hyperthermia*, vol. 31, no. 2, pp. 145–162, Feb. 2015, doi: 10.3109/02656736.2015.1007538.
59. X. Li, H. Du, Z. Song, *et al.*, "Efficacy and safety of sonothrombolysis in patients with acute ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis," *J. Neurol. Sci.*, vol. 416, p. 116998, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.jns.2020.116998.
60. C. C. Coussios and R. A. Roy, "Applications of Acoustics and Cavitation to Noninvasive Therapy and Drug Delivery," *Annu. Rev. Fluid Mech.*, vol. 40, no. 1, pp. 395–420, Jan. 2008, doi: 10.1146/annurev.fluid.40.111406.102116.
61. Y. Yang, Q. Li, X. Guo, *et al.*, "Mechanisms underlying sonoporation: Interaction between microbubbles and cells," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 67, p. 105096, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105096.
62. K. Beccaria, M. Canney, L. Goldwirth, *et al.*, "Ultrasound-induced opening of the blood-brain barrier to enhance temozolomide and irinotecan delivery: an experimental study in rabbits," *J. Neurosurg.*, vol. 124, no. 6, pp. 1602–1610, Jun. 2016, doi: 10.3171/2015.4.JNS142893.
63. C. M. Gorick, V. R. Breza, K. M. Nowak, *et al.*, "Applications of focused ultrasound-mediated blood-brain barrier opening," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 191, p. 114583, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.addr.2022.114583.
64. C. Cornu, M. Guédra, J.-C. Béra, *et al.*, "Ultrafast monitoring and control of subharmonic emissions of an unseeded bubble cloud during pulsed sonication," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 42, pp. 697–703, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.ultsonch.2017.12.026.
65. Audrey, Sivadon, "Contribution à l'imagerie passive de la cavitation ultrasonore : formation de voies adaptatives en 3D et extension spatiale de nuages de bulles," 2022.
66. M. Gyongy and C.-C. Coussios, "Passive Spatial Mapping of Inertial Cavitation During HIFU Exposure," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 1, pp. 48–56, Jan. 2010, doi: 10.1109/TBME.2009.2026907.
67. K. J. Haworth, K. B. Bader, K. T. Rich, *et al.*, "Quantitative Frequency-Domain Passive Cavitation Imaging," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 64, no. 1, pp. 177–191, Jan. 2017, doi: 10.1109/TUFFC.2016.2620492.

## Chapitre I: Etat de l'art

68. M. D. Gray, E. Lyka, and C. C. Coussios, "Diffraction Effects and Compensation in Passive Acoustic Mapping," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 65, no. 2, pp. 258–268, Feb. 2018, doi: 10.1109/TUFFC.2017.2778509.
69. T. Khokhlova, P. Rosnitskiy, C. Hunter, *et al.*, "Dependence of inertial cavitation induced by high intensity focused ultrasound on transducer  $F$ -number and nonlinear waveform distortion," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 144, no. 3, pp. 1160–1169, Sep. 2018, doi: 10.1121/1.5052260.
70. P. V. Yuldashev and V. A. Khokhlova, "Simulation of three-dimensional nonlinear fields of ultrasound therapeutic arrays," *Acoust. Phys.*, vol. 57, no. 3, pp. 334–343, May 2011, doi: 10.1134/S1063771011030213.
71. P. V. Yuldashev, M. M. Karzova, W. Kreider, *et al.*, "'HIFU Beam': A Simulator for Predicting Axially Symmetric Nonlinear Acoustic Fields Generated by Focused Transducers in a Layered Medium," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 68, no. 9, pp. 2837–2852, Sep. 2021, doi: 10.1109/TUFFC.2021.3074611.
72. M. Lafond, F. Prieur, F. Chavier, *et al.*, "Numerical study of a confocal ultrasonic setup for cavitation creation," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 141, no. 3, pp. 1953–1961, Mar. 2017, doi: 10.1121/1.4978061.
73. C. D. Yang, J. Jessen, and K. Y. Lin, "Ultrasound-assisted ocular drug delivery: A review of current evidence," *J. Clin. Ultrasound*, vol. 50, no. 5, pp. 685–693, 2022, doi: 10.1002/jcu.23214.
74. R. H. Silverman, B. Vogelsang, M. J. Rondeau, *et al.*, "Therapeutic ultrasound for the treatment of glaucoma," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 111, no. 3, pp. 327–337, 1991, doi: 10.1016/S0002-9394(14)72318-9.
75. T. Charrel, F. Aptel, A. Birer, *et al.*, "Development of a Miniaturized HIFU Device for Glaucoma Treatment With Conformal Coagulation of the Ciliary Bodies," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 37, no. 5, pp. 742–754, 2011, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2011.01.017.
76. F. Aptel, T. Charrel, C. Lafon, *et al.*, "Miniaturized high-intensity focused ultrasound device in patients with glaucoma: A clinical pilot study," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 52, no. 12, pp. 8747–8753, 2011, doi: 10.1167/iovs.11-8137.
77. M. Lafond, F. Aptel, J. L. Mestas, *et al.*, "Ultrasound-mediated ocular delivery of therapeutic agents: a review," *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 14, no. 4, pp. 539–550, 2017, doi: 10.1080/17425247.2016.1198766.
78. J. Park, Y. Zhang, N. Vykhodtseva, *et al.*, "Targeted and reversible blood-retinal barrier disruption via focused ultrasound and microbubbles," *PLoS ONE*, vol. 7, no. 8, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0042754.
79. M. Nabili, H. Patel, S. P. Mahesh, *et al.*, "Ultrasound-Enhanced Delivery of Antibiotics and Anti-Inflammatory Drugs Into the Eye," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 39, no. 4, pp. 638–646, 2013, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.11.010.
80. C. Lafon, V. A. Khokhlova, P. J. Kaczkowski, *et al.*, "Use of a bovine eye lens for observation of HIFU-induced lesions in real-time," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 32, no. 11, pp. 1731–1741, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2006.07.035.
81. T. Deffieux, "Palpation par force de radiation ultrasonore et échographie ultrarapide : Applications à la caractérisation tissulaire in vivo.," Dec. 2008.
82. B. Giammarinaro, A. Zorgani, and S. Catheline, "Shear-Wave Sources for Soft Tissues in Ultrasound Elastography," *IRBM*, vol. 39, no. 4, pp. 236–242, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.irbm.2018.01.002.
83. L. Sandrin, B. Fourquet, J.-M. Hasquenoph, *et al.*, "Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 29, no.

## Chapitre I: Etat de l'art

- 12, pp. 1705–1713, Dec. 2003, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2003.07.001.
84. J. Bercoff, M. Tanter, and M. Fink, “Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping,” *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 51, no. 4, pp. 396–409, Apr. 2004, doi: 10.1109/TUFFC.2004.1295425.
85. S. Catheline, R. Souchon, M. Rupin, *et al.*, “Tomography from diffuse waves: Passive shear wave imaging using low frame rate scanners,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 103, no. 1, p. 014101, Jul. 2013, doi: 10.1063/1.4812515.
86. C. Zenzemi, A. Zorgani, L. Daunizeau, *et al.*, “Super-resolution limit of shear-wave elastography,” *EPL Europhys. Lett.*, vol. 129, no. 3, p. 34002, Mar. 2020, doi: 10.1209/0295-5075/129/34002.
87. V. Barrere, D. Melodelima, S. Catheline, *et al.*, “Imaging of Thermal Effects during High-Intensity Ultrasound Treatment in Liver by Passive Elastography: A Preliminary Feasibility in Vitro Study,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 46, no. 8, pp. 1968–1977, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.03.019.
88. T. Gallot, S. Catheline, P. Roux, *et al.*, “Passive elastography: shear-wave tomography from physiological-noise correlation in soft tissues,” *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 58, no. 6, pp. 1122–1126, Jun. 2011, doi: 10.1109/TUFFC.2011.1920.
89. T.-M. Nguyen, A. Zorgani, M. Lescanne, *et al.*, “Diffuse shear wave imaging: toward passive elastography using low-frame rate spectral-domain optical coherence tomography,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 12, p. 126013, Dec. 2016, doi: 10.1117/1.JBO.21.12.126013.
90. P. Grasland-Mongrain, A. Zorgani, S. Nakagawa, *et al.*, “Ultrafast imaging of cell elasticity with optical microelastography,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 115, no. 5, pp. 861–866, Jan. 2018, doi: 10.1073/pnas.1713395115.
91. A. Zorgani, R. Souchon, A.-H. Dinh, *et al.*, “Brain palpation from physiological vibrations using MRI,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 112, no. 42, pp. 12917–12921, Oct. 2015, doi: 10.1073/pnas.1509895112.
92. G. Scarcelli, Giuliano Scarcelli, Giuliano Scarcelli, *et al.*, “In Vivo Measurement of Age-Related Stiffening in the Crystalline Lens by Brillouin Optical Microscopy,” *Biophys. J.*, vol. 101, no. 6, pp. 1539–1545, Sep. 2011, doi: 10.1016/j.bpj.2011.08.008.
93. G. Scarcelli, Giuliano Scarcelli, Giuliano Scarcelli, *et al.*, “In vivo Brillouin optical microscopy of the human eye,” *Opt. Express*, vol. 20, no. 8, pp. 9197–9202, Apr. 2012, doi: 10.1364/oe.20.009197.
94. S. Reiß, G. K. G. Burau, O. Stachs, *et al.*, “Spatially resolved Brillouin spectroscopy to determine the rheological properties of the eye lens,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 2, no. 8, pp. 2144–2159, Aug. 2011, doi: 10.1364/boe.2.002144.
95. C. Wu, Z. Han, S. Wang, *et al.*, “Assessing Age-Related Changes in the Biomechanical Properties of Rabbit Lens Using a Coaligned Ultrasound and Optical Coherence Elastography System,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 56, no. 2, pp. 1292–1300, Feb. 2015, doi: 10.1167/iovs.14-15654.
96. I. Z. Nenadic, M. W. Urban, M. Bernal, *et al.*, “Phase velocities and attenuations of shear, Lamb, and Rayleigh waves in plate-like tissues submerged in a fluid (L),” *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 130, no. 6, pp. 3549–3552, Dec. 2011, doi: 10.1121/1.3654029.
97. G. Laloy-Borgna, A. Zorgani, and S. Catheline, “Micro-elastography: Toward ultrasonic shear waves in soft solids,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 118, no. 11, p. 113701, Mar. 2021, doi: 10.1063/5.0039816.
98. Y. Li, J. Zhu, J. J. Chen, *et al.*, “Simultaneously imaging and quantifying *in vivo* mechanical properties of crystalline lens and cornea using optical coherence elastography with acoustic radiation force excitation,” *APL Photonics*, vol.



## Chapitre I: Etat de l'art

- 4, no. 10, p. 106104, Oct. 2019, doi: 10.1063/1.5118258.
99. S. Park, H. Yoon, K. V. Larin, *et al.*, "The impact of intraocular pressure on elastic wave velocity estimates in the crystalline lens," *Phys. Med. Biol.*, vol. 62, no. 3, Jan. 2017, doi: 10.1088/1361-6560/aa54ef.
100. X. Zhang, Q. Wang, Z. Lyu, *et al.*, "Noninvasive assessment of age-related stiffness of crystalline lenses in a rabbit model using ultrasound elastography," *Biomed. Eng. OnLine*, vol. 17, no. 1, p. 75, Dec. 2018, doi: 10.1186/s12938-018-0509-1.
101. Y. Chen, S. Ye, Q. Wang, *et al.*, "In situ assessment of lens elasticity with noncontact optical coherence elastography," *Biomed. Opt. Express*, vol. 13, no. 12, p. 6671, Dec. 2022, doi: 10.1364/BOE.475306.
102. H. Zhang, C. Wu, M. Singh, *et al.*, "Optical coherence elastography of cold cataract in porcine lens," *J. Biomed. Opt.*, vol. 24, no. 03, p. 1, Mar. 2019, doi: 10.1117/1.JBO.24.3.036004.

## Chapitre II : Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

### Introduction :

Afin d'étudier l'effet de l'activité de cavitation sur la structure et l'élasticité du cristallin, des premières expérimentations ont été mises en place pour montrer la faisabilité de créer un nuage de cavitation dans le cristallin. Les caractéristiques anatomiques du cristallin : sa taille de l'ordre du cm, et son positionnement dans l'œil peuvent être des difficultés pour le déclenchement d'un nuage de cavitation. Ces contraintes imposent d'utiliser une sonde de thérapie ultrasonore présentant une petite zone focale, de l'ordre du mm, afin que le nuage de cavitation se déclenche de manière localisée dans le cristallin. Aucune étude n'ayant été menée dans ce domaine de recherche, des transducteurs déjà construits au sein du laboratoire ont été testés. Dans un premier temps, le choix du transducteur ultrasonore de thérapie s'est orienté sur des transducteurs présentant une géométrie confocale. Leurs caractéristiques ont été présentées dans la Partie 2 du Chapitre I. L'étude de Lafond et al.<sup>1</sup> a montré que cette géométrie permettait d'obtenir des petites zones focales et d'initier des nuages de cavitation stable temporellement et spatialement. En supposant que des pressions aux alentours de -20 MPa permettraient de déclencher de la cavitation dans le cristallin, deux transducteurs confocaux ont été sélectionnés pour ces expérimentations de faisabilité. Les deux premières parties de ce chapitre présenteront les tests de deux transducteurs confocaux pour le déclenchement de nuage de cavitation dans le cristallin. La troisième partie présentera une méthode de mesure de seuil de déclenchement de cavitation dans le cristallin utilisant l'imagerie passive de cavitation.

### 1. Expérimentation avec un dispositif confocal 3 transducteurs

#### **1.1 Description du dispositif :**

Le transducteur de thérapie ultrasonore est composé de 3 transducteurs ultrasonores piézocéramiques, dont la fréquence centrale est de 1.645 MHz. Ils sont positionnés suivant une géométrie confocale. Ce sont des transducteurs de géométrie sphérique avec un rayon de focalisation de 15 mm et un diamètre d'ouverture de 15 mm. En plus de sa géométrie confocale propice au déclenchement de nuage de cavitation, cette sonde de thérapie présente des dimensions compatibles avec la taille du cristallin et du globe oculaire avec un diamètre d'ouverture de 30 mm et un point de focalisation situé à 15 mm de distance du fond du transducteur (*Figure II-1*). Ce transducteur de thérapie ne comporte pas de sonde d'imagerie ultrasonore intégrée. Dans la suite de l'étude, ce transducteur sera nommé transducteur C-3T.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

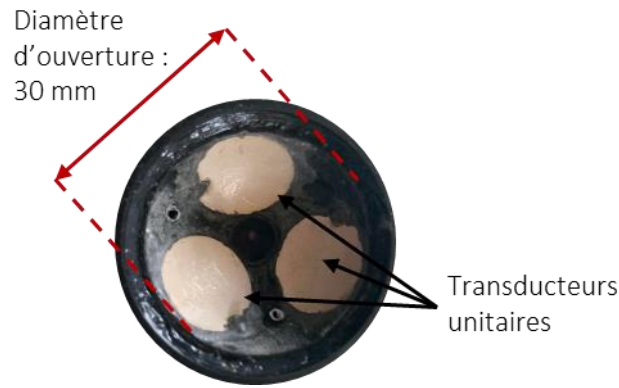


Figure II-1 : Photo de la sonde C-3T

### 1.2 Matériels et méthode :

Le transducteur C-3T a été caractérisé en réalisant des mesures de pression en régime non linéaire avec un hydrophone à fibre optique ainsi que des mesures de puissance acoustique avec un dispositif de balance acoustique.

#### a) Mesure de pression :

Le transducteur est installé dans une cuve (Precision Acoustics, Dorchester, Angleterre), remplie d'eau dégazée. L'hydrophone est fixé à un système de micro-positionnement x-y-z (Precision Acoustics, Dorchester, Angleterre) afin de le positionner de manière précise à la focale du transducteur. L'hydrophone optique est un système composé d'une fibre optique, d'un laser diode à 810 nm et 200 nW, d'un photodétecteur et d'un amplificateur (FOPH 2000, RP Acoustics, Leutenbach, Allemagne). Le laser émet un faisceau lumineux se propageant jusqu'au bout de la fibre optique. Les fortes pressions de l'onde émise par le transducteur entraînent des variations de la masse volumique de l'eau, ce qui modifie son indice de réfraction. Cette variation d'indice de réfraction peut être mesurée par le faisceau lumineux, réfléchi au bout de la fibre optique. Cette lumière réfléchie est transmise à un photodétecteur (conversion du signal lumineux en tension) puis à un amplificateur relié à un oscilloscope (WaveSurfer 24MXs-A, Teledyne Lecroy, Chesnut Ridge, USA). Une série de mesures à l'hydrophone optique est effectuée dans l'air et dans l'eau afin de vérifier la qualité de l'extrémité de la fibre, conformément au protocole de calibration du constructeur. La position de l'hydrophone par rapport à la focale du transducteur est ajustée en maximisant le signal en tension, observé sur l'oscilloscope. Les valeurs quantitatives de pression sont calculées à partir du signal en tension en utilisant le logiciel Caldec, fournis par le constructeur. Le transducteur C-3T est alimenté par des impulsions sinusoïdales de 10 cycles à la fréquence de 1.645 MHz. Ce signal est amplifié par un amplificateur, conçu par une équipe du laboratoire, avec un gain en tension de 56 dB. La mesure de pression a été réalisée sur une gamme de tensions de commande comprise entre 503 Vpp et 778 Vpp.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

### b) Mesure de puissance acoustique :

Afin de mesurer la puissance acoustique générée par le transducteur C-3T, un système de balance acoustique est utilisé (RFB-2000, Onda, Sunnyvale, USA). Le principe est de mesurer la force de radiation générée par le transducteur à l'aide d'une balance de précision calibrée. Expérimentalement, la sonde est positionnée dans la cuve du système de mesure de balance acoustique, remplie d'eau dégazée. Le transducteur fait face à la balance, sur laquelle est positionnée une cible en forme de brosse qui permet de défocaliser le faisceau acoustique. La force de poussée exercée sur la surface de la balance se traduit par une variation de masse mesurée par la balance de précision. Pour déterminer la puissance acoustique à partir d'une variation de masse, on utilise le principe fondamental de la dynamique tel que :

$$\sum F = mg,$$

Équation II-1

avec  $F$  la force de radiation en N,  $m$  la masse mesurée par la balance en kg et  $g$  l'accélération égale à  $9.81 \text{ m/s}^2$ . Or la puissance acoustique,  $P_{ac}$ , s'écrit également par le produit de la force de radiation par la vitesse de propagation de l'onde ultrasonore,  $c$  en m/s :

$$P_{ac} = F \cdot c.$$

Équation II-2

On peut alors relier la masse mesurée à la puissance acoustique :

$$P_{ac} = m \cdot g \cdot c.$$

Équation II-3

En calibrant la balance acoustique avec une masse connue, le système de mesure est capable de donner directement la puissance acoustique. Cette mesure a été réalisée pour une gamme de tensions aux bornes du transducteur comprise entre 62 Vpp et 778 Vpp et en faisant varier le rapport cyclique entre 1.2 et 100 %.

### c) Expérimentation ex-vivo sur cristallins porcins :

Afin de tester la faisabilité de déclencher un nuage de cavitation au sein du cristallin, plusieurs jeux de paramètres sont utilisés :

- Durée d'une impulsion ultrasonore,  $T_{\text{cycle}} = 24 - 243 \mu\text{s}$
- Fréquence de répétition des impulsions, PRF = 10 – 1000 Hz
- Tension aux bornes du transducteur,  $U_{\text{ampli}} = 62 - 722 \text{ Vpp}$

La partie résultat présentera l'effet de l'insonification sur le cristallin avec les paramètres suivants :  $T_{\text{cycle}} = 243 \mu\text{s}$ , PRF = 50 Hz et  $U_{\text{ampli}} = 722 \text{ Vpp}$ . Pour cibler le cristallin et pour suivre le traitement, une sonde d'imagerie linéaire de fréquence centrale 5 MHz (L7-4, Vermon, Tours, France) est positionnée en face de la sonde de thérapie, comme représenté sur le schéma expérimental *Figure II-2*. Elle est reliée à un échographe de recherche Verasonics 256 voies (Verasonics, Kirkland, USA). Les échantillons utilisés sont des globes oculaires porcins âgés de 6 mois provenant d'un abattoir local. Le cristallin est excisé et inclus dans un gel d'agarose à 2 % (w/v) pour le maintenir. L'échantillon est fixé au bout d'un

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

bras robotique 7 axes (Kuka AG, Augsburg, Allemagne) permettant de le positionner précisément au niveau de la zone focale du transducteur. Afin de localiser la zone focale par rapport à la sonde d'imagerie, des nuages de cavitation sont initiés dans des gels d'agarose. L'échantillon inclus dans le gel d'agarose peut alors être aligné avec la zone focale, repérée préalablement. L'ensemble sonde de thérapie et échantillon est immergé dans une cuve remplie d'eau dégazée.

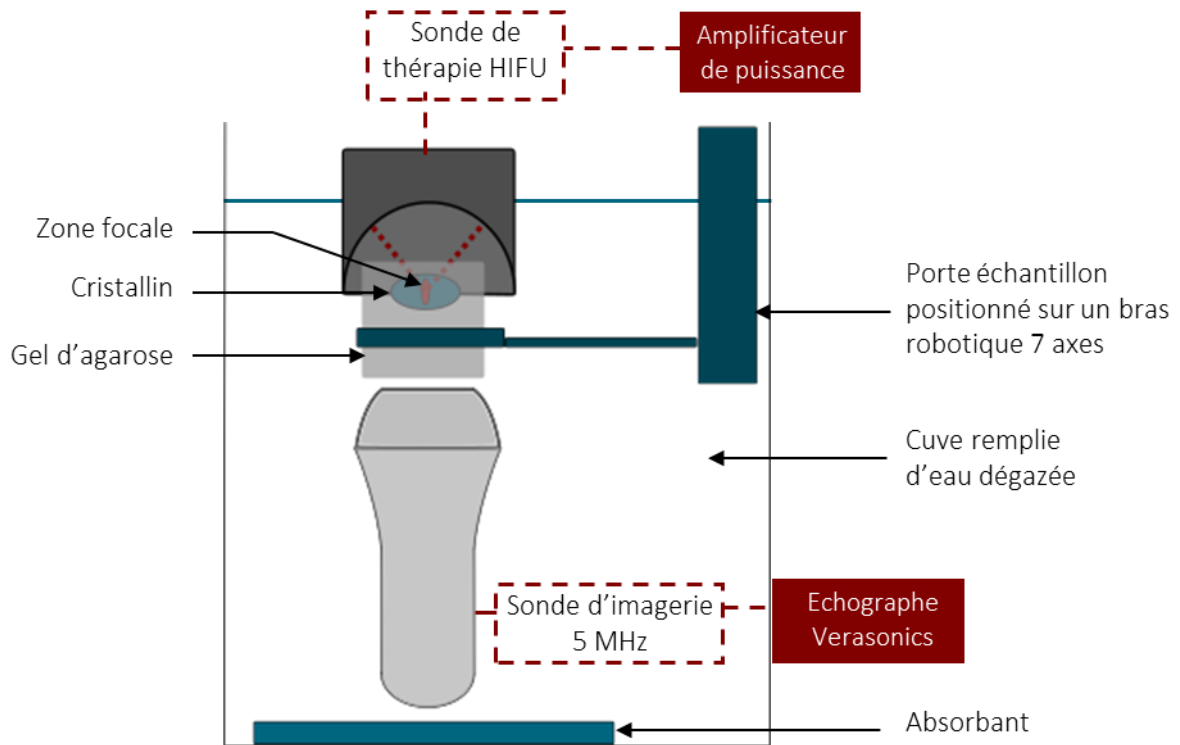


Figure II-2 : Montage expérimental de l'insonification du cristallin avec la sonde C-3T. Le cristallin inclus dans un gel d'agarose est positionné à la focale du transducteur grâce à un robot 7 axes. Le traitement est suivi avec une sonde d'imagerie ultrasonore, qui fait face au transducteur de thérapie.

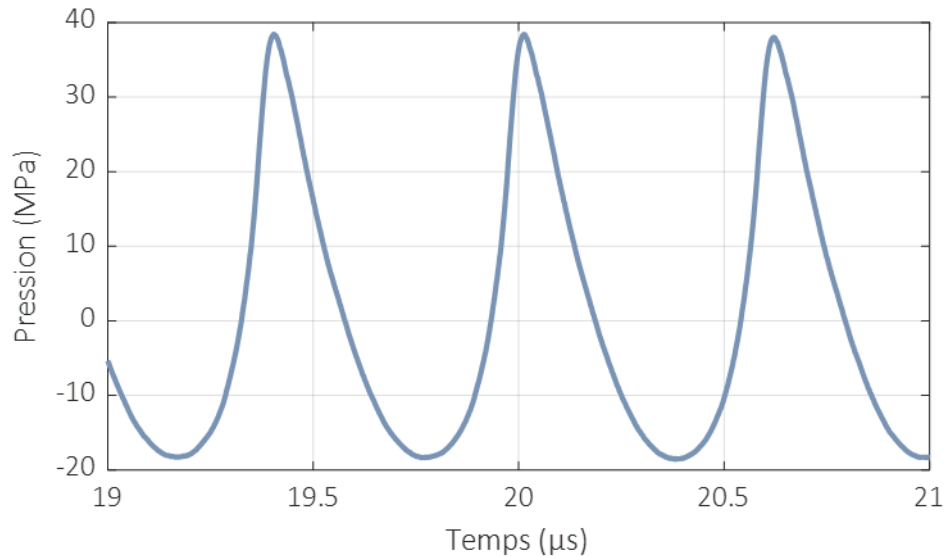
Les insonifications sont arrêtées lorsqu'une zone hyperéchogène est visible sur l'image B-mode, il peut s'agir d'un nuage de cavitation ou d'une lésion thermique. La transparence aux ultrasons du cristallin permet de détecter facilement ce type de changement mécanique ou thermique. Les échantillons sont ensuite observés macroscopiquement, puis fixés par immersion dans du paraformaldéhyde (PFA, 0.75%). Un protocole de fixation et de coupes histologiques est alors mis en place, suivant la méthode décrite par Ben Moussa et al.<sup>2</sup>. Brièvement, après une fixation pendant 24h au PFA (0.75 %), une coupe sagittale est réalisée sur le cristallin. Une nouvelle fixation au PFA (0.75 %) est effectuée, avant d'incuber l'échantillon dans 3 bains successifs de sucrose. Enfin, l'échantillon est congelé à l'azote liquide avant de réaliser les coupes histologiques au cryostat. Ces coupes sont transférées sur des lames de microscope recouvertes d'OCT-DPBS à 20 %, puis observées au microscope à champ clair. Ce protocole a été réalisé par le laboratoire de Biologie, Ingénierie et Imagerie pour l'Ophtalmologie (BiiO, Université Jean Monnet de Saint-Etienne).

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

### 1.3 Résultats :

#### a) Mesure de pression :

La *Figure II-3* représente une forme d'onde mesurée par l'hydrophone optique et traitée avec le logiciel Caldec, pour une tension de commande de 778 Vpp.



*Figure II-3 : Forme d'onde mesurée par l'hydrophone optique pour une tension de commande de 778Vpp*

A cette tension, la pression positive maximale est de 38.0 MPa et la pression négative maximale est de -18.5 MPa. Cette mesure indique que la forme d'onde à la focale présente une forte non-linéarité avec une amplitude de choc de 56.5 MPa. Cependant, cette distorsion ne présente pas de choc pleinement développé comme on peut l'observer dans l'étude de Khokhlova et al.<sup>3</sup>, où la pente montante de pression est quasiment verticale. La *Figure II-4* représente les résultats de maxima de pression négative et positive mesurés à la focale du transducteur C-3T en fonction de la tension de commande. Sur cette gamme de tension, la pression positive maximale générée est de 41 MPa et la pression maximale négative est de -19.7 MPa.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

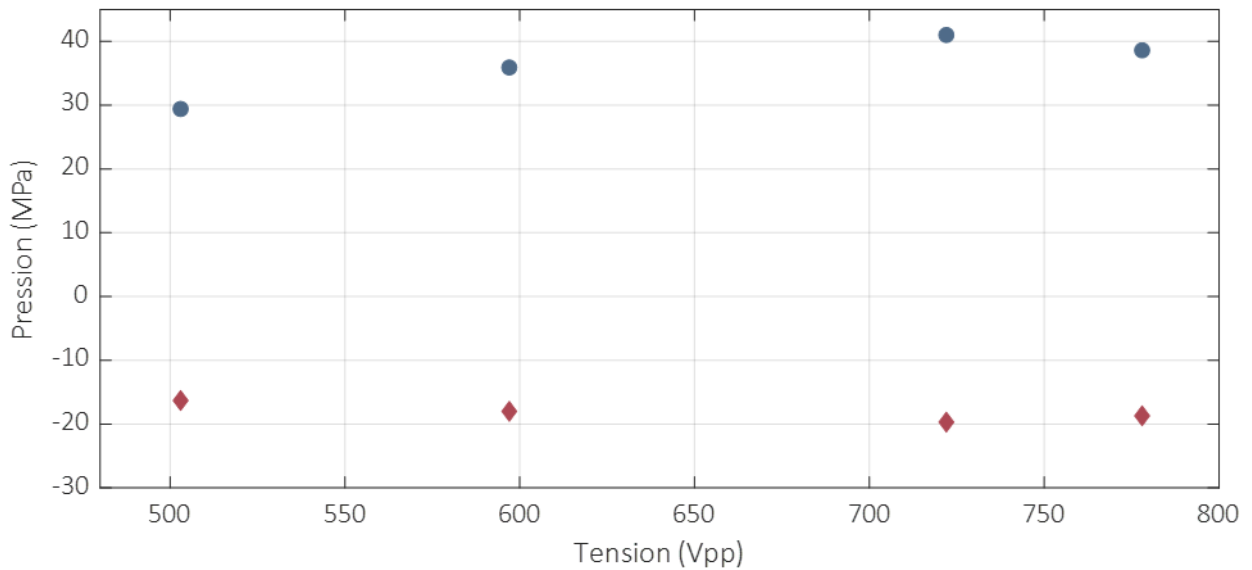


Figure II-4 : Maximums de pression négative et de pression positive mesurés à la focale du transducteur C-3T en fonction de la tension de commande

Au-delà d'une tension de commande de 778Vpp, la mesure de pression n'est plus possible car nous sommes contraints par les limitations de l'amplificateur de puissance. L'utilisation d'un autre amplificateur plus puissant n'est pas compatible avec la sonde de thérapie utilisée. On peut observer, sur la *Figure II-4*, la saturation des pressions négatives et positives. D'après l'étude de Khokhlova et al.<sup>3</sup>, cette saturation est liée à l'apparition d'un choc pleinement développé, visible sur les formes d'onde. Cependant, la forme d'onde tracée sur la *Figure II-3* ne présente pas cette particularité. Cela peut être expliqué par l'utilisation d'un filtre fréquentiel passe-bas trop restrictif à 20 MHz, lors de la mesure de pression à l'hydrophone optique. Toutefois, il est important de noter que la mesure des maximums de pressions négatives, qui est le paramètre le plus important lors de l'étude du seuil de déclenchement de la cavitation, est relativement peu affectée par les fréquences élevées.

### b) Mesure de puissance acoustique :

La *Figure II-5A* représente les résultats de la puissance acoustique mesurée par le système de balance acoustique. Elles ont été réalisées sur une gamme de tensions de commande comprise entre 62 Vpp et 778 Vpp et pour plusieurs rapports cycliques. Chaque point de mesure est représenté par la valeur moyenne de trois mesures avec des écarts types variant de 0.001 à 0.46 W. Ces valeurs représentent la mesure de la puissance acoustique moyenne générée par le transducteur pendant l'ensemble de la mesure, qui peut durer plusieurs secondes. Lors de l'insonification, il y a des phases d'émission des ultrasons et des phases de pause. Pour estimer la puissance acoustique générée pendant la phase d'émission du transducteur ( $T_{\text{cycle}}$ ), on divise la puissance acoustique moyenne mesurée par le rapport cyclique. Les résultats sont représentés sur la *Figure II-5B*, où l'on observe la superposition des courbes de puissance, indiquant que les mesures sont reproductibles d'un rapport cyclique à un autre.

**Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d’initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin**

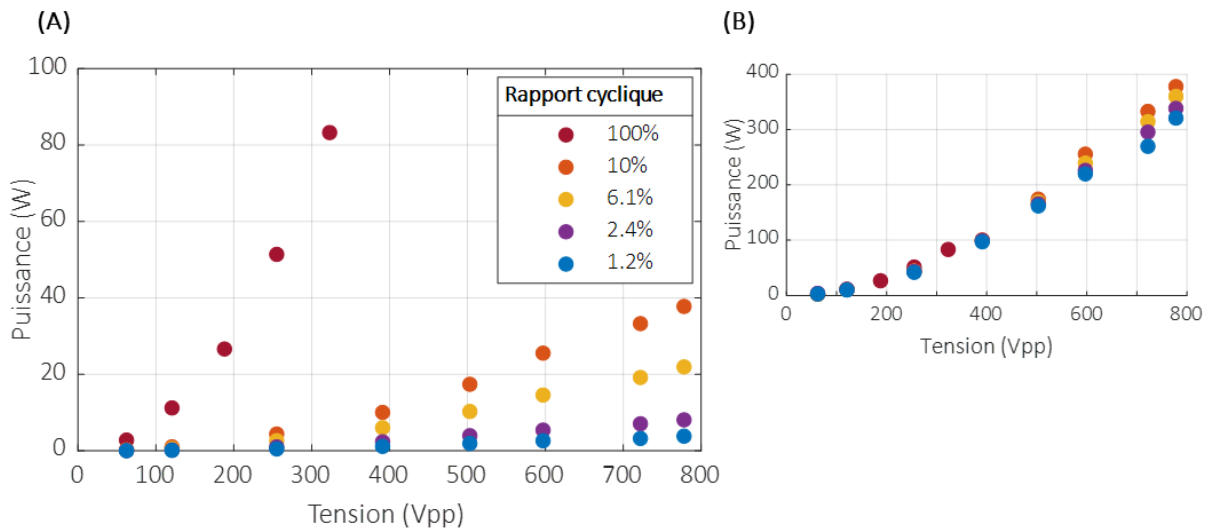


Figure II-5 : Mesure de puissance acoustique de la sonde C-3T.

(A) : Puissance acoustique moyenne générée par le transducteur C-3T en fonction de la tension de commande et du rapport cyclique. (B) : Estimation de la puissance acoustique générée pendant la phase d’émission du transducteur ( $T_{cycle}$ )

Ces mesures multiparamétriques permettront de quantifier la puissance acoustique et l’énergie nécessaire pour induire un changement dans le cristallin.

c) Expérimentations ex-vivo sur cristallins :

Sur la Figure II-6, on peut observer une image échographique avant insonification et pendant insonification d’un cristallin. Les paramètres utilisés sont les suivants : PRF = 50 Hz,  $T_{cycle} = 243 \mu s$ , soit un rapport cyclique de 1.2 % et  $U_{ampli} = 722 Vpp$ . Une zone hyperéchogène apparaît dans le cristallin (Figure II-6B), après 70 s d’exposition aux ultrasons.

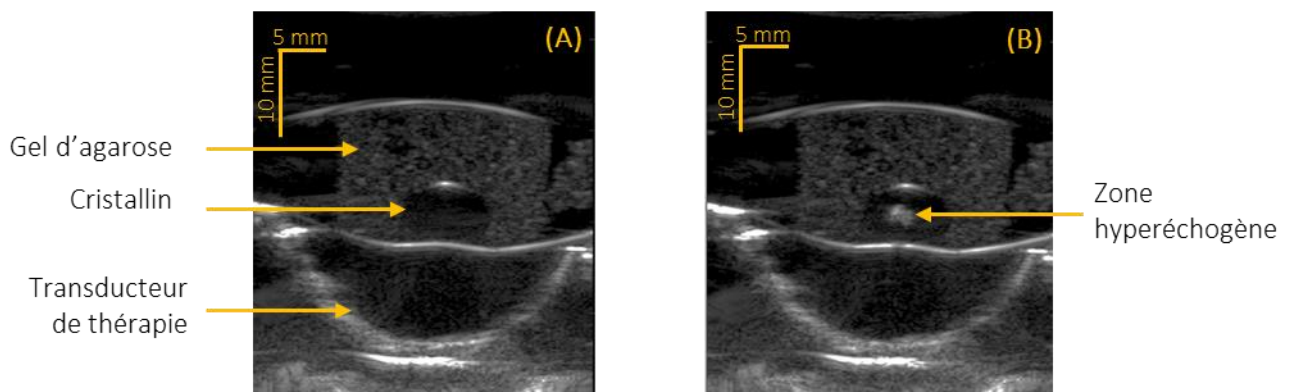
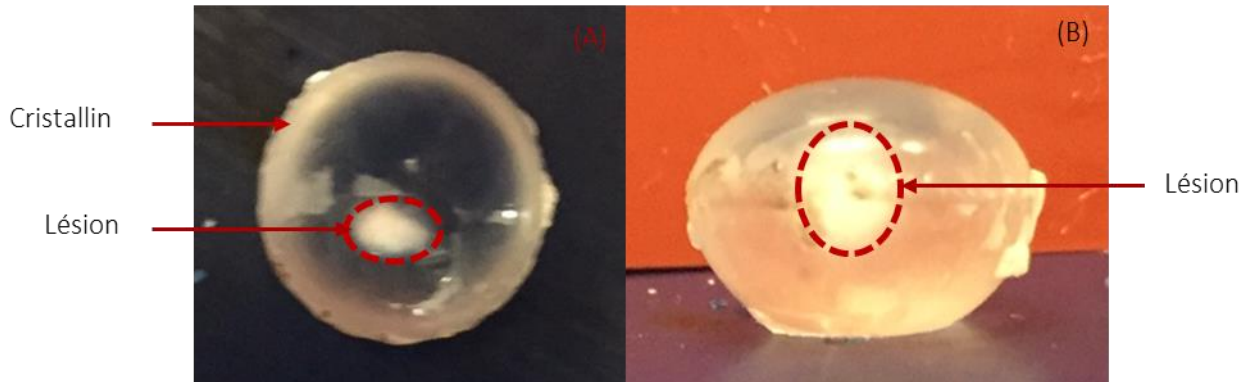


Figure II-6 : Images échographiques avant (A) et pendant (B) l’insonification avec la sonde C-3T, Une zone hyperéchogène apparaît dans le cristallin



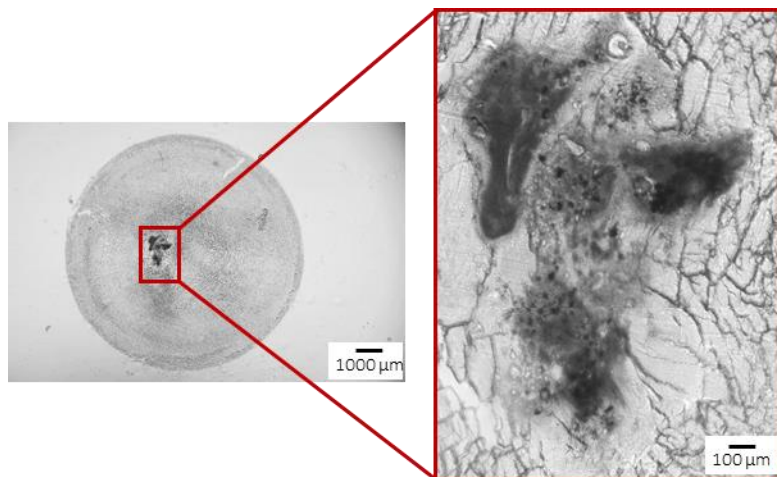
## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

Les mesures de puissance acoustique précédemment présentées permettent de quantifier l'énergie déposée dans le cristallin. La puissance acoustique correspondant aux conditions d'insonification décrite est de 3.2 W. Ainsi l'énergie maximale déposée au sein du cristallin, c'est-à-dire en considérant le cas extrême où toute l'énergie serait absorbée, est de 224 J. Dans cette expérimentation, une lésion thermique a été obtenue. En effet, l'observation macroscopique de l'échantillon, après le traitement, permet de distinguer une tache blanche opaque dans le cristallin. La *Figure II-7* est une photographie d'un cristallin correspondant à l'échantillon observé sur les images échographiques de la *Figure II-6*.



*Figure II-7 : Images d'un cristallin après exposition aux ultrasons.  
(A) : Vue du dessus. (B) Vue de côté*

Cette lésion thermique n'est pas un résultat souhaité pour le développement d'un traitement pour la presbytie car cela détériore la transparence du cristallin. Des coupes histologiques ont également été réalisées sur les échantillons présentant une opacification après traitement. Les coupes histologiques observées au microscope sont présentées *Figure II-8*.



*Figure II-8 : Coupe histologique d'un cristallin insonifié  
La coupe se situe au niveau de la lésion thermique et celle-ci apparaît noircie.*

Sur la *Figure II-8*, une zone opaque est visible sur la coupe histologique, correspondant à la zone lésée thermiquement. Elle apparaît noircie car l'opacification du cristallin empêche la lumière du microscope de traverser cette partie de l'échantillon. Pour chaque insonification, nous avons pu observer la

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

formation d'une lésion thermique sans signe de cavitation ou aucune modification visible à l'échographie et macroscopiquement.

### 1.4 Discussion :

Cette première expérimentation avec le transducteur C-3T n'a pas permis de déclencher de nuage de cavitation au sein d'échantillons de cristallins porcins excisés. Malgré la configuration confocale et ses avantages, aucune activité de cavitation n'a été observée, seules des effets thermiques ont été obtenus.

La caractérisation du transducteur C-3T a permis de quantifier les résultats obtenus dans les différents échantillons. En utilisant des tensions de commande de l'ordre de 722 Vpp, les niveaux de dépressions atteints sont de l'ordre de -19.7 MPa. Cette pression ne semble pas suffisante pour atteindre le seuil de déclenchement de la cavitation au sein du cristallin. En effet, en comparant cette valeur aux pressions seuils de déclenchement de la cavitation mesurées par Maxwell et al.<sup>4</sup>, cette valeur mesurée est inférieure. Les pressions seuils ont été établies à partir de divers échantillons et varient entre -26 MPa et -30 MPa dans des échantillons à forte teneur en eau, pouvant même atteindre des valeurs supérieures à -36 MPa dans des échantillons à faible teneur en eau. Par ailleurs, les travaux de l'équipe de Simon et al. ont également mis en évidence les difficultés d'induction de l'histotripsie dans des tissus fibreux comme les tendons<sup>5</sup>. Étant donné que le cristallin est un organe composé de fibres cristallines bien ordonnées, il est possible d'établir une corrélation avec cette observation. Cela pourrait expliquer la nécessité de générer une pression négative plus importante dans le cristallin pour déclencher un nuage de cavitation. Ces mesures ont également permis de montrer de forts effets de non-linéarité à la focale du transducteur, qui peuvent induire un transfert d'énergie de la fréquence fondamentale vers les fréquences harmoniques de l'onde ultrasonore émise. De plus, le cristallin est un milieu très atténuant par rapport aux tissus biologiques plus classiquement étudiés en thérapie ultrasonore : 1.4 dB.cm<sup>-1</sup>.MHz<sup>-1</sup> pour le cristallin bovin contre 0.4 dB.cm<sup>-1</sup>.MHz<sup>-1</sup> pour le foie bovin<sup>6</sup>. L'effet de transfert d'énergie vers des plus hautes fréquences, combiné à une forte atténuation du milieu est un facteur de risque pour la formation de lésion thermique dans le milieu. Ainsi, pour une fréquence de 1.645 MHz et en traversant environ 0.8 cm de cristallin, dont l'atténuation est de 1.4 dB.cm<sup>-1</sup>.MHz<sup>-1</sup>, l'énergie ultrasonore est atténuée d'environ 1.61 dB. 30 % de l'énergie est absorbée par le tissu, contribuant ainsi à la formation d'une lésion thermique. Les mesures de balance ont permis d'évaluer que la puissance acoustique générée par le transducteur pour obtenir un effet dans le cristallin était de 3.2 W. L'insonification dure 70 s, ce qui correspond à une énergie de 224 J. En prenant en compte les effets d'atténuation, l'énergie absorbée est estimée à environ 67 J. Ainsi on obtient un ordre de grandeur de la gamme d'énergie absorbée, participant à la formation d'une lésion thermique, comprise entre 67 J et 224 J. Il est important de noter que cette estimation ne tient pas compte des transferts d'énergie à des fréquences plus élevées en raison de la non-linéarité. On peut comparer cette gamme d'énergie avec l'énergie utilisée pour créer une lésion dans le foie. L'étude de Cambronero et al.<sup>7</sup> a montré qu'une énergie de l'ordre de 1900 J était nécessaire à la formation d'une lésion thermique dans le foie porcine *in vivo*. Cette valeur est nettement supérieure à celles estimées dans le cristallin.

Les expérimentations ont été réalisées sur cristallins porcins excisés de l'œil. Cela a sûrement un impact sur les paramètres ultrasonores nécessaires pour obtenir les mêmes types de résultats sur un cristallin non disséqué. Les prochains essais seront effectués sur œil entier afin de se rapprocher des conditions physiologiques et anatomiques du cristallin *in vivo*.

Cette première expérimentation a également permis de développer et de valider différentes méthodes d'imagerie. L'imagerie ultrasonore B-mode permet de cibler le cristallin et de monitorer son

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

traitement. En effet, la transparence aux ultrasons du cristallin facilite l'observation des effets thermiques des ultrasons et facilitera également l'observation d'un nuage de cavitation. Cependant, il sera difficile de faire la distinction, sur l'image B-mode, entre le déclenchement d'un nuage de cavitation et la formation d'une lésion thermique. Il semble donc important de développer une autre technique pour détecter l'activité de cavitation comme l'écoute passive de cavitation (PCD) ou l'imagerie passive de cavitation. Ces différentes techniques ont été présentées dans le Chapitre I – Partie 2 de ce manuscrit. Il serait plus pratique, également, d'intégrer une barrette ultrasonore au sein du transducteur de thérapie. Cela permettrait d'améliorer le ciblage du cristallin et diminuerait l'encombrement du montage expérimental. De plus, cela réduirait l'exposition de la sonde d'imagerie à un champ ultrasonore intense, qui peut être délétère pour les éléments de la sonde. Enfin, ces premiers résultats ont permis de caractériser histologiquement les lésions thermiques par le développement d'un protocole de coupes histologiques.

### 2. Expérimentation avec un dispositif confocal 4 transducteurs

Basé sur les résultats des premières expérimentations exposés précédemment, cette section présente des essais de déclenchement de cavitation, utilisant un nouveau transducteur. Ce nouveau transducteur thérapeutique intègre la plupart des caractéristiques géométriques identifiées lors des expérimentations menées avec le transducteur C-3T :

- une plus grande surface active qui permettra d'atteindre des niveaux de dépression à la focale plus importants et qui permettra également de réduire les effets de non linéarité et ainsi les risques de formation de lésion thermique
- une géométrie permettant de conserver une zone focale suffisamment petite pour s'adapter à la taille du cristallin
- une sonde d'imagerie ultrasonore intégrée pour faciliter le ciblage et le suivi du traitement.

#### 2.1 Matériel et méthode :

##### a) Description du dispositif :

La sonde ultrasonore, choisie pour les essais suivants, est composée de 4 transducteurs piézo-céramiques, positionnés suivant une géométrie confocale. Les 4 transducteurs ont un diamètre d'ouverture de 50 mm et un rayon de focalisation de 50 mm. Les transducteurs ont été tronqués afin d'optimiser la géométrie globale de la sonde. Ce design permet d'augmenter considérablement la surface active du transducteur par rapport au transducteur C-3T (surface active 12 fois plus grande). La fréquence centrale de chaque élément est de 1.11 MHz. Enfin, cette sonde comporte une sonde d'imagerie ultrasonore haute fréquence (15 MHz, Quantel Médical, Cournon d'Auvergne) située au centre et connectée à un échographe clinique portable (Evo touch, Quantel Medical, Cournon d'Auvergne) (*Figure II-9*). Elle permet de cibler de façon précise le cristallin. Dans la suite de l'étude, ce transducteur sera nommé transducteur C-4T.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

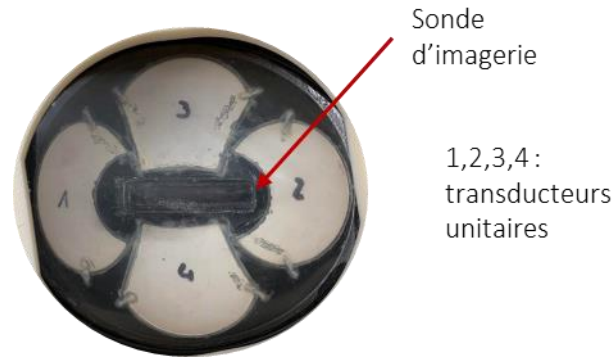


Figure II-9 : Photo de la sonde confocale 4 transducteurs

La sonde de thérapie est alimentée par un amplificateur de puissance de 2 kW générant des impulsions de fréquence centrale 1.11 MHz (Sinaptec, Lezennes, France). Cet amplificateur est programmé via un logiciel permettant de contrôler la durée des impulsions ultrasonores, la PRF et la durée d'insonification totale. Un wattmètre est directement intégré dans l'amplificateur. Une caractérisation en pression avec un hydrophone optique a été réalisée, selon le protocole présenté dans la Partie 1, sur une gamme de tension de commande comprise entre 86 Vpp et 391 Vpp.

### b) Expérimentations ex vivo :

Les échantillons sont des yeux porcins provenant d'abattoirs locaux. Plusieurs âges d'échantillons ont été utilisés : des échantillons provenant de porc de 6 mois qu'on qualifiera de « jeunes » et des échantillons provenant de porc de 2-3 ans qu'on qualifiera d'« âgés ». L'échantillon est fixé au bout d'un bras robotique 7 axes permettant de le positionner précisément au niveau de la zone focale du transducteur. L'ensemble sonde de thérapie et échantillon est immergé dans une cuve remplie d'eau préalablement dégazée. Le montage expérimental est présenté Figure II-10. Les résultats présentés dans cette section ont été obtenus avec les paramètres d'insonification suivants :

- Durée d'une impulsion,  $T_{\text{cycle}} = 20 \mu\text{s}$
- PRF = 150 Hz
- Tension d'alimentation après l'amplificateur,  $U_{\text{ampli}} = 1266 \text{ Vpp}$

Pour chaque échantillon, une vidéo du traitement est enregistrée à partir des images échographiques. On sélectionne une zone d'intérêt dans le cristallin et la somme des valeurs des pixels en niveau de gris (compris entre 0 et 255) est calculée à l'intérieur de cette zone. Ensuite, la somme des pixels normalisée par le maximum, est tracée en fonction du temps. On peut alors déterminer précisément le temps de déclenchement d'un éventuel nuage de cavitation. Les échantillons sont ensuite observés macroscopiquement, puis fixés au PFA (0.75%). Un protocole de fixation et de coupes histologiques est mis en place, suivant la même méthode utilisée dans les expérimentations avec le transducteur C-3T.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

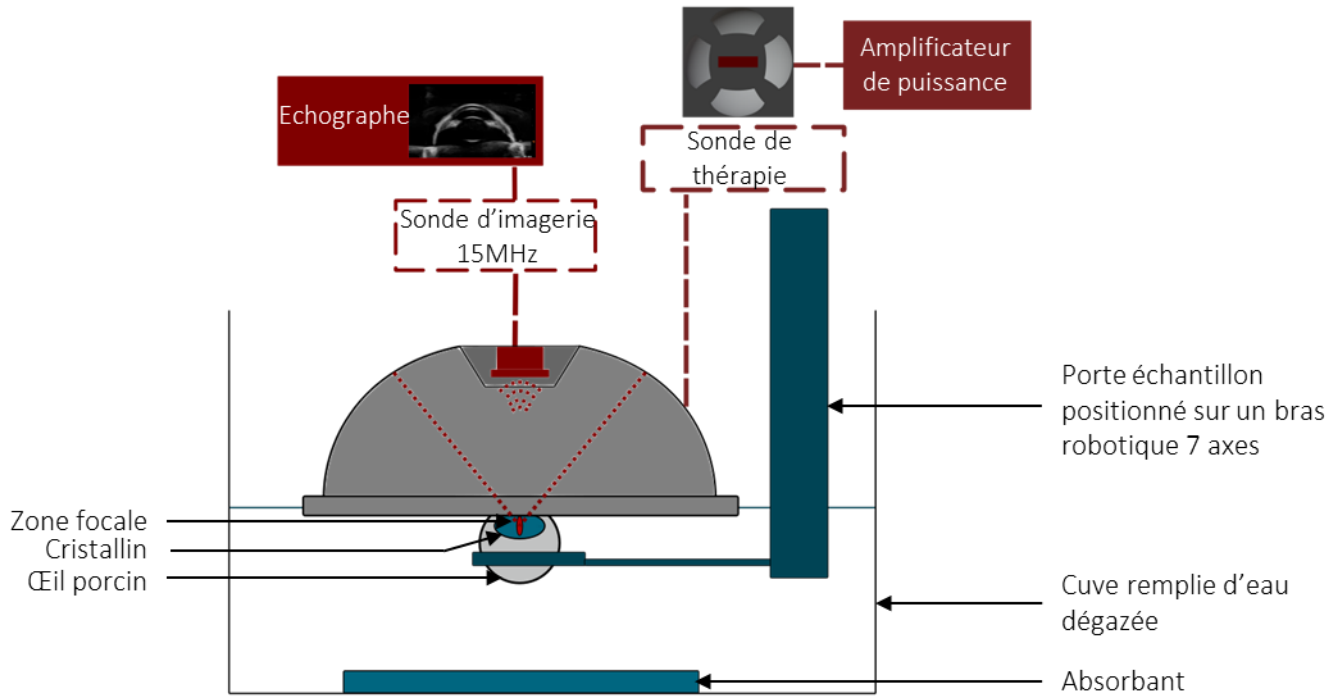


Figure II-10 : Montage expérimental de l'insonification de cristallin par la sonde C-4T

### 2.2 Résultats :

#### a) Mesure de pression :

La Figure II-11 présente une forme d'onde mesurée par l'hydrophone optique et traitée avec le logiciel Caldec, pour une tension de commande de 391 Vpp.

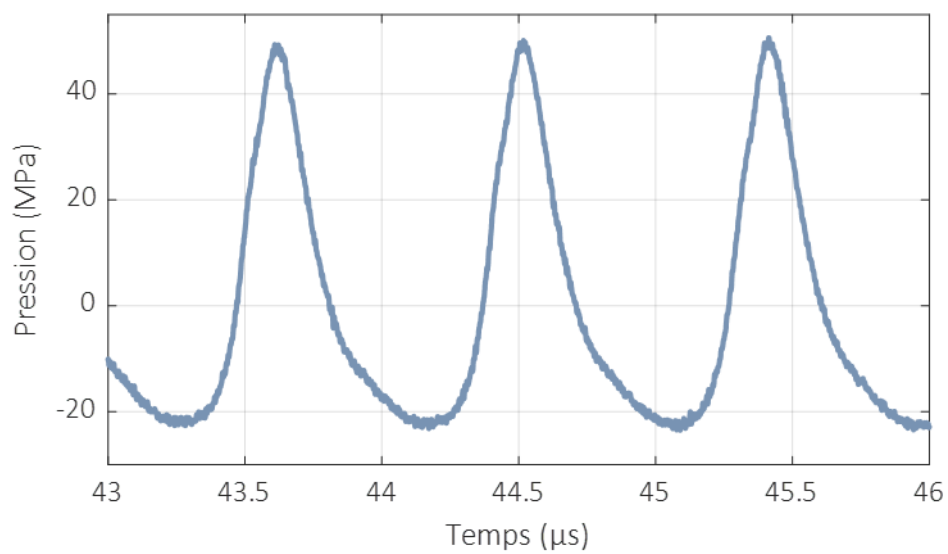
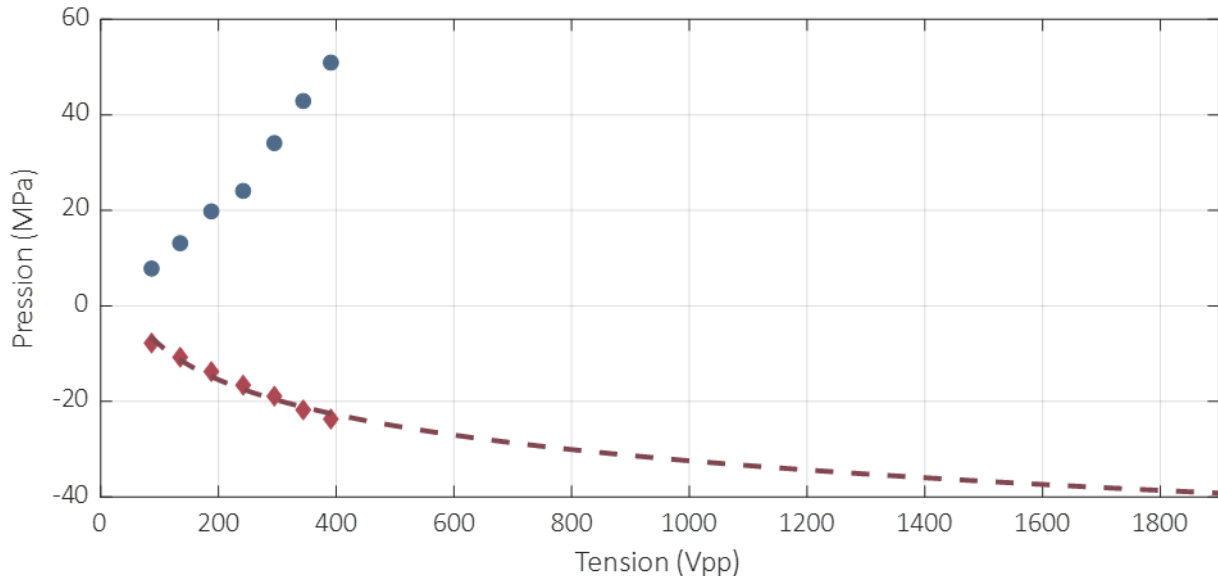


Figure II-11 : Forme d'onde mesurée par l'hydrophone optique pour  $U_{ampli} = 391$  Vpp

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

Pour cette tension aux bornes de la sonde C-4T, on mesure une pression positive maximale de 51.0 MPa et une pression négative maximale de -23.7 MPa. L'amplitude du choc est de 74.7 MPa. La *Figure II-12* représente les résultats de maximums de pression négative et positive mesurés à la focale du transducteur C-4T en fonction de la tension de commande.



*Figure II-12 : Graphique présentant la pression maximale (marqueur rond bleu) et minimale (marqueur losange orange) mesurée à l'hydrophone optique en fonction de la tension aux bornes du transducteur. La ligne en pointillée est un filtre logarithmique des mesures de pression négative.*

Au-delà de 400 Vpp, la mesure précise de la pression générée par la sonde C-4T devient difficile en raison des vibrations induites sur la fibre optique par la force de radiation. De plus, cela accroît le risque de déclenchement de cavitation, exposant ainsi la fibre optique à d'éventuels dommages. D'après les mesures expérimentales, il semble qu'il n'y ait pas encore eu de saturation des pressions positive et négative, comme observé sur les mesures de pression de la sonde C-3T. On estime les pressions négatives pour des tensions de commande plus élevées avec un fit logarithmique. En effet, plusieurs études, présentant des mesures ou des simulations de la pression générée par des transducteurs en régime non-linéaire<sup>3,7</sup>, ont montré que la pression négative augmentait faiblement. Ainsi, approximer sa variation par une fonction logarithmique constitue une première approche pour estimer ses valeurs à des tensions plus élevées.

### *b) Expérimentations ex vivo :*

La sonde d'imagerie, située au centre du dispositif permet d'observer en temps réel le traitement ultrasonore. Après quelques secondes d'insonification, on observe le déclenchement d'un nuage de cavitation dans un échantillon de cristallin jeune. Sur la *Figure II-13B*, on peut observer l'apparition d'une zone hyperéchogène entre les deux interfaces du cristallin, correspondant au nuage de cavitation. Avec une tension de commande de 1266 Vpp, on peut estimer qu'une pression négative de -34 MPa a été créée au point focal.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

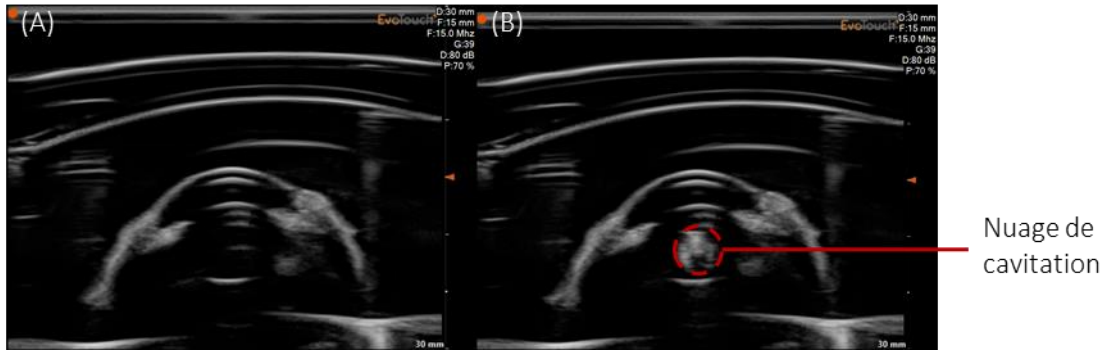


Figure II-13 : Image échographique d'un œil porcin de 6 mois avant (A) et après (B) insonification (B) : La zone hyperéchogène dans le cristallin correspond au nuage de bulles

La Figure II-13 représente la méthode pour mesurer le temps de déclenchement d'un nuage de cavitation dans un échantillon de cristallin porcin. Sur la Figure II-13A, une zone d'intérêt rectangulaire est tracée en pointillés rouges. La somme des pixels à l'intérieur de la zone d'intérêt, normalisée, est représentée en fonction du temps sur le graphique de la Figure II-14B. La première partie de la courbe de la Figure 14B est stable avec quelques points plus intenses, correspondant au passage d'un artefact du signal de thérapie sur l'image échographique. Puis, la somme des pixels augmente linéairement, correspondant à l'apparition d'une zone hyperéchogène sur l'image B-mode. On peut alors déterminer le temps à partir duquel le nuage de cavitation se déclenche à 1.78 s pour cet échantillon. Pour 5 échantillons de cristallins « jeunes », en moyenne, le temps de déclenchement est de  $3.0 \pm 1.1$  s. Enfin, lorsque l'insonification est stoppée, on peut observer une légère décroissance de la courbe correspondant à la dissolution du nuage de cavitation.

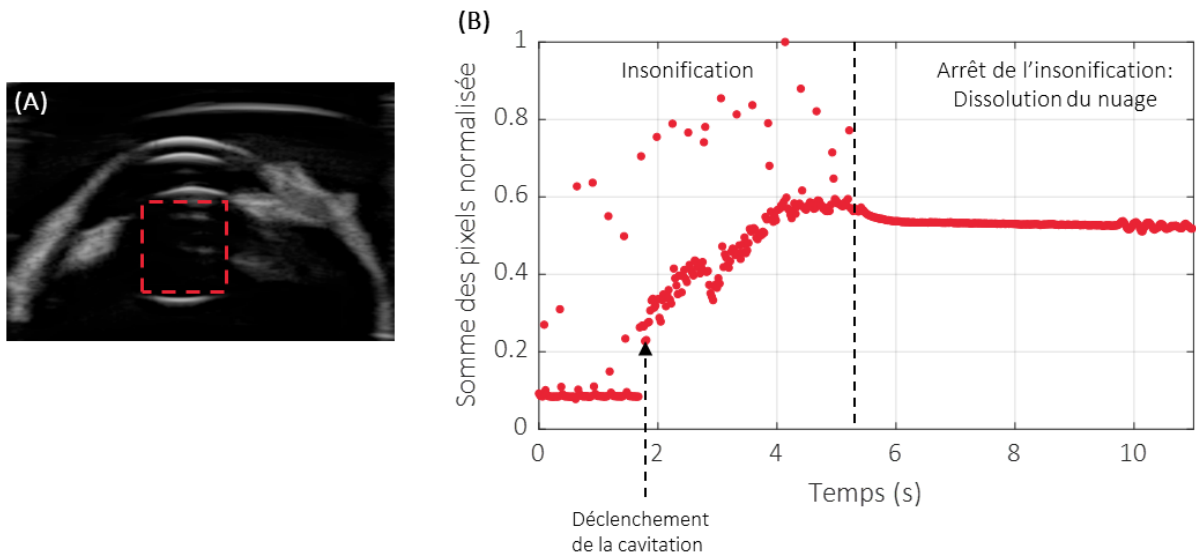
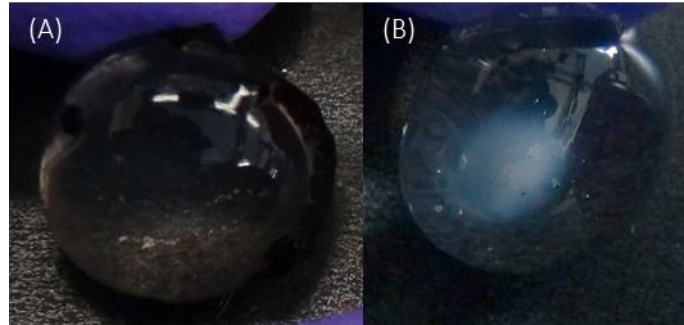


Figure II-14 : Mesure du temps de déclenchement d'un nuage de cavitation dans un cristallin porcin jeune. (A) : Image échographique d'un œil porcin. Le cadre en rouge pointillés est la zone d'intérêt dans laquelle l'intensité des pixels est sommée. (B) : Graphique de la somme des pixels en fonction du temps

L'observation macroscopique des cristallins traités a permis de confirmer l'absence d'effet thermique. On peut observer sur la Figure II-15A qu'il n'y a aucune trace d'opacification qui pourrait être causée

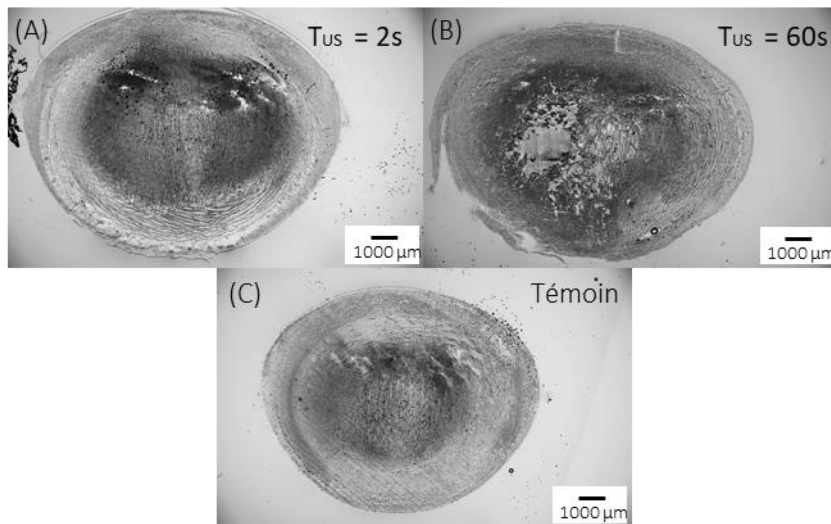
## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

par un effet thermique dans ce cristallin insonifié pendant 2 s. En revanche, sur la *Figure II-15B*, on peut observer une légère opacification dans un cristallin insonifié pendant 60 s aux ultrasons.



*Figure II-15 : Photo de deux cristallins après exposition aux ultrasons. (A) : Cristallin insonifié pendant 2s. (B) : Cristallin insonifié pendant 60s*

Des coupes histologiques ont été réalisées sur le cristallin de la *Figure II-15A* et celui de la *Figure II-15B*, ainsi que sur un cristallin témoin n'ayant pas subi d'insonification.



*Figure II-16 : Coupes histologiques de cristallins exposés à la cavitation ultrasonore Pendant 2s (A), pendant 60s (B) et cristallin témoin (C).*

Sur la *Figure II-16A*, on peut observer que le cristallin a une structure assez semblable au cristallin témoin. En revanche, sur la *Figure II-16B* on peut observer une destruction du tissu. Ainsi, l'opacification observée sur la *Figure II-15* n'est pas dû à des effets thermiques mais bien à l'activité de cavitation inertielle qui a détruit le tissu environnant. Ceci détériore la diffusion de la lumière au sein du cristallin, donnant visuellement une opacité.

En utilisant les paramètres suivants dans un cristallin porcin jeune ( $T_{\text{cycle}} = 30 \mu\text{s}$ ,  $\text{PRF} = 100 \text{ Hz}$ ,  $U_{\text{ampli}} = 1266 \text{ Vpp}$ ) et un cristallin porcin vieux ( $T_{\text{cycle}} = 20 \mu\text{s}$ ,  $\text{PRF} = 150 \text{ Hz}$ ,  $U_{\text{ampli}} = 1266 \text{ Vpp}$ ), on obtient des déclenchements de cavitation dont le schéma semble différent (*Figure II-17*). On peut observer sur la *Figure II-17A*, le déclenchement d'un nuage de cavitation dans un cristallin porcin « jeune » : le nuage est localisé au centre et s'étend au fur et à mesure de l'insonification. La *Figure II-17B* permet de



## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

visualiser la formation d'un nuage dans un cristallin porcin « âgé ». Dans un premier temps le nuage est localisé au centre comme dans l'échantillon « jeune ». Dans un second temps, il s'expand et semble suivre une structure à l'intérieur du cristallin, ce qui diffère du schéma d'initiation observé dans le premier échantillon.

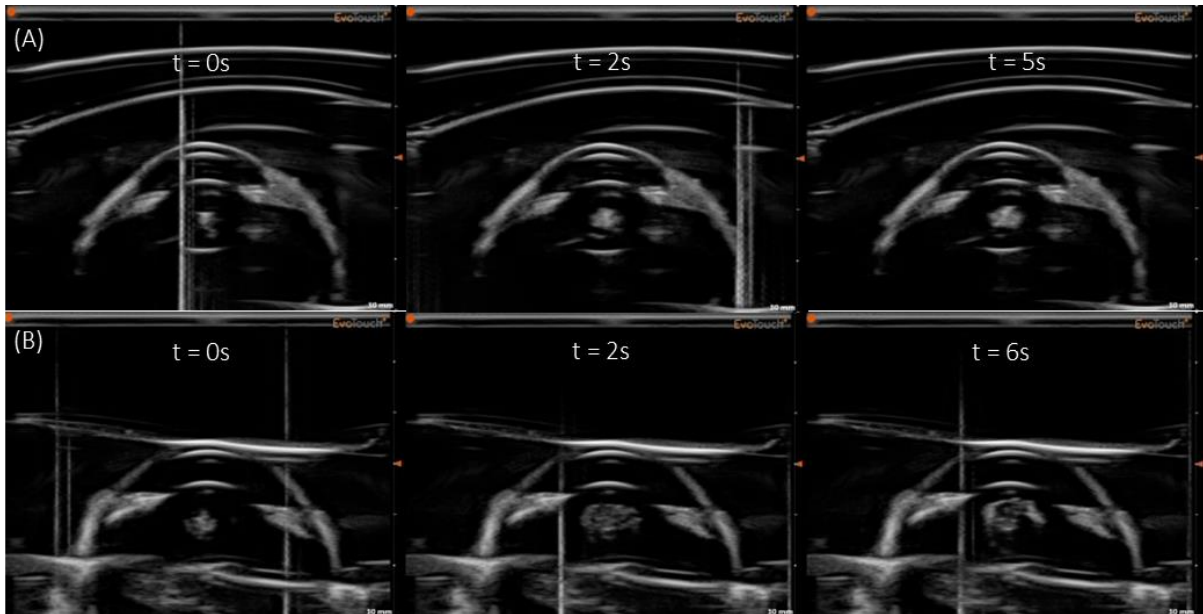


Figure II-17 : Images échographiques enregistrées à plusieurs temps pendant l'insonification. Cristallin porcin jeune (A) et cristallin porcin vieux (B). La formation du nuage de cavitation est différente entre les deux échantillons.

### 2.3 Discussion :

Cette deuxième expérimentation avec le transducteur C-4T a permis d'initier de façon répétée et rapide des nuages de cavitation dans plusieurs échantillons de cristallins porcins. En augmentant la surface active du transducteur, des dépressions suffisantes ont été atteintes dans le cristallin. Les mesures de pression au point focal ont montré que la sonde C-4T permettait d'atteindre des pressions négatives supérieures à celles atteintes par la sonde C-3T : au moins -23.7 MPa contre -19.7 MPa. Cependant, quantifier précisément la pression nécessaire pour déclencher la cavitation reste complexe en raison des défis liés à la mesure des hautes pressions. Une approche intéressante serait de réaliser une étude numérique pour simuler les champs de pression générés par la sonde C-4T pour des tensions de commande plus élevées. Une extrapolation des courbes expérimentales à partir des résultats obtenus en simulation permettraient d'estimer les pressions générées dans le cristallin. Enfin, l'utilisation d'une sonde d'imagerie haute fréquence, intégrée au transducteur de thérapie a permis de cibler plus précisément le cristallin.

Aucune lésion thermique n'a été obtenue dans cette étude contrairement aux résultats obtenus avec la sonde C-3T. Comme dans la Partie 1, on peut estimer l'énergie déposée au sein du tissu en prenant en compte les paramètres d'insonification permettant d'obtenir un nuage de cavitation. Si on estime le rendement des transducteurs piézo-céramiques à 60 %, alors la puissance acoustique générée avec un amplificateur de puissance de 2 kW est de 1.2 kW. Dans notre cas un rapport cyclique de 0.3 % a été utilisé, ainsi la puissance acoustique moyenne générée est de 3.6 W. Le temps d'insonification nécessaire pour former un nuage de cavitation est de 3 s, ce qui correspond à une énergie de 10.8 J.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

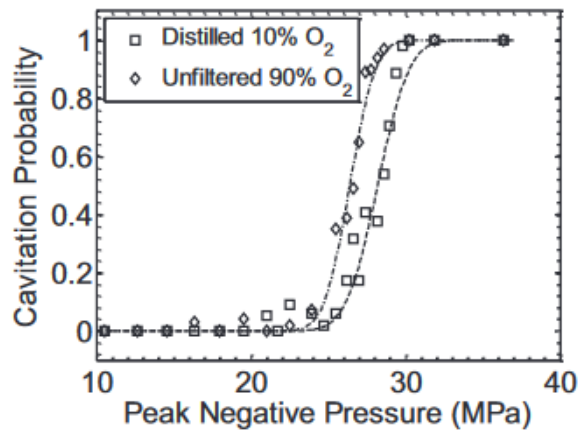
Cette valeur est bien inférieure à la gamme d'énergie estimée dans la Partie 1. En faisant l'approximation d'un régime de propagation linéaire, à la fréquence de 1.11 MHz et en traversant 0.8 cm de cristallin, dont l'atténuation est de 0.14 Np/cm/MHz, 20 % de l'énergie est absorbée. Ainsi, 2.2 J de l'énergie ultrasonore est absorbée par le tissu. Avec ces paramètres d'insonification, il n'y a aucun risque de former une lésion thermique. L'absence de lésion thermique a été confirmée par l'étude histologique, qui a permis de caractériser et de différencier un effet thermique d'un effet purement mécanique. Elle a également montré que des destructions mécaniques irréversibles pouvaient être engendrées par l'activité de cavitation, ce qui pouvait avoir un impact sur la transparence du cristallin. Ainsi, mesurer l'activité de cavitation en temps réel semble nécessaire pour monitorer un futur traitement de la presbytie. Ce suivi peut être mis en place en utilisant l'écoute passive de cavitation avec un PCD. L'étude fréquentielle du bruit de cavitation permettrait de distinguer la cavitation stable de la cavitation inertielle destructive. Afin de localiser spatialement le nuage de cavitation dans l'échantillon, des méthodes d'imagerie passive de cavitation peuvent être également mises en place. Cela nécessiterait l'ajout d'une barrette linéaire ultrasonore, compatible avec un échographe de recherche permettant l'application d'algorithme de reconstruction d'imagerie passive de cavitation.

Cette première étude de la faisabilité d'initier un nuage de cavitation au sein du cristallin a permis de valider une première géométrie de transducteur de thérapie. Cependant, ce dispositif présente plusieurs inconvénients. Il ne présente pas de barrette d'imagerie compatible avec un échographe de recherche programmable, qui serait pourtant nécessaire pour l'implémentation d'algorithme de monitoring de cavitation et de changement d'élasticité. De plus, sa taille est importante, comparée à celle d'un globe oculaire et il semble donc difficile d'imaginer un potentiel traitement clinique avec ce dispositif.

Ces premiers résultats ont également permis d'observer des différences dans le schéma de déclenchement de nuage de cavitation dans des cristallins porcins « jeunes » et des cristallins porcins « âgés ». Cette observation peut être due à l'organisation structurelle particulière du cristallin. En effet, il a été vu dans le Chapitre I que le cristallin était un organe complexe. Il est composé d'une succession de fibres cristalliniennes qui ont des morphologies différentes en fonction de leur localisation dans le cristallin. De plus, au cours de son vieillissement, le noyau du cristallin a tendance à se rigidifier et une barrière entre le cortex et le noyau se forme, empêchant le bon fonctionnement de la microcirculation du cristallin. Ainsi, la modification structurelle et élastique du noyau pourrait expliquer ce pattern particulier de formation de cavitation dans les cristallins plus âgés. Il serait intéressant d'étudier si la formation et l'activité de cavitation pourrait avoir un effet sur l'élasticité du noyau ou pourrait améliorer la microcirculation du cristallin. Des méthodes d'imagerie histologique combinées à des marquages fluorescents de protéines du cristallin permettraient d'étudier plus en détails l'impact des ultrasons sur les structures du cristallin. Il est également essentiel de mettre en place une méthode pour mesurer l'élasticité du cristallin afin d'évaluer l'effet des ultrasons sur celle-ci.

**3. Détermination du niveau de seuil de déclenchement de la cavitation dans le cristallin par imagerie passive**

Le but de cette expérimentation est de mesurer l'activité de cavitation en fonction de la pression négative, afin de déterminer le seuil de déclenchement de la cavitation dans le cristallin. Cette caractérisation permettrait d'optimiser les paramètres à utiliser pour un traitement des cristallins avec de la cavitation ultrasonore. La méthode utilisée s'inspire de l'étude de Maxwell et al.<sup>4</sup>, portant sur la probabilité de cavitation dans différents milieux, insonifiés avec une seule impulsion ultrasonore. L'écoute passive de cavitation est réalisée avec un PCD. La *Figure II-18* représente un des résultats de cette étude qui montre la probabilité de cavitation en fonction du maximum de pression négative appliquée dans de l'eau avec une concentration de O<sub>2</sub> de 10 % et 90 %. Pour chaque niveau de pression, 200 cycles ont été utilisés avec une PRF de 0.33 Hz. Utiliser une très faible PRF permet de s'affranchir de l'effet mémoire de la cavitation qui biaiserait le calcul de probabilité, les événements de cavitation n'étant plus indépendants d'une impulsion à une autre. En effet, le restant de bulles provenant d'une impulsion précédente pourrait favoriser le déclenchement de cavitation<sup>8</sup>.



*Figure II-18 : Probabilité de déclencher de la cavitation en fonction du maximum de pression négative dans l'eau contenant 10 % et 90 % de O<sub>2</sub>. Résultats provenant de l'article de Maxwell<sup>4</sup>*

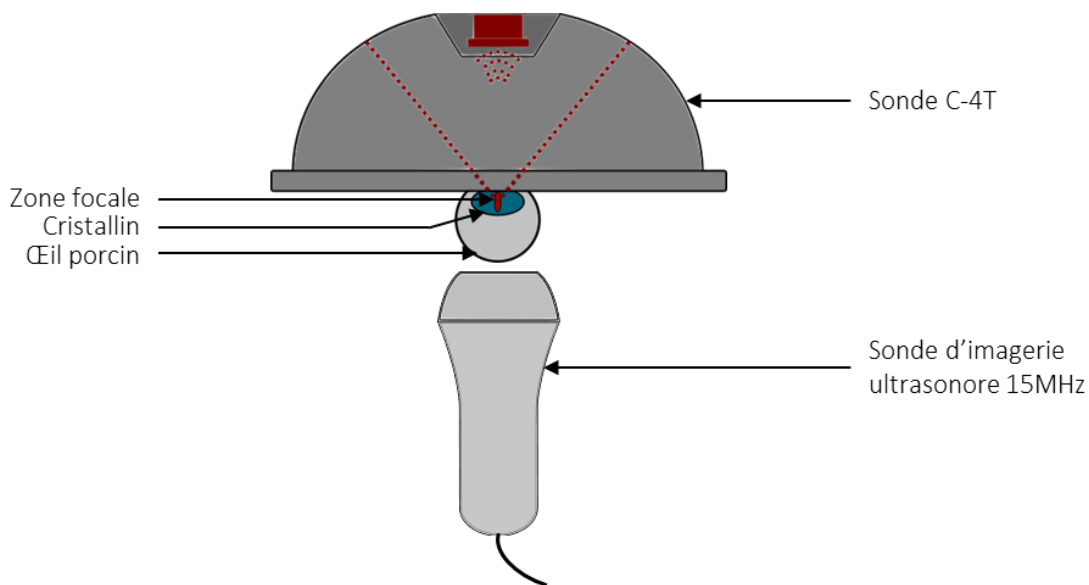
La courbe suit une fonction sigmoïde avec une probabilité proche de 1 quand la dépression est suffisante dans le milieu. On peut estimer le seuil de déclenchement de la cavitation pour une probabilité de cavitation égale à 0.5, correspondant au milieu de la pente. Pour ces deux milieux, le seuil de déclenchement se situe entre -26.4 et -29.4 MPa. Dans cette partie, la méthode proposée est d'utiliser l'imagerie passive de cavitation pour quantifier l'activité de cavitation dans le cristallin et pour déduire le seuil de déclenchement. L'imagerie passive de cavitation est privilégiée car les différentes interfaces de l'œil réfléchissent fortement le signal provenant de l'activité de cavitation. Un simple PCD ne serait pas adapté pour capter correctement le signal. Cette expérimentation a été réalisée dans le cadre d'un stage ingénieur de l'étudiant Charles Mion.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

### 3.1 Matériel et méthode

#### a) Montage expérimental :

Le même type de montage expérimental que celui mis en place dans la Partie 2 de ce chapitre, est utilisé. Une sonde linéaire 128 éléments (L22-14vX, Vermon, Tours), dont la fréquence centrale est de 15 MHz, est aussi positionnée sous l'échantillon (*Figure II-19*). Elle est branchée à un échographe de recherche Verasonics. Les 128 éléments acquièrent passivement les signaux de cavitation émis par les bulles de cavitation. Afin d'enregistrer les signaux de cavitation au bon moment, il est nécessaire de synchroniser l'insonification avec l'acquisition des signaux. Ainsi, l'échographe de recherche est programmé pour envoyer un trigger sur un générateur de fonction (Agilent 33220A, USA). Celui-ci est réglé pour envoyer un cycle avec une période de répétition de trois secondes. A chaque impulsion émise par le générateur de fonctions, l'amplificateur de puissance de la sonde C-4T se déclenche et la sonde C-4T émet une impulsion ultrasonore. Ainsi, la sonde d'imagerie enregistre un signal toutes les 3 secondes en synchronisation avec le tir ultrasonore de la sonde C-4-T. 100 signaux sont acquis pour plusieurs tensions de commande, allant de 594 Vpp à 1922 Vpp. La mesure est réalisée en augmentant la tension de commande, puis en la diminuant. Les échantillons sont des cristallins porcins (6 mois) provenant d'un abattoir local. A l'aide de la sonde d'imagerie intégrée au centre de la sonde C-4T, la zone focale de la sonde de thérapie est alignée avec le centre du cristallin.



*Figure II-19 : Montage expérimental pour la détermination du seuil de cavitation dans le cristallin porcine. Une sonde d'imagerie est ajoutée au dispositif et positionnée sous l'échantillon.*

#### b) Traitement des données :

Une fois les données acquises passivement par la sonde d'imagerie ultrasonore, un algorithme de formation de voies (beamforming) est appliqué pour reconstruire les cartes d'activité de cavitation. On utilise l'algorithme de délai, somme, et intégration (DSI) dans le domaine fréquentiel. Le principe de cet algorithme est présenté dans la Partie 2 du Chapitre I. Les fréquences de reconstruction correspondent aux fréquences comprises entre les pics fréquentiels d'émission qui sont la fréquence fondamentale à 1.11 MHz et les harmoniques à 2.22 MHz, 3.33 MHz et plus. Un filtre de Richardson-Lucy (RL) est appliqué à la carte de reconstruction afin d'améliorer la résolution spatiale. Ce filtre est un

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

algorithme itératif qui permet d'améliorer une image en la déconvoluant avec une fonction d'étalement du point (PSF : Point Spread Function). En effet, l'image d'un point source avec un système d'imagerie est en réalité représentée par une tache, décrite par sa PSF. On peut aussi le comprendre comme le résultat de la convolution d'un point avec sa PSF (Figure II-20). Ce floutage du point est un réel problème pour la résolution spatiale, lorsqu'il s'agit, par exemple, de différencier deux objets proches. On peut améliorer une image floutée en la déconvoluant avec une PSF, on retrouve alors un point. Le principal problème de la déconvolution est qu'il peut amplifier tous les détails d'une image et également le bruit.

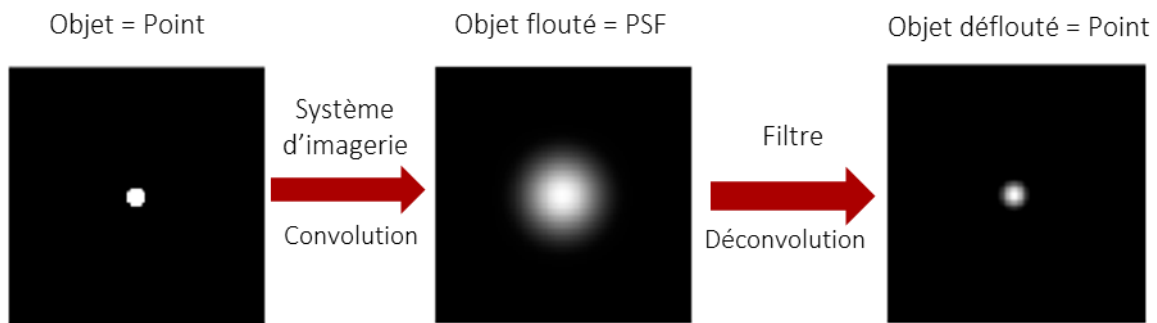


Figure II-20 : Principe de la PSF et des filtres de défloutage.  
Figure adaptée de l'article de Gennaro <sup>9</sup>

Le principe du filtre de Richardson-Lucy repose donc sur la déconvolution de l'image par des PSF. Il s'agit de l'un des filtres de déconvolution les plus utilisés en traitement d'image, notamment en astronomie. Ce filtre repose sur l'hypothèse que le bruit est distribué selon une fonction statistique de Poisson. Il permet de déflouter une image et est efficace pour n'importe quel type de bruit. Cependant, si le nombre d'itérations est trop important, le niveau de bruit peut augmenter au sein de l'image. Enfin, les pixels se trouvant à l'intérieur du cristallin sont sommés pour estimer l'énergie de l'activité de cavitation. Cette énergie de l'activité de cavitation est ensuite tracée en fonction des pressions négatives estimées à la focale dans la Partie 2 de ce chapitre. Les mesures sont obtenues en moyennant les données de 7 échantillons de cristallins porcins. Pour chaque tension de commande, les mesures sont également moyennées en effectuant des acquisitions lors de l'augmentation et de la diminution de la tension. Enfin, les résultats sont modélisés par une fonction sigmoïde à l'aide du logiciel de statistique GraphPad Prism (Ritme, Paris).

### 3.2 Résultats

La Figure II-21A est une image B-mode de l'échantillon porcin. La sonde thérapie se trouve face à la cornée et la sonde d'imagerie face à la sclère postérieure. Les deux autres figures montrent la superposition de la carte d'activité de cavitation normalisée, sur l'image B-mode. Pour la Figure II-21B, la méthode de reconstruction est le DSI dans le domaine fréquentiel, alors que la Figure II-21C est le résultat du DSI filtré avec la méthode RL.

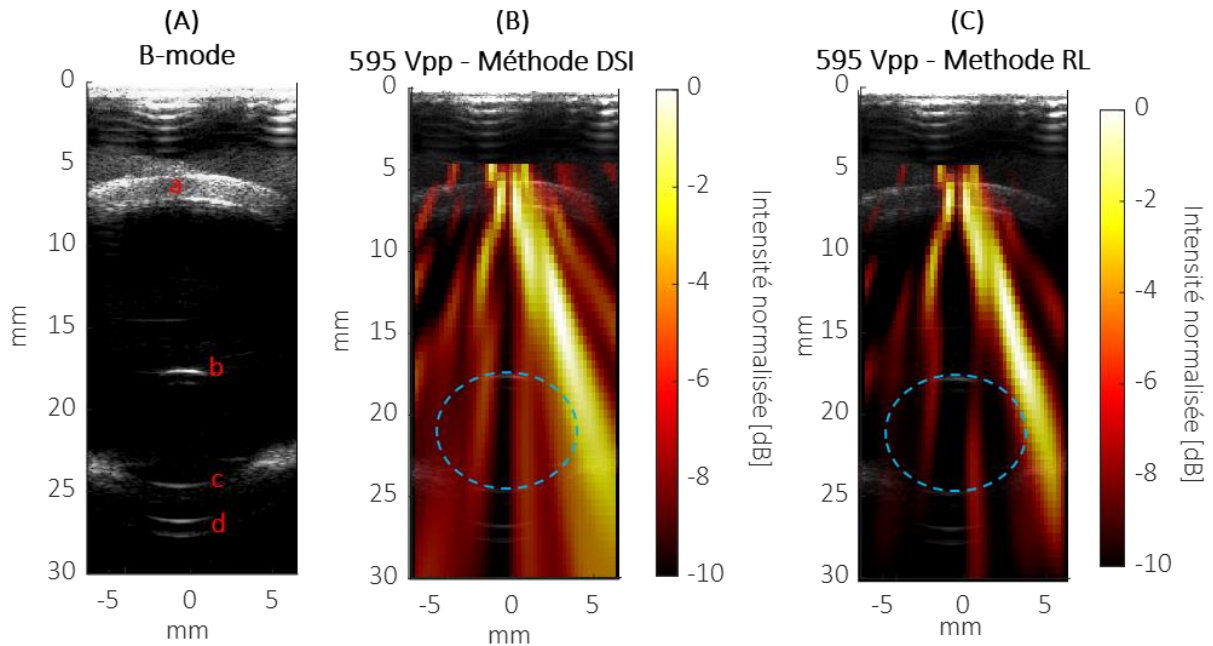


Figure II-21 : Cartes d'activité de cavitation pour une tension de commande de 595 Vpp. (A) : Image B-mode de l'échantillon avec a : la sclère, b : l'interface postérieure du cristallin, c : l'interface antérieure du cristallin et d : la cornée. (B) : Reconstruction de la carte d'activité de cavitation avec la méthode du DSI. (C) : Reconstruction de la carte d'activité de cavitation avec la méthode du DSI et un filtre RL. En pointillés bleus, l'emplacement du cristallin est délimité.

La Figure II-21C présente une meilleure résolution axiale. Cependant, il est difficile de discerner une source de cavitation précise. L'énergie reconstruite correspond plutôt au signal d'émission du transducteur de thérapie qui est diffusé par les différentes interfaces de l'œil. La Figure 21 est le résultat de la cartographie de l'activité de cavitation pour une tension de commande de 1922 Vpp avec les deux méthodes de reconstruction. Sur cette figure, on observe une nette amélioration de la résolution axiale, due au filtre de déconvolution RL. On observe un foyer d'énergie plus nette que pour la Figure II-21, qui est représentatif d'une activité de cavitation. Cependant, la tache focale centrale n'est pas centrée sur le cristallin.

**Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin**

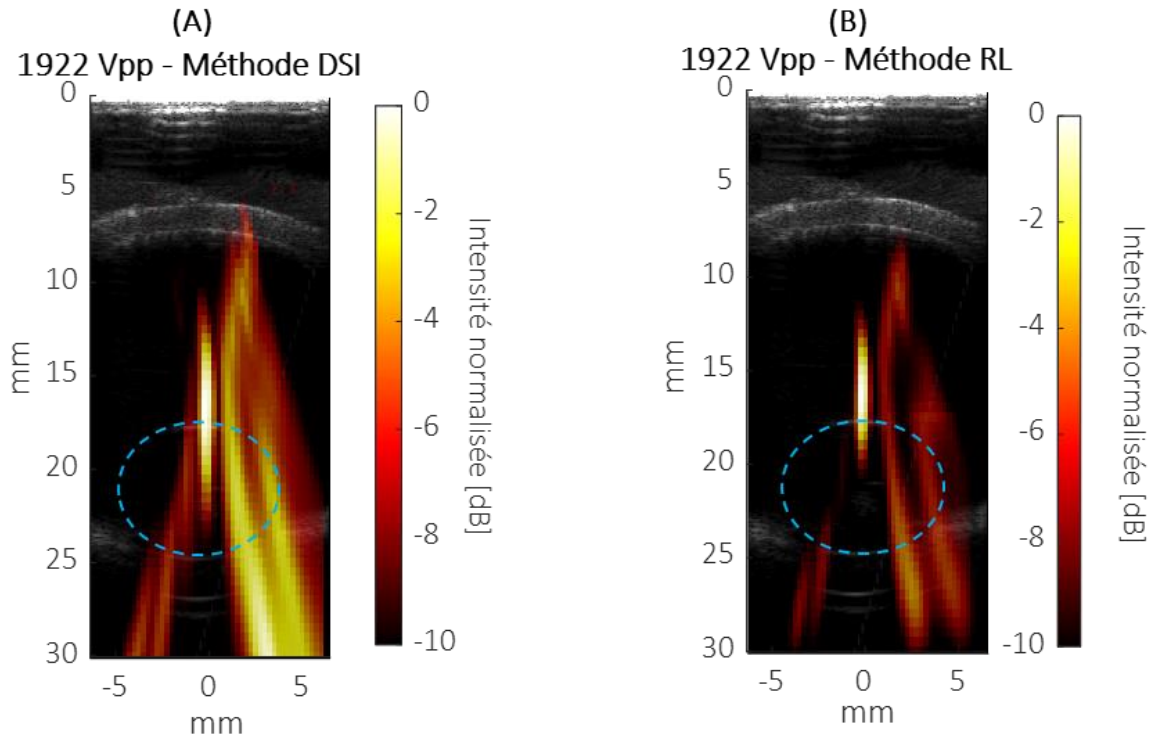


Figure II-22 : Cartes d'activité de cavitation pour une tension de commande de 1922Vpp. (A) : Méthode du DSI. (B) : Méthode du DSI avec un filtre RL. En pointillés bleus, l'emplacement du cristallin est délimité.

Enfin, la Figure II-23 représente la somme des pixels au sein du cristallin pour chaque tension de commande testée. L'estimation de la pression négative mesurée puis modélisée en fonction de la tension de commande, (Chapitre II - Partie 2), a été retranscrite sur l'axe des abscisses.

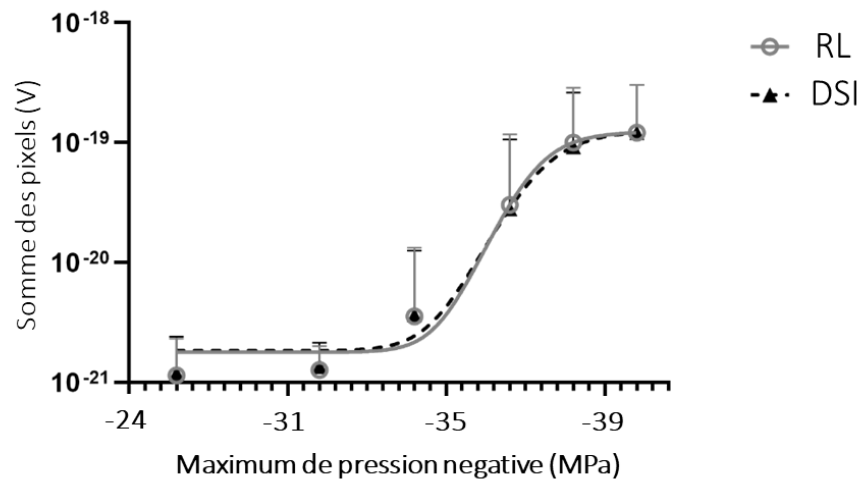


Figure II-23 : Somme des pixels de l'activité de cavitation en fonction de la tension de commande. Les marqueurs et les courbes correspondent aux points de mesure et aux modélisations des résultats par une fonction sigmoïde. Les résultats pour les 2 techniques d'analyses, DSI et DSI avec filtre RL, sont représentés.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

Les courbes obtenues sont semblables à celles décrites dans l'étude de Maxwell<sup>4</sup>. Elles sont d'abord stables, puis présentent une augmentation linéaire de l'énergie estimée, qui est signe d'une probabilité croissante de déclencher de la cavitation. Enfin, la stabilité revient, indiquant que la probabilité de déclencher de la cavitation converge vers un. Les deux techniques d'analyse de données, la méthode DSI et DSI avec filtre RL, donnent des résultats très similaires. En prenant la pression correspondant au milieu de la pente, le seuil moyen de déclenchement de la cavitation peut être estimé -36.6 MPa. Cependant, pour maximiser les chances de déclencher de la cavitation en utilisant des impulsions très courtes, il est préférable d'utiliser des pressions négatives permettant d'obtenir une probabilité proche de 1.

### 3.3 Discussion

Cette expérimentation a permis d'estimer le seuil de déclenchement de la cavitation dans des échantillons de cristallins porcins en utilisant l'imagerie passive de cavitation et l'algorithme de reconstruction du DSI, amélioré avec un filtre RL. Une pression négative de -36.6 MPa a été estimée comme la valeur seuil permettant de déclencher de la cavitation dans le cristallin avec une probabilité de 0.5. Comparé aux seuils de déclenchement trouvés dans l'étude de Maxwell<sup>4</sup>, le seuil de déclenchement dans le cristallin est élevé. En effet, dans l'eau ou des échantillons contenant une grande concentration d'eau, comme des gels de gélatine, du sang ou des caillots de sang, le seuil de cavitation est compris entre -26 et -30 MPa. En revanche, dans d'autres échantillons, où l'eau n'est pas le principal composant, comme l'huile d'olive, le seuil de déclenchement peut être supérieur à -36 MPa. Il est encore difficile d'expliquer la hausse de ce seuil de cavitation dans ces milieux. Cependant, il a été observé que le cristallin est un organe qui contient peu d'eau comparé aux autres organes : 63% pour le cortex et 69% pour le noyau du cristallin<sup>10</sup>. Cela pourrait être une explication à un seuil de cavitation plus élevée. De plus, le seuil de pression, mesuré dans le cristallin, est probablement surestimé en raison d'une mesure incomplète des pressions négatives à la focale du transducteur, ainsi que de sa modélisation à l'aide d'une fonction logarithmique (Chapitre II – Partie 2). En réalité, pour les pressions élevées, un phénomène de choc devrait se manifester, ce qui provoque une saturation de la pression négative. Ainsi, dans cette étude, seule une limite supérieure de la pression négative a été estimée.

L'estimation du seuil de déclenchement de cavitation a été réalisée avec des paramètres particuliers : émission d'un cycle ultrasonore avec une PRF de 0.3 Hz. Ces paramètres sont assez éloignés des paramètres utilisés lors de traitement ultrasonore comme l'histotripsy. Pour mieux comprendre et optimiser les paramètres de traitement basé sur le déclenchement de cavitation, il serait intéressant d'étudier l'impact du nombre de cycles, de la PRF sur le déclenchement de la cavitation. En effet, plusieurs études ont montré l'influence de ces paramètres<sup>11</sup>.

Cette étude a également permis de mettre en place un suivi de cavitation avec l'imagerie passive, qui permet d'obtenir une cartographie de l'activité de cavitation dans l'œil. Une localisation précise de la cavitation lors d'un traitement ultrasonore est essentielle pour garantir la sécurité des structures oculaires avoisinantes. L'utilisation d'un filtre RL a permis d'améliorer la résolution axiale et d'améliorer qualitativement les cartes, mais la détection du seuil de cavitation est restée inchangée. D'autres algorithmes dits adaptatifs et plus performants pourraient être mis en place comme l'algorithme de Robust Capon<sup>12</sup>. Les résultats ont également montré que la zone de cavitation était décalée spatialement par rapport au cristallin. Ceci peut être expliqué par les différentes vitesses de propagation des ultrasons dans les différents tissus de l'œil (cristallin = 1673 m/s, humeur vitrée = 1532 m/s, rétine = 1532 m/s et sclère = 1656 m/s)<sup>13</sup>. Ces différences de vitesse peuvent induire des erreurs dans les algorithmes de reconstruction qui se basent sur le temps de vol des ultrasons. L'étude de Gray



## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

et al.<sup>14</sup> a montré l'effet de la lentille acoustique des sondes d'imagerie sur l'imagerie passive de cavitation et a proposé une méthode pour compenser l'erreur de reconstruction. Il est intéressant de noter que la reconstruction des images B-mode et des images d'activité de cavitation repose sur des principes différents. Le B-mode utilise les temps d'arrivée, tandis que la DSI se base sur les écarts entre les voies. En conséquence, les erreurs d'estimation de la vitesse de propagation entraînent des distorsions opposées dans les images, ce qui se traduit par des erreurs de superposition des images. A titre d'exemple, en surestimant la vitesse (*Figure II-24B*), l'image B-mode se dilate en profondeur car la distance correspondant au temps d'arrivée mesuré augmente. Au contraire, la source beamformée avec une méthode de PAM, se rapproche de la sonde d'imagerie pour des vitesses plus élevées.

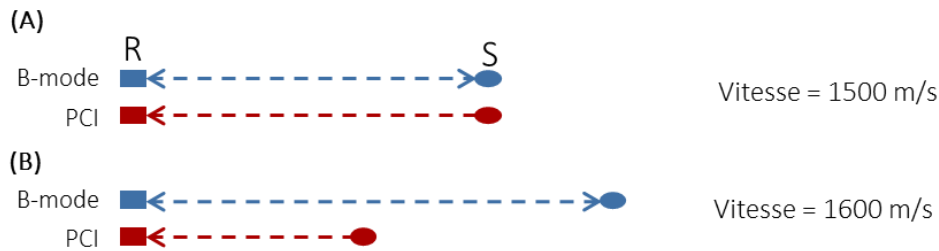


Figure II-24 : Schéma de principe des erreurs de reconstructions dues à une mauvaise estimation de la vitesse des ultrasons avec en bleu le B-mode et en rouge le PCI. R est le récepteur et S la source.

Ainsi, pour améliorer la reconstruction, une estimation d'un nouveau temps de vol par des simulations de lancée de rayons pourrait être mise en place et appliquée aux algorithmes de beamforming.

Enfin, le montage expérimental pourrait être amélioré. En effet, l'ajout d'une sonde d'imagerie, compatible avec le Verasonics, et positionnée sous l'échantillon, rend le montage expérimental encombrant et incompatible pour une application clinique. Il était, également, difficile d'aligner parfaitement la sonde d'imagerie avec la zone focale du transducteur de thérapie, ce qui ne permettait pas de visualiser correctement l'activité de cavitation pour certains échantillons. Enfin, ce positionnement de la sonde d'imagerie par rapport à la sonde de thérapie pourrait entraîner des dommages aux éléments de la sonde d'imagerie en raison des hautes intensités émises par la sonde de thérapie.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

### Conclusion du Chapitre II :

L'objectif de ce Chapitre II était de montrer la faisabilité de déclencher un nuage de cavitation dans un cristallin et de quantifier le seuil de pression nécessaire à son déclenchement. Dans la Partie 1, une première sonde a été testée. Malgré une taille compatible avec la taille du cristallin, seules des lésions thermiques ont été obtenues. Ceci a mis en avant la nécessité de générer des pressions plus importantes pour déclencher de la cavitation dans le cristallin. La Partie 2 a présenté les résultats obtenus avec une sonde de thérapie ultrasonore, comportant quatre transducteurs en géométrie confocale. Cette sonde a permis d'initier des nuages de cavitation de manière répétable et rapide dans des cristallins « jeunes » et « vieux ». En effet, sa géométrie a permis d'obtenir une petite zone focale tout en générant une pression négative suffisante. Ces deux premières parties ont également pu valider différentes techniques d'imagerie pour suivre le traitement ultrasonore et ses effets sur le cristallin. L'imagerie échographique est tout à fait adaptée pour visualiser en temps réel le déclenchement d'un nuage de cavitation et son évolution spatiale dans le cristallin, en raison de sa transparence aux ultrasons. Enfin, les effets des ultrasons sur la structure du cristallin ont été caractérisés grâce au développement d'un protocole de coupes histologiques. Dans la Partie 3, l'imagerie passive de cavitation a également été développée pour mesurer et localiser l'activité de cavitation lors d'un traitement. Cela a permis de quantifier le seuil de déclenchement de cavitation. Un seuil de -36 MPa a été estimé, ce qui est plutôt élevé comparé à d'autres échantillons biologiques.

En considérant ces différents résultats, plusieurs pistes de développement permettraient de les améliorer ou de les approfondir. La principale amélioration concerne le dispositif ultrasonore pour générer de la cavitation dans le cristallin. La sonde C-4T, bien qu'efficace, n'est pas adaptée à une potentielle application clinique en raison de sa taille massive par rapport au globe oculaire. Le dispositif ultrasonore développé par Charrel et al.<sup>15</sup> pour le traitement du glaucome et actuellement commercialisé par la start-up Eye Tech Care, est un exemple de sonde, adaptée à la taille de l'œil. Dans le cadre du développement d'un traitement de la presbytie, il y a donc une vraie nécessité de développer un dispositif plus petit et qui serait plus maniable pour les praticiens. Le Chapitre III présentera donc la caractérisation d'un dispositif ultrasonore de l'entreprise Daxsonics, conçu pour générer des pressions négatives élevées tout en ayant une surface active petite. Concernant l'imagerie passive de cavitation, les erreurs de reconstruction, dues aux différentes vitesses de propagation des ultrasons dans les tissus oculaires pourraient être compensées et ainsi permettre de mieux localiser l'activité de cavitation. La détermination du seuil de cavitation pourrait être approfondie en étudiant les effets de la PRF, de la durée d'une impulsion sur le seuil de déclenchement de la cavitation. Cela permettrait de se rapprocher des conditions d'insonification utilisées lors d'un traitement ultrasonore. Cette étude sera mise en place dans le Chapitre III de ce manuscrit. Ces expériences de faisabilité restent très préliminaires et nécessitent d'être approfondies. Il semble important d'étudier l'effet des interactions des bulles sur les différentes structures du cristallin et sur son élasticité. Ainsi le Chapitre IV présentera une étude préliminaire sur l'effet de la cavitation ultrasonore sur la destruction des ponts disulfures. Ces liaisons sont responsables en partie de l'agrégation des protéines dans les cristallins âgés. L'élastographie ultrasonore par corrélation de bruit sera alors évaluée pour la détection de lésions induites par cavitation ultrasonore dans des gels modélisant l'agrégation des protéines dans le cristallin. Le développement d'une méthode de mesure d'élasticité par suivi d'ondes de surface sera également au cœur de ce Chapitre IV. Elle sera évaluée pour mesurer l'élasticité du cristallin sur une large gamme de fréquences.

## Chapitre II: Expérimentations préliminaires sur la faisabilité d'initier un nuage de cavitation par ultrasons dans le cristallin

### Références bibliographiques du Chapitre II :

- <sup>1</sup> M. Lafond, F. Prieur, F. Chavrier, J.-L. Mestas, and C. Lafon, "Numerical study of a confocal ultrasonic setup for cavitation creation," *J. Acoust. Soc. Am.* **141**(3), 1953–1961 (2017).
- <sup>2</sup> O. Ben Moussa, A. Talbi, S. Poinard, T. Garcin, A.-S. Gauthier, G. Thuret, P. Gain, A. Maurer, X. Sedao, and C. Mauclair, "Characterization of Femtosecond Laser and Porcine Crystalline Lens Interactions by Optical Microscopy," *Micromachines* **13**(12), 2128 (2022).
- <sup>3</sup> T. Khokhlova, P. Rosnitskiy, C. Hunter, A. Maxwell, W. Kreider, G. ter Haar, M. Costa, O. Sapozhnikov, and V. Khokhlova, "Dependence of inertial cavitation induced by high intensity focused ultrasound on transducer  $F$ -number and nonlinear waveform distortion," *J. Acoust. Soc. Am.* **144**(3), 1160–1169 (2018).
- <sup>4</sup> A.D. Maxwell, C.A. Cain, T.L. Hall, J.B. Fowlkes, and Z. Xu, "Probability of Cavitation for Single Ultrasound Pulses Applied to Tissues and Tissue-Mimicking Materials," *Ultrasound Med. Biol.* **39**(3), 449–465 (2013).
- <sup>5</sup> M. Smallcomb, and J.C. Simon, "Dual-frequency boiling histotripsy in an *ex vivo* bovine tendinopathy model," *J. Acoust. Soc. Am.* **153**(6), 3182 (2023).
- <sup>6</sup> C. Lafon, V.A. Khokhlova, P.J. Kaczkowski, M.R. Bailey, O.A. Sapozhnikov, and L.A. Crum, "Use of a bovine eye lens for observation of HIFU-induced lesions in real-time," *Ultrasound Med. Biol.* **32**(11), 1731–1741 (2006).
- <sup>7</sup> S. Cambronerio, A. Dupré, C. Mastier, and D. Melodelima, "Non-invasive High-Intensity Focused Ultrasound Treatment of Liver Tissues in an In Vivo Porcine Model: Fast, Large and Safe Ablations Using a Toroidal Transducer," *Ultrasound Med. Biol.* **49**(1), 212–224 (2023).
- <sup>8</sup> T.-Y. Wang, Z. Xu, T.L. Hall, J.B. Fowlkes, and C.A. Cain, "An Efficient Treatment Strategy for Histotripsy by Removing Cavitation Memory," *Ultrasound Med. Biol.* **38**(5), 753–766 (2012).
- <sup>9</sup> D.R. Gennaro, and G.Z.Z. Geoff, in (2010).
- <sup>10</sup> R.F. Fisher, and B.E. Pettet, "Presbyopia and the water content of the human crystalline lens," *J. Physiol.* **234**(2), 443–447 (1973).
- <sup>11</sup> J. Haller, V. Wilkens, and A. Shaw, "Determination of Acoustic Cavitation Probabilities and Thresholds Using a Single Focusing Transducer to Induce and Detect Acoustic Cavitation Events: I. Method and Terminology," *Ultrasound Med. Biol.* **44**(2), 377–396 (2018).
- <sup>12</sup> C. Coviello, R. Kozick, J. Choi, M. Gyöngy, C. Jensen, P.P. Smith, and C.-C. Coussios, "Passive acoustic mapping utilizing optimal beamforming in ultrasound therapy monitoring," *J. Acoust. Soc. Am.* **137**(5), 2573–2585 (2015).
- <sup>13</sup> F.A. Duck, *Physical Properties of Tissue*, Academic Press (1990).
- <sup>14</sup> M.D. Gray, and C.C. Coussios, "Compensation of array lens effects for improved co-registration of passive acoustic mapping and B-mode images for cavitation monitoring," *J. Acoust. Soc. Am.* **146**(1), EL78–EL84 (2019).
- <sup>15</sup> T. Charrel, F. Aptel, A. Birer, F. Chavrier, F. Romano, J.Y. Chapelon, P. Denis, and C. Lafon, "Development of a Miniaturized HIFU Device for Glaucoma Treatment With Conformal Coagulation of the Ciliary Bodies," *Ultrasound Med. Biol.* **37**(5), 742–754 (2011).

## Chapitre III : Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

### Introduction :

Le Chapitre II a pu montrer la faisabilité d'initier un nuage de cavitation dans le cristallin avec la sonde C-4T et de quantifier le seuil de déclenchement intrinsèque de cavitation à l'aide de l'imagerie passive. Cependant, l'encombrement de la sonde C-4T est un facteur limitant pour une future application clinique. Ainsi, dans ce chapitre, une nouvelle sonde thérapie du constructeur Daxsonics (Halifax, Canada), dont la taille et la forme sont adaptées à un globe oculaire, sera utilisée pour déclencher des nuages de cavitation. De plus, la fréquence centrale de ce dispositif est de 2 MHz, alors que celle du dispositif C-4T est de 1.11 MHz. Dans un premier temps, une caractérisation en pression du dispositif sera réalisée. Des mesures expérimentales et une étude numérique permettront de quantifier précisément la pression générée au point focal du transducteur sur l'ensemble de la gamme de tensions de commande. Cette caractérisation complète n'avait pas été mise en place dans le Chapitre II pour la sonde C-4T. En effet, les pressions générées pour de hautes tensions avaient été estimées par une courbe logarithmique. Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons à mesurer le seuil de déclenchement d'un nuage de cavitation. Un simple PCD sera utilisée pour diminuer l'encombrement du dispositif employé dans la Partie 3 du Chapitre II. Contrairement à l'étude réalisée dans le Chapitre II, l'influence de la PRF, de la durée des impulsions, sera étudiée pour se rapprocher des conditions expérimentales et ainsi définir les paramètres optimaux pour un traitement ultrasonore. Enfin, la dernière partie présentera une étude préliminaire sur l'observation de la dynamique de dissolution de nuages de bulles après l'application d'un traitement ultrasonore de plusieurs secondes. Les résultats de ce Chapitre ont été obtenus dans le cadre du projet de fin d'étude de Clément Foullounoux, stagiaire de M2 en master d'acoustique.

### 1. Caractérisation en pression

#### 1.1 Description du transducteur

Le transducteur de thérapie a été fabriqué par l'entreprise Daxsonics Ultrasound (Halifax, Canada). Il est composé d'un élément piézoélectrique plan, dont la fréquence centrale est de 2 MHz. Une lentille sphérique, apposée devant l'élément actif, permet de focaliser les ultrasons à une distance de 8 mm par rapport au bord de l'ouverture du transducteur. La lentille a un diamètre externe de 25 mm et un rayon de courbure de 13.5 mm. Le diamètre d'ouverture de la sonde est de 29 mm. Au centre du transducteur se trouve un trou de diamètre 6 mm, permettant de positionner une sonde échographique. La taille de la zone focale à -3 dB simulée a une longueur de 2.3 mm et une largeur de 0.68 mm (données constructeurs). Le constructeur a indiqué avoir mesuré un temps de vol de 11.49  $\mu$ s. Ce temps correspond à la durée entre l'émission d'une impulsion ultrasonore par l'élément piézoélectrique plan jusqu'à sa propagation au point focal. Ainsi, la distance focale de ce transducteur peut être estimée à environ 17.2 mm. Il est important de noter que ce calcul ne prend pas en compte

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

l'épaisseur de la lentille en aluminium, où les ultrasons se propagent beaucoup plus rapidement, à environ 5000 m/s. Par conséquent, ce calcul surestime la distance focale. Ces caractéristiques géométriques sont adaptées à la taille et à la forme d'un œil, pour un traitement du cristallin *ex vivo*. Sur la *Figure III-1* un schéma de la géométrie du transducteur et une photographie sont représentés.

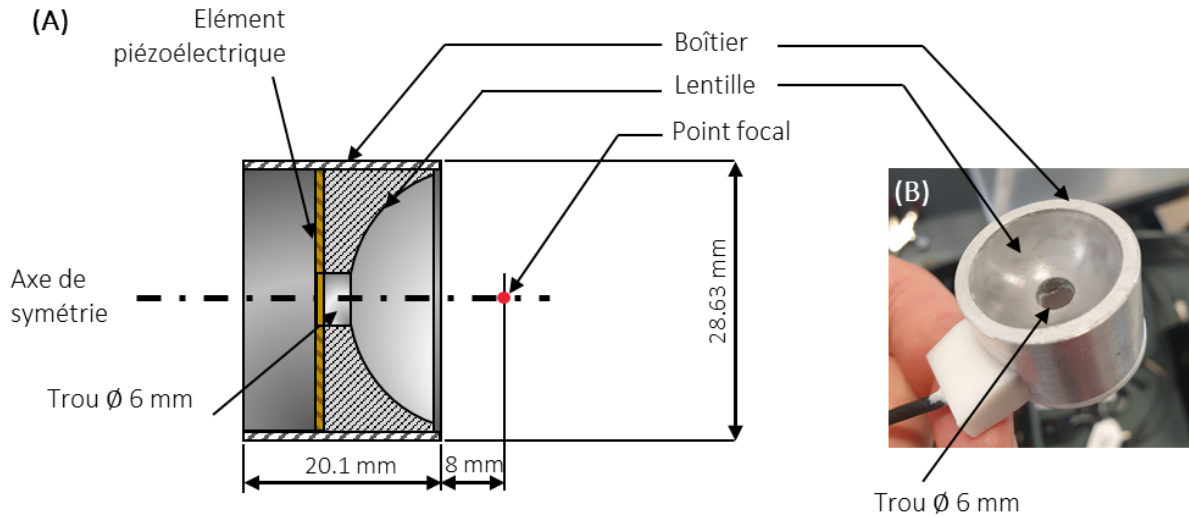


Figure III-1 : (A) Schéma et (B) photographie du transducteur Daxsonics

L'alimentation électrique du transducteur Daxsonics est assurée par un générateur d'impulsion-1 voie (Single Channel Histotripsy Pulsar), fourni par le constructeur. La *Figure III-2* est une représentation schématique du montage électrique d'alimentation de la sonde de thérapie.

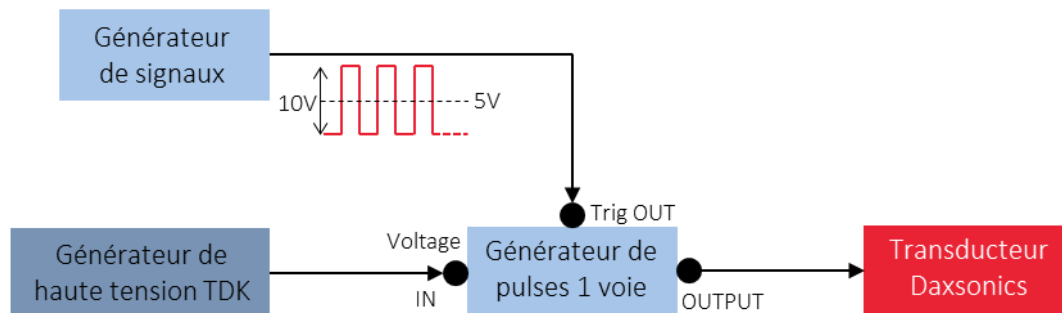


Figure III-2 : Schéma du montage électrique d'alimentation du transducteur Daxsonics

Le générateur d'impulsions est alimenté par un générateur de haute tension (TDK Lambda Z650). La tension maximale délivrée par le générateur de haute tension est de 500 V. On la notera  $U_{TDK}$ . Le générateur d'impulsions est déclenché par un générateur de signaux (RSDG 2042X, RS Pro). Le signal de déclenchement (TRIG) est un signal carré de fréquence 2 MHz, d'amplitude 10 Vpp avec un offset de 5 V. Ce signal est constitué de N cycles (1 à 12 cycles), et la fréquence de répétition doit être inférieure à 1 kHz.

## 1.2 Caractérisation en pression : mesure à l'hydrophone optique et étude numérique

Afin de caractériser la pression générée à la focale du transducteur Daxsonics, des mesures expérimentales ont été réalisées avec un hydrophone optique. Cependant, la mesure de hautes pressions peut être parfois difficile voire impossible. En effet, l'onde de choc créée par le transducteur peut avoir tendance à faire vibrer la fibre optique ou à déclencher de la cavitation sur celle-ci. Ainsi, pour estimer les pressions pour de plus hautes tensions de commande, une étude numérique a également été mise en place.

### a) Matériel et méthode :

#### Mesure de pression à l'hydrophone optique :

Le même type de protocole, utilisé dans le Chapitre II – Partie 1, a été mis en place pour la caractérisation de ce transducteur. Le transducteur Daxsonics est positionné dans une cuve, remplie d'eau dégazée. L'hydrophone optique (FOPH 2000, RP Acoustics, Leutenbach, Allemagne) est fixé à un système de micro-positionnement x-y-z (Precision Acoustics, Dorchester, Angleterre) afin qu'il soit positionné de manière précise à la focale du transducteur. Le transducteur Daxsonics est alimenté par la chaîne de puissance présentée *Figure III-3*. Le générateur de fonctions est programmé pour émettre un signal carré de 4 cycles avec une période de répétition de 200 ms. Ainsi, le transducteur Daxsonics émet une onde acoustique de 4 cycles avec la même période de répétition. Pour positionner correctement l'hydrophone optique à la focale du transducteur, des champs de pression ont été réalisés sur un plan XY et un plan XZ (*Figure III-3*). Le pas de mesure entre chaque point de ces champs de pression est de 0.1 mm. Ces champs ont été effectués pour une tension  $U_{TDK}$  de 25V. La fibre optique est alors positionnée au point correspondant au maximum de pression. Le temps de vol, correspondant à la durée entre l'émission du signal ultrasonore par le transducteur et sa réception par l'hydrophone, est mesuré sur l'oscilloscope. Ainsi, la distance focale pourra être comparée avec les mesures réalisées par le constructeur. Puis, les mesures de pression sont réalisées, à ce point, pour des tensions  $U_{TDK}$ , comprises entre 25V et 246V. La mesure est réalisée plusieurs fois afin de moyennner le signal et améliorer le rapport signal sur bruit. Le filtre passe-bas du système de mesure de l'hydrophone optique est réglé à 100 MHz, afin de mesurer le plus précisément possible les formes d'onde présentant des non-linéarités. L'état de la fibre optique est régulièrement vérifié en réalisant le protocole de calibration du constructeur. Les valeurs quantitatives de pression sont déduites du signal capté par l'hydrophone, en utilisant le logiciel Caldec, fournis par le constructeur. Pour chaque mesure, le maximum de pression et le minimum de pression sont mesurés.

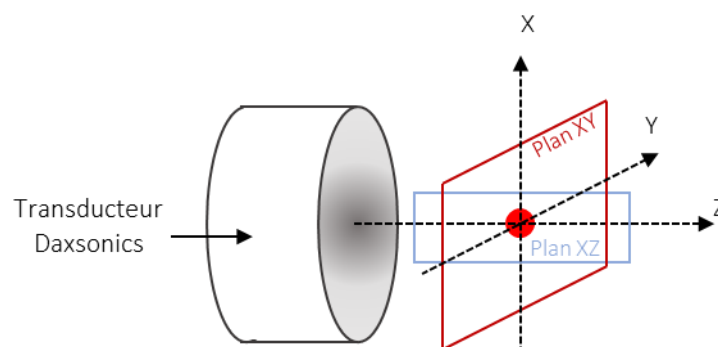
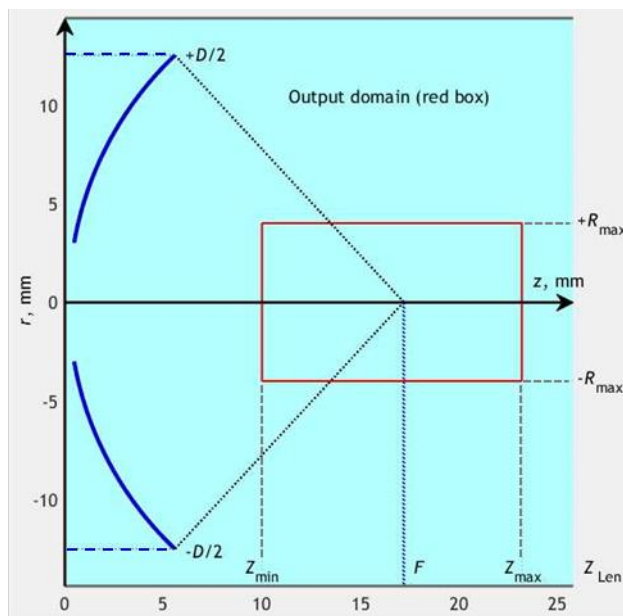


Figure III-3 : Schéma des plans de mesure des champs de pression

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

#### Etude numérique :

Pour estimer les pressions pour des tensions de commande plus importantes ( $U_{TDK} > 246V$ ), une étude numérique a été mise en place avec le logiciel HIFUBEAM. Ce logiciel a été développé par l'équipe de Yuldashev et al.<sup>1</sup>. Il permet de simuler des champs acoustiques, axialement symétriques, dans le régime non-linéaire, générés par des transducteurs focalisés. Le modèle numérique utilisé dans cette simulation se base sur l'équation de propagation non-linéaire de Westervelt (Chapitre I – Partie 2), résolue selon une direction (le long de l'axe acoustique). L'interface, développée sous Matlab, permet de configurer les caractéristiques géométriques du transducteur. Dans notre cas, le transducteur Daxsonics a été approximé par un transducteur sphérique dont le diamètre d'ouverture est de 25 mm, le diamètre interne de 6 mm et la distance focale de 17.2 mm. L'interface permet également de définir le milieu de propagation qui peut-être un milieu homogène mais également multicouches. On définit également la taille du domaine spatial où on souhaite calculer le champ, correspondant à un cylindre centré sur l'axe acoustique. La Figure III-4 représente une partie de l'interface graphique du logiciel et rassemble les paramètres d'entrée de la simulation.



#### Paramètres de la source:

Distance focale,  $F = 17.2$  mm  
Diamètre externe :  $D = 25$  mm  
Diamètre interne :  $d = 6$  mm

#### Paramètres du domaine de sortie (output domain):

Limites radiales :  $[R_{max} - R_{min}] = [4 - 0]$  mm  
Limites axe Z :  $[Z_{min} - Z_{max}] = [10 - 23.2]$  mm

#### Paramètres du milieu:

Monocouche : Eau  
 $c_0 = 1500$  m/s  
 $\rho_0 = 1000$  kg/m<sup>3</sup>  
Coefficient de non-linéarité :  $\beta = 3.5$   
Coefficient d'absorption :  $\delta = 4.33$  mm<sup>2</sup>/s  
Pertes dans le milieu : -0.13 dB

Figure III-4 : Interface du logiciel HIFUBEAM représentant les paramètres du transducteur, du domaine de sortie et du milieu

Le plan d'initialisation est calculé avec une intégrale de Rayleigh et est positionné derrière le transducteur à  $Z = 0$ . Le modèle numérique a été utilisé pour plusieurs pressions surfaciques d'entrée,  $p_0$ , comprises entre 0.1 et 2.25 MPa. Pour chaque simulation, le maximum de pression et le minimum de pression au point focal sont déduits des formes d'ondes.

Pour comparer les résultats obtenus avec l'hydrophone optique et les résultats obtenus avec HIFUBEAM, les maximums de pression positif obtenus expérimentalement sont corrélés aux plus proches valeurs des maximums de pression positif simulés. Ainsi, on obtient une corrélation entre la tension de commande  $U_{TDK}$  et la pression surfacique. Cela permettra d'estimer la pression générée par le transducteur Daxsonics pour des plus hautes pressions surfaciques non atteintes lors des mesures.

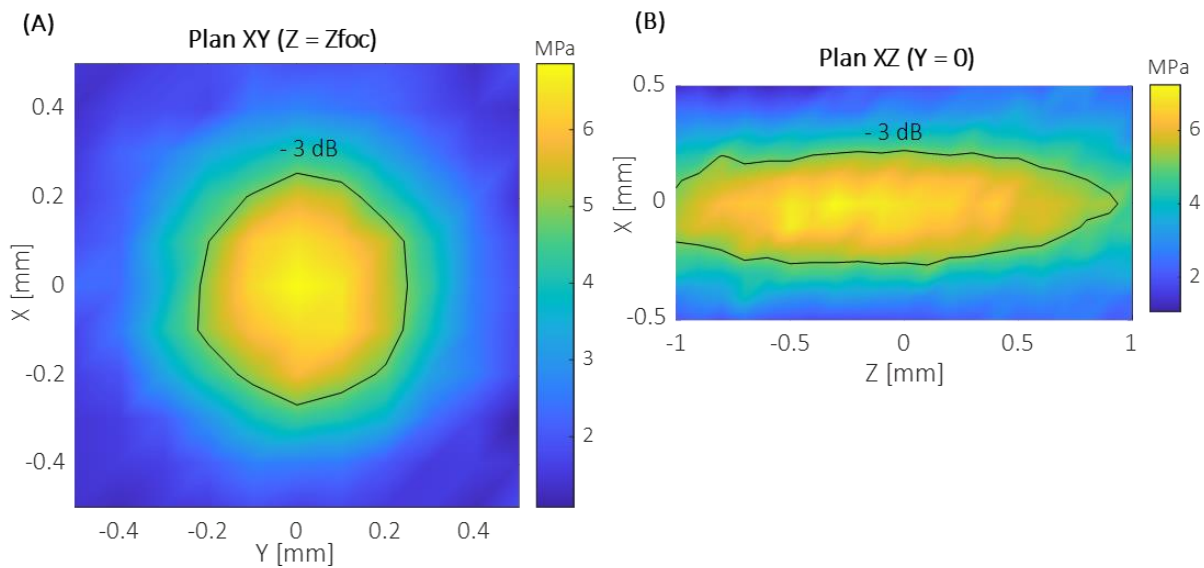
#### b) Résultats :

##### Mesure à l'hydrophone optique :

La *Figure III-5* représente les champs de pression des maximums de pression négative des plans XY et XZ, centrés sur le point focal. En noir, l'isoligne de pression à -3 dB est tracée. On peut alors en déduire la taille de la tâche focale à -3dB :

- Rayon : 0.5 mm
- Longueur : > 2 mm

Le plan XZ n'est pas assez large pour déterminer la longueur exacte de la tache focale. Cependant, la taille de cette tâche focale est suffisamment petite et donc adaptée à la taille du cristallin. De plus, elle est du même ordre de grandeur que les données fournies par le constructeur.



*Figure III-5 : Plan XY et XZ des champs de pression, centrés sur le point focal. La ligne noire représente l'isoligne de pression à -3dB*

Le point présentant le maximum de pression est considéré comme le point focal du transducteur. A ce point focal, le temps de vol mesuré est de 11.8  $\mu$ s, soit une distance focale d'environ 17.5 mm. Ce résultat est proche de la mesure réalisée par le constructeur. La *Figure III-6* représente différentes formes d'ondes mesurées par l'hydrophone optique pour plusieurs tensions d'alimentation  $U_{TDK}$ . On peut observer que les formes d'onde présentent un aspect de plus en plus non-linéaire. Elles sont de plus en plus asymétriques lorsque la tension d'alimentation augmente. On peut également remarquer que le régime transitoire de ce transducteur est très court. En seulement un cycle, les maximums de pression négative et positive sont atteints. Cette caractéristique est un point important pour déclencher un nuage de cavitation dans le cristallin sans avoir besoin d'émettre un signal trop long. On peut alors limiter les effets d'augmentation de température dus à l'application d'ultrasons intenses et, par conséquent, limiter la formation d'une lésion thermique. La *Figure III-6A* présente un rapport signal sur bruit plus faible que les autres formes d'onde. Pour des tensions d'alimentation faibles, l'amplitude de l'onde émise par le transducteur est trop faible pour être captée correctement par l'hydrophone optique. En effet, le principe de la mesure par hydrophone optique consiste à détecter une variation d'indice de réfraction de l'eau due aux hautes pressions. Sur la *Figure III-6C*, seul un cycle de l'onde ultrasonore est mesuré. En effet, le nombre de cycles a été réduit au minimum et la période de répétition a été augmentée, afin de limiter le déclenchement de cavitation sur la fibre et sa vibration



### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

sous l'effet de la force de radiation. La *Figure III-7* représente les maximums de pression positive et négative en fonction de la tension d'alimentation  $U_{TDK}$ . Le dernier point de mesure, à  $U_{TDK} = 246V$ , présente un maximum de pression positive plus faible que pour la tension précédente. Alors que pour les maximums de pression négative, la courbe est plutôt continue. Cela peut être expliqué par la difficulté à capter un signal avec l'hydrophone, qui a tendance à vibrer pour ces niveaux de tension de commande. On peut également observer que la courbe de maximum de pression positive n'a pas encore atteint de valeur seuil comme observée dans l'étude de Khokhlova et al.<sup>2</sup>. Une étude numérique est donc nécessaire pour estimer les pressions maximales à plus hautes tensions.

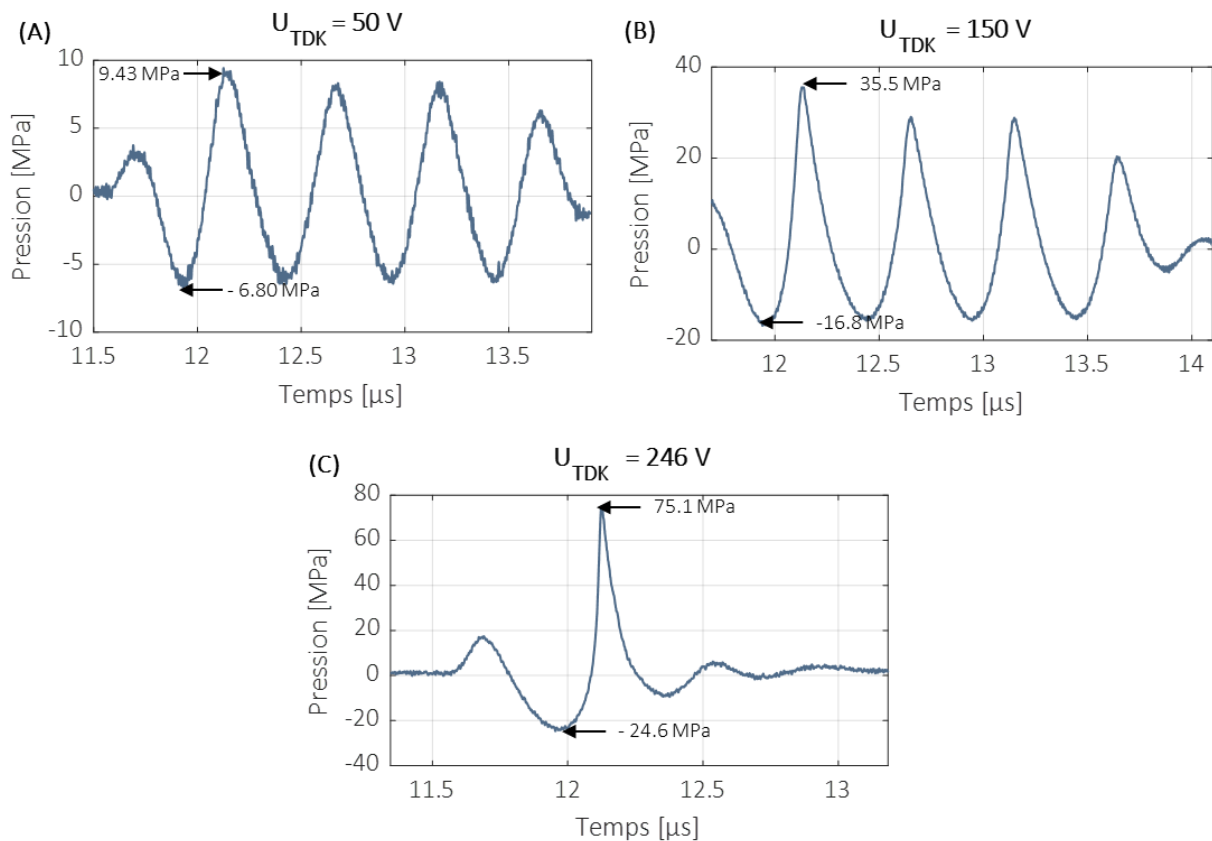


Figure III-6 : Formes d'ondes pour plusieurs tensions TDK. Les flèches noires correspondent aux maximums de pression positive et négative.

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

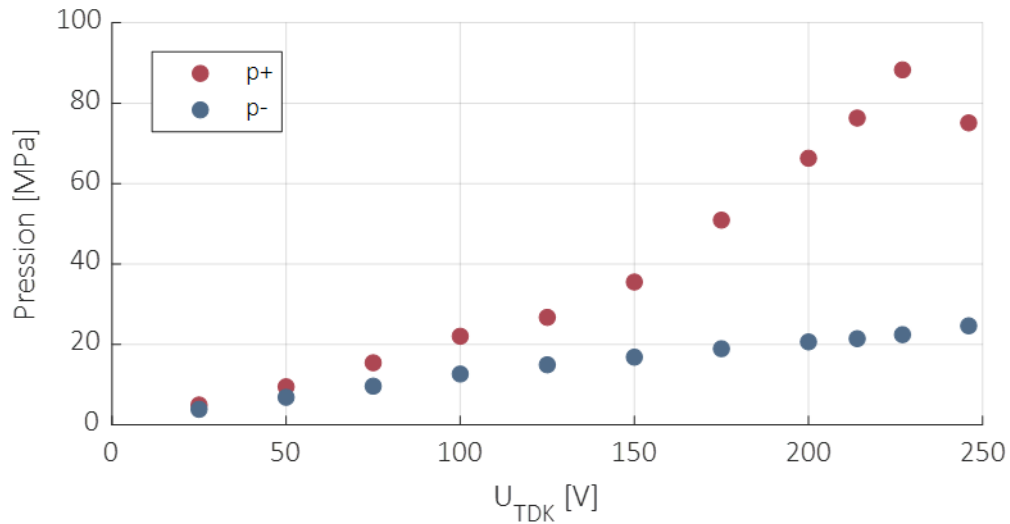


Figure III-7 : Mesure des maximums de pression positive ( $p_+$ ) et négative ( $p_-$ ) en fonction de la tension d'alimentation TDK

#### Etude numérique :

La Figure III-8 présente des formes d'onde simulées à la focale du transducteur.

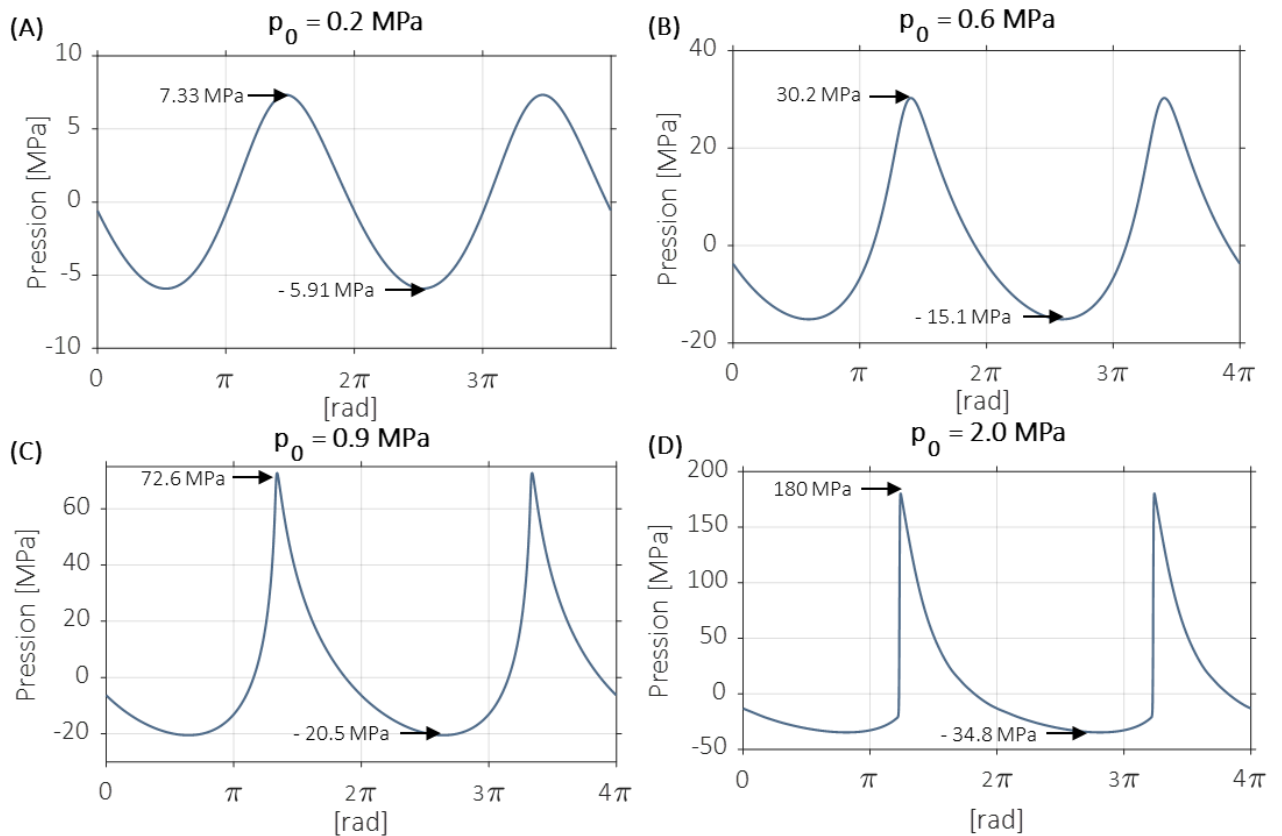


Figure III-8 : Formes d'ondes simulées pour plusieurs  $p_0$ . Les flèches noires correspondent aux maximums de pression positive et négative.

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

Pour comparer directement les mesures expérimentales et les simulations, on trace les formes d'ondes à 17.5 mm du transducteur, ce qui correspond à la distance à laquelle les mesures expérimentales ont été réalisées. On peut, de nouveau, observer les effets de non-linéarité, s'accroissant lorsque que la pression surfacique est augmentée. La *Figure III-8D* présente une forme d'onde avec un choc de pression pleinement développé. Le *Tableau III-1* résume les mesures expérimentales des maximums de pression positive et négative effectuées sur la plage de tensions de commande allant de 25 V à 225 V. Chaque mesure est associée à un résultat de simulation numérique. Pour ajuster un résultat de simulation à la mesure expérimentale, la pression surfacique correspondant au pic de pression positive le plus proche de la mesure a été recherchée.

Mesures expérimentales			Simulations		
$U_{TDK}$ (V)	$p^+$ (MPa)	$p^-$ (MPa)	$p_0$ (MPa)	$p^+$ (MPa)	$p^-$ (MPa)
25	4.90	3.82	<b>0.15</b>	4.86	4.17
50	9.43	6.80	<b>0.26</b>	9.38	7.08
75	15.4	9.58	<b>0.39</b>	15.3	10.0
100	22.0	12.6	<b>0.51</b>	22.2	12.5
125	26.7	15.0	<b>0.57</b>	26.6	13.7
150	35.5	16.8	<b>0.68</b>	35.7	15.7
175	50.9	18.9	<b>0.80</b>	50.7	17.7
200	66.3	20.6	<b>0.87</b>	66.2	18.9
225	88.3	22.4	<b>1.00</b>	92.1	20.8

*Tableau III-1 : Corrélation entre les mesures expérimentales (colonnes de gauche) et les résultats obtenus en simulation (colonnes de droite)*

On peut remarquer qu'il existe des différences entre les pressions négatives mesurées et simulées. Les formes d'onde mesurées avec l'hydrophone optique semblent plus asymétriques que celles des simulations. La *Figure III-9* montre la corrélation entre la tension TDK et la pression surfacique, provenant de l'ajustement entre les pressions maximales positives mesurées et simulées. Cette relation est modélisée par une droite dont la pente est de  $0.0045 \text{ MPa.V}^{-1}$ . Cette relation liant la tension de commande et la pression à la surface du transducteur permet d'estimer les pressions générées à la focale du transducteur Daxsonics pour des tensions supérieures à 225V.

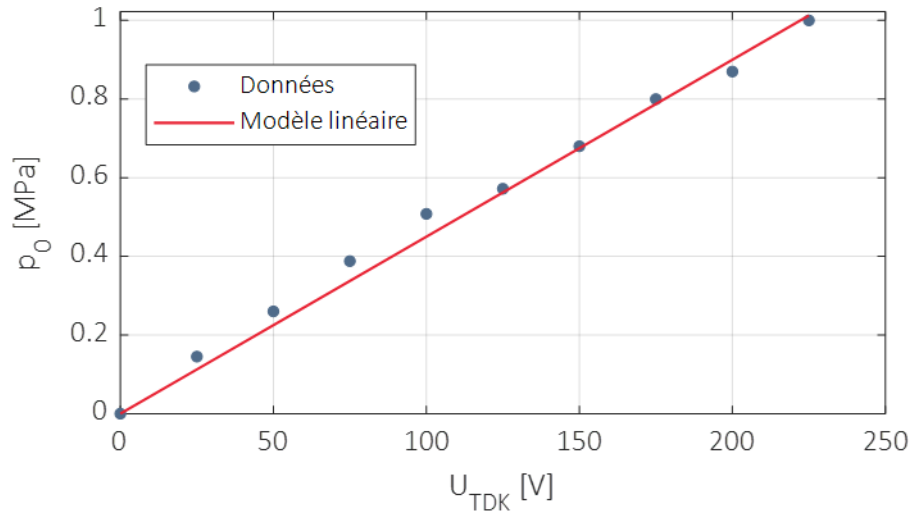


Figure III-9 : Modélisation linéaire de la corrélation entre la tension de commande  $U_{TDK}$  et la pression surfacique  $p_0$

La Figure III-10 résume l'ensemble des mesures de pression positive et négative expérimentales et simulées. Elle montre également l'estimation des maximums de pression pour des pressions  $p_0$  de 2.0 et 2.25 MPa, correspondant à des tensions de commande de 444 V et 500 V. 500V est la tension maximale fournie par le générateur de tension TDK.

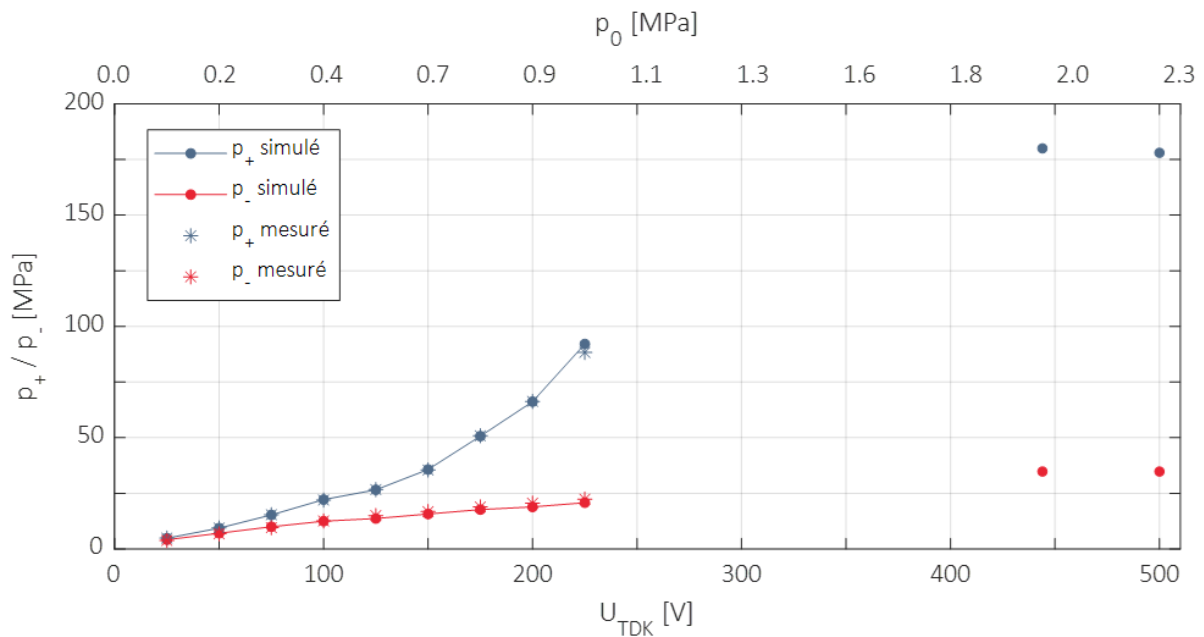


Figure III-10 : Maximums de pression positive (bleu) et négative (rouge) mesurés à l'hydrophone optique (étoiles) et simulés avec HIFUBEAM (points). L'axe des abscisses en-dessous du graphique est la tension TDK correspondante et l'axe des abscisses au-dessus du graphique est la pression simulée à la surface du transducteur

On peut observer sur ces courbes que l'asymétrie des pressions augmente fortement avec la pression surfacique  $p_0$ . Il semble que les maximums de pression positive et négative atteignent un seuil autour

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

de 2.0 MPa et 2.25 MPa, correspondant également à la formation du choc de pression, observée *Figure III-8D*. Cette observation concorde avec les résultats de Khokholova et al.<sup>2</sup>. Ainsi pour les plus hautes tensions de commande  $U_{TDK}$ , les maximums de pression négative et positive, générés par le transducteur Daxsonics sont estimés à -34.8 MPa et 178 MPa, respectivement.

#### 1.3 Conclusion et perspectives

Cette étude a permis de mesurer la pression générée à la focale du transducteur avec un hydrophone optique et d'estimer les hautes pressions par simulation numérique. Ainsi, pour une tension maximale du générateur de tension TDK de 500 V, les maximums de pression négative et positive sont de -34.8 MPa et 178 MPa, respectivement. La pression négative est proche de l'ordre de grandeur des pressions négatives estimées dans le Chapitre II sur l'étude de la sonde C-4T. Il avait été observé que des nuages de cavitation pouvaient être déclenchés dans le cristallin pour des pressions négatives dépassant -30 MPa. Il semble donc que la sonde Daxsonics soit bien adaptée pour initier de la cavitation dans le cristallin. Cette étude sera développée dans la section suivante de ce chapitre

Les mesures expérimentales de pression, couplées aux simulations numériques pourraient être améliorées. En effet, nous avons pu remarquer qu'ils existaient des différences entre les formes d'ondes mesurées expérimentalement et les formes d'ondes simulées. Cette différence peut provenir de l'approximation du transducteur Daxsonics à un transducteur sphérique de distance focale 17.2mm. En réalité, la sonde Daxsonics est composée d'un transducteur plan et d'une lentille sphérique. Son rayon de courbure de 13.5 mm permet de focaliser les ultrasons à une distance focale de 17.2 mm. Cette différence de géométrie peut expliquer les variations observées entre mesures et simulations. De plus, la mesure de pression avec l'hydrophone optique aurait pu être plus précise en prenant en compte le déplacement des maximums de pression lorsque l'intensité acoustique est augmentée. En effet, les autres conséquences des effets de non-linéarité sont le déplacement du point de maximum de pression négative vers le transducteur et l'éloignement du point de maximum de pression positive<sup>3</sup>. Ainsi, dans notre étude, le maximum de pression négative généré à la focale du transducteur est légèrement sous-estimé.

Pour corréliser les résultats expérimentaux aux résultats de simulation, nous avons choisi de comparer les formes d'ondes à différentes tensions de commande et différentes pressions surfaciques. Une approche différente aurait été de mesurer l'intensité surfacique du transducteur Daxsonics. De telles mesures avaient été mises en place dans le Chapitre II – Partie 1. Dans cette expérience, une balance acoustique permettait de mesurer une variation de masse due à l'application d'une force de radiation avec le transducteur. Dans notre cas, les limites imposées par la chaîne de puissance du transducteur ne permettent pas d'atteindre un rapport cyclique suffisant pour que l'appareil de mesure soit sensible à la force de radiation générée. Une autre méthode aurait été d'utiliser l'holographie acoustique<sup>4</sup>. Le principe de cette méthode est de mesurer avec un hydrophone le champ de pression généré par un transducteur sur un plan perpendiculaire à l'axe acoustique et proche de la source acoustique. Ce plan de mesure est appelé hologramme acoustique. L'hologramme est ensuite rétro propagé sur la surface du transducteur en utilisant les méthodes de simulation numérique de propagation d'onde. Ainsi, cette méthode est capable de retrouver localement la vitesse normale à la surface du transducteur<sup>5</sup>. On peut alors en quantifier l'intensité acoustique surfacique et la relier aux paramètres utilisés en simulation. Cependant, cette méthode peut être difficile à mettre en place car elle nécessite de mesurer un plan parfaitement perpendiculaire à l'axe acoustique avec un pas de

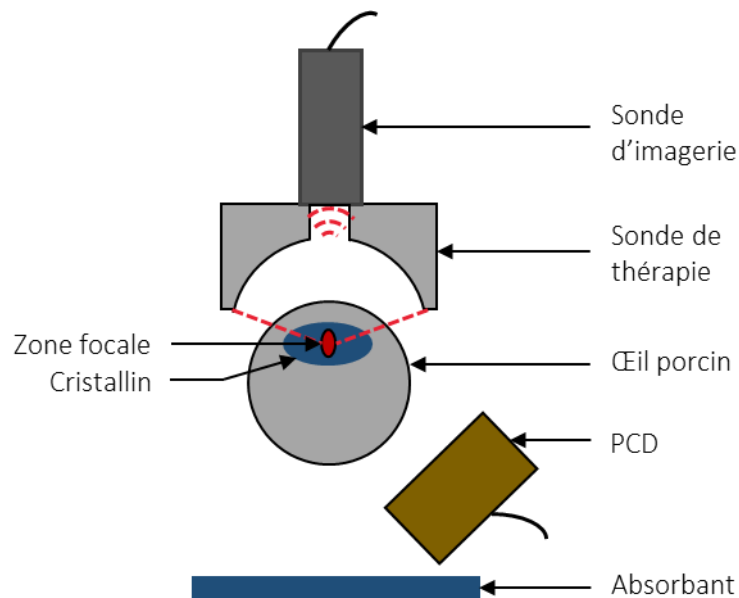
mesures très fin. De plus, pour des transducteurs très focalisés comme le Daxsonics, évaluer l'intensité surfacique à partir des vecteurs de vitesses est assez complexe.

## 2. Mesure du seuil de déclenchement de cavitation dans le cristallin

### 2.1 Matériel et méthode

#### a) Etude du déclenchement de cavitation

Le montage expérimental utilisé pour mesurer le seuil de déclenchement de cavitation dans le cristallin est présenté *Figure III-11*. Les échantillons sont des yeux porcins provenant d'abattoirs de la région. L'œil est maintenu par une pince, fixée à un robot 7 axes (Kuka, Allemagne). Pour positionner l'échantillon à la focale du transducteur, une sonde d'imagerie ultrasonore annulaire de fréquence 20 MHz (Quantel, France) est positionnée au-dessus de la sonde de thérapie. Ainsi, on peut visualiser, par l'ouverture de la sonde Daxsonics, de diamètre 6 mm, l'échantillon et le traitement ultrasonore. Cette sonde d'imagerie est reliée à un échographe clinique (Absolu, Quantel Medical, France). La sonde Daxsonics est alimentée par la même chaîne de puissance présentée dans la Partie 1 de ce chapitre. Dans un premier temps, la zone focale du transducteur est identifiée sur l'image B-mode en déclenchant un nuage de cavitation dans l'eau. Puis, l'échantillon est positionné au point repéré.



*Figure III-11 : Montage expérimental de la mesure de seuil de déclenchement de cavitation*

Pour acquérir les signaux de cavitation, un PCD est positionné sous l'échantillon en optimisant l'amplitude du signal capté. Cette expérience diffère de celle du Chapitre II – Partie 3. En effet, une sonde d'imagerie avait été utilisée, permettant de cartographier l'activité de cavitation. Il a été choisi d'utiliser un PCD pour rendre le montage expérimental moins encombrant. Cela permettra également d'étudier la faisabilité d'utiliser ce type de technologie pour monitorer le déclenchement d'un nuage de cavitation dans une perspective clinique, où le dispositif doit être plus compact. Ce PCD est relié à un oscilloscope (Wavesurfer 3014z, Teledyne LeCroy). L'acquisition de signaux de cavitation, pour un même échantillon, est réalisée pour des tensions de commande  $U_{TDK}$  comprises entre 200V et 500V. Pour chaque tension TDK, une trentaine de signaux sont acquis par le PCD et enregistrés via

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

l'oscilloscope. L'acquisition des signaux est synchronisée avec le signal émis par le générateur de fonction qui déclenche l'insonification ultrasonore. La fréquence d'acquisition de l'oscilloscope a été estimée à 4 Hz. Pour examiner l'impact du rapport cyclique sur la formation d'un nuage de cavitation dans le cristallin, celui-ci a été modifié pour chaque échantillon et varie entre 0,1 % et 0,0003 %. Les signaux acquis ont été fenêtrés pour garder seulement le signal correspondant au bruit de cavitation. Puis, l'énergie de ce signal est calculée en réalisant une intégrale numérique avec la fonction *trapz* de Matlab. Pour chaque tension  $U_{TDK}$ , la moyenne et l'écart type de cette énergie sont calculés. On représente ensuite l'énergie en fonction de  $U_{TDK}$ .

Dans cette étude nous avons également cherché à savoir s'il était possible de déclencher un nuage de cavitation à différentes positions dans le cristallin. Ainsi pour un même échantillon, le point focal du transducteur a été déplacé de la face postérieure jusqu'à la face antérieure. Le principe est de rester quelques secondes à une position en traitant le cristallin avec un signal ultrasonore de 12 cycles et une période de répétition de 6 ms. La tension d'alimentation a été réglée pour être sûre de déclencher de la cavitation. Elle est déterminée par les résultats précédents sur l'étude du seuil de déclenchement du nuage de cavitation.

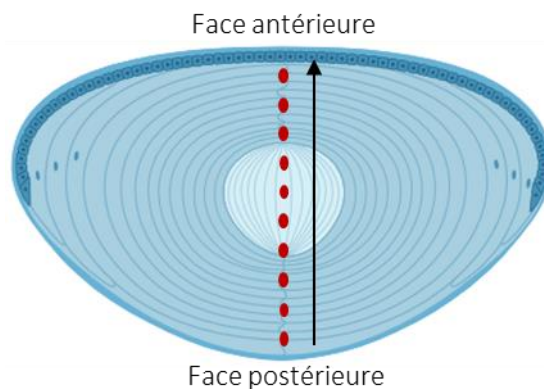


Figure III-12 : Schéma de principe de l'étude du déclenchement de cavitation en fonction de la position du point focal. Les taches rouges correspondent au point focal et la flèche au sens dans lequel ont été réalisées les insonifications.

#### b) Simulation de l'échauffement thermique du cristallin

Pour estimer l'augmentation de température qui pourrait avoir lieu dans le cristallin lorsqu'on l'insonifie avec le transducteur Daxsonics, des simulations numériques ont été mises en place. Le logiciel de simulation a été développé au sein du laboratoire du LabTAU. Il a permis de configurer un modèle numérique de la partie antérieure de l'œil (Figure III-13).

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

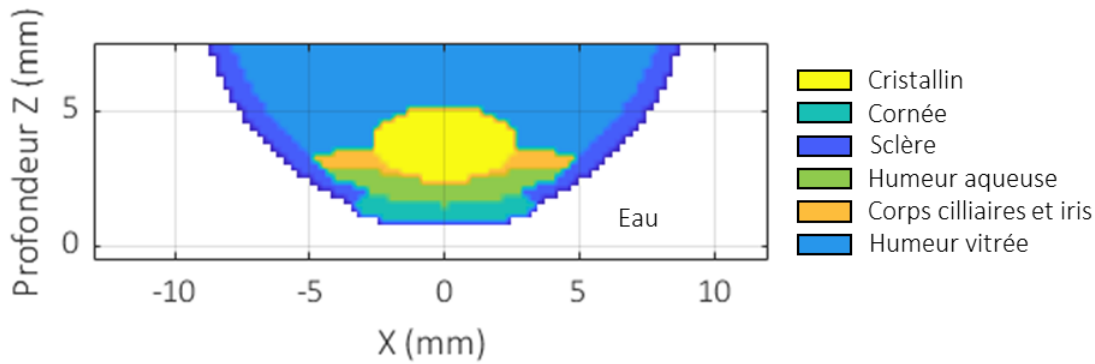


Figure III-13 : Modèle numérique de la partie antérieure de l'œil

Les paramètres acoustiques et thermiques des différents tissus de l'œil sont regroupés dans le *Tableau III-2*. Ils proviennent de l'étude de Nabili et al.<sup>6</sup>. Les masses volumiques des différents tissus sont fixées à 1066 kg/m<sup>3</sup> et la vitesse de propagation à 1500 m/s. La vitesse de propagation des ultrasons est uniforme pour tous les tissus dans notre simulation en raison des limitations de notre logiciel. Il est à noter que pour le cristallin, la vitesse de propagation des ultrasons est autour de 1600 m/s. Ainsi le modèle numérique de la partie antérieure de l'œil est imparfait. Le milieu de couplage entre le transducteur et l'œil est de l'eau. La température initiale de l'œil et de l'eau est fixée à 23°C, ce qui correspond aux conditions expérimentales des insonifications.

Tissu	Conductivité thermique [W.m <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup> ]	Chaleur spécifique [J.kg <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup> ]	Coefficient d'atténuation [Np.m <sup>-1</sup> .MHz <sup>-1</sup> ]
Sclère	0.58	4178	11.2
Humeur vitrée	0.6	3999	0.12
Cornée	0.58	4178	8.98
Humeur aqueuse	0.59	3997	0.12
Corps ciliaires et iris	0.46	3431	47
Cristallin	0.4	3000	13.7
Eau	0.627	4188	0

Tableau III-2 : Paramètres de la simulation numérique des différents tissus

Le transducteur Daxsonics a été simulé par un transducteur sphérique de diamètre d'ouverture de 25 mm, un diamètre interne de 6 mm et une distance focale de 17.2 mm. Le principe de la simulation est de simuler le champ de pression généré par le transducteur par une intégrale de Rayleigh en prenant en compte les effets d'atténuation du tissu. Dans cette simulation, on fait l'approximation que l'amplitude et la phase de la vitesse normale sont constantes sur toute la surface du transducteur. De plus, les effets de non-linéarité ne sont pas pris en compte. Une fois la pression estimée, une simulation numérique de l'équation de la BHTE est réalisée pour en déduire l'augmentation de température au



### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

sein des différents tissus. Cette équation a été présentée dans le Chapitre I – Partie 2. Dans notre cas, la pression à la surface du transducteur a été fixée à 2 MPa, soit une intensité surfacique de 132.6 W/cm<sup>2</sup>. Pour se rapprocher des conditions d'insonification, une séquence d'impulsions ultrasonores a été programmée. Chaque impulsion dure 6  $\mu$ s et est espacée de 10 ms. Les impulsions ont été répétées 500 fois ce qui correspond à un temps d'insonification totale de 5s. Cette simulation numérique permet d'estimer l'augmentation de température au sein du cristallin dans les conditions expérimentales. Cependant, elle ne prend pas en compte les effets de non-linéarité qui sont très importants à haute intensité acoustique. En effet, le transfert d'énergie de l'onde ultrasonore vers les fréquences harmoniques va augmenter le phénomène d'absorption et l'échauffement thermique du tissu. Selon l'étude de Khokhlova et al.<sup>7</sup>, il existe un facteur 4 entre le dépôt de chaleur à la focale du transducteur en régime linéaire et non-linéaire.

#### 2.2 Résultats :

##### a) Etude du déclenchement de cavitation

La Figure III-14 représente un exemple d'image échographique de la sonde d'imagerie Quantel. On reconnaît les différentes interfaces de l'œil : la cornée et les interfaces antérieure et postérieure du cristallin. On peut également observer l'ouverture interne du transducteur Daxsonics. Un nuage de cavitation, entouré en rouge, est visible à l'intérieur du cristallin.

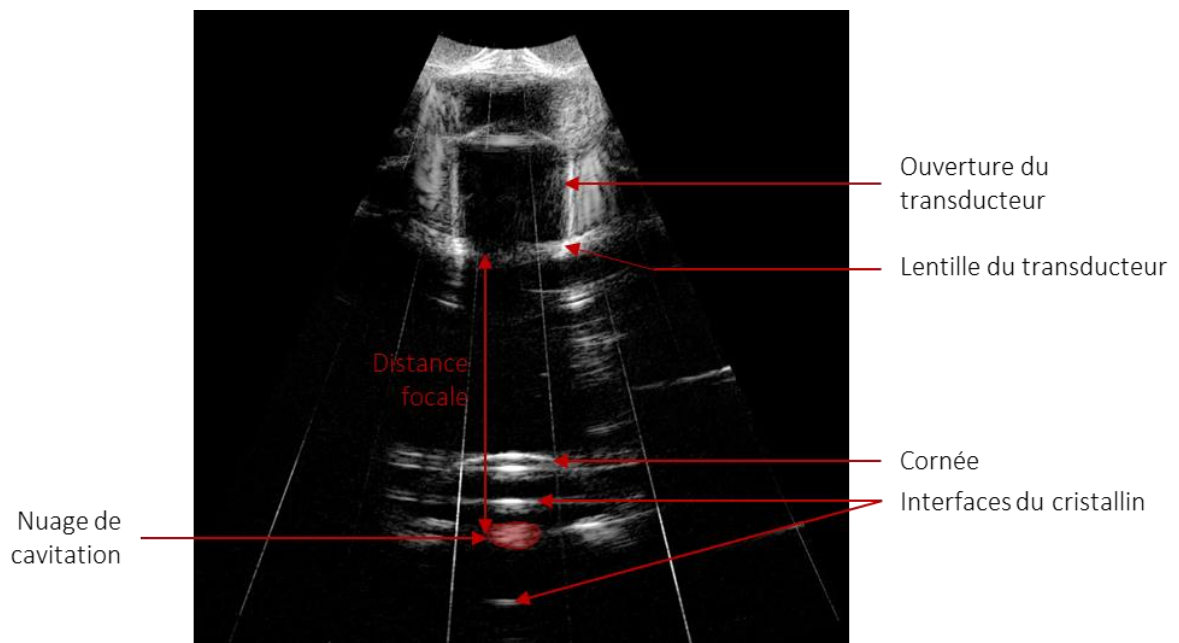


Figure III-14 : B-mode de la sonde Quantel 20MHz lors d'un traitement ultrasonore d'un cristallin porcin

Pour positionner le point focal du transducteur dans le cristallin, un nuage de cavitation est déclenché dans l'eau. Il a été observé qu'une fois le point focal repéré et aligné dans un échantillon de cristallin, le nuage de cavitation avait tendance à se déclencher avec un décalage spatial. Il se déplace de l'ordre d'un mm vers le transducteur par rapport au point repéré dans l'eau. Cette variation a été prise en compte pour cibler les cristallins de cette étude. La Figure III-15 est un exemple de signal mesuré par le

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

PCD. Le signal, situé entre les deux lignes pointillées, correspond au signal de thérapie ultrasonore et au bruit éventuel de cavitation diffusés par les différentes interfaces de l'œil

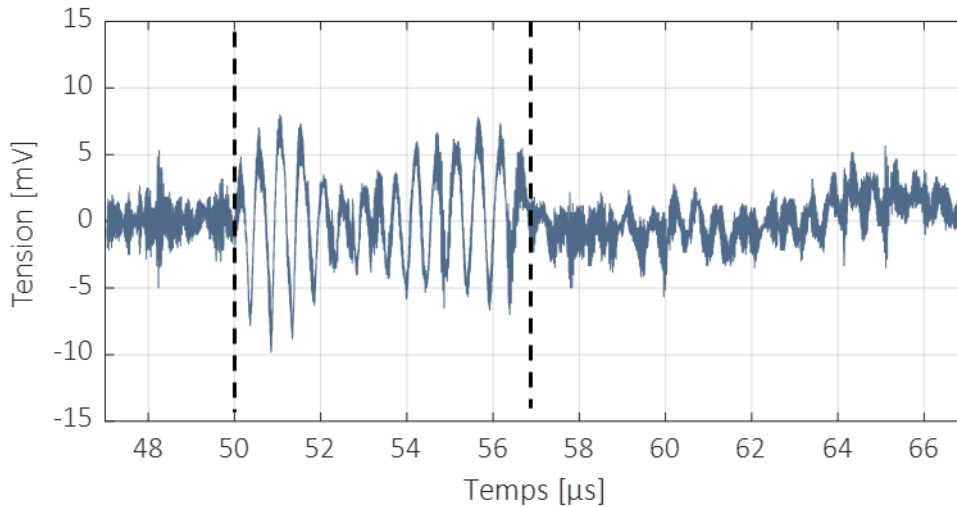


Figure III-15 : Signal mesuré par le PCD. Les lignes en pointillées indiquent la partie du signal utilisée pour l'analyse de l'activité de cavitation

La Figure III-16 représente plusieurs résultats de la mesure de seuil de cavitation pour différents rapports cycliques. On remarque que pour les trois graphiques, plus la tension TDK augmente, plus l'énergie des signaux acquis augmente. Cette augmentation correspond à une élévation de l'amplitude des ondes émises par le transducteur, qui sont diffusées par les différentes interfaces de l'œil et captées par le PCD. Puis, pour la Figure III-16A, on remarque que pour des tensions supérieures ou égales à 450 V, cette énergie stagne. Pour une tension de 500 V, après une stabilisation de l'énergie, celle-ci décroît. Cette décroissance correspond au moment où un nuage de cavitation s'est déclenché dans le cristallin, observable sur le B-mode. Ce résultat peut être surprenant, car on se serait attendu à observer une augmentation de l'énergie correspondant au déclenchement de l'activité de cavitation. Dans notre cas, la formation d'un nuage de bulles fait écran et empêche une partie de l'énergie des impulsions ultrasonores de thérapie d'être captée par le PCD. Cela se traduit, aussi, par une augmentation de l'écart type de l'énergie, signe de l'activité chaotique de la cavitation. Le même résultat est obtenu pour un rapport cyclique de 0.015 %. En revanche pour un rapport cyclique de 0.003 %, l'énergie augmente mais aucune baisse de l'énergie n'est observée et l'écart type de l'énergie est plutôt stable. Le même résultat a été observé pour un rapport cyclique de 0.0003%. Ainsi, le rapport cyclique a une influence sur le déclenchement du nuage de cavitation dans le cristallin. Plus les impulsions ultrasonores sont éloignées temporellement, moins il y a de probabilité qu'un nuage de cavitation se déclenche. Cependant, les résultats pour des rapports cycliques supérieurs à 0.03 % sont très variables. Pour plusieurs échantillons, aucune cavitation ne s'est déclenchée. La Figure III-17 est un exemple de ce résultat. A la tension TDK de 500 V, l'insonification a duré plus longtemps que pour les autres échantillons de la Figure III-16 mais aucun nuage de cavitation ne s'est formé.

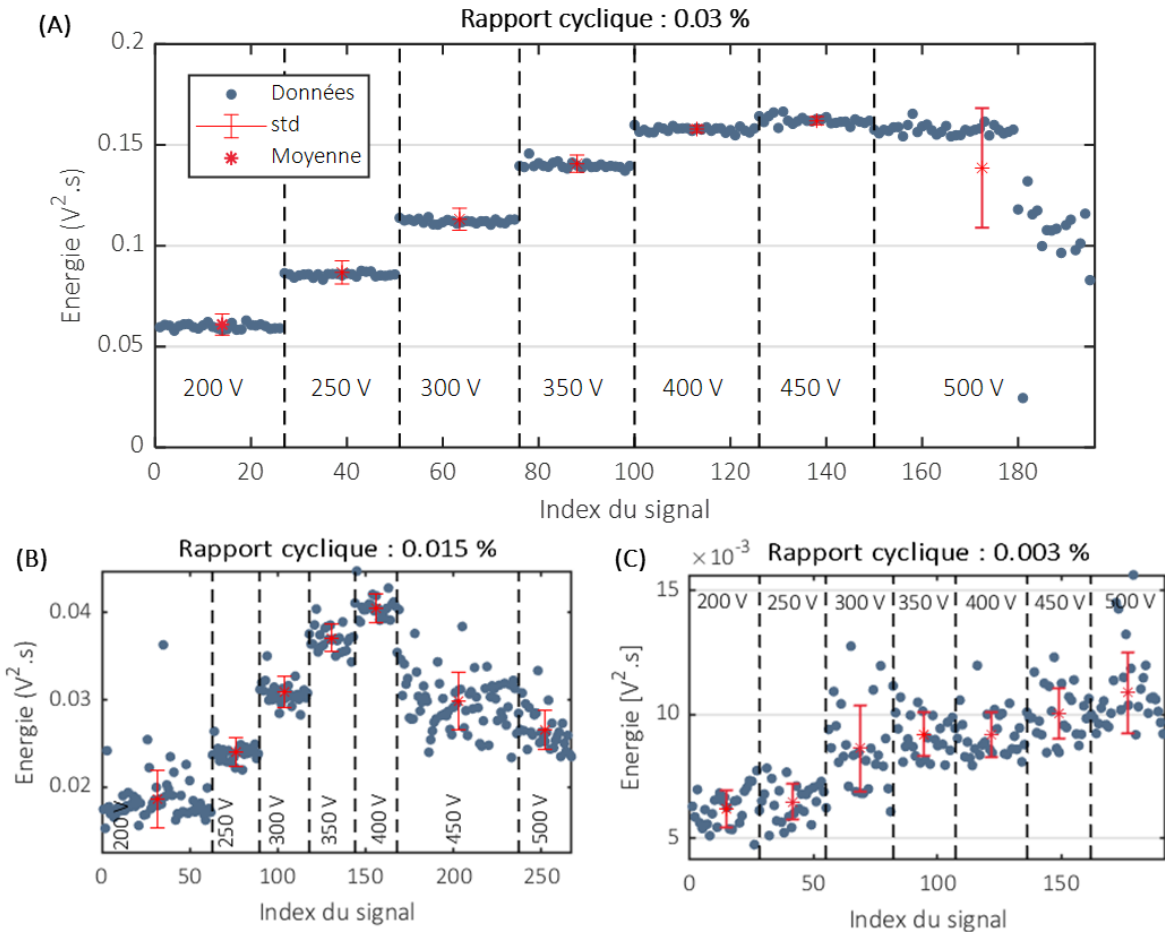


Figure III-16 : Energie des signaux acquis par le PCD en fonction de la tension TDK et pour plusieurs rapports cycliques. Les lignes en pointillés noires séparent les acquisitions pour les différentes tensions d'alimentation TDK.

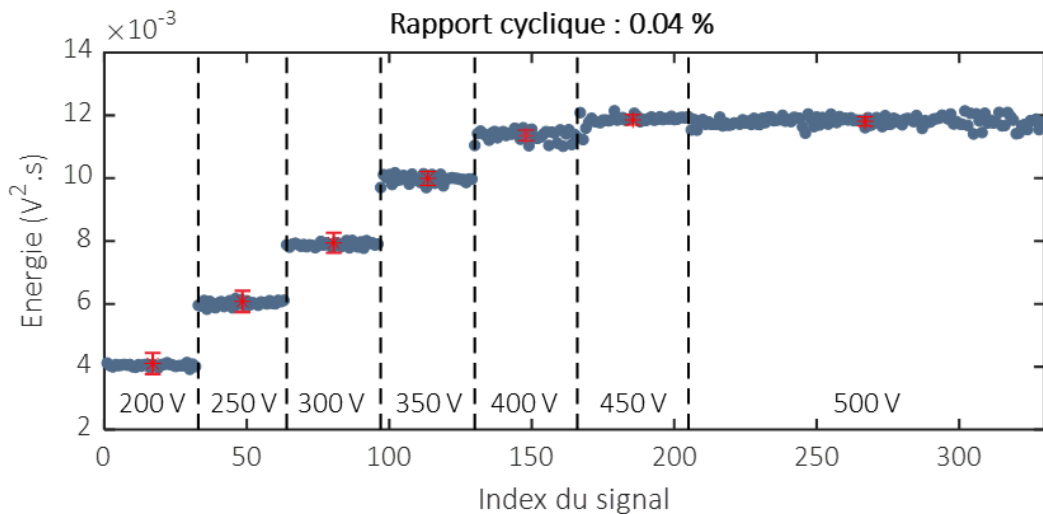
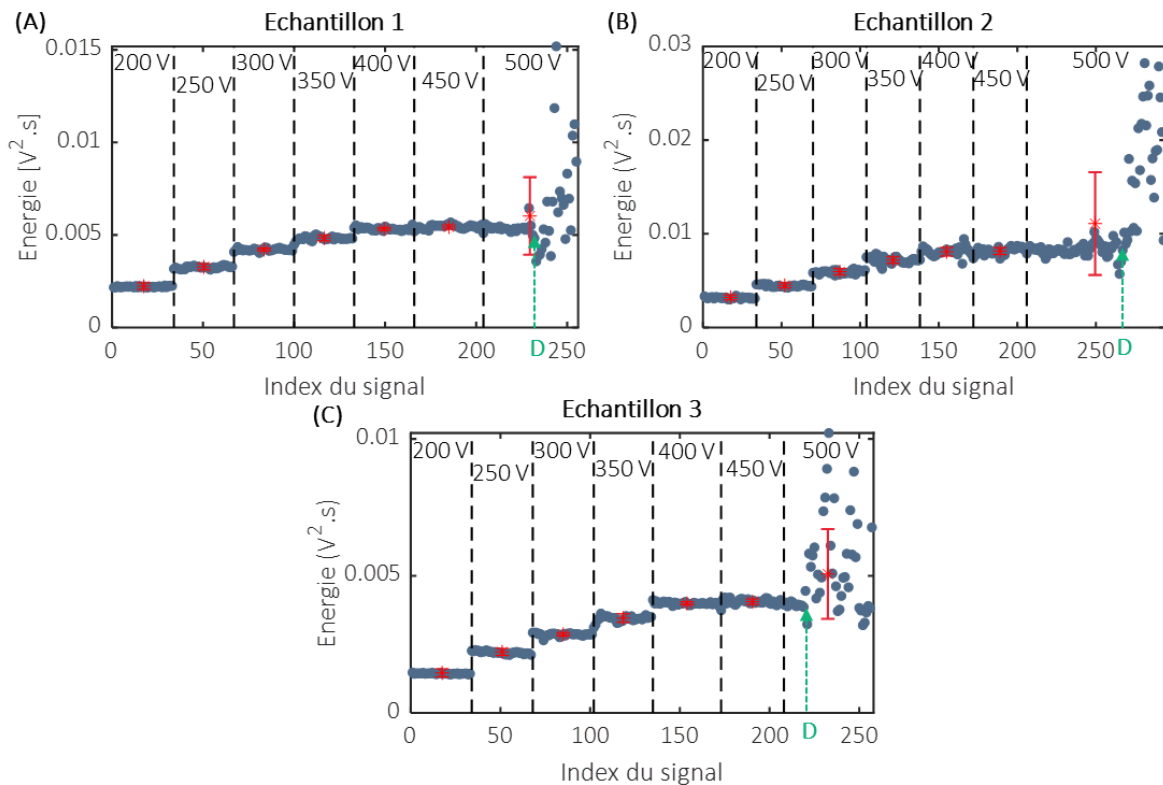


Figure III-17 : Energie des signaux acquis par le PCD en fonction de la tension TDK pour un rapport cyclique de 0.04%

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

L'hypothèse la plus probable, qui expliquerait cette différence de résultat, est la zone ciblée dans le cristallin. Il est possible que pour les cristallins où la cavitation ne s'est pas déclenchée, la focale du transducteur ait été positionnée au centre ou plus en profondeur du cristallin, contrairement aux autres échantillons. Ainsi, il est nécessaire d'étudier le déclenchement de cavitation en fonction de la position du point focal du transducteur au sein du cristallin. Cette étude a montré que le point le plus profond, par rapport à l'interface antérieure du cristallin, pour lequel on arrive à déclencher un nuage de cavitation était situé autour de 3 mm. Cette étude a permis de standardiser l'insonification en ciblant à chaque fois un point se situant à 3 mm de l'interface antérieure. Pour la majorité des échantillons de cristallins, le transducteur Daxsonics a permis de déclencher un nuage de cavitation en utilisant un rapport cyclique de 0.1 %. Trois exemples de résultats sont représentés *Figure III-18*



*Figure III-18 : Exemples de résultats de seuil de déclenchement pour plusieurs échantillons avec un rapport cyclique de 0.1%. La flèche verte indique le moment où le nuage de cavitation se déclenche.*

Sur la *Figure III-18*, on peut remarquer qu'un nuage de cavitation est initié pour tous les échantillons. On peut, également, remarquer que pour une tension de 500V, il est nécessaire d'insonifier le cristallin pendant plusieurs secondes pour déclencher un nuage de cavitation. On peut estimer le temps de déclenchement par rapport au premier signal enregistré pour la tension de 500V. Pour la *Figure III-18A*, l'index du signal correspondant au déclenchement du nuage de cavitation est de 230. Si on le rapporte au premier signal enregistré pour une tension de 500 V, le déclenchement correspond au 26<sup>ème</sup> signal. La fréquence d'acquisition de l'oscilloscope est estimée à 4 Hz, ainsi pour l'exemple A, le temps de déclenchement est d'environ 6.5 s. Pour l'ensemble des échantillons insonifiés avec des bursts de 12 cycles et une PRT de 6 ms, le temps de déclenchement moyen est de  $7.2 \pm 4.2$  s. Pour les échantillons insonifiés avec des bursts de 6 cycles et une PRT de 3 ms, le temps de déclenchement moyen est de  $8.9 \pm 7.6$  s. On peut remarquer qu'il n'y a pas de différences significatives entre les deux groupes. Ainsi,

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

dans ces conditions, le couple nombre de cycles – PRT, équivalent à un même rapport cyclique de 0.1 %, n'as pas d'influence sur le temps de déclenchement. On peut également noter que les temps de déclenchement moyens présentent une barre d'erreur assez importante.

#### b) Simulation de l'échauffement thermique du cristallin

La Figure III-19 présente le résultat de la simulation numérique d'un traitement ultrasonore du cristallin avec les caractéristiques géométriques de la sonde Daxsonics.

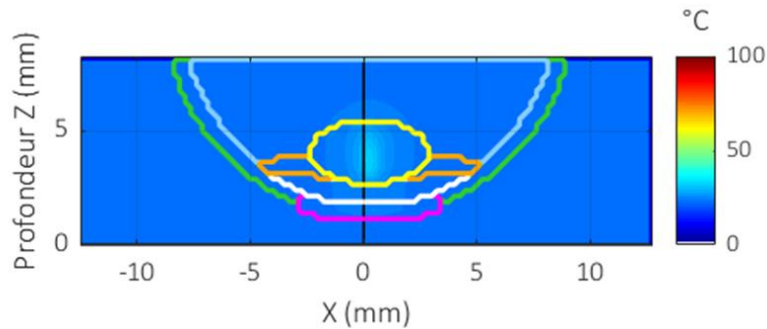


Figure III-19 : Carte des températures dans le modèle numérique d'un œil après la simulation numérique d'un traitement ultrasonore avec le transducteur Daxsonics

La température maximale atteinte dans le cristallin après 5s de traitement est de 32.7°C. Ainsi il y a une élévation de 9.7°C au maximum dans le cristallin. Cette estimation numérique a été réalisée dans un régime linéaire. Or, à cette pression, le profil de l'onde acoustique est non-linéaire et présente même un choc de pression (Figure III-8D). Ainsi, le transfert d'énergie à plus hautes fréquences ne peut pas être négligé. La température maximale atteinte est sous-estimée avec cette simulation. Dans l'étude de Khokhlova et al.<sup>7</sup>, il a été montré que la quantité de chaleur déposée à la focale du transducteur était 4 fois plus grand si on prenait en compte les effets de non-linéarité. Ainsi, pour des gels insonifiés, il a été estimé que la température maximale atteinte à la focale du transducteur était 50% plus haute que celle estimée sans effets non-linéaire.

### 2.3 Conclusion et discussion

Ces expérimentations ont permis de montrer que le transducteur Daxsonics était capable de déclencher un nuage de cavitation dans le cristallin. De plus, un simple PCD a permis de détecter le déclenchement de cette cavitation en mesurant l'énergie du signal ultrasonore moyen et son écart type. En effet, lorsque qu'un nuage se forme, l'énergie captée par le PCD a tendance à devenir très variable signe de l'activité chaotique d'un nuage de bulles. Il a été montré qu'une tension de commande de 450-500V était nécessaire pour nucléer des bulles. La caractérisation expérimentale et numérique de la sonde Daxsonics (Chapitre III – Partie 1) a montré que pour cette tension, la pression négative générée à la focale était estimée à -34.8 MPa. Cette pression de seuil de déclenchement de cavitation est assez similaire à celle estimée dans le Chapitre II – Partie 3 avec la sonde C-4T qui était de -36.6 MPa. Pour ces expérimentations, un seuil intrinsèque de cavitation avait été mesuré puisque l'effet mémoire de cavitation avait été diminué en utilisant un cycle d'insonification et une PRF de 0.3 Hz. De plus, la sonde d'imagerie, utilisée dans l'étude permettait de mesurer la plus petite activité de bulles, qui n'était même

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

pas visible sur l'imagerie B-mode. Pour les expériences menées avec la sonde Daxsonics, on utilise l'effet mémoire pour déclencher un nuage de cavitation en augmentant la PRF et le nombre de cycles. Le signal détecté correspond au déclenchement d'un nuage de cavitation. Ainsi, le déclenchement de la cavitation est dépendant du rapport cyclique. Dans notre étude, il a été montré qu'un rapport cyclique trop faible ( $<0.015\%$ ) n'était pas suffisant pour déclencher un nuage de bulles.

Les différentes expériences ont également montré que le déclenchement de cavitation était dépendant de la localisation de la focale du transducteur au sein du cristallin. En effet, avec cette sonde il paraît difficile d'initier de la cavitation trop loin de la face antérieure. En fixant une position de 3 mm derrière l'interface antérieure, le déclenchement de cavitation était plus répétable.

Nous avons pu observer qu'il était nécessaire d'insonifier le cristallin pendant plusieurs secondes (de l'ordre de 7s) pour initier un nuage de bulles. On peut comparer ce résultat avec ceux obtenus avec la sonde C-4T, étudiée dans le Chapitre II, où le temps de déclenchement était deux fois plus rapide. Ce temps de déclenchement plus rapide peut être expliqué par la fréquence du transducteur plus faible que celle du transducteur Daxsonics : 1.11 MHz contre 2 MHz. En effet, il est plus facile de déclencher de la cavitation avec des fréquences basses en raison de la diminution des effets de non-linéarité. De plus, cette augmentation du temps de déclenchement peut être expliquée par deux hypothèses. La première est que les conditions d'exposition aux ultrasons (0.1 % de rapport cyclique) pourraient augmenter localement la température du cristallin et ainsi réduire petit à petit le seuil de cavitation du cristallin. C'est le phénomène physique utilisé pour l'histotripsie par ébullition. La deuxième hypothèse est que l'exposition successive du cristallin et des fibres cristalliniennes à des ondes de choc pourrait engendrer une déstabilisation de la structure cellulaire. Cela pourrait se traduire par un ramollissement local qui pourrait alors rendre propice le déclenchement d'une activité de cavitation. Des simulations numériques de la BHTE avec les conditions d'insonification expérimentales ont permis de montrer que la température augmentait localement de  $9.7^{\circ}\text{C}$ . Cette valeur est sous-estimée au regard des effets non négligeables de la non-linéarité, montrés par Khokhlova et al.<sup>7</sup>. Ainsi l'augmentation de température devrait être bien plus importante et pourrait expliquer ce déclenchement retardé de la cavitation. Pour étudier plus en détails cette hypothèse, nous pourrions mettre en place des expérimentations où une température de  $37^{\circ}\text{C}$  serait maintenue lors de l'insonification. Nous pourrions étudier l'influence de la température de l'échantillon sur le temps de déclenchement de la cavitation. L'étude de Vlaisavljevich et al.<sup>8</sup> a déjà montré que le seuil intrinsèque de cavitation diminuait lorsque la température du milieu augmentait. Concernant la deuxième hypothèse d'un effet mécanique des ultrasons, nous pourrions l'étudier en diminuant de manière conséquente la PRF, en la fixant par exemple à 1 Hz. Ainsi cela diminuerait l'augmentation locale de la température pendant un traitement. On pourrait, alors, étudier si un nuage de cavitation peut être déclenché par un effet mécanique répété des ondes de chocs sur les fibres cristalliniennes.

Enfin, il a été également observé qu'il y avait une différence entre la position où se déclenchait un nuage de cavitation dans l'eau et dans le cristallin. Cette différence pourrait provenir de la différence de la vitesse de propagation des ultrasons dans le cristallin qui est de 1600 m/s comparé à 1500 m/s dans l'eau. L'étude de Lafon et al.<sup>9</sup> avait déjà montré dans des cristallins bovins que l'intensité maximale des ultrasons avait tendance à se déplacer d'un mm vers le transducteur en raison de la différence d'atténuation et d'impédance acoustique avec l'eau environnante. Ces résultats ont été observés numériquement et expérimentalement. Une même étude sur le déplacement du point d'intensité maximale pourrait être réalisée en prenant en compte les autres structures présentes dans la partie antérieure du globe oculaire comme la cornée.

### 3. Etude de la dissolution des nuages de bulles dans le cristallin

Dans cette étude, on souhaite étudier la dynamique de dissolution du nuage de bulles dans le cristallin après un traitement ultrasonore. En effet la dynamique des bulles au sein d'un tissu est dépendante des caractéristiques du milieu tel que son élasticité. Bader et al.<sup>10</sup> a montré dans son étude que l'expansion maximale des bulles était corrélée à l'élasticité. Plus un milieu est rigide, moins les bulles ont la possibilité de s'expandre. L'étude de Vlaisavljevich et al.<sup>11</sup> a également montré que l'activité des bulles était reliée à l'élasticité environnante. Pour des milieux, présentant un module de Young élevé la croissance des bulles est diminuée comparé à des bulles nucléées dans un milieu plus mou. Les propriétés élastiques du milieu augmenteraient les contraintes exercées sur les bulles empêchant leur dilatation. De plus, la durée de vie des bulles a également tendance à diminuer lorsque le tissu est plus rigide. Autrement dit, plus un milieu est mou, plus les bulles mettent du temps à se dissoudre. C'est la raison pour laquelle, nous souhaitons dans cette étude étudier la dissolution des bulles dans le cristallin après un traitement. A travers le paramètre du temps de dissolution, nous aimerions déduire une information sur l'élasticité du milieu insonifié.

#### 3.1 Matériel et méthode

Pour étudier la dissolution des nuages de cavitation au sein du cristallin, le même montage expérimental de la Partie 2 de ce chapitre a été utilisé. La sonde Daxsonics est alimentée par la chaîne de puissance présentée *Figure III-2*. Pour former un nuage de cavitation au sein d'un cristallin, la tension TDK est réglée à 500V, ce qui correspond à la tension où le plus de cavitation a été déclenché lors de l'étude de seuil de déclenchement. Les échantillons d'œil porcine sont insonifiés pendant plusieurs durées : 5s, 10s ou 15s avec un rapport cyclique de 0.03 % ou 0.1 %. La sonde d'imagerie Quantel, positionnée comme sur la *Figure III-11*, permet d'observer la dissolution du nuage de bulles lorsque le traitement est stoppé. L'échographe clinique permet d'enregistrer 12 s d'images échographiques avec une cadence d'imagerie de 16 images par seconde. Une fois les images enregistrées, la portion du cristallin où s'est déclenché le nuage de cavitation est sélectionnée. Pour chaque image, l'intensité des pixels, qui est comprise entre 0 et 255, est moyennée. On trace ensuite la moyenne des intensités en fonction du temps. On s'attend à observer une baisse de l'intensité moyenne de la zone d'intérêt, correspondant à la dissolution du nuage de bulles au sein du cristallin. La dynamique de dissolution des nuages de bulles est modélisée par une droite avec la fonction *polyfit* de Matlab.

#### 3.2 Résultats

La *Figure III-20A* est une image échographique de la sonde Quantel. Pour cet exemple, les paramètres d'insonification sont les suivants : un rapport cyclique de 0.03 % et un temps de traitement de 5 s. On peut observer la présence d'une zone hyperéchogène à l'intérieur du cristallin, correspondant à un nuage de cavitation. On sélectionne, ainsi une zone d'intérêt (ROI) autour du nuage (pointillés rouges). La *Figure III-20B* représente l'intensité moyenne des pixels appartenant à cette zone d'intérêt, en fonction du temps. On peut observer plusieurs zones distinctes :

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

- La zone (1) correspond au traitement du cristallin par ultrasons. A ce moment-là, aucun nuage ne s'est encore formé dans le cristallin. Les points d'intensité moyenne qui ont des valeurs élevées par rapport aux points de références proches de zéro, correspondent aux faisceaux de thérapie ultrasonore qui sont imagés par la sonde Quantel.
- La zone (2) correspond au traitement du cristallin par ultrasons. Cette fois un nuage de bulles est déclenché. L'intensité moyenne des pixels est réhaussée. Ainsi, le nuage de cavitation est déclenché avec un retard par rapport au début de l'insonification, comme observé dans la Partie 2.
- La zone (3) correspond à l'arrêt de l'insonification et à la dissolution du nuage au sein du tissu. L'intensité moyenne décroît linéairement sur le reste de l'enregistrement.

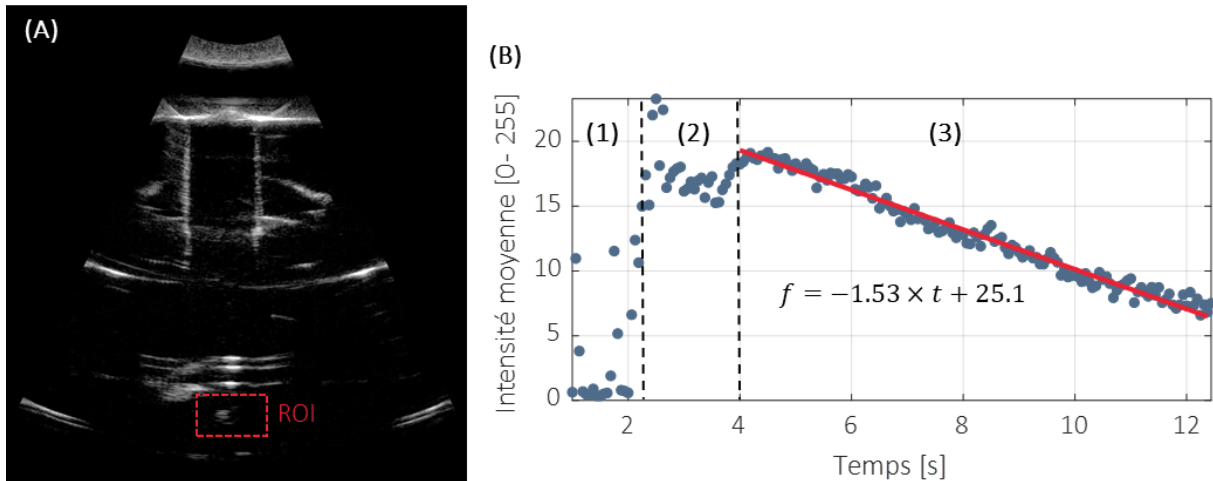


Figure III-20 : (A) : B-mode d'un nuage de cavitation déclenché dans un échantillon de cristallin porcin. Le rectangle rouge correspond à la zone sélectionnée dans le cristallin qui comprend le nuage de cavitation (ROI). (B) Intensité moyenne des pixels de la ROI en fonction du temps. Zone (1) : insonification du cristallin. Zone (2) : insonification et nucléation du nuage de bulles. Zone (3) : arrêt de l'insonification et dissolution du nuage. La droite rouge modélise la dynamique de dissolution du nuage de cavitation.

On modélise la dynamique de dissolution du nuage de cavitation par une droite, représentée en rouge sur la Figure III-20B. Dans ce cas, on trouve un coefficient directeur de -1.53. La Figure III-21 représente des résultats de dynamique de dissolution de nuages de bulles pour plusieurs échantillons traités avec un rapport cyclique de 0.03 % pendant 5 s. On peut observer que les résultats sont très variables d'un échantillon à un autre. En effet, pour les résultats tracés en bleu clair et foncé, les pentes de la dynamique de dissolution du nuage de cavitation sont très différentes. Le résultat en vert montre qu'aucun nuage de cavitation ne s'est déclenché pendant l'insonification. Cette variabilité de résultats peut être expliquée par plusieurs phénomènes. L'absence de déclenchement de nuage de cavitation peut être lié au temps de traitement qui est trop faible par rapport à l'ordre de grandeur du temps de déclenchement estimé dans la Partie 2. Pour obtenir un déclenchement plus répétable, il faudrait insonifier les échantillons pendant plus de temps. La variabilité peut être également liée au positionnement de la focale du transducteur dans le cristallin. Ce constat avait déjà été fait dans la Partie 2, où les courbes de seuil de déclenchement ont révélé une grande variabilité lorsque le positionnement de la focale n'était pas effectué de manière précise et méthodique.



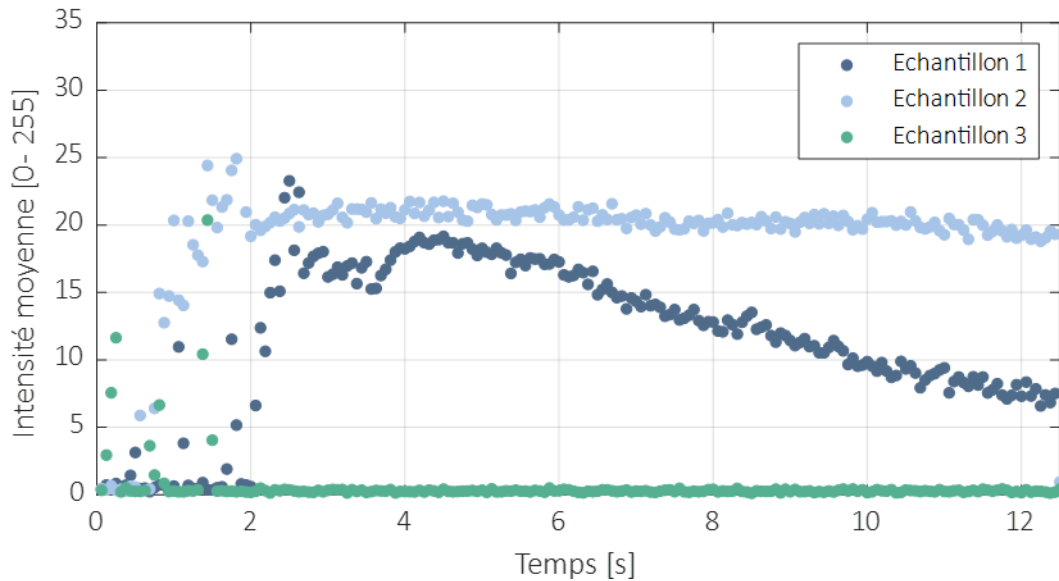


Figure III-21 : Exemples de dynamique de dissolution de nuages de bulles dans différents échantillons pour une insonification de 5 s. Pour l'exemple tracé en vert, aucun nuage ne s'est déclenché.

Les prochains résultats correspondent à des échantillons traités pendant 10 ou 15 s avec un rapport cyclique de 0.1 %. Cette fois la focale du transducteur est positionné à 3 mm de l'interface antérieure du cristallin. Cette distance correspond à la distance la plus profonde pour laquelle on arrive à déclencher un nuage de cavitation (résultat obtenu dans la Partie 2). Dans ces conditions, on obtient une pente moyenne de la dynamique de dissolution de nuages de bulles de  $-0.37 \pm 0.21 \text{ s}^{-1}$  pour un temps de traitement de 15s et pour 4 échantillons. Pour un temps de traitement de 10s et pour 5 échantillons différents, on obtient une pente moyenne de  $-0.46 \pm 0.24 \text{ s}^{-1}$ . On observe une différence entre les deux types de traitement mais qui n'est pas significativement différent. On peut tout de même observer que la dynamique de dissolution du nuage de bulles est plus lente lorsqu'on traite un cristallin pendant 15s que lorsqu'il est traité pendant 10s.

### 3.3 Conclusion et perspectives

Cette étude sur la dynamique de dissolution des bulles a montré des résultats assez variables d'un échantillon à un autre. On a pu observer des temps de dissolution allant de  $0.10 \text{ s}^{-1}$  jusqu'à  $0.69 \text{ s}^{-1}$ . Cette variabilité pourrait provenir de la zone ciblée par le traitement ultrasonore. En effet, une profondeur de 3 mm derrière l'interface antérieure a été choisie pour le traitement mais il est difficile de savoir si transversalement, le positionnement était toujours le même. Le ciblage du cristallin doit donc être améliorée pour être sûre que la focale du transducteur est bien alignée avec l'axe de symétrie du cristallin. De plus, l'élasticité du cristallin n'est pas homogène, puisqu'il existe un gradient d'élasticité de l'interface vers le centre. Ainsi, il est difficile de conclure sur l'information que peut nous donner l'observation de la vitesse de dissolution des bulles dans le cristallin sans savoir exactement où le traitement est effectué.

Pour améliorer la compréhension du phénomène physique, une étude sur des gels dont l'élasticité est connue pourrait être mise en place. Nous pourrions créer des gels d'agarose en faisant varier le pourcentage de poudre d'agarose qu'on dissout dans l'eau pour obtenir des gels plus ou moins durs. Cette élasticité pourrait être mesurée par des techniques d'élastographies ultrasonores (méthodes

### Chapitre III: Caractérisation d'une sonde de thérapie pour le traitement de la presbytie

présentées dans le Chapitre I – Partie 3). Puis, des nuages de cavitation seraient créés par ultrasons avec la sonde Daxsonics. Suite au traitement, nous pourrions observer la dynamique de dissolution du nuage de cavitation et observer s'il existe des différences de temps de dissolution entre des gels durs et des gels mous.

Enfin, l'observation de la dynamique de dissolution de bulles a été réalisée sur une durée de l'ordre de la dizaine de seconde avec une cadence d'imagerie de 15 Hz. Dans l'étude Vlasisavljevich et al.<sup>11</sup>, l'observation de la dynamique des bulles est réalisée sur une échelle de temps de l'ordre de la centaine de  $\mu$ s avec une caméra optique ultra rapide. Pour observer des différences de dynamique de dissolution de bulles, une observation juste après la fin du traitement avec une cadence d'imagerie beaucoup plus rapide serait peut-être plus intéressante. Cela pourrait être mis en place si on ajoute une sonde d'imagerie compatible avec la Verasonics, permettant d'utiliser une cadence d'imagerie ultra-rapide. Prieur et al.<sup>12</sup> avait déjà observé la dynamique des bulles entre des excitations ultrasonores avec un échographe Verasonics, permettant d'acquérir des images à une cadence d'imagerie de plusieurs milliers d'images par seconde. En utilisant des algorithmes de corrélation entre images, le nuage de cavitation a pu être localisé comme une zone de décorrélation due à son activité chaotique, à ses mouvements rapides et sa dissolution. Dans l'étude de Bader et al.<sup>13</sup>, une cadence d'imagerie de plus de 11 kHz a été utilisée pour imager le nuage de bulles pendant 50 ms après le traitement ultrasonore. Il a été montré que la dynamique des bulles suivait bien un modèle analytique décrivant le temps de dissolution. Des temps de dissolution allant de 200 à 1000 ms ont été trouvés. Ainsi, imager les bulles avec une cadence d'imagerie ultra rapide permettrait d'étudier plus précisément leur dissolution et de la caractériser avec un modèle analytique. Une première approche pourrait être développée dans des gels d'élasticité connue puis dans le cristallin.

#### Conclusion du Chapitre III :

Ce chapitre a permis de présenter une caractérisation en pression de la sonde de thérapie Daxsonics sur une large gamme de tensions de commande, en alliant des mesures expérimentales et une étude numérique. Ainsi une méthodologie a été développée pour quantifier les hautes pressions, difficiles à mesurer avec l'hydrophone à fibre optique. La sonde Daxsonics a permis de déclencher des nuages de cavitation de manière répétable dans plusieurs échantillons de cristallins. Il a été montré que les conditions les plus optimales pour un déclenchement répétable était de positionner la focale du transducteur à 3 mm de la face antérieure du cristallin et d'utiliser un rapport cyclique de 0.1%. Si une PRF trop faible est utilisée, aucun nuage de cavitation n'est visible. Pour initier un nuage de cavitation, une tension TDK de commande de 500 V et donc une pression de -34.8 MPa sont nécessaires. Cependant, la mesure de seuil de cavitation a montré que le nuage de cavitation ne se déclenchait pas immédiatement après le début de l'insonification avec une tension de 500 V mais avec un retard de 2 à 22 s. Ce résultat pourrait être expliqué par deux phénomènes : une augmentation progressive de la température locale du cristallin ou une stimulation mécanique des fibres cristalliniennes par choc de pression diminuant le seuil intrinsèque de cavitation. Des études plus approfondies pourraient permettre de déterminer si ce temps de déclenchement retardé est lié à un des deux phénomènes ou aux deux cumulés. S'il existe un effet mécanique des chocs de pression sur le matériel biologique du cristallin, il serait également intéressant d'étudier si cela peut ramollir le cristallin sans forcément avoir à déclencher de la cavitation. La dernière partie a permis d'étudier la dynamique de dissolution de nuage de bulles après traitement. La corrélation entre la vitesse de dissolution et l'élasticité locale du cristallin reste encore à être démontrée. Par conséquent, des études approfondies sur des gels dont l'élasticité est bien caractérisée devront être mises en place afin de mieux comprendre le lien entre le temps de dissolution et l'élasticité locale.

Enfin, au cours de l'ensemble de ces expérimentations, il a été observé qu'il était parfois difficile de positionner la focale du transducteur de manière répétable dans le cristallin même en fixant une profondeur de 3 mm. Ainsi cette variabilité pourrait expliquer des temps de déclenchement très différents d'un échantillon à un autre ou parfois l'absence de déclenchement de cavitation. En effet l'imagerie échographique permet de se positionner en 2D dans le cristallin mais ne permet pas de vérifier précisément si la focale du transducteur est bien centrée sur l'axe de symétrie du cristallin. Ainsi, une amélioration du dispositif serait d'utiliser une pièce mécanique pour fixer la sonde d'imagerie au-dessus de la sonde Daxsonics. La sonde d'imagerie serait donc toujours dans la même position, alignée parfaitement avec l'ouverture interne du transducteur. Cette pièce mécanique pourrait être reliée au bras robotique du robot 7 axes. Ainsi, pour visualiser si le transducteur est centré sur l'axe de symétrie du cristallin, deux images échographiques pourraient être réalisées en tournant de 90° l'ensemble sonde d'imagerie – sonde Daxsonics. Le principe de ce protocole est représenté *Figure III-22*.

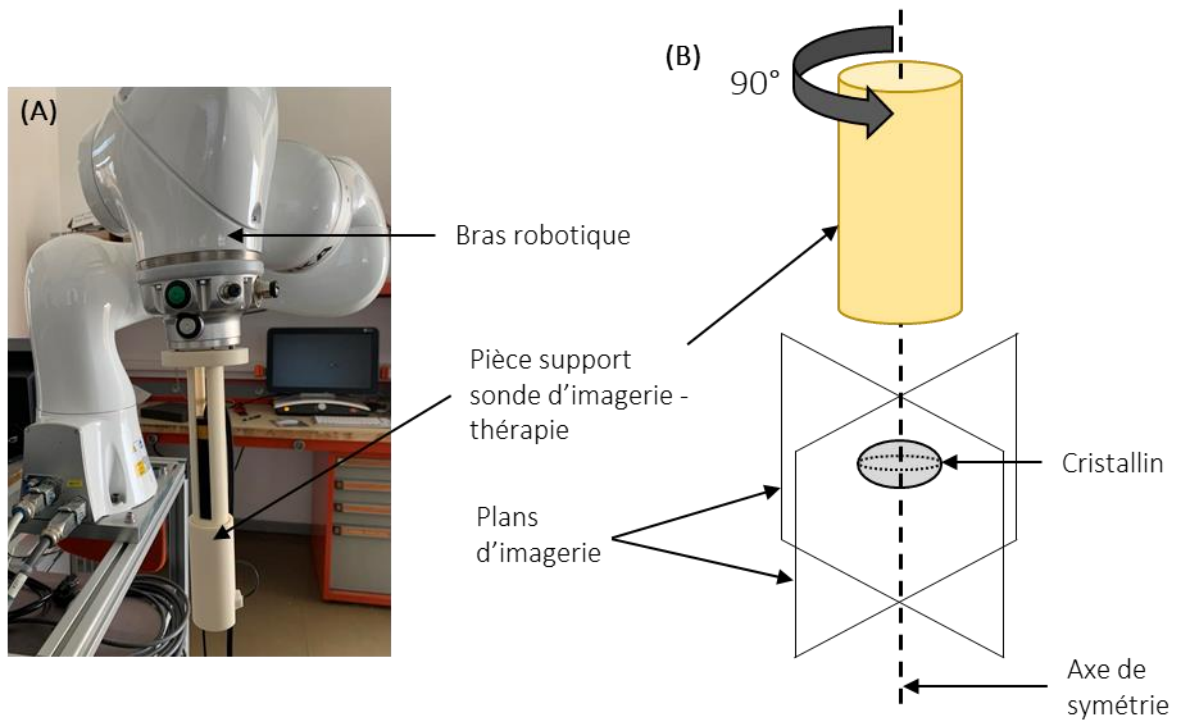


Figure III-22 : Photographie de la pièce mécanique fixant la position de la sonde d'imagerie par rapport à la sonde de thérapie (A) et schéma de principe (B) du protocole d'alignement de la focale du transducteur sur l'axe de symétrie du cristallin

Références bibliographiques du Chapitre III :

1. P. V. Yuldashev, M. M. Karzova, W. Kreider, *et al.*, "HIFU Beam: A Simulator for Predicting Axially Symmetric Nonlinear Acoustic Fields Generated by Focused Transducers in a Layered Medium," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 68, no. 9, pp. 2837–2852, Sep. 2021, doi: 10.1109/TUFFC.2021.3074611.
2. T. Khokhlova, P. Rosnitskiy, C. Hunter, *et al.*, "Dependence of inertial cavitation induced by high intensity focused ultrasound on transducer  $F$ -number and nonlinear waveform distortion," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 144, no. 3, pp. 1160–1169, Sep. 2018, doi: 10.1121/1.5052260.
3. M. Lafond, "Confocal Ultrasound for the Potentiation of Chemotherapy by Ultrasonic Cavitation without External Nucleation Agents," 2016.
4. O. A. Sapozhnikov, S. A. Tsysar, V. A. Khokhlova, *et al.*, "Acoustic holography as a metrological tool for characterizing medical ultrasound sources and fields," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 138, no. 3, pp. 1515–1532, Sep. 2015, doi: 10.1121/1.4928396.
5. W. Kreider, P. V. Yuldashev, O. A. Sapozhnikov, *et al.*, "Characterization of a multi-element clinical HIFU system using acoustic holography and nonlinear modeling," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 60, no. 8, pp. 1683–1698, Aug. 2013, doi: 10.1109/TUFFC.2013.2750.
6. M. Nabili, C. Geist, and V. Zderic, "Thermal safety of ultrasound-enhanced ocular drug delivery: A modeling study," *Med. Phys.*, vol. 42, no. 10, pp. 5604–5615, 2015, doi: 10.1118/1.4929553.
7. V. A. Khokhlova, M. R. Bailey, J. A. Reed, *et al.*, "Effects of nonlinear propagation, cavitation, and boiling in lesion formation by high intensity focused ultrasound in a gel phantom," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 119, no. 3, pp. 1834–1848, Mar. 2006, doi: 10.1121/1.2161440.
8. E. Vlaisavljevich, Z. Xu, A. D. Maxwell, *et al.*, "Effects of Temperature on the Histotripsy Intrinsic Threshold for Cavitation," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 63, no. 8, pp. 1064–1077, Aug. 2016, doi: 10.1109/TUFFC.2016.2565612.
9. C. Lafon, V. A. Khokhlova, P. J. Kaczkowski, *et al.*, "Use of a bovine eye lens for observation of HIFU-induced lesions in real-time," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 32, no. 11, pp. 1731–1741, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2006.07.035.
10. K. B. Bader, "The influence of medium elasticity on the prediction of histotripsy-induced bubble expansion and erythrocyte viability," *Phys. Med. Biol.*, vol. 63, no. 9, p. 095010, May 2018, doi: 10.1088/1361-6560/aab79b.
11. E. Vlaisavljevich, K.-W. Lin, M. T. Warnez, *et al.*, "Effects of tissue stiffness, ultrasound frequency, and pressure on histotripsy-induced cavitation bubble behavior," *Phys. Med. Biol.*, vol. 60, no. 6, pp. 2271–2292, Mar. 2015, doi: 10.1088/0031-9155/60/6/2271.
12. F. Prieur, A. Zorgani, S. Catheline, *et al.*, "Observation of a cavitation cloud in tissue using correlation between ultrafast ultrasound images," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 62, no. 7, pp. 1256–1264, Jul. 2015, doi: 10.1109/TUFFC.2014.006905.
13. K. B. Bader, S. A. Hendley, G. J. Anthony, *et al.*, "Observation and modulation of the dissolution of histotripsy-induced bubble clouds with high-frame rate plane wave imaging," *Phys. Med. Biol.*, vol. 64, no. 11, p. 115012, May 2019, doi: 10.1088/1361-6560/ab1a64

# Chapitre IV : Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

## Introduction :

Dans le Chapitre I, présentant les causes biologiques potentielles de la rigidification du cristallin, plusieurs cibles de traitement ont été identifiées. L'une de ces cibles est la destruction des agrégats de protéines qui permettrait de redonner de la souplesse au cristallin. Ainsi, dans ce chapitre, la première partie présentera une expérimentation préliminaire qui étudiera les effets de la cavitation pour la destruction d'agrégats de protéines. Avec cette expérience, nous souhaitons également évaluer si les méthodes d'élastographie par corrélation de bruit sont capables de mesurer un potentiel assouplissement après traitement ultrasonore. Puis, la suite de ce chapitre se concentrera sur l'adaptation des algorithmes de corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin. En effet, ces méthodes permettront d'appréhender les problématiques liées à la propagation d'ondes dans des milieux finis. De plus, elles sont basées seulement sur la propagation d'ondes de surface. Ainsi, nous pourrions répondre à la seconde problématique qui est l'absence de *speckle* au sein du cristallin. Ces algorithmes seront également évalués pour détecter un changement d'élasticité au cours d'un éventuel traitement du cristallin.

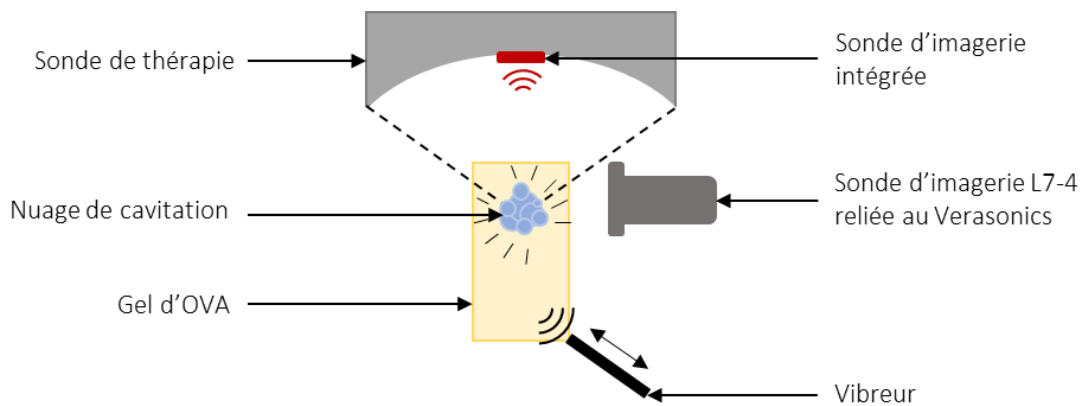
### 1. Expérimentations préliminaires : effet de la cavitation ultrasonore sur l'élasticité de gels d'ovalbumine

Des gels d'ovalbumine (OVA) sont fabriqués afin de modéliser les liaisons chimiques aboutissant aux agrégats de protéines dans le cristallin lors de son vieillissement. Il a été montré que les ponts disulfures étaient une des liaisons moléculaires qui se formaient lors de l'agrégation des protéines de cristallines<sup>1</sup>. Leur dissolution pourrait permettre de redonner de l'élasticité au cristallin<sup>2</sup>. L'ovalbumine représente 60 à 65 % des protéines du blanc d'œuf<sup>3</sup>. Son processus d'agrégation est semblable à celui des cristallines. En effet, lorsque les protéines d'OVA s'agrègent, celles-ci se déplient et adoptent un nouveau type de conformation. Puis, leurs molécules se dénaturent lentement pour finalement interagir les unes avec les autres et former un réseau en trois dimensions : des agrégats. Il a été montré que cette agrégation était en partie due à la formation de liaisons disulfures sous l'action de la chaleur<sup>4,5</sup>. Il a également été étudié que le pH du milieu avait une influence sur la microstructure formée lors de la gélification de ces gels. En effet, les agrégats de protéines peuvent varier en taille et en densité. Ainsi le pH peut influencer sur la dureté du gel formé<sup>4-6</sup>. Le but de cette expérience est donc de fabriquer des gels à partir de l'agrégation de protéines d'ovalbumine et de montrer que la cavitation peut détruire ces agrégats. Des mesures d'élasticité par élastographie par ondes de cisaillement et de l'imagerie passive de l'activité de cavitation seront mises en place pour surveiller le traitement ultrasonore.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### 1.1 Matériel et méthode

La fabrication des gels d'OVA est inspirée de différentes études<sup>4-6</sup>. Ainsi, de la poudre de blanc d'œuf (Blanc Gallia, Louis François) est dissoute dans de l'eau à une concentration de 12 % (12 g pour 100 mL d'eau). Une concentration de 0.5 % de poudre de graphite (Graphite Powder, Fisher Scientific) est ajoutée au mélange pour obtenir des diffuseurs ultrasonores. Ce mélange est versé dans des moules cylindriques puis chauffé à 75 °C pendant 1 h afin qu'il se gélifie. Une fois les gels refroidis, le montage expérimental, présenté *Figure IV-* est mis en place dans une cuve d'eau dégazée. Une sonde de thérapie (SonicConcepts Inc., USA) est positionnée dans la cuve. Cette sonde est composée d'un transducteur ultrasonore sphérique de fréquence centrale 1.16 MHz. Une sonde d'imagerie linéaire de 64 éléments, dont la fréquence centrale est de 6.5 MHz (IP-107, SonicConcepts Inc., USA), est intégrée au centre du dispositif. La sonde de thérapie émet des impulsions ultrasonores de 44 cycles avec une fréquence de répétition de 250 Hz. Elle est alimentée par un amplificateur de puissance de 400 W (1040L, E&I, USA). La focale du transducteur est positionnée à 2 cm de profondeur dans un échantillon de gel d'OVA afin d'y déclencher un nuage de cavitation. Une sonde d'imagerie (L7-4, Vermon, France) de fréquence centrale 5 MHz et compatible avec un échographe Verasonics est placée perpendiculairement à l'axe acoustique de la sonde thérapie. La sonde d'imagerie est positionnée de telle sorte que le nuage de cavitation soit visible sur le B-mode. Elle permet d'acquérir passivement les signaux ultrasonores d'activité de cavitation pendant l'insonification. Cette dernière est stoppée après 15 s de traitement, puis 30 s, 125 s, 625 s et 1000 s. Pour chaque arrêt, 2000 images, chacune formée de 5 angles, sont acquises à une cadence d'imagerie de 2000 frames/s. Pendant l'acquisition ultra-rapide, des ondes de cisaillement sont produites par la mise en contact d'un vibreur mécanique avec le gel d'OVA. Ce vibreur mécanique est alimenté par une impulsion de 500 ms balayant des fréquences comprises entre 0.1 kHz et 1 kHz.



*Figure IV-1 : Montage expérimental pour la génération de cavitation au sein d'un gel d'OVA, permettant également la mesure d'élasticité par élastographie ultrasonore et la reconstruction de l'activité de cavitation par imagerie passive de la cavitation.*

#### Reconstruction de la carte d'activité de cavitation :

Pour cartographier et suivre l'activité de cavitation pendant les traitements ultrasonores, des signaux d'activité de cavitation sont acquis passivement par la sonde d'imagerie L7-4. Afin de reconstruire des cartes d'activité de cavitation au sein du gel traité, un algorithme de DSI est appliqué

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

dans le domaine fréquentiel. Le principe de cet algorithme a été présenté dans le Chapitre I - Partie 2. Pour optimiser le temps de calcul, on applique cet algorithme seulement sur les pixels correspondant au gel d'OVA. Les bandes passantes de fréquences de reconstruction sont situées entre la fréquence fondamentale (1.11 MHz) et les différentes fréquences harmoniques (2.22 MHz, 3.33 MHz...).

### Elastographie par ondes de cisaillement :

Entre chaque pause du traitement ultrasonore, une acquisition ultra-rapide d'images a été réalisée avec la sonde L7-4. Cette acquisition permet de suivre de manière précise les ondes se propageant dans le gel, produites par le vibreur mécanique. Puis on applique un algorithme de suivi de phase sur les images acquises pour reconstruire les déplacements au sein du gel. Le principe est de calculer la variation de phase entre deux images successives<sup>7</sup>. Les algorithmes de corrélation de bruit sont ensuite appliqués aux matrices de déplacement pour obtenir une estimation de la vitesse en chaque point de l'image. Cette méthode, basée sur la théorie du retournement temporel, a été présentée dans le Chapitre I – Partie 3. D'après la théorie de l'élastographie par corrélation de bruit, la vitesse des ondes de cisaillement,  $c_T$ , peut être définie, telle que :

$$c_T(r_s) \approx \sqrt{\frac{V^{RT}(0,0)}{\xi^{RT}(0,0)}},$$

*Équation IV-1*

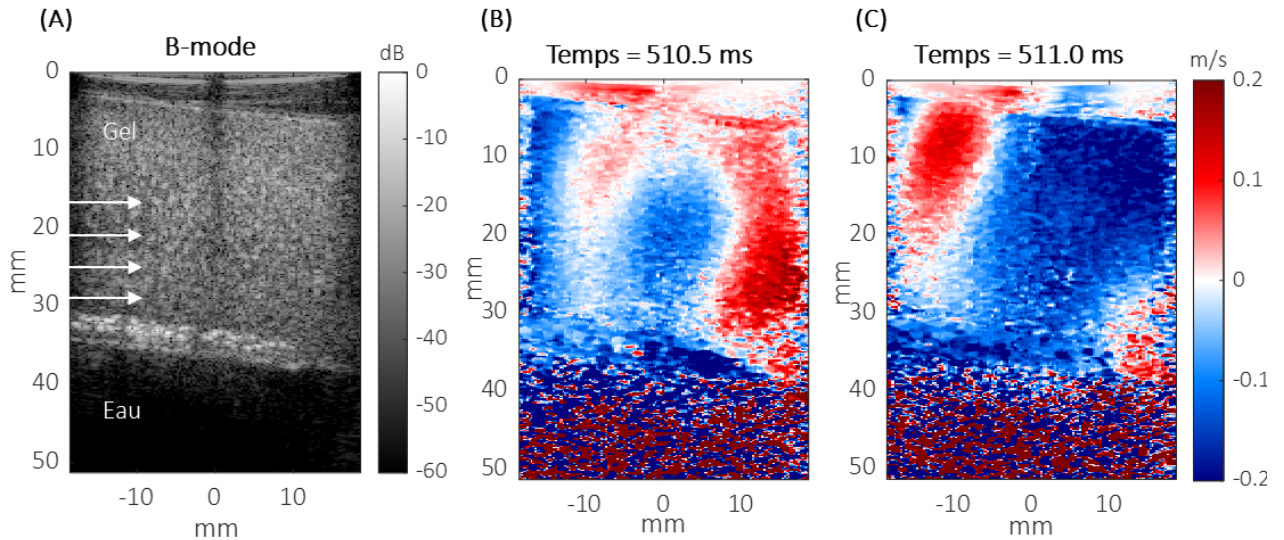
avec  $r_s$ , la pseudo-source, où on souhaite estimer la vitesse,  $V^{RT}$ , le champ de vitesse retourné temporellement et  $\xi^{RT}$ , le champ de contrainte retourné temporellement. Numériquement, le champ de déplacement est dérivé spatialement sur l'ensemble de l'image, pour obtenir le champ de contrainte. Pour obtenir le champ de vitesse, on dérive temporellement le champ de déplacement. Les matrices de contrainte et de vitesse sont ensuite auto-corrélées. Pour chaque temps de pause : 25 s, 30 s, 125 s, 625 s et 1000 s, une cartographie de la vitesse des ondes de cisaillement est obtenue. On calcule également le ratio de la matrice de vitesse après traitement sur celle avant traitement pour illustrer l'effet de la cavitation.



## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

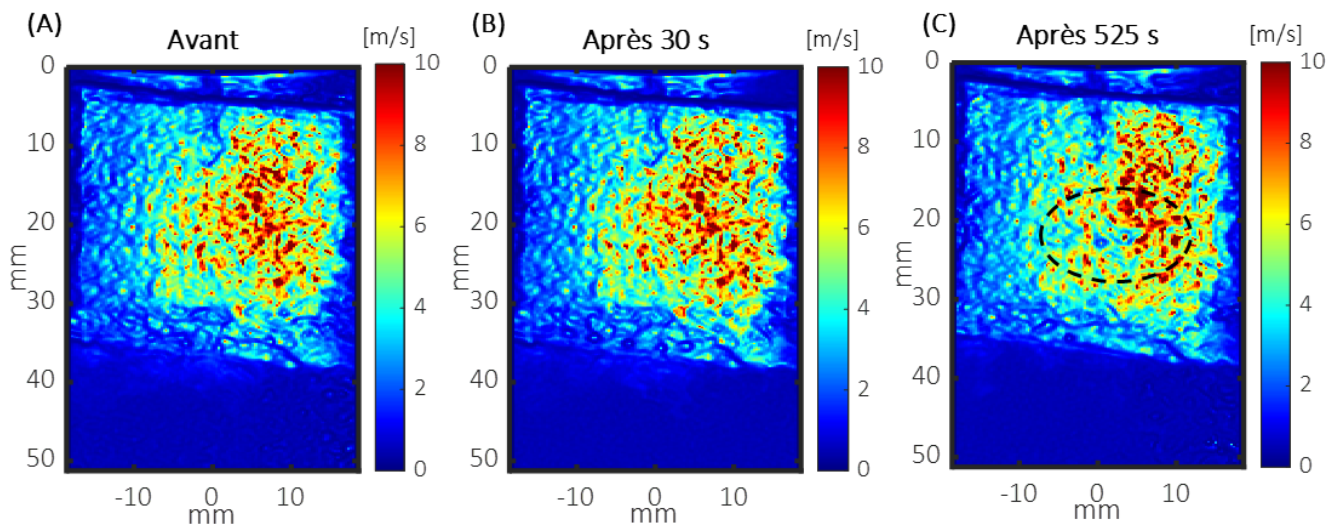
### 1.2 Résultats

Sur la *Figure IV-2A*, on peut observer le B-mode d'un gel d'OVA, acquis avec la sonde L7-4. La sonde de thérapie ultrasonore est située à la gauche du gel sur le B-mode. Les *Figure IV-2B-C* sont des instantanés du champ de déplacements reconstruits avec un algorithme de suivi de phase. On peut noter que le champ d'onde obtenu est diffus, il n'y a pas de direction de propagation privilégiée. La zone correspondant à l'eau est bruitée car il n'y a aucun *speckle* ultrasonore à suivre.



*Figure IV-2 : (A) B-mode d'un gel d'OVA. Les flèches blanches indiquent la direction de propagation du faisceau de thérapie ultrasonore. (B) et (C) Instantanés successifs des déplacements*

La *Figure IV-3* présente les cartographies de vitesse de cisaillement dans un échantillon d'OVA avant traitement, après 30s de traitement et après 525s de traitement. Ces cartes ont été obtenues avec les algorithmes de corrélation de bruit.



*Figure IV-3 : Cartes de vitesse des ondes de cisaillement reconstruites avec l'algorithme de corrélation de bruit. (A) : Carte avant insonification ; (B) : Carte après 30 s d'insonification et (C) : Carte après 525 s d'insonification.*

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

D'après la *Figure IV-3A*, on peut observer que le gel d'OVA n'est pas uniforme en termes d'élasticité avec des zones autour de 10 m/s et des zones proches de 2 m/s. Sur la *Figure IV-3B*, après 30 s de traitement, la carte des vitesses des ondes de cisaillement est similaire à celle avant traitement. Celle obtenue après 525 s de traitement, présente une zone où les valeurs de vitesse ont diminué. En effet, la zone entourée en pointillés rouges, sur la *Figure IV-3C*, présente des valeurs de vitesse autour de 2 m/s. Avant traitement (*Figure IV-3A*), cette même zone présentait des valeurs de vitesse autour de 10 m/s. Il semblerait qu'un traitement ultrasonore de 525 s soit nécessaire pour ramollir localement un gel d'OVA.

Ainsi les cartes de ratio des matrices de vitesse après 525s de traitement sur les matrices de vitesse avant traitement sont calculées pour trois échantillons différents de gels d'OVA. Les *Figure IV-4A-B-C* présentent ces cartes superposées au B-mode. Elles ont été seuillées à 0.7 pour mettre en valeur la zone qui semble ramollie par rapport au reste du gel, présentant un ratio proche de 1. Pour les trois échantillons, on peut observer une zone où la valeur du ratio de vitesse est inférieure à 0.7. Cette zone se situe à environ 2 cm de profondeur de la surface du gel. Pour l'échantillon 1 cette zone est plus visible que pour les deux autres échantillons. Cette différence peut venir d'un meilleur centrage de la sonde d'imagerie L7-4 dans le plan du gel, où le traitement ultrasonore a été appliqué. Les *Figure IV-4D-E-F* présentent les cartes de reconstruction de l'activité de cavitation, superposées sur le B-mode. On peut y observer que les zones où elle est la plus intense correspondent aux zones présentant une diminution de la vitesse des ondes de cisaillement. Ainsi, les zones de ramollissement, obtenues par élastographie par ondes de cisaillement, semblent avoir été causées par l'activité de cavitation ultrasonore.

La *Figure IV-5* représente deux photographies de deux échantillons de gel d'OVA après 1000 s de traitement. Ils sont découpés en deux et positionnés de telle sorte que la partie gauche corresponde à la zone d'entrée du faisceau ultrasonore de thérapie. Une zone est délimitée en rouge, située à 2 cm de profondeur environ de la surface du gel. Ces zones correspondent aux zones de ramollissement obtenues sur les cartographies de vitesse des ondes de cisaillement (*Figure IV-4*). Visuellement, elles paraissent liquéfiées par l'activité de cavitation.

**Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin**

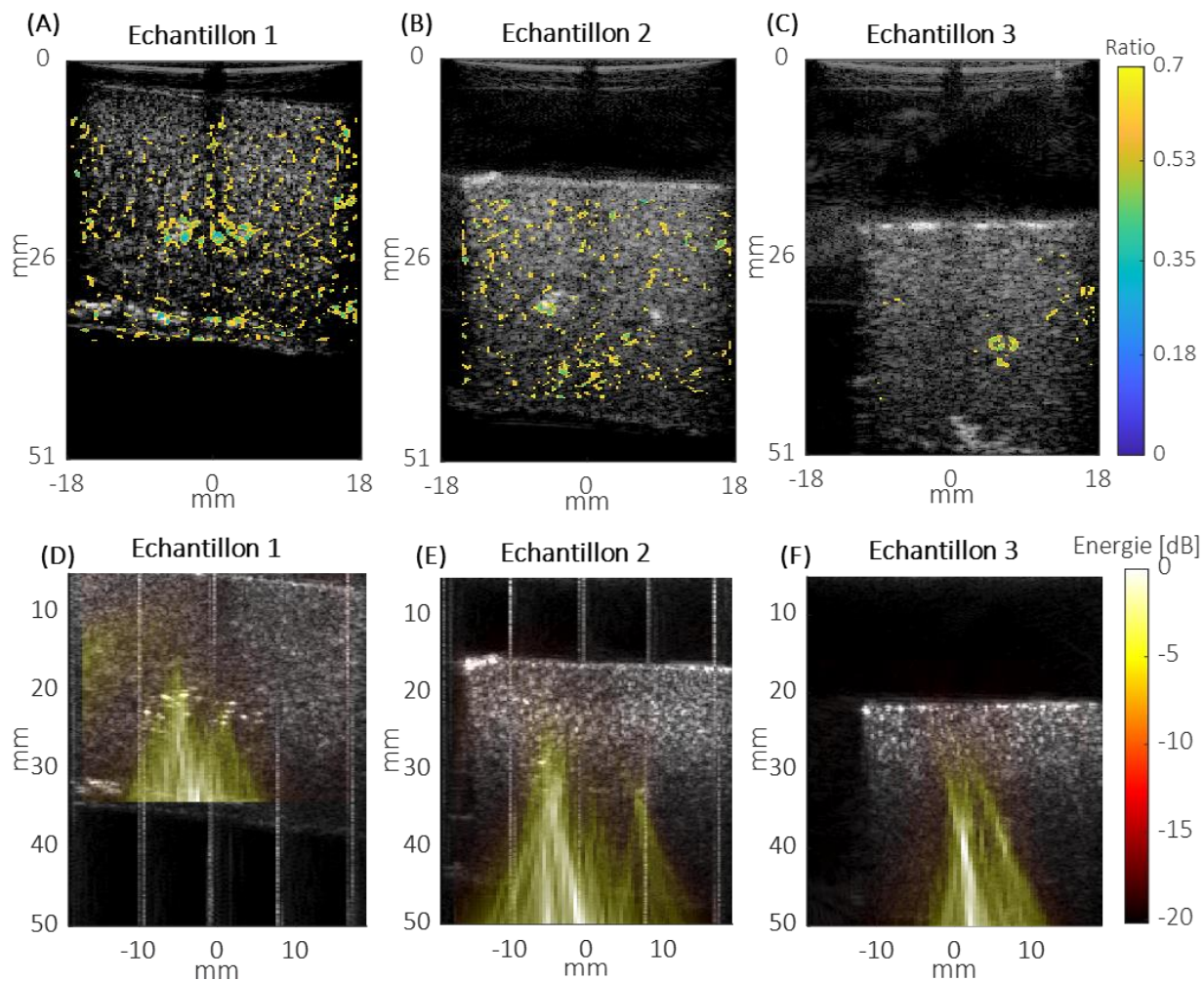


Figure IV-4 : (A), (B) et (C) : Cartes des ratios de vitesse des ondes de cisaillement après 525 s de traitement, seuillées à 0.7 et superposées au B-mode correspondant, pour 3 échantillons différents de gels d'OVA. (D), (E) et (F) : Cartes des activités de cavitation pendant le traitement pour 3 échantillons différents de gels d'OVA.

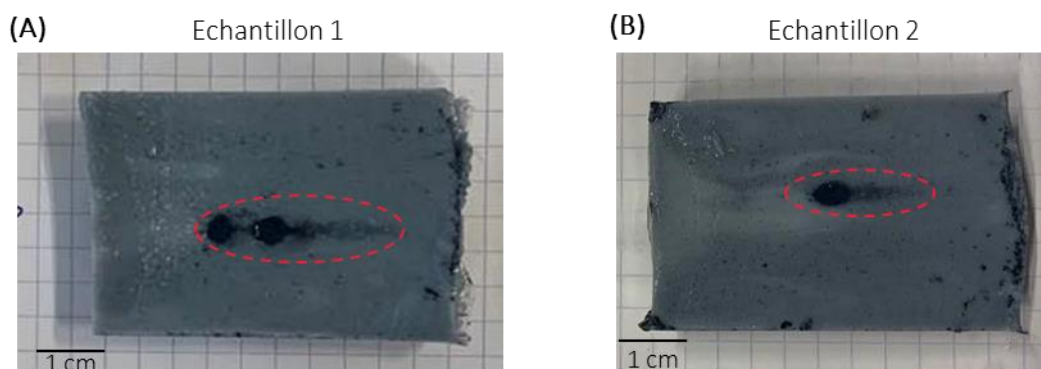


Figure IV-5 : Photographies des gels d'OVA découpés après une insonification de 1000 s. Les pointillés rouges localisent la lésion.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### 1.3 Discussion

Cette expérience préliminaire visait à montrer la faisabilité de détruire, grâce à l'activité de cavitation des agrégats de protéines formés à partir de liaisons disulfures. Les méthodes d'élastographie par corrélation de bruit ont été évaluées pour suivre le changement d'élasticité au cours du traitement ultrasonore. Il a été montré qu'une zone du gel était ramollie après 525 s de traitement ultrasonore. Cette zone correspond à l'endroit où se situait l'activité de cavitation la plus intense mesurée par imagerie passive de cavitation. Enfin, l'observation macroscopique de ces gels après traitement a permis de visualiser la lésion comme une zone liquéfiée. Ainsi la cavitation semble responsable du ramollissement local du gel d'OVA et les méthodes d'élastographie par corrélation de bruit sont capables de détecter ce changement d'élasticité au sein d'un gel.

Cette expérience préliminaire a permis de modéliser, simplement, une des structures moléculaires présente dans des cristallins rigidifiés. Cependant, le protocole expérimental pourrait être amélioré. Le temps de traitement est assez long, ce qui peut être expliqué par la dureté du gel. En effet, d'après les mesures d'élastographie par ondes de cisaillement, certaines zones du gel présentent une vitesse des ondes de cisaillement de l'ordre de 10 m/s. Pour se rapprocher des valeurs d'élasticité du cristallin, plutôt autour de 3 m/s, il faudrait adapter la fabrication du gel en diminuant la concentration d'OVA ou en diminuant le temps de chauffage. De plus, il reste à démontrer que ce processus de ramollissement est bien dû à la destruction des liaisons disulfures. Pour cela il serait intéressant d'analyser avec des méthodes de spectroscopie de Raman, la composition moléculaire des gels traités. Ainsi nous pourrions en déduire une information quantitative sur l'effet des ultrasons sur la destruction de ces liaisons disulfures à la fois dans la région de ramollissement et dans la zone adjacente à celle-ci. Pour simplifier l'analyse, il serait intéressant de travailler sur des gels formés à 100 % de protéines d'ovalbumine. En effet, dans notre étude nous utilisons de la poudre de blanc d'œuf qui n'est composé que de 60 % à 65 % de protéines d'ovalbumine. Enfin, cette méthode d'analyse moléculaire pourrait être utilisée pour analyser les cristallins traités aux ultrasons et ainsi étudier l'effet de la cavitation sur la structure du cristallin, plus précisément sur les liaisons disulfures.

Au cours du traitement ultrasonore, l'élastographie par corrélation de bruit a permis d'identifier la zone de ramollissement. Ainsi cette méthode semble adapter pour surveiller un traitement ultrasonore du cristallin visant à l'assouplir. Cependant, cette méthode n'est pas directement applicable pour évaluer l'élasticité du cristallin (petite taille et absence de *speckle*). Ainsi dans la suite de ce chapitre, nous avons choisi de mettre en place plusieurs études sur des modèles simples et homogènes, dont la taille est du même ordre de grandeur que celle du cristallin. Elles permettront d'appréhender les problématiques liées à la propagation d'ondes dans des milieux finis. De plus, ces études présenteront également le développement d'une méthode de mesure d'élasticité seulement basée sur la propagation d'ondes de surface. Puis, ces algorithmes seront appliqués sur des échantillons de cristallin porcins excisés de l'œil. Enfin, cette méthode sera également évaluée pour détecter une rigidification au sein du cristallin. Cette partie est primordiale pour envisager l'élastographie comme moyen de suivi d'un traitement du cristallin par cavitation ultrasonore. En effet, ne connaissant pas encore les effets de la cavitation ultrasonore sur son élasticité, détecter une rigidification locale permettra de conclure sur la faisabilité de la méthode.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### 2. Application des algorithmes d'élastographie par corrélation de bruit aux ondes de surface

Cette première partie présente le développement d'une méthode d'élastographie par ondes de surface dont le principe est basé sur les algorithmes de corrélation de bruit. Nous utiliserons des gels plans d'agarose et de gélatine de porc pour mettre en œuvre cette méthode et pour la valider en déterminant de manière quantitative leurs paramètres viscoélastiques.

#### 2.1 Méthode

##### a) Montage expérimental :

Le montage expérimental (*Figure IV-6A*) comprend un vibreur mécanique (APA100M, Cedrat Technologies Inc., Meylan, France) en contact avec un gel plan dont l'épaisseur est comprise entre 1.3 et 1.8 cm et dont le diamètre est de 6 cm. Afin de tester la sensibilité de la mesure, plusieurs gels de différentes élasticités ont été confectionnés : agarose 2 % (w/v) (Sigma-Aldrich), gélatine 10 % (w/v) et gélatine 15 % (w/v) (Gelatin from porcine skin, Sigma-Aldrich). Un générateur de fonctions (Keysight Technologies Inc., Santa Rosa, CA, USA) émet un sweep fréquentiel balayant la gamme de fréquences 0.1-3.5 kHz pendant 500 ms à 3.5 Vpp. Le signal est amplifié de 20 dB (LC75B, LA75A, Cedrat Technologies) et transmis au vibreur. Une barrette d'imagerie linéaire, de fréquence 15 MHz, comprenant 128 éléments (L22-14vX, Vermon, Tours, France) est placée au-dessus de l'échantillon et connectée à un échographe de recherche (Vantage, Verasonics Inc., Kirkland, WA, USA). L'acquisition de 4500 images d'ondes planes est réalisée à une fréquence de 9000 images par seconde, ce qui permet d'échantillonner correctement les plus hautes fréquences émises par le vibreur. Le vibreur est positionné sur la surface du gel de manière à obtenir la propagation d'ondes transverses le long de l'interface du gel et dans le plan d'imagerie de la sonde échographique. La *Figure IV-6B* représente l'image échographique (image B-mode) d'un gel plan d'agarose 2 %. Seule l'interface du gel rétrodiffuse les ultrasons, permettant de tracker les ondes se propageant à la surface du gel.

Pour la fabrication des gels, la poudre d'agarose ou de gélatine est mélangée dans de l'eau chauffée à 90°C à une concentration de 2 % à 15 % (2 à 15 g de solide pour un volume de 100 mL). Les solutions sont ensuite versées dans un moule et refroidies au réfrigérateur jusqu'à gélification.

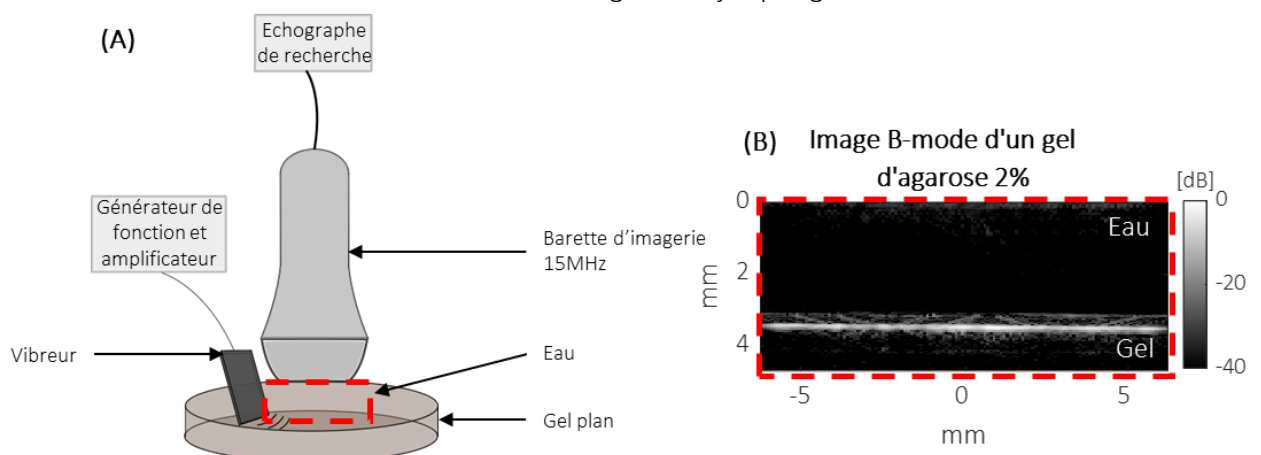


Figure IV-6 : (A) Montage expérimental pour la mesure d'élasticité par suivi d'ondes de surface sur des gels plans. (B) Image B-mode d'un gel d'agarose 2%. Seule l'interface rétrodiffuse les ultrasons.



## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### b) Reconstruction des déplacements :

Pour présenter le traitement des données, l'acquisition sur un gel d'agarose 2% sera utilisée. Les déplacements induits à la surface de l'échantillon (*Figure IV-7*) ont été reconstruits à l'aide d'un algorithme de suivi de phase calculant la variation de phase entre deux images successives<sup>7</sup>.

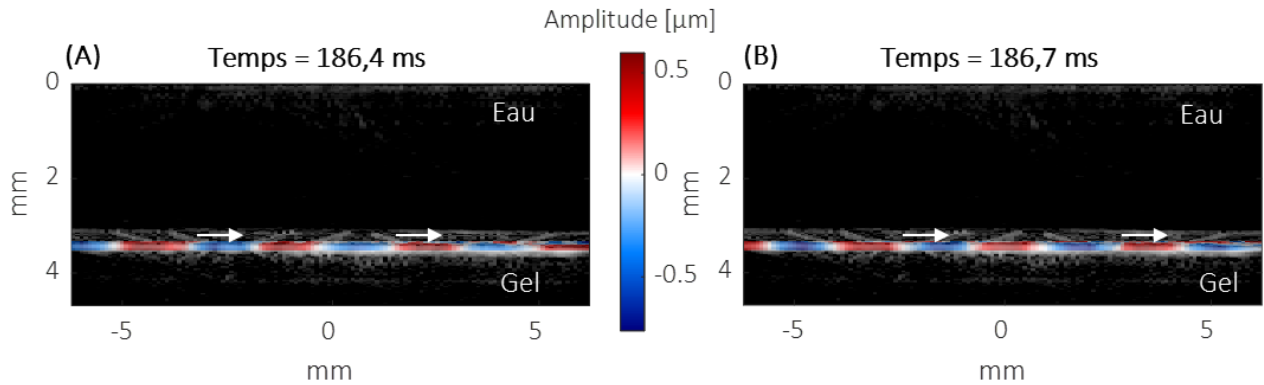


Figure IV-7 : Déplacements reconstruits à la surface du gel plan d'agarose 2%, superposés à l'image B-mode. (A) et (B) sont deux instantanés successifs des déplacements. Les fronts d'ondes sont observables en bleu et rouge et les flèches blanches indiquent le sens de propagation des ondes.

Sur la *Figure IV-7*, seuls les déplacements suivis sur la surface du gel ont été représentés. En effet, les déplacements reconstruits au niveau de l'eau et du gel sont des artefacts, n'ayant pas de diffuseurs à suivre dans ces zones. Les déplacements sont moyennés sur l'épaisseur de l'interface afin d'obtenir un déplacement 1D selon la direction de propagation (*Figure IV-8*).

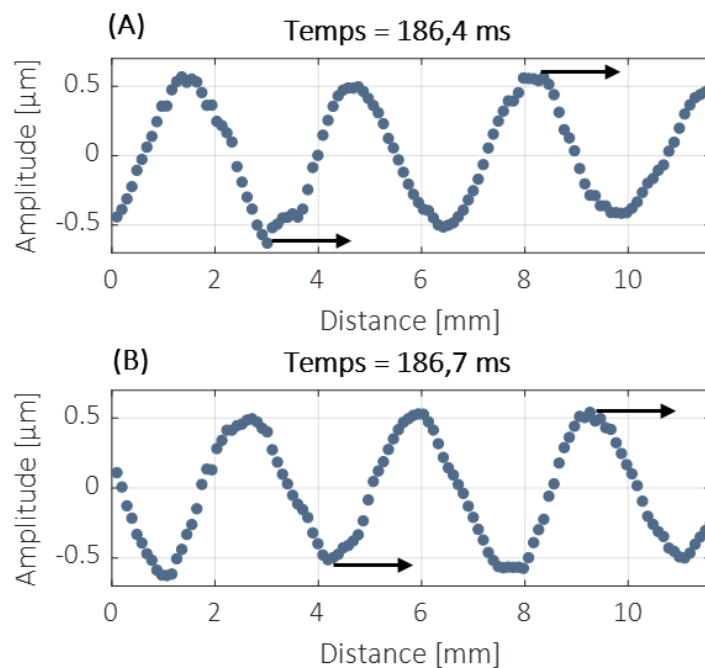


Figure IV-8 : Déplacements 1D reconstruits à la surface du gel plan d'agarose 2%. (A) et (B) sont deux instantanés successifs des déplacements. Les flèches noires indiquent le sens de propagation des ondes.

**Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin**

c) Etude de la dispersion des ondes :

Pour analyser le champ de déplacement et en déduire la vitesse des ondes, on utilise un algorithme de corrélation de bruit dont le principe a été présenté dans le Chapitre I – Partie 3. Dans le cas particulier du suivi des ondes de surface, nous souhaitons caractériser globalement l'élasticité du gel en étudiant la dispersion de la vitesse des ondes. Ainsi l'algorithme de corrélation de bruit a été adapté pour obtenir la vitesse des ondes de surface en fonction de la fréquence. Le principe est de calculer le champ de déplacement retourné temporellement  $\psi^{TR}$  du champ de déplacement  $\phi$ , qui est directement relié à l'autocorrélation de  $\phi$ :

$$\psi^{TR}(r, t) = \phi(r_s, -t) \otimes_t \phi(r_0, t),$$

Équation IV-4

avec  $r_s$ , la position de la pseudo-source,  $r_0$ , le point d'observation,  $r = r_s - r_0$ , la distance entre la pseudo-source et le point d'observation et  $\otimes_t$ , le produit de convolution. Les Figure IV-7 et Figure IV-8 montrent que le champ de déplacement est orienté le long de l'interface alors que les algorithmes d'élastographie par corrélation de bruit sont plutôt appliqués sur des champs diffus. Il a été montré dans l'étude de Marmin et al.<sup>8</sup> que l'algorithme de corrélation n'était pas biaisé par les ondes planes. La démonstration suivante permet de montrer comment la longueur d'onde,  $\lambda$ , est déduite à partir de  $\psi^{TR}$ , et plus précisément de sa courbure. Pour une onde plane monochromatique, le champ de déplacement peut être écrit tel que :  $\phi(r, t) = A e^{ikr} e^{i\omega t}$ , avec A, l'amplitude de l'onde,  $k$ , le vecteur d'onde et  $\omega$ , la vitesse angulaire. Ainsi, le champ retourné temporellement peut-être écrit tel que :

$$\psi^{TR}(r, -t) = A^2 \overline{\psi^{TR}(r, -t)},$$

Équation IV-5

Avec  $\overline{\psi^{TR}(r, -t)} = e^{ikr} e^{i\omega t}$ , le champ retourné temporellement et normalisé par son amplitude,  $A^2$ . On peut alors en déduire la dérivée première, à  $t=0$  (correspondant au temps où le champ retourné temporellement se focalise) :

$$\begin{aligned} \frac{\partial \psi^{TR}(r, 0)}{\partial r} &= ik e^{ikr} \\ \Leftrightarrow \frac{\partial \psi^{TR}(r, 0)}{\partial r} &= ik \psi^{TR}(r, 0), \end{aligned}$$

Équation IV-6

De même, la dérivée seconde  $\psi^{TR}$  peut-être écrite telle que :

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \psi^{TR}(r, 0)}{\partial r^2} &= -k^2 \psi^{TR}(r, 0), \\ \Leftrightarrow \frac{\partial^2 \psi^{TR}(r, 0)}{\partial r^2} \times \frac{1}{\psi^{TR}(r, 0)} &= -k^2, \\ \Leftrightarrow \frac{\partial^2 A^2 \overline{\psi^{TR}(r, 0)}}{\partial r^2} \times \frac{1}{A^2 \overline{\psi^{TR}(r, 0)}} &= \frac{-4\pi^2}{\lambda^2}, \end{aligned}$$

**Chapitre IV:** Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

$$\Leftrightarrow \frac{\overline{\partial^2 \Psi^{\text{TR}}(r, 0)}}{\partial r^2} \times \frac{1}{\overline{\Psi^{\text{TR}}(r, 0)}} = \frac{-4\pi^2}{\lambda^2}.$$

Équation IV-7

Pour obtenir  $\lambda$ , on calcule l'équation précédente à la source,  $r = 0$ :

$$\lambda^2 = -4\pi^2 \left( \frac{\overline{\partial^2 \Psi^{\text{TR}}(0,0)}}{\partial r^2} \right)^{-1}.$$

Équation IV-8

Ainsi, la longueur d'onde est calculée en analysant seulement la phase du champ retourné temporellement. Dans la pratique, on applique une transformée de Fourier au champ de déplacement 1D. Puis, chaque signal monochromatique est auto-corrélé, uniquement en utilisant la phase. Ceci permet de normaliser la corrélation et de blanchir le spectre du signal, en attribuant un poids équivalent à toutes les fréquences du spectre. Dans le domaine fréquentiel, le champ retourné temporellement peut être écrit comme suit :

$$\overline{\Psi^{\text{TR}}}(\omega) = \mathcal{Re} \left\{ TF(\overline{\Psi^{\text{TR}}}(r, t)) \right\}.$$

Équation IV-9

Dans cette étude,  $\overline{\Psi^{\text{TR}}}(\omega)$  est appelé la corrélation spectrale. De plus, le but étant ici de caractériser le gel dans sa globalité la corrélation spectrale est moyennée en fonction de la distance entre les points de l'interface. Une fenêtre glissante de largeur de 10Hz est appliquée pour lisser la corrélation spectrale. Puis, la longueur d'onde moyenne pour chaque signal monochromatique est extraite à partir de la courbure de la corrélation spectrale telle que :

$$\lambda^2(\omega) = -4\pi^2 \left( \frac{\overline{\partial^2 \Psi^{\text{TR}}(\omega)}}{\partial^2 r} \right)^{-1}.$$

Équation IV-10

La *Figure IV-9A* est une représentation de la corrélation spectrale pour un échantillon de gel d'agarose 2%. On peut le comprendre également comme une représentation de la corrélation spatiale du champ de déplacement en fonction de la fréquence. Sur la *Figure IV-9B*, des profils de corrélation sont représentés pour plusieurs fréquences. On peut observer que la largeur de la tache focale centrale diminue quand la fréquence augmente. Cela confirme la dépendance entre la longueur d'onde et la fréquence via la dérivée seconde de la corrélation spatiale (Équation IV-8).



**Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin**

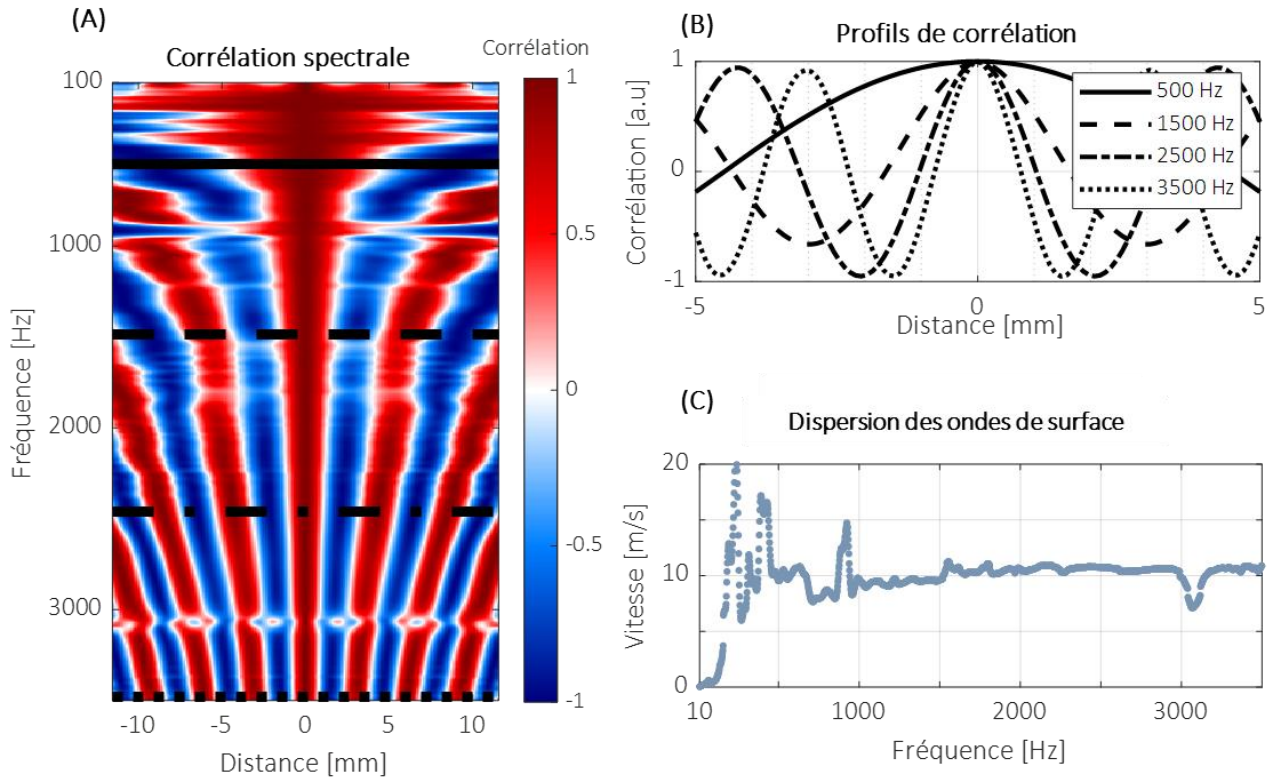


Figure IV-9 : Estimation de la vitesse des ondes de surface en fonction de la fréquence dans un gel d'agarose 2 %. (A) : Corrélation spectrale. (B) : Profils de corrélation pour plusieurs fréquences. (C) : Figure de dispersion des ondes de surface, représentation de la vitesse en fonction de la fréquence.

Pour étudier quantitativement la dispersion du milieu, la longueur d'onde est déduite de la corrélation spectrale en calculant la courbure du profil de corrélation. La dérivée seconde de la corrélation spatiale est calculée numériquement :  $g''(x) = (g(x + \delta x) + g(x - \delta x) - 2g(x)) / \delta x^2$ , où  $g$  est la fonction à dériver, et  $\delta x$  est le pas maximal de dérivation correspondant à la largeur totale à mi-hauteur. La vitesse est calculée à chaque fréquence par la relation  $c = \lambda \cdot f$ , où  $f$  est la fréquence. La Figure IV-9C illustre la relation entre la fréquence et la vitesse des ondes de surface se déplaçant sur un gel d'agarose 2%. Cette figure met en évidence le phénomène de dispersion des ondes de surface. A partir de la dispersion des ondes, on peut retrouver les propriétés viscoélastiques du milieu étudié. Plusieurs types de modèles rhéologiques peuvent être utilisés en fonction de la nature des ondes se propageant dans le milieu. Dans un solide purement élastique, isotrope et infini, les ondes de cisaillement sont non dispersives, et leur vitesse ne dépend que de la densité  $\rho$  et du module de cisaillement  $\mu$  donné par la relation  $c_T = \sqrt{\mu/\rho}$ . Dans les solides viscoélastiques, le modèle de Kelvin-Voigt introduit le terme de viscosité, entraînant une dépendance de la vitesse de l'onde de cisaillement ( $c_T$ )<sup>9</sup> en fonction de la fréquence, telle que :

$$c_T(\omega) = \sqrt{\frac{2(\mu_1^2 + \omega^2\mu_2^2)}{\rho(\mu_1 + \sqrt{\mu_1^2 + \omega^2\mu_2^2})}}$$

Équation IV-11

Avec  $\mu_1$ , le module d'élasticité de cisaillement et  $\mu_2$ , le module de viscosité. Le modèle de Kelvin-Voigt est adapté aux tissus biologiques<sup>10</sup> et a été utilisé dans une étude portant sur le cristallin<sup>11</sup>. Dans notre

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

expérience, les ondes peuvent être approximées comme des ondes de Scholte en raison des conditions aux limites fluide-solide à l'interface<sup>12</sup>. La vitesse de ces ondes, notée  $c_{sh}$ , est proportionnelle à la vitesse des ondes de cisaillement et peut être estimée approximativement comme  $c_{sh} \approx 0.84c_T$ . En substituant  $c_T$  dans l'équation (Équation IV-8), nous obtenons le modèle rhéologique adapté aux conditions aux limites des ondes de Scholte. Les ondes peuvent être guidées à l'intérieur d'une structure solide et dans le cas des ondes guidées, la vitesse dépend à la fois du terme d'élasticité  $\mu_1$  et de l'épaisseur du guide d'ondes.

### 2.2 Résultats

La méthode présentée dans la partie précédente a été appliquée pour les différents gels plans : agarose 2%, gélatine 10% et gélatine 15%. Pour les gels de gélatine de 10% et 15%, l'amplitude des ondes, et plus particulièrement celles à hautes fréquences (>1kHz), est atténuée le long de l'interface. Sur la Figure IV-10A, on peut observer cette baisse d'amplitude dans la direction de propagation pour un gel de gélatine de 10%. La Figure IV-10B représente le spectre en énergie du déplacement en plusieurs points le long de l'interface. On remarque bien que plus les fréquences sont hautes plus l'énergie diminue lorsqu'on s'éloigne de la source de vibration.

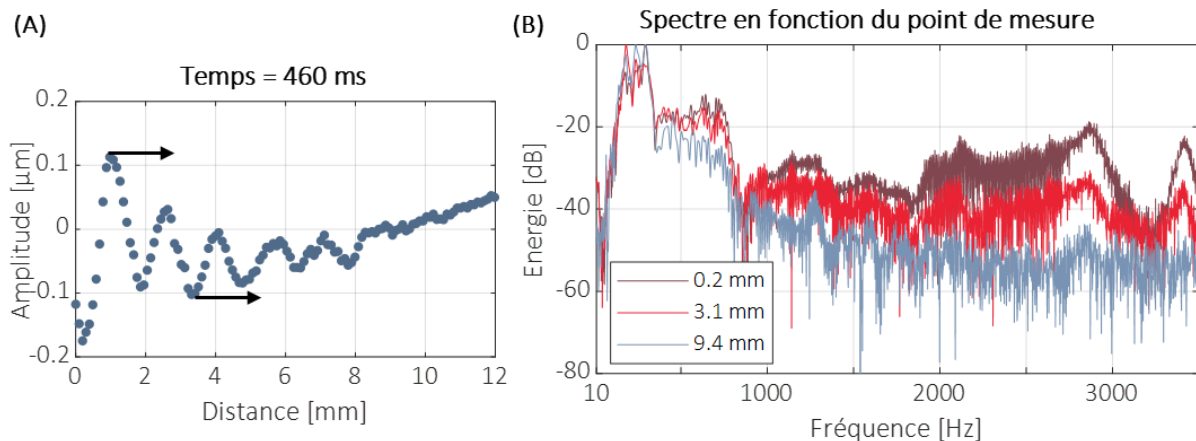


Figure IV-10 : Atténuation de l'onde de surface dans un gel de gélatine de 10%. (A) : Instantané du déplacement le long de l'interface du gel. (B) : Spectre en énergie des déplacements dans le gel pour plusieurs points le long de l'interface.

La mesure de vitesse des ondes de surface étant basée sur une moyenne le long de l'interface, il a été choisi de travailler sur les 3 premiers mm de l'interface des gels de gélatine de 10% et 15%. En effet, utiliser toute l'interface aurait introduit du bruit dans la mesure de tache focale à hautes fréquences et ainsi dans la mesure de vitesse. Cela permettra, également, de valider cet algorithme sur une longueur d'interface, plus similaire à la taille de l'interface du cristallin que l'on observe sur une image échographique. La Figure IV-11 représente les résultats de dispersion des ondes de surface se propageant sur les différents échantillons.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

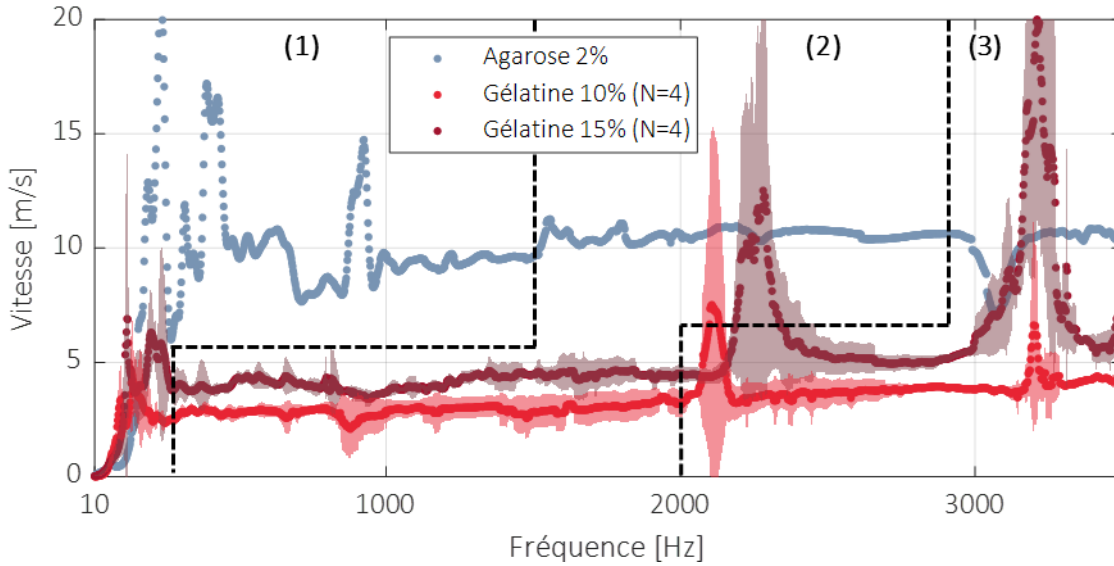


Figure IV-11 : Résultats de la dispersion des ondes de surface sur plusieurs gels de différentes élasticités : en bleu, l'agarose 2%, en marron, la gélatine 15% et en rouge, la gélatine 10%. La zone (1) correspond à un régime transitoire, la zone (2) à un régime viscoélastique et la zone (3) à un régime viscoélastique comportant des fluctuations de vitesse

Sur la Figure IV-11, on peut observer plusieurs zones correspondant à différents régimes de propagation :

- Zone (1) (<1.5kHz pour l'agarose 2% et <0.4kHz pour la gélatine 10% et 15%) : un régime transitoire présentant de grandes fluctuations dans la vitesse. On observe également une augmentation de la vitesse, qui débute quasiment à zéro.
- Zone (2) (>1.5kHz pour l'agarose 2% et >0.4kHz pour la gélatine 10% et 15%) : un régime viscoélastique où la vitesse se stabilise autour de 10 m/s pour l'agarose 2% et autour de 4 et 3 m/s pour la gélatine 15% et 10%.
- Zone (3) (au-delà de 3kHz pour l'agarose 2% et 2kHz pour les gélatines 10 et 15%) : on observe de nouveau des pics.

La zone (1) correspond à un régime de propagation où les ondes sont sensibles aux conditions aux limites du milieu du fait de leur grande longueur d'onde. Lorsqu'on augmente la fréquence, les longueurs d'ondes diminuent et deviennent plus petites que l'épaisseur du milieu (1.3-1.8 cm). L'onde n'est plus sensible aux limites du milieu et la vitesse se stabilise. Pour l'agarose 2%, la vitesse se stabilise autour de 10 m/s. Ainsi à la fréquence 1.5kHz, la longueur d'onde est de 6 mm, ce qui correspond environ à la moitié de l'épaisseur du milieu. Pour la gélatine 10% et 15%, on trouve bien une fréquence de transition autour de 0.4kHz (fréquence pour laquelle la longueur d'onde est égale à la moitié de l'épaisseur du milieu). Dans cette zone, on observe également des pics de vitesse, pouvant être expliqués par des fréquences de résonance du gel. Au-delà de ces fréquences de transition, on atteint un régime viscoélastique, correspondant à la zone (2). Ces observations sont en accord avec l'étude de Laloy-Borgna et al.<sup>13</sup> dans des gels plans fins de gélatine, où ces deux régimes de propagation ont également été observés. A hautes fréquences, des ondes de cisaillement et plus précisément des ondes de Scholte se propagent. La vitesse de ces ondes est représentative des caractéristiques viscoélastiques du milieu. Ainsi l'agarose 2% est plus dure que la gélatine 15% qui est elle-même plus dure que la gélatine 10%. Cette méthode est capable de distinguer des milieux dont l'élasticité est très différente

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

mais est également sensible à des différences d'élasticité plus proches. Enfin, dans la zone (3), où se propagent également des ondes de Scholte, on observe à nouveau des pics. Ces pics pourraient être attribués à un déplacement bruité et à une mauvaise estimation de la longueur d'onde. On peut observer sur la *Figure IV-12*, à gauche, la corrélation spectrale d'un échantillon de gel plan à 15 % et à droite, sa densité spectrale. Elle correspond au tracé de la corrélation spectrale pour une distance de corrélation de 0 et dont le spectre n'a pas été blanchi.

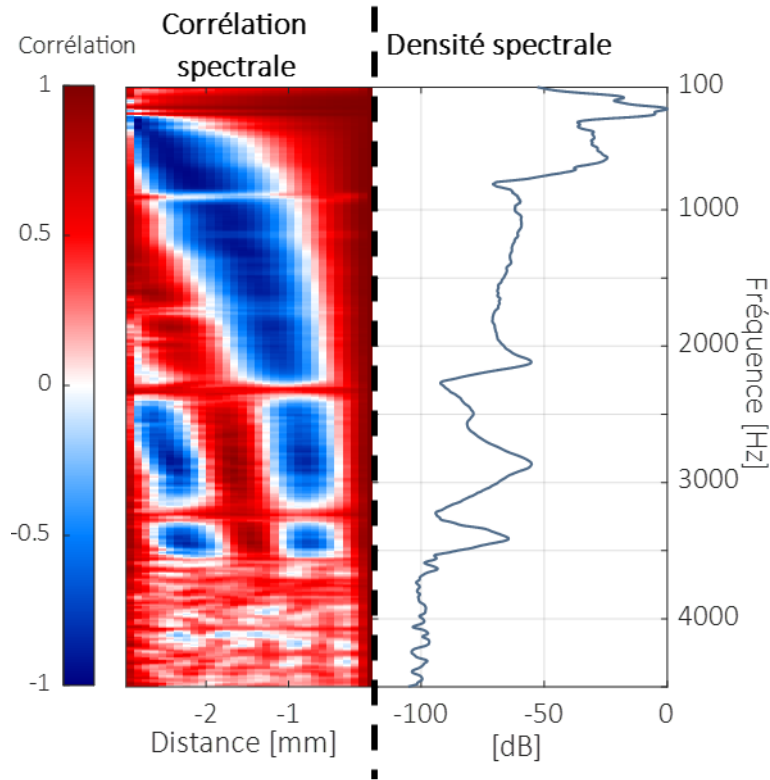


Figure IV-12 : Corrélation spectrale d'un échantillon de gel de gélatine 15% et densité spectrale (droite) de la corrélation (gauche)

On peut remarquer que pour des fréquences autour de 2.25 kHz et 3.20 kHz, la corrélation spectrale est constante quelle que soit la distance de corrélation. Ces fréquences correspondent sur la figure de densité spectrale à des baisses d'énergie. Ce phénomène pourrait donc s'expliquer par une mauvaise transmission des ondes ou par une résonance structurelle, se manifestant soit par un mouvement global, soit par l'absence de mouvement. On peut observer la même chose pour des fréquences supérieures à 3.5 kHz. Dans ce cas, il n'y a pas d'énergie car 3.5 kHz est la limite supérieure de fréquence de vibration du vibreur. Pour étudier plus quantitativement les caractéristiques viscoélastiques de ces gels, le modèle de Kelvin Voigt (*Équation IV-11*) adapté aux conditions aux limites des ondes de Scholte est ajusté aux courbes de dispersion dans le régime viscoélastique, en excluant les fluctuations à hautes fréquences. Les résultats des modules d'élasticité  $\mu_1$  et de viscosité  $\mu_2$  sont présentés dans le *Tableau IV-3* et comparés à la littérature<sup>10,14</sup>.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

Echantillon	Gamme de fréquence de la modélisation (kHz)	$\mu_1$ (kPa)	$\mu_2$ (Pa.s)
Agarose 2%	1.5 – 3.0	156	1.49
Gélatine 10% (N = 4)	0.4 – 2.0	10.5 ± 3.25	0.75 ± 0.12
Gélatine 15% (N = 4)	0.4 – 2.0	21.2 ± 0.63	1.27 ± 0.56
Gélatine 10% <sup>14</sup>	0.1 – 0.6	5.34 ± 0.48	0.13 ± 0.50
Gélatine 15% <sup>14</sup>	0.1 – 0.6	8.40 ± 0.59	1.22 ± 0.78
Agar 2% – Gélatine 3% <sup>10</sup>	0.1 – 0.5	5.67 ± 0.02	0.22 ± 0.01

Tableau IV-3 : Résultats de la modélisation avec le modèle de Kelvin Voigt adapté aux ondes de Scholte dans les différents gels plans et comparaison avec des valeurs de modules d'élasticité et de viscosité trouvées dans la littérature

Les résultats expérimentaux de cette étude sont proches de ceux reportés dans la littérature, alors que les gammes de fréquences étudiées et les méthodes utilisées sont différentes. Dans l'article de Xhang et al.<sup>14</sup>, l'élasticité de gels épais est évaluée par suivi d'onde de surface et la vitesse est estimée par temps de vol à différentes excitations monochromatiques. Dans l'étude de Catheline et al.<sup>10</sup>, la phase et l'amplitude d'une onde plane, se propageant à travers la profondeur du gel, sont modélisées avec un fit linéaire pour en déduire la vitesse et l'atténuation de l'onde. Ces deux paramètres sont directement reliés, par le modèle de Kelvin Voigt, aux modules d'élasticité et de viscosité.

### 2.3 Conclusion

Les résultats trouvés dans les différents gels sont du même ordre de grandeur que les résultats de la littérature. Cela confirme la faisabilité d'évaluer les propriétés viscoélastiques de gels plans en suivant les ondes de surface avec une méthode basée sur des algorithmes de corrélation de bruit. Cette étude a également mis en évidence l'importance d'étudier une large gamme de fréquences afin d'identifier les différents régimes de propagation des ondes. On est ainsi capable d'évaluer les propriétés d'élasticité du milieu, indépendamment du guidage des ondes. Afin de se rapprocher de la géométrie et la taille du cristallin, la prochaine section présentera une étude numérique d'inclusion homogène et des expérimentations sur des billes de gélatine homogène. L'objectif de cette étude sera d'évaluer la faisabilité de mesurer l'élasticité du milieu en suivant les ondes de surface sur une géométrie plus proche de celle du cristallin. Par la suite, la même méthode sera appliquée à un modèle *in vitro* de cristallins porcins.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### 3. Application aux ondes de surfaces sur une interface curviligne : inclusions numériques et billes

#### 3.1 Méthode

##### a) Inclusion numérique :

L'objectif de cette simulation est d'évaluer la capacité de l'algorithme, développé précédemment, à mesurer la vitesse des ondes se propageant à la surface d'une inclusion numérique. Pour tester notre méthode, une simulation par différences finies de l'équation des ondes élastiques bidimensionnelles, dans le domaine temporel, a été réalisée sur Matlab. Le solide simulé est un disque homogène dont le diamètre est de 8 mm. Les propriétés viscoélastiques de ce milieu sont définies telles que, la vitesse des ondes de cisaillement,  $c_T$ , est de 4 m/s, le module de viscosité,  $\mu_2$ , est de 0.6 Pa.s et la masse volumique,  $\rho$ , est de 1000 kg/m<sup>3</sup>. Le milieu environnant est défini comme un milieu proche de l'eau avec une vitesse des ondes de cisaillement égale à 0.001 m/s et une viscosité nulle. Le coefficient de Poisson est égal à 0.4. Ainsi la vitesse des ondes de compression est très faible, ce qui est irréaliste mais ce qui permet d'éviter des problèmes d'instabilité dans la simulation. Dans cette simulation, l'accent est davantage mis sur la vérification de l'algorithme à retrouver la vitesse d'une onde se déplaçant sur une courbe plutôt que sur le réalisme absolu de la simulation. La source de vibration simulée est une source impulsionnelle centrée sur 600 Hz, positionnée proche de la surface de l'inclusion. La grille spatiale est un carré composé de 251 points de côté avec un pas spatial de 80  $\mu$ m. L'échantillonnage temporel est de 2.5  $\mu$ s.

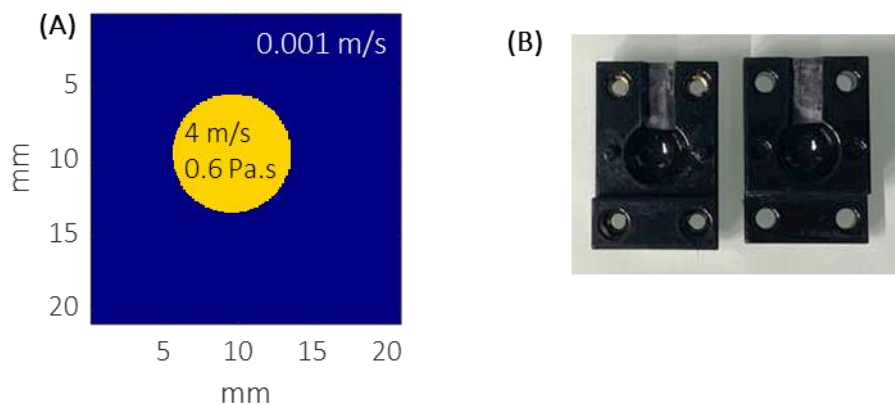


Figure IV-13 : (A) : Caractéristiques de la simulation d'un disque homogène en jaune entouré d'un milieu proche de l'eau en bleu. (B) : Moule utilisée pour confectionner les billes de gélatine

##### b) Billes de gélatine :

Expérimentalement, des billes de gélatine de porc, de diamètre 1 cm, ont été confectionnées à partir d'un moule (Figure IV-13B). Les concentrations de gélatine utilisées sont de 10 % et 15 %. Le même système de vibration et la même sonde d'imagerie, que ceux présentés pour les gels plans sont utilisés (Figure IV-14). Pour maintenir l'échantillon et transmettre les ondes du vibreur mécanique jusqu'à la bille, on utilise un porte échantillon en gel d'agarose de 2%. Ce gel contient l'empreinte d'une demi-sphère, de diamètre 1 cm en son centre. La bille de gélatine est positionnée dans cette demi-

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

sphère et le vibreur est en contact avec le gel d'agarose. Le vibreur émet un sweep fréquentiel balayant la gamme de fréquences 0.1-3.5 kHz pendant 500 ms.

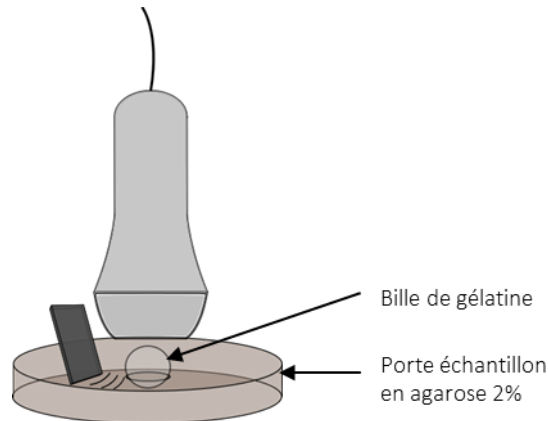


Figure IV-14 : Montage expérimental pour les billes de gélatine

### c) Traitement des données :

Les déplacements induits à la surface de l'échantillon sont reconstruits à l'aide d'un algorithme de suivi de phase. Contrairement à la méthode utilisée pour une surface plane, on utilise une méthode curviligne pour reconstruire les déplacements 1D, le long de la surface de l'inclusion numérique et de la bille de gélatine. L'objectif de cet algorithme est de représenter une ligne courbe comme une ligne plane, fonction d'une coordonnée qui tient compte de sa courbure qu'on appellera abscisse curviligne. On sélectionne les deux contours de l'interface avec la fonction *drawpolyline* de Matlab (Figure IV-15A). Puis, ces contours sont modélisés par une fonction polynomiale. L'algorithme parcourt chaque contour et calcule la droite, correspondant à la normale aux deux contours. Les points les plus proches de cette normale sont sélectionnés (Figure IV-15B).

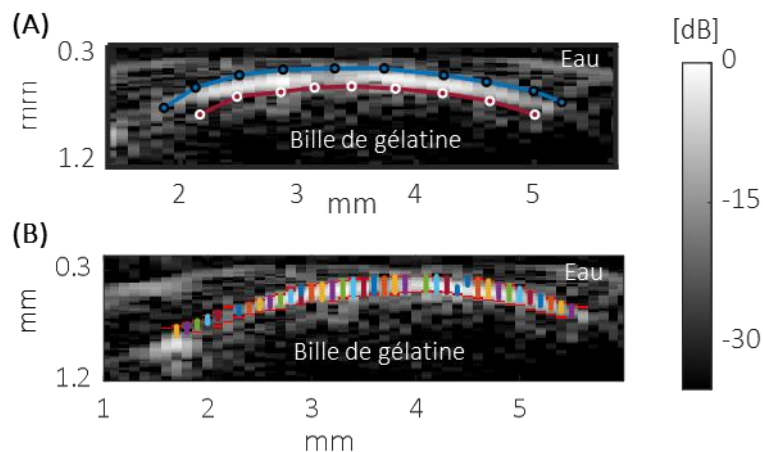


Figure IV-15 : (A) : B-mode de la surface d'une bille de gélatine et sélection des contours (en bleu et en rouge). (B) : B-mode de la surface d'une bille et sélection des points le long des normales aux deux contours



## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

Pour chaque point sélectionné, l'abscisse curviligne (distance entre le point considéré et le début du contour) est calculée. Les déplacements sont alors moyennés sur l'ensemble des points ayant la même abscisse curviligne. Enfin, on interpole les déplacements pour obtenir une abscisse curviligne dont le pas est constant. A parti d'un déplacement 2D (Figure IV-16A), on obtient un déplacement 1D le long d'une abscisse curviligne (Figure IV-16B).

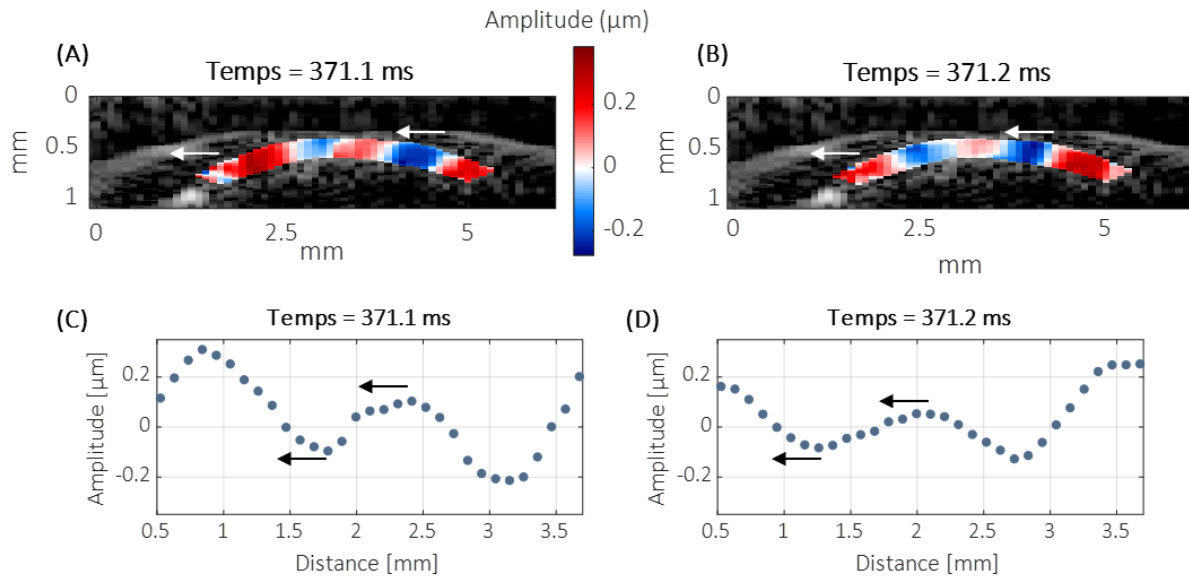


Figure IV-16 : Déplacements le long de l'interface de la bille. (A) et (B) sont deux instantanés successifs des déplacements, superposés à l'image B-mode. Les fronts d'ondes sont observables en bleu et rouge et les flèches blanches indiquent le sens de propagation des ondes. (C) et (D) : sont deux instantanés successifs des déplacements 1D. Les flèches noires indiquent le sens de propagation des ondes.

Une fois les déplacements 1D reconstruits, le même traitement de données utilisé pour les gels plans est appliqué pour retrouver la vitesse des ondes en fonction de la fréquence. Le modèle rhéologique de Kelvin-Voigt adapté aux conditions aux limites des ondes de Scholte sera appliqué aux courbes de dispersion.

### 3.2 Résultats

La Figure IV-17 représente les résultats de la dispersion des ondes à la surface d'une inclusion numérique et à la surface de billes de gélatine de 10% et 15%. Plus précisément, la Figure IV-17B, montre une courbe de dispersion pour une bille de gélatine 10% (Marqueurs rouges) et pour une bille de gélatine de 15% (Marqueurs marrons). Les zones grisées rouges et marrons correspondent aux écarts types calculés pour 4 échantillons de billes de 10% (Rouge) et pour 4 échantillons de billes de 15% (Marron). Il a été choisi de tracer les résultats de cette manière en raison de la grande variabilité des mesures, qui aurait nuit à la compréhension. Cette variabilité sera discutée ultérieurement.



## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

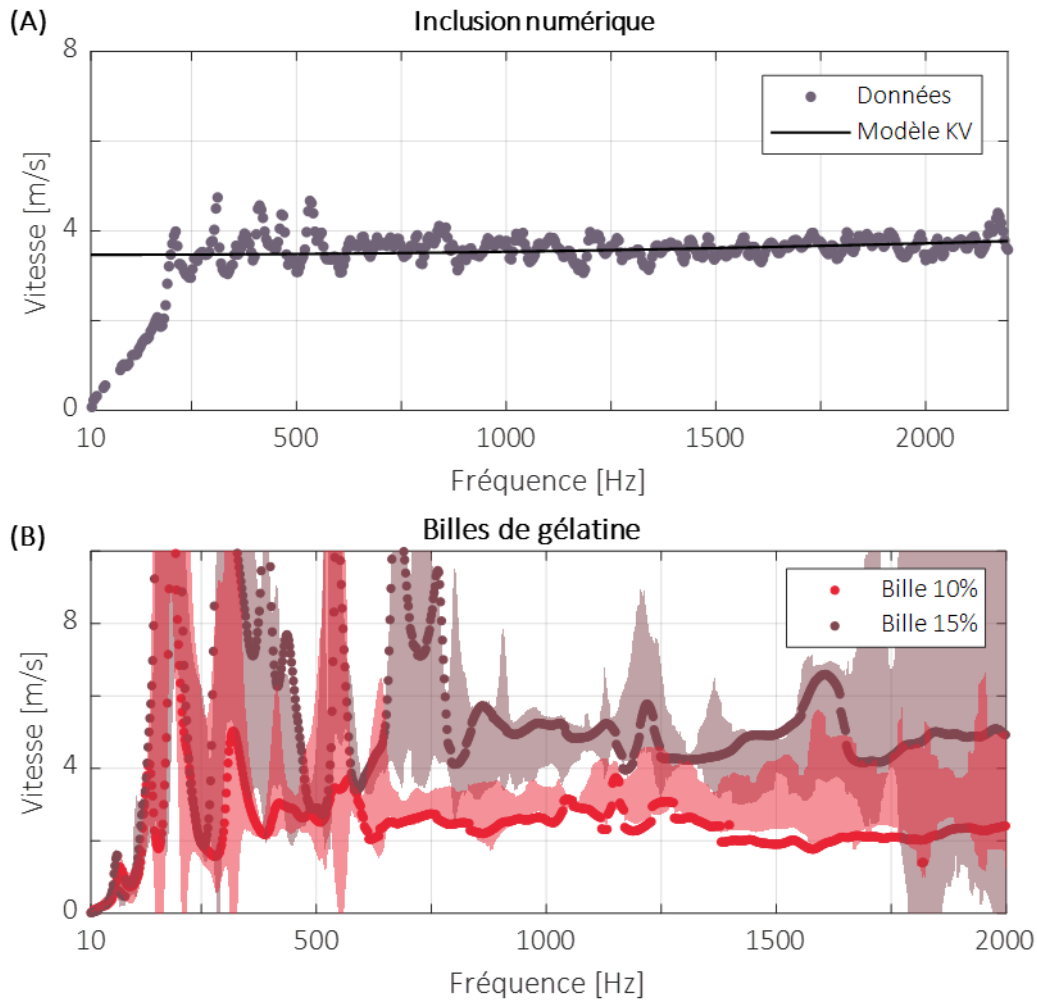


Figure IV-17 : (A) : Résultat de la dispersion des ondes de surface pour une inclusion numérique. Marqueurs : données, Courbe : modèle de Kelvin-Voigt (KV). (B) : Résultat de la dispersion des ondes de surface pour des billes de gélatine. Marqueurs rouges : donnée d'une bille 10%, zone grisée rouge : écart type pour 4 billes différentes. Marqueurs marrons : donnée d'une bille 15%, zone grisée marron : écart type pour 4 billes différentes.

La simulation d'une inclusion cylindrique présente une courbe de dispersion similaire aux résultats obtenus pour les gels plans, présentés dans la section précédente. A basses fréquences, une augmentation de la vitesse indique un régime d'ondes guidées. La présence de pics de vitesse qui reflète probablement les fréquences de résonance du disque indique un régime transitoire. La première fréquence de résonance apparaît autour de 250 Hz. Selon la théorie<sup>15</sup>, pour un disque libre (disque entouré de vide), ayant les mêmes propriétés viscoélastiques que l'inclusion numérique, la première fréquence de résonance se situe à environ 300 Hz. Ce résultat diffère de notre résultat expérimental et cela peut s'expliquer par les différences de conditions aux limites. Dans le cas de l'inclusion numérique, le milieu environnant est un milieu proche des propriétés de l'eau. Ainsi les ondes, se propageant à la surface de l'inclusion, doivent « soulever plus de masse » que si le milieu environnant était du vide. Ceci implique un déplacement des fréquences de résonance vers des fréquences plus basses<sup>16</sup>. En dessous de 600Hz, les fréquences de résonance sont très atténuées, du fait de la viscosité du milieu, et la vitesse se stabilise autour de 4 m/s. Le régime viscoélastique est atteint, les ondes ne sont plus dépendantes

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

des conditions aux limites du milieu (la longueur d'onde est plus petite que le diamètre de l'inclusion). On peut alors modéliser la courbe de dispersion par un modèle de Kelvin-Voigt, adapté aux conditions de Scholte, sur la gamme de fréquences comprise entre 600 Hz et 2200 Hz. On trouve les coefficients viscoélastiques suivants :  $\mu_1 = 17 \text{ kPa}$ , correspondant à une vitesse des ondes de cisaillement,  $c_T$  de 4.12 m/s et  $\mu_2 = 0.62 \text{ Pa.s}$ . Ces valeurs sont très proches des paramètres de simulation. La *Figure IV-17B* montre les résultats obtenus pour des billes de gélatine de 10 % et 15 %. A basses fréquences, on peut observer une augmentation des vitesses, indicatif du régime d'ondes guidées. Les courbes présentent plusieurs pics de vitesse et des variations significatives entre les échantillons de même concentration. La variabilité inter-échantillon peut être due à la variabilité expérimentale comme l'inhomogénéité des mélanges de gélatine, lors de leur confection. De plus, les billes ne sont pas parfaitement sphériques à cause du moule utilisé. Enfin, la transmission des ondes entre le porte échantillon et la bille est imparfaite. C'est la raison pour laquelle, les données, au-delà de 2000 Hz, ne sont pas représentées : le rapport signal sur bruit est trop faible. La *Figure IV-18* montre bien que l'énergie du spectre des déplacements pour une bille de 10% est très faible au-delà de 1500 Hz.

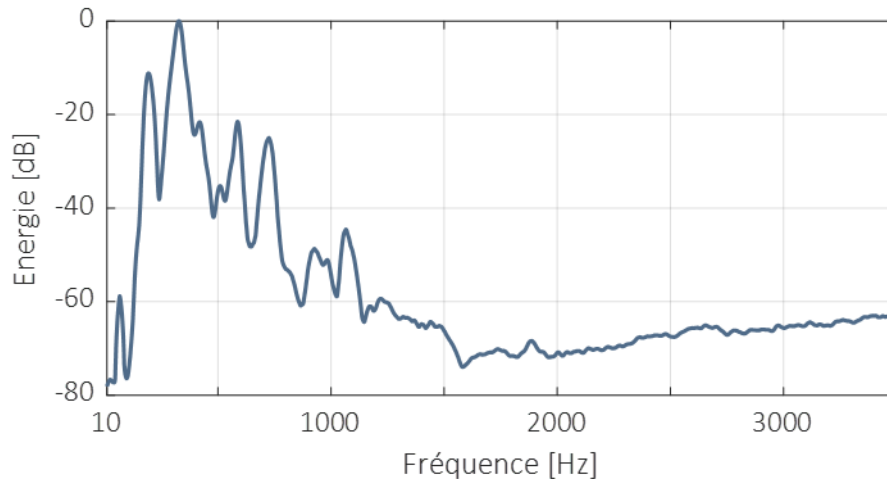


Figure IV-18 : Spectre énergétique des déplacements acquis dans une bille de gélatine 10%

Certains pics dans les courbes de dispersion des billes pourraient, également, s'expliquer par la présence de résonances structurales autour de la bille, comme dans le porte-échantillon. Il est difficile d'expliquer précisément toutes les variations observées et de simuler exactement la configuration de la bille. Ainsi, quantifier les modules de viscoélasticité des billes de gélatine n'est pas possible. Cependant, on remarque que les vitesses comprises entre 700 Hz et 1500 Hz sont suffisamment différentes pour différencier les échantillons de gélatine de 10% et de 15%.

### 3.3 Discussion

L'étude numérique pour un disque homogène a permis de valider l'algorithme mesurant la vitesse des ondes de surface pour une surface non plane et un objet dont la taille est proche de celle du cristallin. Les données obtenues ont également permis de retrouver quantitativement les coefficients de viscoélasticité. Expérimentalement, il a été difficile de générer des ondes à la surface de billes de gélatine homogène. Les résultats ont permis de différencier, qualitativement, les billes de concentrations différentes. Cependant, les courbes de dispersion sont très bruitées, ne permettant pas d'appliquer des modèles rhéologiques afin d'obtenir une étude quantitative. Afin d'appliquer cette

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

méthode pour des cristallins, il est nécessaire d'améliorer le couplage entre le porte échantillon en agarose et l'échantillon pour maximiser la transmission des ondes. Cette amélioration sera présentée dans la section suivante, qui se focalisera sur des échantillons de cristallins porcins.

### 4. Application à des échantillons de cristallins porcins

#### 4.1 Méthode

L'objectif de cette section est d'appliquer les méthodes développées pour des gels plans et des billes de gélatine sur des échantillons de cristallins *ex vivo*. Les globes oculaires porcins sont récupérés dans plusieurs abattoirs locaux et au sein d'un institut de recherche expérimental (ICE). Les cristallins sont excisés de l'œil avec précaution. Les échantillons proviennent de porcs de différents âges allant de 3 mois à plusieurs années. Cependant, leur âge n'est pas connu précisément. Ainsi, chaque échantillon est pesé sur une balance de précision, en essayant d'enlever le maximum de corps ciliaires et d'humeur vitrée sur celui-ci. Afin de comparer les différents échantillons, les cristallins ont été classés en fonction de leur masse. En effet, plus un échantillon est lourd, plus il est considéré comme âgé<sup>17</sup>. Les différents groupes sont les suivants : un groupe d'échantillons provenant de l'ICE (masse non mesurée mais âge connu), un groupe dont la masse est inférieure à 500mg, un groupe dont la masse est comprise entre 500 mg et 700 mg et un groupe dont la masse est supérieure à 700 mg. Ce classement s'inspire de l'étude de Erpelding et al.<sup>18</sup>. Le même montage expérimental, utilisé pour les billes de gélatine, est mis en place (*Figure IV-14*). Cependant, pour améliorer le couplage entre l'échantillon et le porte-échantillon en agarose, le mélange agarose – eau, chauffé puis refroidi à 50°C, est versé directement sur le cristallin. Ainsi, la gélification de l'agarose, pendant son refroidissement, s'effectue autour du cristallin, ce qui assure un bon maintien de l'échantillon et une bonne transmission des ondes. Ce processus n'aurait pas pu être mis en place pour les billes de gélatine car celles-ci auraient fondues sous l'action de la chaleur du liquide versé. Le vibreur est en contact avec le gel d'agarose et émet un sweep fréquentiel balayant la gamme de fréquences 0.1-3.5 kHz pendant 500 ms. La sonde d'imagerie 15 MHz acquiert les 4500 images planes à une cadence de 9000 Hz. Le couplage entre l'échantillon et la sonde d'imagerie est réalisé avec un milieu de culture iso-osmotique (CorneaMax®, EurobioScientific, Courtabœuf, France). Pour le traitement des données, le champ d'onde est reconstruit avec un algorithme de corrélation de phase et les déplacements 1D, le long de l'interface curviligne, sont calculés avec l'algorithme présenté dans la section précédente.

#### 4.2 Résultats

La *Figure IV-19* représente le spectre énergétique des déplacements le long de l'interface d'un échantillon de cristallin porcine. Contrairement à ce qui a été observé pour les billes (*Figure IV-18*), il y a de l'énergie sur toute la bande passante d'excitation 0.1 – 3.5 kHz. Le nouveau protocole mis en place sur les échantillons de cristallin a amélioré la transmission des ondes.

#### Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

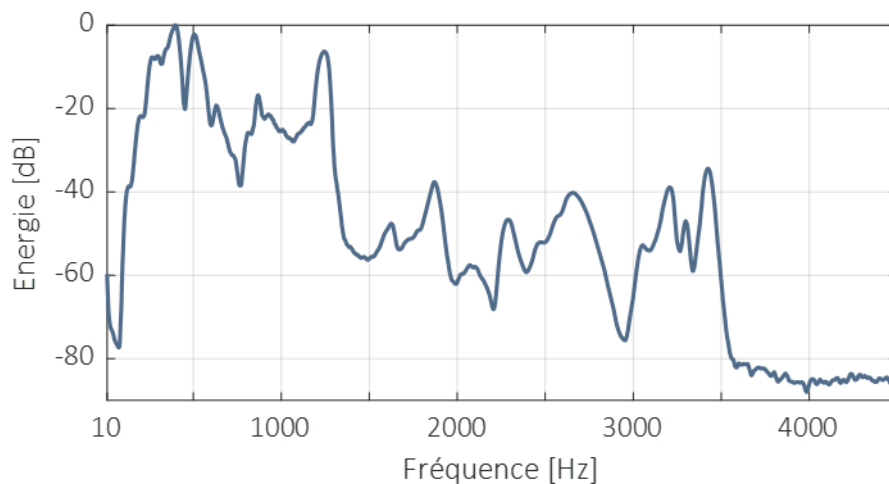


Figure IV-19 : Spectre énergétique des déplacements acquis dans un cristallin porcin

La Figure IV-20 représente la dispersion des ondes à la surface d'un cristallin porcin, provenant de l'ICE. Ces données (Marqueurs) sont moyennées sur 3 mesures différentes réalisées sur le même échantillon et l'écart type de ces mesures est tracé avec la zone grisée rouge.

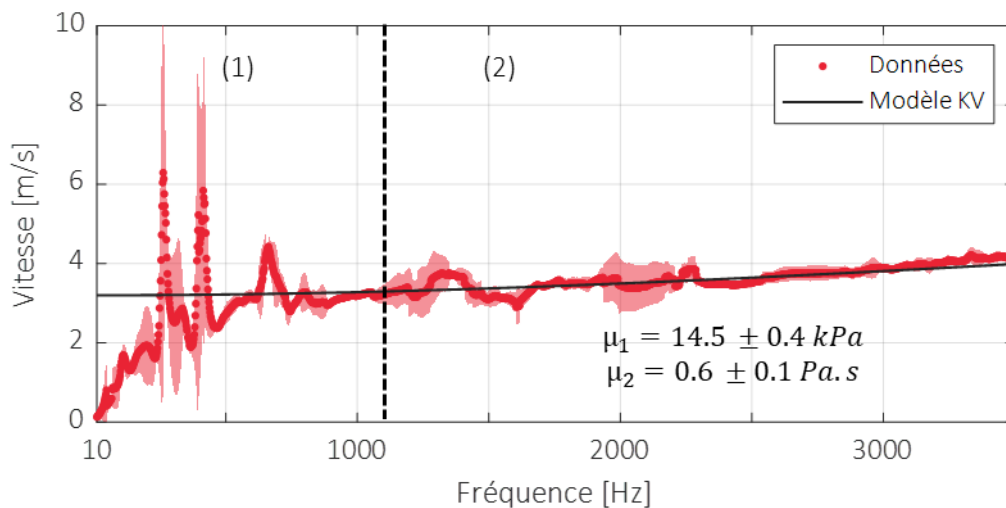
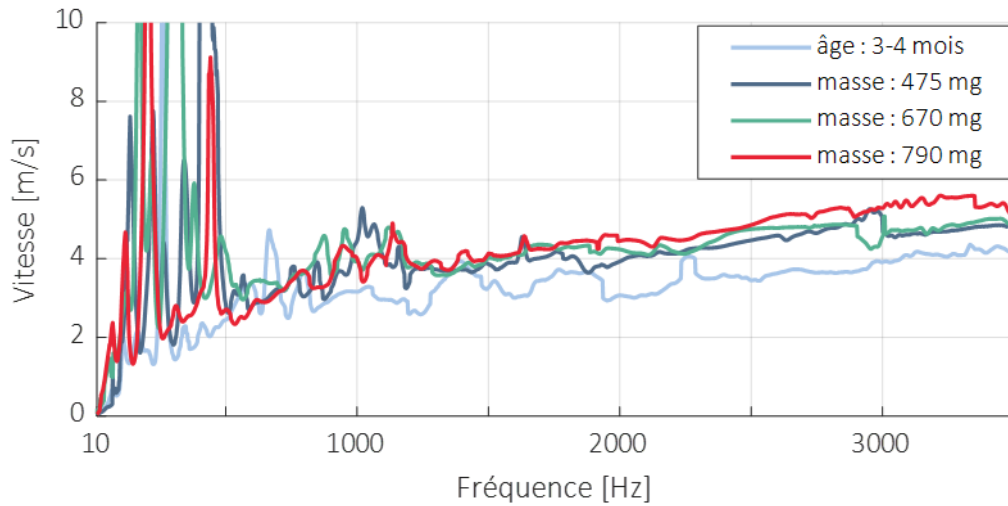


Figure IV-20 : Dispersion des ondes à la surface d'un cristallin porcin. Marqueurs rouges : données moyennées sur 3 mesures ; Zone grisée rouge : écart type sur 3 mesures ; Courbe noire : Modèle de Kelvin-Voigt (KV) tracé pour les valeurs de  $\mu_1$  et  $\mu_2$ , moyennées sur les 3 mesures

On observe que la mesure de la vitesse des ondes est plutôt répétable sur un même échantillon. Au regard des expérimentations précédentes sur les gels plans et de la simulation, deux zones différentes ont été identifiées. La zone (1) est identifiée comme le régime transitoire. On retrouve le comportement des ondes guidées avec une vitesse qui augmente avec la fréquence. Des pics de vitesse sont également visibles. Puis, autour de 1.3 kHz, la vitesse se stabilise, correspondant au comportement des ondes de Scholte viscoélastiques (zone 2). A cette fréquence, la longueur d'onde est suffisamment petite (2.3 mm) pour que la propagation des ondes soit indépendante des conditions aux limites du cristallin. Pour chaque mesure, un modèle de Kelvin-Voigt, adapté aux conditions aux limites des ondes de Scholte, a été ajusté sur la courbe de dispersion entre 1.3 kHz et 3.0 kHz, permettant d'estimer les coefficients de

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

viscoélasticité,  $\mu_1$  et  $\mu_2$ . Ces coefficients ont été moyennés sur les 3 mesures du même cristallin (coefficients de la *Figure IV-20*) et le modèle de Kelvin-Voigt moyen a été tracé en noir sur la *Figure IV-20*. La *Figure IV-21* représente les courbes de dispersion pour différents échantillons appartenant aux différents groupes décrits dans la méthode.



*Figure IV-21 : Dispersion des ondes de surface pour des échantillons de différents âges. Ligne bleu clair : échantillon provenant de l'ICE dont l'âge est autour de 3-4 mois. Ligne bleu foncé : échantillon provenant d'un abattoir dont la masse est inférieure à 500mg. Ligne verte : échantillon provenant d'un abattoir dont la masse est comprise entre 500 et 700 mg. Ligne rouge : échantillon provenant d'un abattoir dont la masse est supérieure à 700mg*

On peut observer que la courbe de dispersion de l'échantillon, provenant de l'ICE, est en dessous des autres courbes sur la bande passante 1.0 – 3.5 kHz. Cependant, les autres échantillons provenant des autres groupes ont des vitesses très similaires, qui se superposent. Les courbes ont été modélisées par un modèle de Kelvin-Voigt, adapté aux ondes de Scholte et des modules  $\mu_1$  et  $\mu_2$ , moyens ont été déduits. Le module de Young,  $E$ , est également calculé, en faisant l'hypothèse que les cristallins sont incompressibles ( $E \approx 3\mu_1$ ). Ils sont reportés dans le *Tableau IV-4*.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

Echantillon	Masse (mg)	Age	$\mu_1$ (kPa)	$E$ (kPa)	$\mu_2$ (Pa.s)
Echantillon ICE (N=1)	Non mesuré	3-4 mois	14.9	44.7	0.51
Echantillon $m < 500$ mg (N=7)	$432 \pm 43.3$	Non connu	$18.8 \pm 5.23$	$56.4 \pm 15.7$	$1.05 \pm 0.14$
Echantillon $500$ mg $< m < 700$ mg (N=7)	$588 \pm 65.9$	Non connu	$18.1 \pm 2.41$	$54.3 \pm 7.23$	$1.11 \pm 0.16$
Echantillon $m > 700$ mg (N=4)	$759 \pm 31.8$	Non connu	$17.7 \pm 3.17$	$53.1 \pm 9.51$	$1.35 \pm 0.07$

Tableau IV-4 : Résultats de la modélisation du modèle de Kelvin Voigt adapté aux ondes de Scholte dans les différents échantillons de cristallins

Les valeurs quantitatives de l'échantillon issu de l'ICE sont inférieures à celles des autres groupes. Cependant, en raison du manque de plusieurs échantillons, il n'est pas possible de parvenir à une conclusion définitive quant à l'existence d'une différence significative avec les autres groupes. Il est difficile de différencier les échantillons provenant des autres groupes. Chaque groupe a testé avec un test de Shapiro-Wilk pour vérifier que les données suivaient bien une distribution statistique normale. Puis, un test de Student a été réalisé entre chaque groupe pour les modules d'élasticité et de viscosité de cisaillement. Entre le groupe inférieur à 500 mg et le groupe supérieur à 700 mg, on trouve une p-value inférieur à 0.01 pour  $\mu_2$ , montrant une différence significative entre les deux groupes. Pour les autres groupes et variables, le test de Student n'a révélé aucune différence significative.

### 4.3 Discussion

Notre approche de spectroscopie, inspirée des algorithmes de corrélation de bruit, a permis d'évaluer la vitesse des ondes de surface dans la gamme 0.1-3.5 kHz pour différents modèles : gels plans, billes de gélatine, inclusion numérique (2D) et échantillons de cristallins porcins *ex vivo*. Nous avons pu voir que les régimes de propagation des ondes étaient similaires avec un régime d'ondes guidées à basses fréquences ( $f < 1$ kHz), puis un régime viscoélastique. Pour certains modèles (gels plans, inclusion numérique et cristallins porcins), les figures de dispersion obtenues ont permis de déduire des valeurs quantitatives viscoélastiques.

Pour comparer les données quantitatives obtenues pour les cristallins porcins avec les données de la littérature, ces dernières ont été converties en module d'élasticité de cisaillement,  $\mu_1$ , en supposant l'incompressibilité ( $\mu_1 = E/3$ , où  $E$  est le module de Young). L'étude de Zhang et al.<sup>11</sup> est la seule étude qui permet de comparer les modules de viscosité,  $\mu_2$ . En effet, ils ont étudié la dispersion des ondes de surface sur une gamme fréquentielle comprise entre 0.5 kHz et 2.5 kHz, sur des échantillons de cristallins de lapins vieux et jeunes. On trouve dans notre cas des valeurs plus élevées avec 0.51 Pa.s pour l'échantillon provenant de l'ICE et  $1.35 \pm 0.07$  Pa.s pour le dernier groupe contre  $0.55 \pm 0.04$  Pa.s pour des échantillons jeunes et  $0.86 \pm 0.13$  Pa.s pour des échantillons vieux, dans l'étude de Zhang et al. Ces différences peuvent provenir du modèle animal, mais les valeurs restent dans le même ordre de grandeur. Les modules d'élasticité de cisaillement moyens, pour les échantillons de cristallins porcins de notre étude, sont plus importants que ceux rapportés dans la littérature.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

Cependant, il est difficile de comparer ces résultats avec les nôtres en raison de divers paramètres non contrôlés, tels que les modèles animaux, les protocoles de mesure, la gamme de fréquences et la température. Les méthodes statiques telles que la méthode de micro-indentation ont mesuré des modules de cisaillement entre 0.2 kPa et 0.7 kPa pour de jeunes échantillons de cristallins porcins coupés en deux<sup>19-21</sup>. La méthode basée sur les déplacements de bulles locales par ARFI a mesuré des modules de cisaillement entre 0.4 kPa et 2 kPa (gradient du centre vers le cortex de jeunes cristallins porcins)<sup>18,22,23</sup>. Les méthodes dynamiques mesurant la vitesse des ondes élastiques ont trouvé des modules de cisaillement typiques de 2 à 3 kPa pour le jeune modèle porcin<sup>11,24-26</sup>. Cependant, pour ces études, il est fait l'hypothèse que la propagation des ondes de surface correspond à des ondes de Rayleigh ou de Scholte, quelle que soit la fréquence étudiée. Or, les ondes étant créées par ARFI, la fréquence des ondes est assez basse et correspond plutôt à un régime d'ondes guidées. Ceci a souligné l'importance cruciale d'indiquer la fréquence d'excitation lors de l'estimation des propriétés viscoélastiques. Dans notre étude, nous avons décrit la dispersion des ondes dans le cristallin et observé des ondes guidées se propageant à basses fréquences, ce qui entraîne une diminution de la vitesse et des modules d'élasticité apparents. Cela suggère que les méthodes reposant sur les ondes guidées peuvent être biaisées. La seule étude qui a étudié la dispersion des ondes est l'étude de Zhang et al.<sup>11</sup>. Cependant, les courbes de dispersion obtenues ne semblent pas présenter les deux régimes de propagation observés dans notre étude. Cela peut être dû à l'étalement de la fréquence du signal d'excitation de l'ARFI qui peut lisser les résultats sur une plage de fréquences. Dans notre étude, nous avons pu obtenir des figures de dispersion avec une résolution fréquentielle très fine.

Pour les cristallins porcins, séparés en plusieurs groupes, les valeurs obtenues ne sont pas différentes significativement exceptées pour les valeurs de  $\mu_2$  entre le groupe supérieur à 700 mg et le groupe inférieur à 500 mg. De plus, on note des valeurs très différentes pour l'échantillon provenant de l'ICE. Malheureusement, seul un échantillon provenant de l'ICE a pu être évalué quantitativement. En effet, pour plusieurs autres échantillons, les courbes de dispersion obtenues présentaient des fluctuations de vitesse même à des fréquences supérieures à 1 kHz (Figure IV-22) ne permettant pas d'appliquer un modèle rhéologique.

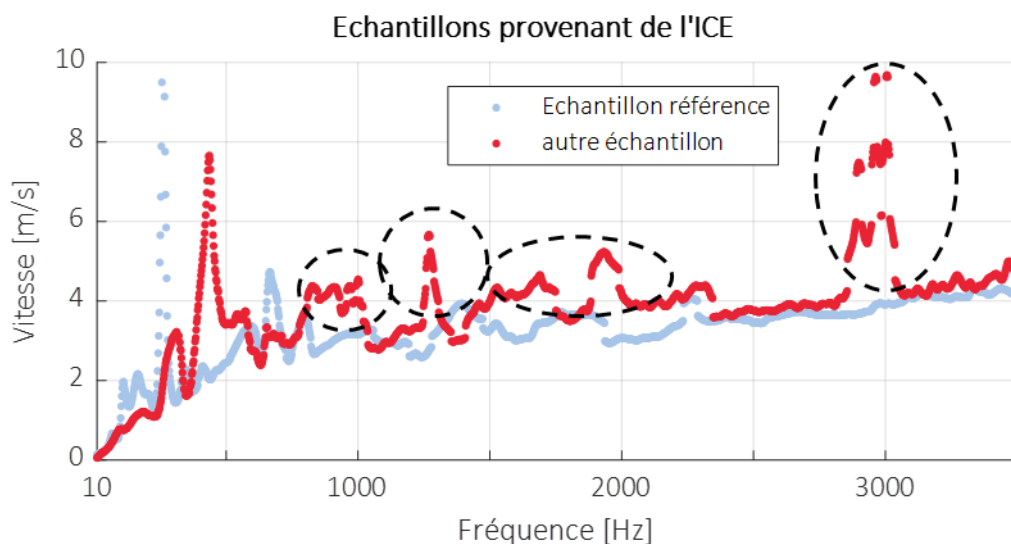


Figure IV-22 : Figures de dispersion pour plusieurs échantillons provenant de l'ICE (âge : 3-4 mois). Echantillon de référence (bleu) est comparé à un autre échantillon (rouge), présentant des fluctuations (entourées en pointillés) pour des fréquences supérieures à 1kHz.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

Ces variations peuvent provenir d'une mauvaise transmission des ondes. Cependant, on peut observer qu'en dehors de ces zones (fréquences comprises entre 2 et 2.7 kHz et fréquences supérieures à 3kHz), la vitesse est proche des valeurs de l'échantillon de référence. L'absence de résultats significatifs entre les différents groupes peut être expliquée par la mauvaise classification des échantillons. En effet, l'âge n'étant pas connu, les échantillons ont été classés par leur masse, mais ce classement se base sur l'hypothèse qu'une masse plus élevée correspond bien à un échantillon plus âgé. Cependant, pour des échantillons provenant de la même paire, la variabilité est assez faible. Pour une paire de cristallins « jeunes » (groupe inférieur à 500 mg), on trouve un coefficient  $\mu_1$  de  $15.9 \pm 0.91$  kPa et un coefficient  $\mu_2$  de  $1.03 \pm 0.01$  Pa.s. Pour une paire de cristallins « vieux » (masse supérieure à 700mg), on trouve un  $\mu_1$  de  $17.8 \pm 1.29$  kPa et un  $\mu_2$  de  $1.22 \pm 0.03$  Pa.s. Cette absence de résultats significativement différents peut également provenir du protocole expérimental qui pourrait endommager l'échantillon et biaiser la mesure. En effet, l'échantillon est beaucoup manipulé : dissection, mesure de la masse, inclusion dans l'agarose 2%. Cependant, il est difficile de visualiser macroscopiquement cet éventuel endommagement. Enfin, la mesure de la vitesse des ondes de surface est peut-être dépendante de l'élasticité de la capsule du cristallin. Plusieurs études ont montré que la membrane entourant les fibres cristalliniennes était assez rigide avec un module d'Young proche de 1 MPa<sup>27</sup>. L'étude de Mekonen et al.<sup>28</sup> a montré que la mesure des ondes de surface était influencée par cette membrane qui augmenterait les propriétés viscoélastiques mesurées du cristallin. Sur la gamme de fréquences étudiée, notre mesure est peut-être plus influencée par la membrane que sur des gammes de fréquences plus basses. En outre, pour confirmer l'hypothèse selon laquelle la dispersion dans le régime viscoélastique est uniquement due à la viscosité, l'influence d'un gradient d'élasticité sur la mesure de la vitesse doit être prise en compte. En effet, l'élasticité du cristallin n'est pas homogène sur toute son épaisseur, avec un noyau plus mou que le cortex dans le cas des cristallins « jeunes » et un noyau plus rigide que le cortex dans le cas de cristallins « âgés »<sup>20</sup>.

Notre méthode permet des mesures rapides (500 ms) sur une large gamme de fréquences, alors que d'autres études, notamment celles utilisant l'imagerie OCT, nécessitent des excitations répétées et synchronisées pour chaque ligne de l'image<sup>11,24-26,29</sup>. Une des limites de notre étude est la nécessité d'exciser le cristallin de l'œil et de l'incorporer dans un gel pour un couplage mécanique optimal. Travailler à des fréquences supérieures au régime transitoire est crucial pour une caractérisation quantitative précise. Les prochaines sections présenteront des expérimentations visant à détecter un changement d'élasticité par une rigidification artificielle du cristallin. Ces études sont nécessaires avant de passer à des mesures étudiant l'impact de la cavitation ultrasonore, effet qui n'a pas encore été étudié dans la littérature.

### 5. Suivi d'un changement d'élasticité dans le cristallin

#### 5.1 Rigidification par incubation à 50°C

Le principe de cette expérimentation est de créer artificiellement une rigidification du cristallin en l'incubant à 50°C. En effet, il a déjà été montré par micro-indentation, dans l'étude de Heys et al.<sup>30</sup> que l'exposition du cristallin à des températures élevées le rigidifiait. Le processus engendrant cette rigidification correspond au même processus naturel survenant pendant la presbytie. En effet, l'agrégation des protéines du cristallin, spécifiquement dans le noyau est corrélée par une augmentation de sa rigidité. Dans cette partie, on souhaite observer une rigidification d'un cristallin incubé à 50°C par mesure d'ondes de surface.



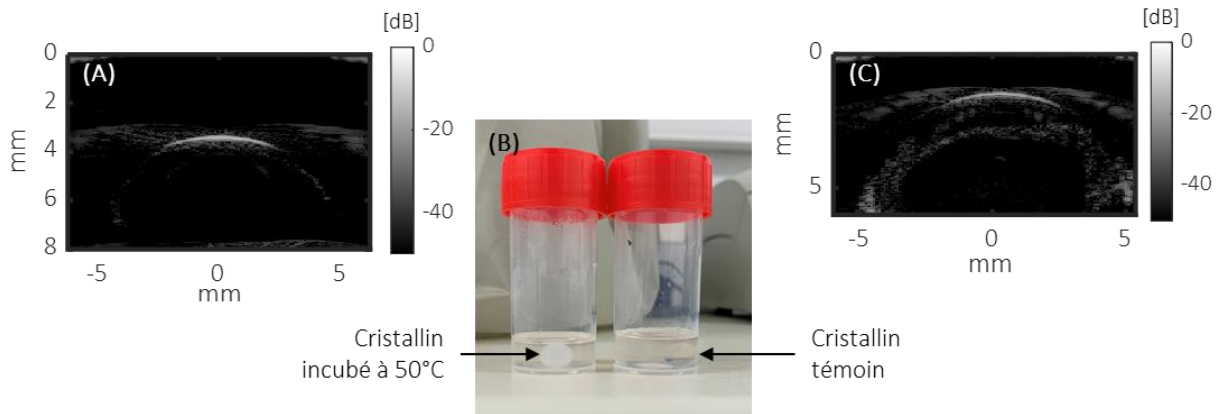
## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### a) Méthode :

Les cristallins sont des échantillons porcins. Ils sont extraits du globe oculaire et conservés dans des pots à échantillons, remplis d'un milieu de conservation (CorneaMax, EurobioScientific, Paris). Pour chaque paire de cristallins, un cristallin est incubé à 37°C dans une étuve (cristallin témoin) et l'autre cristallin est incubé au bain marie à 50°C (cristallin traité). Plusieurs temps d'incubation ont été testés : 12h et 6h. Une fois l'incubation terminée, le protocole présenté dans la partie précédente pour la mesure de la vitesse des ondes de surface est mis en place.

### b) Résultats :

La *Figure IV-23B* est une photographie d'une paire de cristallin après 12h d'incubation à 50°C et 37°C. Le cristallin incubé à 50°C est devenu opaque comparé au cristallin témoin, qui est resté transparent. Cependant, les images B-mode de ces deux cristallins (*Figure IV-23A* et *Figure IV-23C*) montrent toujours une absence de *speckle* ultrasonore. Seule l'interface est visible.



*Figure IV-23 : (B) : Photographie d'une paire de cristallin après incubation à 50°C (cristallin de gauche) et du cristallin témoin (cristallin de droite). (A) B-mode du cristallin incubé à 50°C et (C) B-mode du cristallin témoin*

La *Figure IV-24* représente le résultat de la dispersion des ondes de surface pour un cristallin incubé à 50°C pendant 12h et son cristallin témoin.

**Chapitre IV:** Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

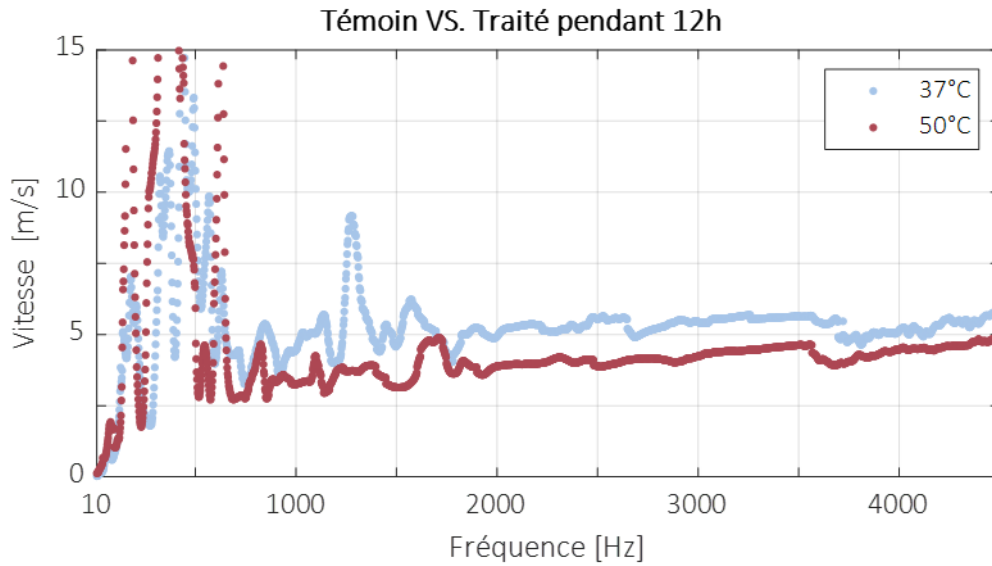


Figure IV-24 : Comparaison de la dispersion des ondes de surface entre un cristallin incubé à 50°C pendant 12h (points rouges) et un cristallin témoin (points bleus)

On peut observer que les vitesses des ondes de surface du cristallin témoin sont supérieures à celles du cristallin traité, sur une gamme de fréquences comprise entre 700 Hz et 4500 Hz. Ce résultat est plutôt surprenant, car une rigidification du cristallin incubé à 50°C est attendue<sup>30</sup>. Ainsi, les ondes se propageant sur sa surface devraient aller plus vite que celles se propageant sur la surface du témoin. Ce résultat a été observé sur 3 paires d'échantillons incubés à 50°C pendant 12h. Sur d'autres échantillons, ayant subi le même protocole, la propagation d'ondes observée sur l'échantillon incubé à haute température était très bruitée voire inexistante, contrairement au cristallin témoin. La Figure IV-25 représente le même type de résultat que la figure précédente, mais cette fois l'incubation n'a duré que 6h.

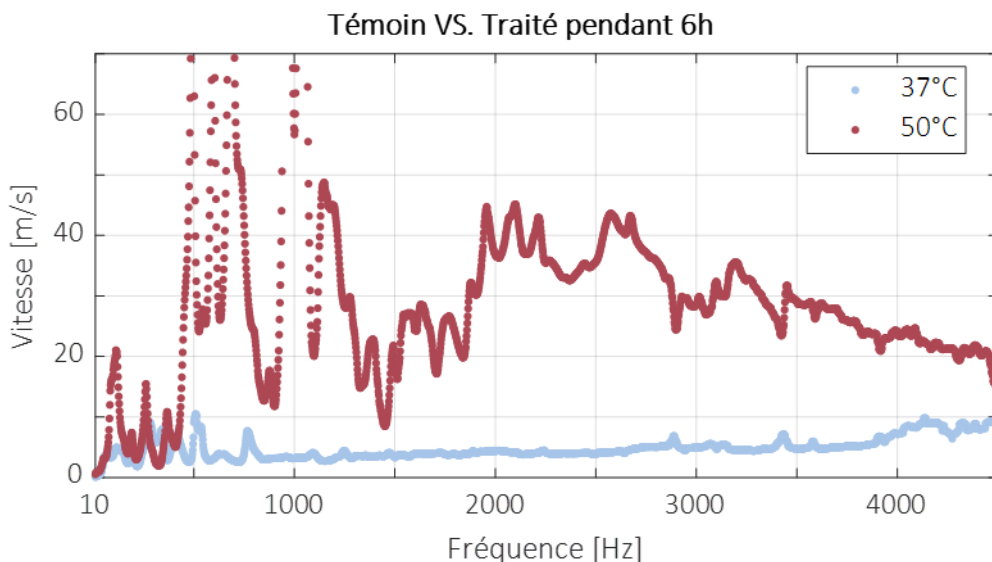


Figure IV-25 : Comparaison de la dispersion des ondes de surface entre un cristallin incubé à 50°C pendant 6h (points rouges) et un cristallin témoin (points bleus)

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

Sur la *Figure IV-25*, on peut observer que la courbe de dispersion des ondes de surface, pour un cristallin traité pendant 6h, est largement supérieure à celle d'un cristallin témoin, sur toute la gamme de fréquence étudiée. Ce type de résultats a été obtenu pour deux paires d'échantillons. Il semble plus en accord avec la rigidification du cristallin en présence de chaleur. Cependant, sur une autre paire de cristallins ayant subi le même protocole, la différence entre les deux courbes de dispersion est négligeable (*Figure IV-26*).

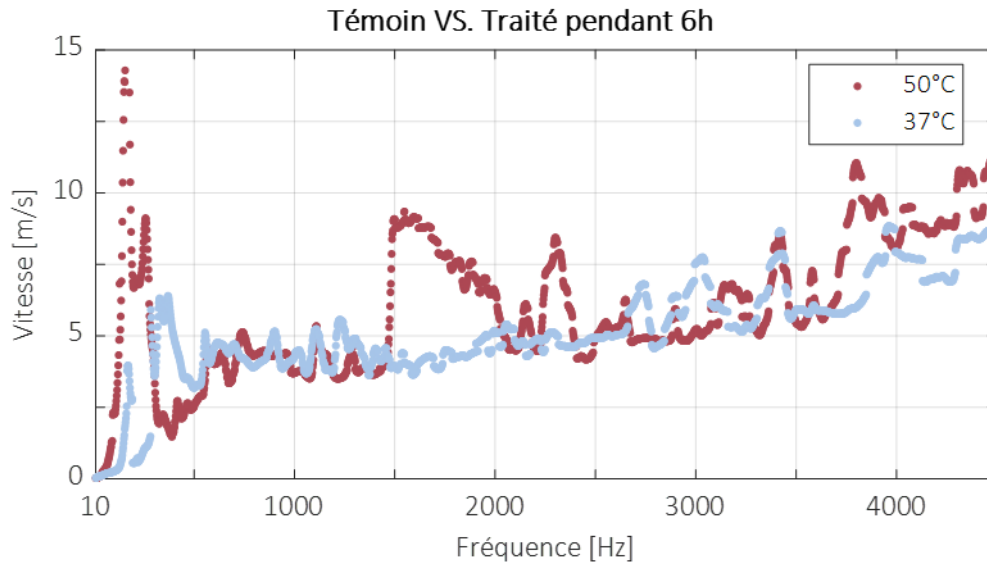


Figure IV-26 : Comparaison de la dispersion des ondes de surface entre un cristallin incubé à 50°C pendant 6h (points rouges) et un cristallin témoin (points bleus)

Afin de comprendre la différence de résultats entre ces deux paires d'échantillons, la capsule a été retirée pour chaque échantillon. A la dissection, nous avons pu observer que pour le cristallin traité pendant 6h et dont le résultat est présenté sur la *Figure IV-26*, une couche d'eau était présente sous la capsule. Cela n'a pas été observé pour le cristallin traité dont le résultat est présenté *Figure IV-25*.

### c) Discussion :

La mesure de la vitesse des ondes de surface a permis de détecter un changement d'élasticité du cristallin ayant été incubé à 50°C, comparé au cristallin témoin. Cependant, beaucoup de variabilités ont été observées entre les différentes paires de cristallins. En effet, un temps d'incubation de 12h semble donner un résultat inverse avec une vitesse des ondes de surface plus faible pour le cristallin traité à 50°C, comparé à son cristallin témoin. De plus, pour un même temps d'incubation de 6h, deux résultats différents ont été trouvés : une augmentation de la vitesse pour le cristallin incubé (*Figure IV-25*) et un changement négligeable de la vitesse des ondes de surface (*Figure IV-26*). L'étude de Heys et al.<sup>30</sup>, a montré qu'à partir de 2h d'incubation, le module de cisaillement augmentait linéairement. Aucun ramollissement n'a été observé pendant un total de 8h d'incubation. Cependant, les conditions expérimentales pour mesurer l'élasticité sont très différentes, comparé à ce qui est mis en place dans notre étude. En effet, dans l'étude de Heys et al., les échantillons sont sectionnés équatorialement, puis coupés en plusieurs sections. L'élasticité de chaque section est mesurée par micro-indentation. Ainsi, l'influence de la capsule qui renferme les fibres cristalliniennes n'est pas pris en compte dans cette

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

étude, contrairement à notre mesure qui est réalisée à partir des ondes de surface se propageant sur cette membrane.

La variabilité de notre mesure, qui semble corrélée au temps d'incubation, peut être expliquée par l'état de la capsule du cristallin. En effet, il a été montré dans l'étude de Krag et al.<sup>31</sup> que la capsule humaine était sensible aux hautes températures par une mesure de la température de rétrécissement (se situant autour de 50°C). Dans cette étude, les capsules sont disséquées et maintenues dans un porte échantillon. Le principe est d'exposer les échantillons à une lumière UV qu'ils absorbent. Cette absorption entraîne une transmission lumineuse uniquement le long du pourtour de chaque échantillon. Ainsi, pour évaluer la surface des échantillons, les variations de transmission lumineuse à travers ce pourtour sont mesurées pendant que les capsules subissent un processus de chauffage progressif. La température de rétrécissement correspond à la température seuil à laquelle on observe un rétrécissement de cette surface. Cela montre que la capsule subit une dénaturation thermique et une possible disruption des liaisons intramoléculaires et intermoléculaires des structures de collagène la composant<sup>32</sup>. Ceci peut alors entraîner une réduction de sa rigidité et une augmentation de son extensibilité<sup>31</sup>. Ainsi, les différences observées de mesure de la vitesse des ondes de surface en fonction du temps d'incubation peuvent être expliquées par une dénaturation de la matrice moléculaire de la capsule plus importante après 12h d'incubation.

La variabilité de la mesure entre les différents échantillons incubés pendant un même temps d'incubation peut être expliquée par l'influence de l'incubation du cristallin dans un milieu de conservation. En effet, l'étude de Augusteyn et al.<sup>33</sup> sur l'effet de l'incubation de cristallins primates sur leur biométrie a montré que les cristallins avaient tendance à se gorger d'eau. De plus, une séparation de la capsule de la masse cellulaire du cristallin a été observée dans de nombreux échantillons. Ces observations peuvent expliquer les résultats obtenus *Figure IV-25* et *Figure IV-26*, où une couche d'eau a été observée dans le cas où peu de différences a été obtenues entre cristallins traités et témoins.

La mesure de la vitesse des ondes de surface permet de détecter un changement d'élasticité dû à une rigidification artificielle du cristallin. Mais cette mesure peut être influencée par la dénaturation de la capsule due aux hautes températures et par l'incubation du cristallin dans un milieu de conservation. La rigidification par incubation à 50°C entraîne un changement global du cristallin. Cependant, ce type de changement d'élasticité n'est pas celui que l'on devrait observer dans le contexte d'un traitement potentiel de la presbytie. En effet, le traitement devrait être plus focalisé, et le changement d'élasticité devrait être plus localisé, sans impacter l'élasticité de la capsule. Ainsi, il est nécessaire de déterminer si la mesure de la vitesse des ondes de surface est une technique intéressante pour le suivi d'un changement local d'élasticité dans le cristallin. Les expérimentations présentées dans la section suivante ont été développées dans ce but précis.

### 5.2 Rigidification par traitement HIFU thermique

#### a) Méthode :

Pour cette expérience, nous avons gardé comme hypothèse que l'exposition du cristallin à de hautes températures entraînait une rigidification de celui-ci. Afin de créer un changement d'élasticité plus local dans le cristallin, nous avons donc utilisé l'effet thermique des HIFU. Une sonde de thérapie ultrasonore confocale, construite au laboratoire, de fréquence 1.11 MHz, a été utilisée pour focaliser des ultrasons de haute intensité dans le cristallin. Elle comporte également une sonde d'imagerie en son centre (7.5 MHz). Cette sonde est alimentée par un signal sinusoïdal continu, d'amplitude 250 mVpp et de fréquence 3.337 MHz, correspondant à la troisième harmonique du transducteur de thérapie. On choisit

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

de travailler à cette fréquence afin de diminuer la taille de la tache focale du transducteur. Ce signal est amplifié avec un amplificateur de puissance de 200 Wélec. Le wattmètre intégré à l'amplificateur indique, pour une tension d'entrée de 250 mVpp, une puissance électrique de sortie de 50W.

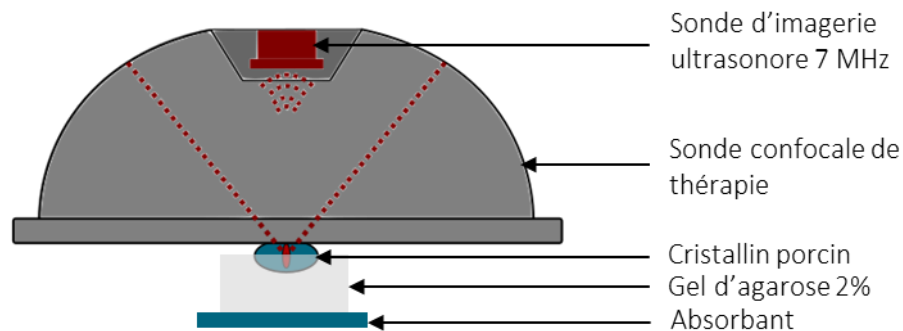


Figure IV-27 : Montage expérimental pour créer une lésion thermique dans le cristallin

### Expérimentations préliminaires avec le lens spinner :

Une première série d'expérimentations est mise en place afin de définir la durée d'insonification nécessaire, pour mesurer un changement de déformation au *lens spinner* entre un cristallin témoin et un cristallin traité aux HIFU. Cette méthode de mesure de déformabilité a été présentée dans le Chapitre I – Partie 1. Dans ce cas le traitement est réalisé *in situ*, en laissant le cristallin dans l'œil. Puis, le traitement est appliqué pendant 5 s, 1 s ou 0.5 s. Pour chaque durée d'insonification, 3 échantillons sont traités. Puis, les cristallins sont excisés de l'œil et sont inclus dans le protocole du *lens spinner*. Le principe de cette méthode est de faire tourner rapidement le cristallin et de visualiser sa déformation, due à la force centripète, avec une caméra ultra rapide. Deux vitesses de rotation sont utilisées : 75 rpm (tours par minute), pour mimer la position au repos du cristallin et 1500 rpm pour mimer sa position d'accommodation. Les images enregistrées par la caméra permettent de mesurer la différence de déformation entre les deux vitesses de rotation, et plus particulièrement la différence de rayon de courbure de la face antérieure. Ces analyses ont été réalisées par l'équipe du laboratoire du BiO. On détermine la durée optimale comme étant la durée d'insonification pour laquelle le *lens spinner* est sensible au changement d'élasticité induit dans le cristallin. On fait également l'hypothèse que la sensibilité de l'élastographie sera équivalente à celle du *lens spinner*.

### Expérimentations avec les techniques d'élastographie :

Une fois que la durée optimale d'insonification a été déterminée par les expérimentations avec le *lens spinner*, des expériences pour tester la sensibilité de l'élastographie ont été mises en place. Pour cela, les échantillons de cristallins porcins sont inclus dans des gels d'agarose comme expliqué dans les sections précédentes. Une première acquisition d'élastographie est réalisée suivant le protocole de la section 2.3. Puis on réalise le traitement HIFU pendant la durée optimale, déduite précédemment. Enfin, une deuxième acquisition d'élastographie est réalisée sur le cristallin traité. Une expérience témoin, consistant à laisser le cristallin immergé dans le milieu de culture pendant 20 min, a également été mise en place. Elle permettra d'étudier l'impact de l'incubation dans un liquide qui se produit lors de l'insonification du cristallin. Pour analyser les ondes de surface, deux méthodes seront utilisées. La première est le tracé des figures de dispersion des ondes de surface et la deuxième est la cartographie de la vitesse le long de l'interface du cristallin. Pour obtenir une carte des vitesses le long de l'interface

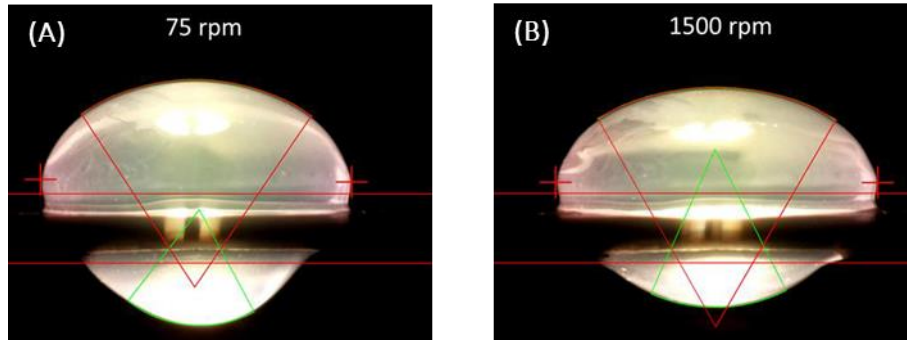
#### Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

du cristallin, le principe de l'élastographie par corrélation de bruit, présenté dans le Chapitre I – Partie 3 et utilisé dans la Partie 1 de ce chapitre, est adapté pour un déplacement en une dimension.

##### b) Résultats :

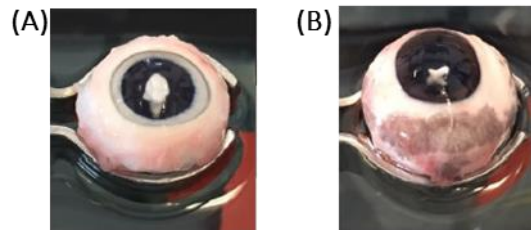
##### Expérimentations préliminaires avec le lens spinner :

Sur la *Figure IV-28*, on peut observer deux instantanés de la vidéo d'un cristallin lors de sa rotation à 75 rpm et à 1500 rpm.



*Figure IV-28 : Instantanés lors de la rotation d'un cristallin à 75 rpm (A) et à 1500 rpm (B)*

Le cristallin est plus aplati, lors de la rotation la plus rapide, comparé au même cristallin lors de la rotation la plus lente. A partir de ces images, on calcule le pourcentage de différence des rayons de courbure de la face antérieure entre les deux rotations. La *Figure IV-29* montre le résultat de deux traitements ultrasonores thermiques sur des cristallins porcins. La lésion thermique apparaît comme une cataracte blanche. Ce résultat avait déjà été obtenu lors des premières expériences préliminaires du Chapitre II – Partie 1.



*Figure IV-29 : Photographies de deux échantillons traités aux HIFU. (A) : Temps de traitement 5s. (B) : Temps de traitement 1s.*

La *Figure IV-30* représente les résultats obtenus avec le *lens spinner* en fonction des différentes durées d'insonification. Quelques échantillons ont été endommagés par la dissection et n'ont donc pas pu être pris en compte dans l'analyse. On remarque que pour la durée d'insonification de 5 s, la différence de déformabilité entre les cristallins traités et les cristallins témoins est très importante, comparé aux autres groupes.

#### Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

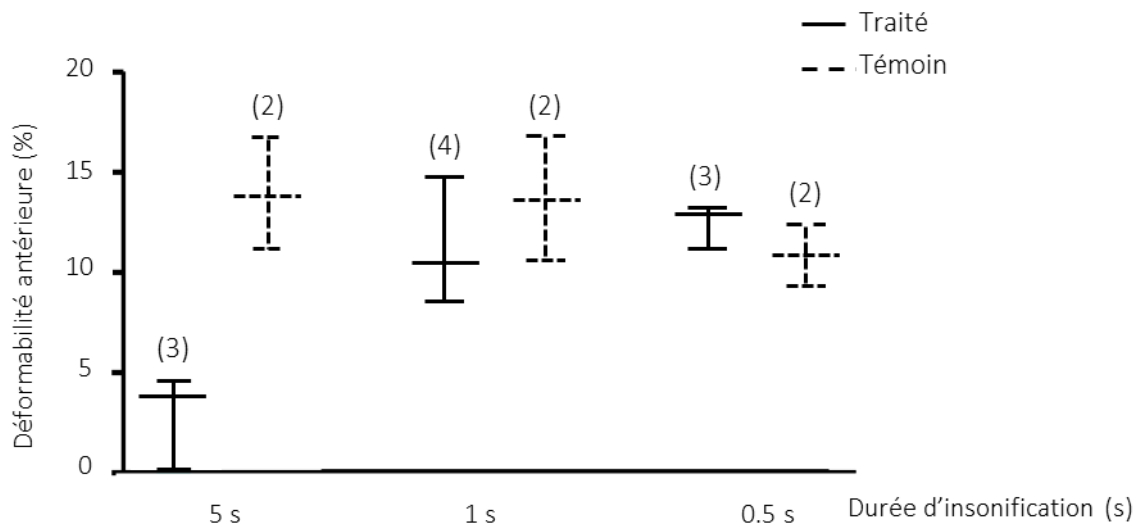


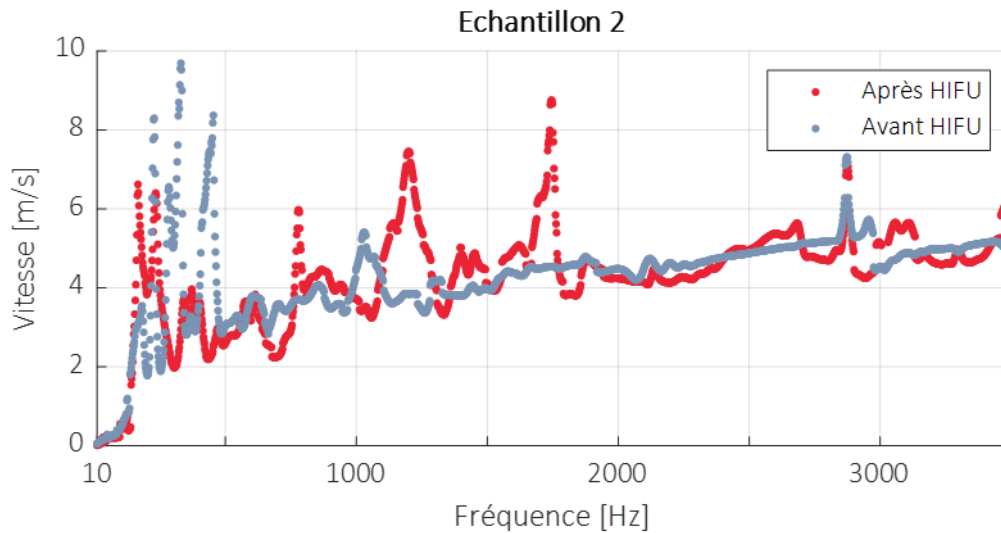
Figure IV-30 : Déformabilité antérieure en fonction des durées d'insonification. Le chiffre en parenthèse est le nombre d'échantillons pour chaque groupe.

On peut donc conclure que le lens spinner est sensible à un changement d'élasticité résultant d'une exposition de 5 secondes à des ultrasons, tandis que les deux autres durées d'exposition ne sont pas suffisantes pour être détectées par la méthode du *lens spinner*. Ainsi pour tester la sensibilité de la mesure par élastographie, la durée d'insonification de 5 s sera choisie.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### Expérimentations avec les techniques d'élastographie :

La *Figure IV-31* représente les courbes de dispersion des ondes de surface se propageant sur un échantillon avant traitement HIFU et après traitement. Les images échographiques correspondantes sont affichées sur la *Figure IV-32C-D*. La lésion thermique, apparaît comme une zone hyperéchogène sur le B-mode. Elle se situe assez proche de la surface du cristallin.



*Figure IV-31 : Figure de dispersion dans l'échantillon n° 2 avant traitement HIFU et après traitement HIFU*

Les deux courbes de dispersion sont assez semblables, alors qu'on s'attendrait à observer une hausse des vitesses dans le cas de la courbe après traitement. On observe quelques pics de vitesse sur la courbe rouge, mais il est difficile de déterminer s'ils ont un lien avec la présence de la lésion thermique. L'absence de différences entre les deux courbes pourrait être expliquée par le fait que la vitesse est moyennée sur l'ensemble de l'interface. En effet, si la rigidification est bien locale, une vitesse moyennée spatialement n'y est peut-être pas sensible. Ce même type de résultat a été observé pour les autres échantillons. Ainsi, une deuxième analyse a été réalisée, en estimant la vitesse locale sur l'interface du cristallin. Ces résultats sont présentés *Figure IV-32*. Pour l'échantillon 1, la lésion thermique se situe à environ 1.3 mm de la surface du cristallin. On peut noter que la forme de cette lésion est assez disparate. Sur la carte de vitesse avant traitement, on peut observer que les vitesses locales sont assez différentes d'un point à un autre, allant de 2 m/s au centre à près de 5 m/s à l'une des extrémités. Ces observations sont assez semblables pour les autres cartes C, E et F. Si on compare la carte A avec la carte après traitement B, on peut noter des augmentations de vitesse à certains endroits. Cependant, à l'aplomb de la lésion, des zones de vitesse proche de 5 m/s mais également de 2 m/s peuvent être observées. On se serait plutôt attendu à observer une zone plus homogène en vitesse à cet endroit, correspondant à la détection de la lésion. Si on compare, maintenant les cartes C et D, correspondant à l'échantillon 2, on note une augmentation des valeurs de vitesse à l'extrémité gauche de l'interface et légèrement au-dessus de la lésion. Enfin, concernant l'échantillon témoin (cartes E et F), on observe des valeurs de vitesses assez variables d'un point à un autre. Cependant, il semble qu'il n'y ait pas de différences significatives entre les deux états. On peut donc en conclure que l'incubation a un rôle moindre dans les résultats d'élasticité.



## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

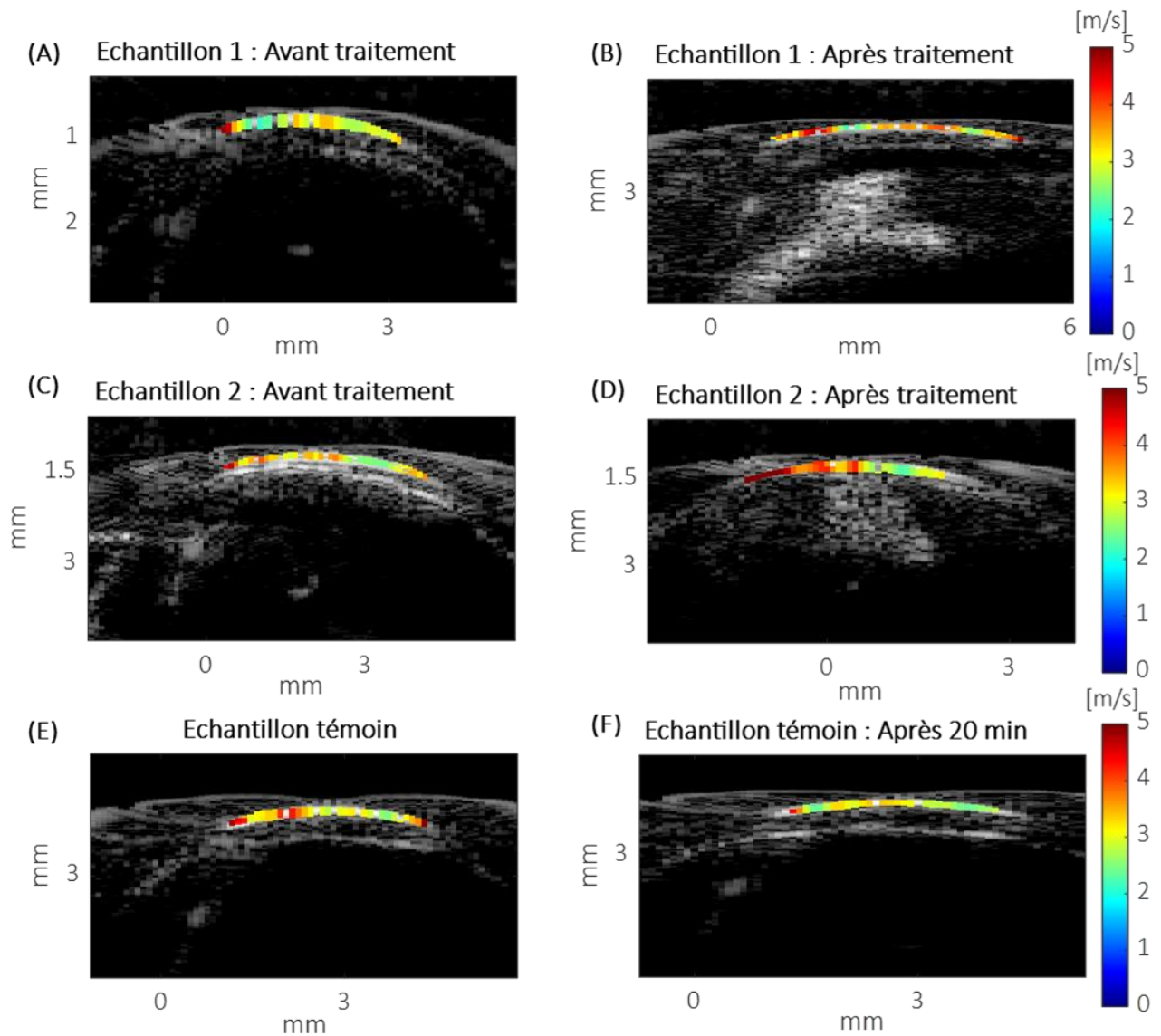


Figure IV-32 : Elastographie de vitesse le long de l'interface du cristallin, superposée sur le B-mode. (A) et (B) : cartes de vitesse pour l'échantillon 1 avant et après traitement HIFU, la lésion apparaît hyperéchogène sur le B-mode. (C) et (D) : cartes de vitesse pour l'échantillon 2 avant et après traitement HIFU. (E) et (F) : cartes de vitesse pour l'échantillon témoin avant et après 20 min d'incubation

### c) Discussion

Ces expérimentations ont montré qu'un traitement de 5s avec des HIFU thermiques permettait de réduire la déformabilité du cristallin, selon la méthode du *lens spinner*. Cependant, les mesures avec les ondes de surface n'ont pas permis d'obtenir des différences très importantes entre un cristallin avant et après traitement. Les mesures globales de dispersion des ondes ont montré des courbes assez semblables. Les cartes de vitesse, obtenues par élastographie par corrélation de bruit, ont montré des différences entre des mesures réalisées avant et après traitement, et plus particulièrement lorsque la lésion était proche de la membrane. Ce résultat peut être interprété comme une détection de la

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

rigidification locale du cristallin mais également d'un durcissement de la capsule sous l'effet des HIFU. En ce qui concerne le cristallin avec une lésion thermique plus profonde, la détection au moyen des ondes de surface ne produit pas de résultats évidents. On peut comparer ces estimations de vitesses locales avec des résultats obtenus dans les gels plans de la première section de ce chapitre. Le même algorithme d'estimation de vitesse le long d'une interface a été appliqué sur des gels plans de différentes élasticités.

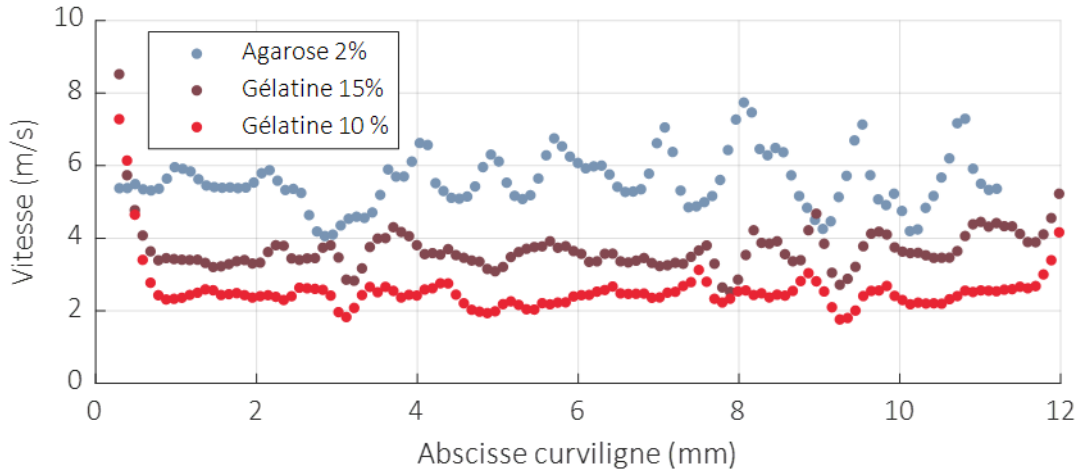


Figure IV-33 : Vitesse locale le long de l'interface de gels plans

On peut observer que pour des gels plans homogènes, l'estimation de vitesse locale peut être très variable d'un point à un autre. Par exemple pour l'agarose 2%, on trouve des vitesses pouvant aller de 4 m/s à 8 m/s. Cette différence de 4 m/s correspond à l'ordre de grandeur de différence obtenue dans l'échantillon 1 après traitement, ce qui montre qu'il est difficile d'attribuer le résultat obtenu à une réelle détection de la lésion thermique. Cette absence de détection peut s'expliquer par plusieurs hypothèses. Pour obtenir les déplacements curvilignes le long de l'interface du cristallin, les déplacements brutes sont interpolés pour obtenir des écarts entre les abscisses curvilignes constants. Cette interpolation peut lisser les déplacements et ainsi entraîner une perte de résolution spatiale. Pour améliorer la résolution spatiale de la mesure, l'utilisation de l'imagerie par OCT pourrait être plus appropriée. Cependant, cette approche nécessiterait une adaptation du dispositif expérimental, notamment en synchronisant la source d'excitation avec l'acquisition d'images ligne par ligne, ce qui serait essentiel pour estimer une vitesse. Une autre possibilité consisterait à effectuer des acquisitions à une cadence d'imagerie plus basse avec une seule excitation ondulatoire. Dans ce cas, bien que la cohérence temporelle soit inexistante, la cohérence spatiale reste préservée, permettant ainsi la mesure de la longueur d'onde. L'étude de Nguyen et al.<sup>34</sup> a montré que la cartographie des longueurs d'onde dans la cornée permettait de retrouver une cartographie similaire qualitativement à ce qu'on pourrait obtenir en vitesse. Enfin, sur la gamme de fréquence étudiée, notre mesure est peut-être trop influencée par la membrane du cristallin et cela empêcherait de détecter la lésion thermique lorsqu'elle est en profondeur. Travailler à plus basses fréquences, dans le régime des ondes guidées permettrait peut-être de détecter qualitativement un changement d'élasticité en profondeur. Pour travailler à plus basses fréquences, il faudrait adapter notre source d'excitation. En effet, les courbes de dispersion indiquent qu'à ces fréquences ( $f < 500\text{Hz}$ ), les estimations de vitesse sont perturbées par des pics, qui pourraient être causés par des résonances structurelles. Pour atténuer ces effets, il serait nécessaire de réduire la durée de l'excitation afin de se rapprocher d'une impulsion courte. Cependant, cette

**Chapitre IV:** Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

modification limiterait notre capacité à mener une analyse fréquentielle détaillée, telle que présentée précédemment.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

### Conclusion du Chapitre IV :

Ce chapitre avait pour objectif de mesurer l'élasticité du cristallin par des méthodes de corrélation de bruit. Ces algorithmes ont été adaptés pour étudier la dispersion des ondes de surface dans plusieurs modèles. Les gels plans ont permis de le valider sur un modèle simple et d'observer la présence d'un régime d'ondes guidées pour des fréquences où la longueur d'onde est du même ordre de grandeur que la taille du milieu. Puis, la simulation d'un disque homogène et l'expérimentation sur des billes de gélatine a permis d'adapter l'algorithme à des interfaces curvilignes. Les expérimentations sur billes ont également permis d'appréhender la difficulté pour transmettre des ondes à un petit objet, ce qui a permis d'améliorer le protocole pour des échantillons de cristallins porcins.

L'étude *ex vivo* sur les cristallins porcins a permis de mettre en évidence la présence d'un régime d'ondes guidées à basses fréquences ( $f < 1\text{kHz}$ ), puis à plus hautes fréquences d'un régime de propagation indépendant du guidage des ondes. Cette étude a montré que pour quantifier les propriétés viscoélastiques du cristallin, il était nécessaire d'étudier une large bande passante de fréquences, ce qui n'était pas réalisé précédemment dans la littérature. Cela explique en partie la grande différence obtenue entre les valeurs de modules d'élasticité trouvées dans les études ondulatoires et notre étude. Cependant, la méthode développée n'est pas assez sensible pour différencier l'élasticité de différents échantillons de différents âges. De plus, l'étude sur la détection de rigidification locale au sein du cristallin n'a pas montré des résultats très convaincants. Ces résultats posent la question de l'influence de l'élasticité de la capsule sur la mesure d'élasticité du cristallin par ondes de surface. L'étude sur la détection de la rigidification globale a également montré que cette membrane pouvait avoir une influence sur ces résultats. Cette hypothèse est également corroborée par l'étude de Mekonnen et al.<sup>28</sup>. Ainsi, afin d'envisager l'élastographie pour détecter des changements d'élasticité en profondeur que ce soit une rigidification ou un ramollissement, il est nécessaire d'étudier la mesure des ondes de surface à basses fréquences. Elles ne permettront pas de quantifier les changements de viscosité et d'élasticité, du fait de l'influence du guidage des ondes, mais apporteront des informations qualitatives. De plus, des modèles expérimentaux sont en cours de développement au sein du laboratoire pour étudier les ondes se propageant sur les membranes.

Nous avons pu également développer la cartographie de vitesse le long d'une interface 1D avec les algorithmes de corrélation de bruit. Cependant, pour gagner en résolution spatiale, l'imagerie par OCT semble être une méthode plus avantageuse. En effet, cette approche permettrait d'atteindre une résolution de l'ordre du micromètre. Cependant, il est important de noter qu'une telle amélioration de la résolution nécessiterait une complexité expérimentale accrue. Cette complexité se traduirait par la nécessité de synchroniser la source d'excitation, comme le font différentes études précédentes<sup>11,24-26,29</sup>. À l'inverse, simplifier le protocole expérimental impliquerait une baisse de la cadence d'acquisition d'images et des résultats qualitatifs, en se limitant à l'estimation de la longueur d'onde.

L'approche mise en place dans ce chapitre a montré de bons résultats pour étudier la dispersion des ondes, mais il est nécessaire de la rendre moins invasive. En effet, dans notre étude, le cristallin est disséqué de l'œil et inclus à moitié dans un gel d'agarose. Cette stratégie a été adoptée en partie car il est difficile de transmettre des ondes hautes fréquences au sein de l'échantillon. En effet, l'utilisation d'un vibreur mis en contact avec la sclère, ne permet pas d'obtenir de façon répétable des ondes à la surface du cristallin. Le plus souvent des ondes basses fréquences se propagent. Le cristallin étant reliée au corps ciliaire par des zonules, peut être que celles-ci agissent comme un système d'amortissement, empêchant certaines fréquences d'être transmises. Ainsi, pour développer une méthode moins invasive, il faudrait mettre en place un autre système de vibration comme l'ARFI. En effet, dans le cadre du traitement de la presbytie par cavitation ultrasonore, nous pourrions tirer profit des ultrasons de

#### Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

haute intensité et les utiliser comme source d'ondes. Cependant, cette source d'excitation créerait probablement des ondes plus basses fréquences que précédemment étudiées. Nous pourrions également étudier les ondes qui se propagent naturellement dans le globe oculaire et déjà observées par l'étude de Nguyen et al.<sup>34</sup>. De plus, notre algorithme basé sur la corrélation de bruit serait adapté à ce type de champ d'onde qui peut être diffus. Cela nécessiterait la mise en place d'une étude sur modèles *in vivo*. De même, dans ce cas des ondes basses fréquences se propageront. Une autre source d'ondes que nous pourrions également utiliser est celle résultant du déclenchement successif de nuages de cavitation créés par un champ d'onde ultrasonore pulsé. Cette approche nécessiterait d'exciter le tissu avec des impulsions ultrasonores de thérapie dont la période de répétition varierait. On pourrait ainsi obtenir des déclenchements de nuage de cavitation à la même fréquence de répétition permettant de créer des ondes à des fréquences précises. Cela requerrait également de synchroniser l'acquisition d'images avec les impulsions de thérapie et ainsi d'éviter les interférences des faisceaux de thérapie. Enfin, une autre approche serait d'utiliser l'activité de cavitation pour en déduire des informations sur l'élasticité du milieu traité. En effet, les bulles de cavitation oscillent et explosent au cours de l'insonification, et émettent ainsi des ondes ultrasonores. Ces ondes peuvent être écoutées passivement comme il a déjà été montré dans la section 3 du Chapitre II. Analytiquement, les oscillations d'une bulle soumise à un champ acoustique dépendent en partie de l'élasticité du milieu environnant<sup>35</sup>. Plusieurs études ont montré la dépendance de l'activité de cavitation avec l'élasticité du milieu<sup>36,37</sup>. L'avantage de cette méthode est qu'elle pourrait être adaptée à un suivi en temps réel du traitement et serait complètement non invasive. Pour mettre en place cette méthode, des expérimentations préliminaires sur des gels de référence, dont l'élasticité est connue, seraient intéressantes pour calibrer la mesure. La complexité résiderait potentiellement dans la détermination du moment précis où la cavitation ultrasonore altérerait l'élasticité du milieu, empêchant l'utilisation de son élasticité comme point de référence. Il faudrait, ainsi, poser l'hypothèse que le milieu est dans son état initial lors de l'émission de premier bruit de cavitation. L'évènement de nucléation n'aurait donc pas d'impact sur les propriétés élastiques du milieu.

Références Bibliographiques du Chapitre IV :

1. E. Serebryany and J. A. King, "The  $\beta$ -crystallins: Native state stability and pathways to aggregation," *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 115, no. 1, pp. 32–41, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2014.05.002.
2. W. H. Garner and M. H. Garner, "Protein Disulfide Levels and Lens Elasticity Modulation: Applications for Presbyopia," *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 57, no. 6, p. 2851, May 2016, doi: 10.1167/iovs.15-18413.
3. J. A. Huntington and P. E. Stein, "Structure and properties of ovalbumin," *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. App.*, vol. 756, no. 1–2, pp. 189–198, May 2001, doi: 10.1016/S0378-4347(01)00108-6.
4. Y. Sun and S. Hayakawa, "Heat-Induced Gels of Egg White/Ovalbumins from Five Avian Species: Thermal Aggregation, Molecular Forces Involved, and Rheological Properties," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, no. 6, pp. 1636–1642, Mar. 2002, doi: 10.1021/jf0109975.
5. T. Croguennec, F. Nau, and G. Brule, "Influence of pH and Salts on Egg White Gelation," *J. Food Sci.*, vol. 67, no. 2, pp. 608–614, Mar. 2002, doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb10646.x.
6. M. Nieuwland, W. G. Bouwman, L. Pouvreau, *et al.*, "Relating water holding of ovalbumin gels to aggregate structure," *Food Hydrocoll.*, vol. 52, pp. 87–94, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.06.018.
7. G. F. Pinton, J. J. Dahl, and G. E. Trahey, "Rapid tracking of small displacements with ultrasound," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 53, no. 6, pp. 1103–1117, Jun. 2006, doi: 10.1109/TUFFC.2006.1642509.
8. A. Marmin, G. Laloy-Borgna, S. Facca, *et al.*, "Time-of-flight and noise-correlation-inspired algorithms for full-field shear-wave elastography using digital holography," *J. Biomed. Opt.*, vol. 26, no. 08, Aug. 2021, doi: 10.1117/1.JBO.26.8.086006.
9. T. L. Szabo, "Chapter 4 - Attenuation," in *Diagnostic Ultrasound Imaging: Inside Out (Second Edition)*, Second Edition., T. L. Szabo, Ed., Boston: Academic Press, 2014, pp. 81–119. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396487-8.00004-5>.
10. S. Catheline, J.-L. Gennisson, G. Delon, *et al.*, "Measurement of viscoelastic properties of homogeneous soft solid using transient elastography: An inverse problem approach," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 116, no. 6, pp. 3734–3741, Dec. 2004, doi: 10.1121/1.1815075.
11. H. Zhang, M. Singh, F. Zvietcovich, *et al.*, "Age-related changes in the viscoelasticity of rabbit lens characterised by surface wave dispersion analysis," *Quantum Electron.*, vol. 52, no. 1, pp. 42–47, Jan. 2022, doi: 10.1070/QEL17964.
12. I. Z. Nenadic, M. W. Urban, M. Bernal, *et al.*, "Phase velocities and attenuations of shear, Lamb, and Rayleigh waves in plate-like tissues submerged in a fluid (L)," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 130, no. 6, pp. 3549–3552, Dec. 2011, doi: 10.1121/1.3654029.
13. G. Laloy-Borgna, A. Zorgani, and S. Catheline, "Micro-elastography: Toward ultrasonic shear waves in soft solids," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 118, no. 11, p. 113701, Mar. 2021, doi: 10.1063/5.0039816.
14. X. Zhang, B. Qiang, and J. Greenleaf, "Comparison of the surface wave method and the indentation method for measuring the elasticity of gelatin phantoms of different concentrations," *Ultrasonics*, vol. 51, no. 2, pp. 157–164, Feb. 2011, doi: 10.1016/j.ultras.2010.07.005.
15. A. C. Eringen and E. S. Şuhubi, *Elastodynamics*. New York San Francisco London: Academic press, 1975.

## Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

16. F. Ahmad, "Guided waves in a transversely isotropic cylinder immersed in a fluid," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 109, no. 3, pp. 886–890, Mar. 2001, doi: 10.1121/1.1348299.
17. A. S. Vilupuru and A. Glasser, "Optical and biometric relationships of the isolated pig crystalline lens," *Ophthalmic Physiol. Opt.*, vol. 21, no. 4, pp. 296–311, Jul. 2001, doi: 10.1046/j.1475-1313.2001.00593.x.
18. T. N. Erpelding, K. W. Hollman, and M. O'Donnell, "Mapping age-related elasticity changes in porcine lenses using bubble-based acoustic radiation force," *Exp. Eye Res.*, vol. 84, no. 2, pp. 332–341, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.exer.2006.10.007.
19. K. R. Heys, S. L. Cram, and R. J. W. Truscott, "Massive increase in the stiffness of the human lens nucleus with age: the basis for presbyopia?," *Mol. Vis.*, p. 10.
20. H. A. Weeber, G. Eckert, W. Pechhold, *et al.*, "Stiffness gradient in the crystalline lens," *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 245, no. 9, pp. 1357–1366, Sep. 2007, doi: 10.1007/s00417-007-0537-1.
21. M. A. Reilly and V. N. Ravi, "Microindentation of the young porcine ocular lens," *J. Biomech. Eng.-Trans. Asme*, vol. 131, no. 4, pp. 044502–044502, Apr. 2009, doi: 10.1115/1.3072891.
22. S. Yoon, S. Aglyamov, A. Karpiouk, *et al.*, "The Mechanical Properties of Ex Vivo Bovine and Porcine Crystalline Lenses: Age-Related Changes and Location-Dependent Variations," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 39, no. 6, pp. 1120–1127, Jun. 2013, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.12.010.
23. K. W. Hollman, M. O'Donnell, and T. N. Erpelding, "Mapping elasticity in human lenses using bubble-based acoustic radiation force," *Exp. Eye Res.*, vol. 85, no. 6, pp. 890–893, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.exer.2007.09.006.
24. Y. Li, J. Zhu, J. J. Chen, *et al.*, "Simultaneously imaging and quantifying *in vivo* mechanical properties of crystalline lens and cornea using optical coherence elastography with acoustic radiation force excitation," *APL Photonics*, vol. 4, no. 10, p. 106104, Oct. 2019, doi: 10.1063/1.5118258.
25. H. Zhang, C. Wu, M. Singh, *et al.*, "Optical coherence elastography of cold cataract in porcine lens," *J. Biomed. Opt.*, vol. 24, no. 03, p. 1, Mar. 2019, doi: 10.1117/1.JBO.24.3.036004.
26. Y. Chen, S. Ye, Q. Wang, *et al.*, "In situ assessment of lens elasticity with noncontact optical coherence elastography," *Biomed. Opt. Express*, vol. 13, no. 12, p. 6671, Dec. 2022, doi: 10.1364/BOE.475306.
27. K. S. Avetisov, N. A. Bakhchieva, S. E. Avetisov, *et al.*, "Biomechanical properties of the lens capsule: A review," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 103, p. 103600, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.jmbbm.2019.103600.
28. T. Mekonnen, C. Zevallos-Delgado, H. Zhang, *et al.*, "The lens capsule significantly affects the viscoelastic properties of the lens as quantified by optical coherence elastography," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 11, p. 1134086, Mar. 2023, doi: 10.3389/fbioe.2023.1134086.
29. X. Zhang, Q. Wang, Z. Lyu, *et al.*, "Noninvasive assessment of age-related stiffness of crystalline lenses in a rabbit model using ultrasound elastography," *Biomed. Eng. OnLine*, vol. 17, no. 1, p. 75, Dec. 2018, doi: 10.1186/s12938-018-0509-1.
30. K. R. Heys, M. G. Friedrich, and R. J. W. Truscott, "Presbyopia and heat: changes associated with aging of the human lens suggest a functional role for the small heat shock protein,  $\alpha$ -crystallin, in maintaining lens flexibility: Heat,  $\alpha$ -crystallin and lens stiffness, K. R. Heys *et al.*," *Aging Cell*, vol. 6, no. 6, pp. 807–815, Sep. 2007, doi: 10.1111/j.1474-9726.2007.00342.x.
31. S. Krag, C. C. Danielsen, and T. T. Andreassen, "Thermal and mechanical stability of the lens capsule," *Curr. Eye Res.*, vol. 17, no. 5, pp.

#### Chapitre IV: Evaluation de l'élastographie par corrélation de bruit pour la mesure de l'élasticité du cristallin

- 470–477, Jan. 1998, doi: 10.1076/ceyr.17.5.470.5198.
32. S. Krag and T. T. Andreassen, "Mechanical properties of the human lens capsule," *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 22, no. 6, pp. 749–767, Nov. 2003, doi: 10.1016/S1350-9462(03)00063-6.
33. R. C. Augusteyn, A. M. Rosen, D. Borja, *et al.*, "Biometry of primate lenses during immersion in preservation media," *Mol. Vis.*.
34. T.-M. Nguyen, A. Zorgani, M. Lescanne, *et al.*, "Diffuse shear wave imaging: toward passive elastography using low-frame rate spectral-domain optical coherence tomography," *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 12, p. 126013, Dec. 2016, doi: 10.1117/1.JBO.21.12.126013.
35. L. Mancia, E. Vlaisavljevich, Z. Xu, *et al.*, "Predicting Tissue Susceptibility to Mechanical Cavitation Damage in Therapeutic Ultrasound," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 43, no. 7, pp. 1421–1440, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2017.02.020.
36. S. A. Hendley, V. Bollen, G. J. Anthony, *et al.*, "In vitro assessment of stiffness-dependent histotripsy bubble cloud activity in gel phantoms and blood clots," *Phys. Med. Biol.*, vol. 64, no. 14, p. 145019, Jul. 2019, doi: 10.1088/1361-6560/ab25a6.
37. I. R. Webb, S. J. Payne, and C.-C. Coussios, "The effect of temperature and viscoelasticity on cavitation dynamics during ultrasonic ablation," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 130, no. 5, pp. 3458–3466, Nov. 2011, doi: 10.1121/1.3626136.



## Conclusion générale :

La solution la plus utilisée pour corriger la perte d'accommodation des personnes atteintes de la presbytie est le port d'une correction optique. Cependant, celles-ci ne sont pas parfaites et ne sont pas forcément adaptées à tous les patients. De plus, il n'existe aucune solution thérapeutique qui cible directement la cause biologique de la presbytie, qui est la rigidification du cristallin. Sa rigidification est expliquée par l'agrégation des protéines cristallines, plus particulièrement en son centre. Les ultrasons thérapeutiques semblent être une technologie prometteuse pour détruire les agrégats de protéines, qui entraînent la sclérose du cristallin. La formation d'un nuage de bulles par dépression de l'onde ultrasonore et son oscillation inertielle ou stable pourraient détruire mécaniquement cette agrégation ou améliorer la pénétration de drogue dissolvante au sein du cristallin. Plus généralement, sa microcirculation vieillissante pourrait être rétablie, diminuant ainsi le risque de stress oxydatif et la formation d'agrégats. Enfin, le développement d'une nouvelle méthode de mesure d'élasticité, entièrement compatible avec un dispositif de thérapie ultrasonore permettrait de monitorer en temps réel le changement d'élasticité du cristallin. L'élastographie ultrasonore par suivi d'ondes de surface a été largement étudiée par de nombreuses équipes. Cependant, l'impact de la taille de cet organe sur la propagation des ondes n'a pas été entièrement pris en compte. Or, elle peut entraîner un phénomène de guidage d'ondes et donc leur ralentissement, ne rendant alors plus compte quantitativement de l'élasticité du milieu.

L'ensemble de ces travaux de thèse visait à étudier le développement d'un dispositif ultrasonore destiné à initier de la cavitation à l'intérieur du cristallin, tout en examinant son influence sur l'élasticité de cet organe. Le deuxième objectif était de développer une méthode d'élastographie ultrasonore par ondes de surface pour le cristallin et d'évaluer son efficacité pour le suivi d'un traitement.

Dans un premier temps, des expérimentations ont été mises en place pour montrer la faisabilité d'initier un nuage de cavitation au sein du cristallin. La difficulté était de trouver un transducteur ultrasonore permettant d'atteindre des niveaux de pression intenses tout en ayant une zone focale plus petite que la taille du cristallin. Les premiers tests, ayant donné des résultats positifs, ont été réalisés avec une sonde confocale comportant 4 transducteurs. Différentes techniques d'imagerie pour suivre le traitement en temps réel ont été mises en place. L'imagerie échographique a permis de visualiser la formation du nuage de cavitation et l'imagerie passive a permis de cartographier son activité au sein du cristallin. Ce premier chapitre a également pu montrer que les niveaux de seuil de pression nécessaires pour initier de la cavitation au sein du cristallin porcins étaient importants. Ce résultat peut être expliqué par sa faible teneur en eau et par sa structure fibreuse. Enfin, les techniques d'imagerie histologique ont permis de différencier les lésions mécaniques créées par la cavitation ultrasonore des lésions thermiques qui entraînent une cataracte du cristallin. Le Chapitre III visait à améliorer la génération de cavitation ultrasonore en utilisant un dispositif plus adapté à la taille et à la forme du globe oculaire. Cette étude a permis de déterminer les paramètres ultrasonores les plus optimaux pour générer un nuage de cavitation, de manière répétable, dans le cristallin. Grâce au trou interne du dispositif, l'ajout d'une sonde d'imagerie a été possible et a permis de suivre en temps réel le traitement. Ce montage expérimental a également permis d'étudier la dynamique de dissolution des nuages de bulles après traitement, qui pourrait donner une information sur l'élasticité du milieu. Des études plus approfondies sur des modèles expérimentaux d'élasticité connue devront être mises en place pour mieux contrôler et comprendre ce phénomène. Pour un meilleur ciblage du cristallin, ces expérimentations pourront

être améliorées en réalisant deux images échographiques du globe oculaire par une rotation de 90° du dispositif. De plus, il sera important d'étudier si le noyau du cristallin peut être réellement ciblé par ce dispositif ultrasonore ou si une optimisation des paramètres d'insonification est nécessaire. Enfin, les algorithmes de corrélation de bruit ont permis de détecter un ramollissement résultant de l'application de cavitation en sein de gels dont la gélification repose sur la formation de ponts disulfures. Ainsi, l'activité de cavitation est capable de détruire mécaniquement ce type de liaisons et pourrait donc être adaptée à la destruction des agrégats de protéines dans le cristallin.

Dans un second temps ces travaux de thèse se sont focalisés sur le développement d'une méthode d'élastographie ultrasonore pour monitorer un changement d'élasticité du cristallin suite à un traitement ultrasonore. L'objectif était d'adapter les algorithmes de corrélation de bruit pour prendre en compte les caractéristiques du cristallin : son absence de *speckle* et sa taille de l'ordre du centimètre. Ainsi en développant une méthode permettant l'étude fréquentielle de la vitesse de propagation des ondes de surface, l'élasticité de gels plans a été déterminée quantitativement. Des études numériques et expérimentales sur des modèles plus proches de la taille et de la forme du cristallin ont montré l'importance du phénomène de guidage des ondes pour des fréquences basses. Le même type de résultats sur des échantillons de cristallins porcins excisés a été obtenu. Ainsi, une étude sur une grande bande passante de fréquences est nécessaire pour déterminer quantitativement l'élasticité de cet organe. Cette méthode a été évaluée pour monitorer un changement d'élasticité se traduisant par une rigidification du cristallin. Il a été montré que cette méthode était capable de mesurer un changement d'élasticité globale mais qu'il était plus difficile de détecter une rigidification locale. En effet, la structure particulière du cristallin et plus précisément le guide d'onde, qu'est la capsule, influence la propagation des ondes de surface. Ce phénomène empêche d'accéder précisément à l'élasticité en profondeur. Une étude plus approfondie de la propagation des ondes sur une membrane serait intéressante pour mieux comprendre ce phénomène. Pour le monitoring de l'élasticité du cristallin, il pourrait être intéressant de travailler à plus basses fréquences, en adaptant le protocole expérimental. Le changement d'élasticité lors d'un traitement de cavitation ultrasonore pourrait alors être évalué, qualitativement. De plus, il est également nécessaire de rendre cette méthode de mesure d'élasticité non-invasive pour qu'elle soit compatible avec une approche clinique. Utiliser les ondes se propageant naturellement à la surface du cristallin *in vivo* pourrait être une solution à étudier. Une autre approche, se basant sur un phénomène physique différent, serait d'utiliser les ondes ultrasonores émises par le nuage de cavitation. En effet, la dynamique d'une bulle oscillante est dépendante de l'élasticité du milieu environnant. L'étude de l'activité d'un nuage de bulles est plus complexe mais semble être une approche prometteuse pour développer un suivi en temps réel du traitement.

## Résumé :

La presbytie est un défaut visuel qui touche la majorité de la population à partir de 45-50 ans. En effet, cette perte de la capacité à visualiser de près résulte du vieillissement naturel du cristallin. Les corrections optiques sont les solutions les plus couramment utilisées pour améliorer la vision de près des patients presbytes. Il existe également des chirurgies correctrices qui remodelent la cornée ou, de manière plus radicale, remplacent le cristallin par une prothèse. Cependant, aucune de ces solutions ne cible directement la source de la presbytie, qui est la rigidification du cristallin. L'une des causes biologiques de ce processus serait liée à l'agrégation des protéines du cristallin. Les ultrasons focalisés de haute intensité, en particulier la cavitation ultrasonore, pourraient offrir une nouvelle approche pour le traitement de la presbytie, en détruisant mécaniquement ces agrégats. Cette thèse étudiera donc la faisabilité d'utiliser l'activité de cavitation pour un potentiel traitement de la presbytie. Le deuxième objectif est de développer une méthode d'élastographie ultrasonore par ondes de surface, pour mesurer l'élasticité du cristallin. En effet, l'absence de diffuseurs ultrasonores à l'intérieur de celui-ci contraint l'utilisation des ondes se propageant à sa surface. Cette méthode sera appliquée sur une large gamme de fréquences afin d'observer d'éventuels effets de guidage en raison de la petite taille de cet organe, qui est inférieure au centimètre.

Dans un premier temps, des études de faisabilité, visant à initier un nuage de cavitation ultrasonore au sein d'échantillons de cristallins porcins *ex vivo*, ont été mises en place. Un dispositif ultrasonore dont la forme et la taille sont compatibles avec celles d'un globe oculaire a permis de déclencher de manière répétable des nuages de cavitation. Plusieurs modalités d'imagerie ont été mises en place pour suivre en temps réel le traitement. L'imagerie échographique a permis de visualiser la formation des nuages de bulles et leur dynamique de dissolution après traitement. La cartographie de l'activité de cavitation a pu être réalisée à l'aide de méthodes d'imagerie passive. Ultérieurement, les effets sur la structure interne du cristallin ont pu être observés microscopiquement à l'aide d'un protocole de coupes histologiques. Ces résultats ont montré la nécessité de développer une méthode pour suivre en temps réel le traitement ultrasonore du cristallin, et plus particulièrement pour monitorer les changements d'élasticité.

Dans un second temps, les algorithmes d'élastographie par corrélation de bruit ont été évalués pour détecter un ramollissement induit par la cavitation ultrasonore dans un gel mimant l'agrégation des protéines du cristallin. Puis, l'adaptation de ces algorithmes a permis de mesurer avec précision la dispersion des ondes de surface sur une large gamme de fréquences. Différents régimes de propagation des ondes de surface ont pu alors être observés. La méthode a été appliquée sur des gels plans de gélatine et d'agarose, des inclusion numériques et des échantillons de cristallin porcins excisés de l'œil. L'étude de la dispersion des ondes a montré la nécessité de travailler avec des fréquences suffisamment élevées pour ne pas dépendre des limites du milieu, susceptibles de guider les ondes. Les propriétés viscoélastiques du cristallin ont pu alors être quantifiées. Cependant, à ces fréquences, il n'a pas été possible de détecter de changements locaux d'élasticité en profondeur du cristallin. En effet, il semble que la membrane du cristallin sur laquelle se propage les ondes puisse influencer leur vitesse de propagation, perturbant la mesure.

Ces travaux de thèse représentent les premiers résultats de faisabilité d'initiation de cavitation ultrasonore dans le cristallin à l'aide d'un dispositif cliniquement compatible pour le développement d'un potentiel traitement de la presbytie. De même, les études d'élastographie ont permis de poser de premières pistes de développement de méthodes pour suivre le traitement, qui permettra à termes d'évaluer l'efficacité d'une telle thérapie.

## Abstract:

Presbyopia is a visual defect that affects the majority of the population from the age of 45-50. This loss of near vision results from the natural aging of the crystalline lens. Optical corrections are the most common solutions used to improve near vision in presbyopia patients. There are also corrective surgeries that reshape the cornea or, more radically, replace the lens with an implant. However, none of these solutions directly targets the source of presbyopia, which is the rigidification of the crystalline lens. One of the biological causes of this process is thought to be the aggregation of lens proteins. High-intensity focused ultrasound, and in particular ultrasonic cavitation, could offer a new approach to presbyopia treatment, by mechanically destroying these aggregates. This thesis will therefore study the feasibility of using cavitation activity as a potential treatment for presbyopia. The second objective is to develop a surface wave ultrasound elastography method to measure lens elasticity. The absence of ultrasonic scatterers inside the lens means that only waves propagating on its surface can be used. This method will be applied over a wide range of frequencies in order to observe any guiding effects due to the small size of this organ, which is less than a centimeter in diameter.

Firstly, feasibility studies were carried out to initiate an ultrasonic cavitation cloud in *ex vivo* porcine lens samples. An ultrasound device of shape and size compatible with those of an eyeball was used to repeatedly trigger cavitation clouds. Several imaging modalities were used to monitor the treatment in real time. Ultrasound imaging was used to visualize bubble cloud formation and their dissolution dynamics after treatment. Passive imaging was used to map cavitation activity. Subsequently, the effects on the internal structure of the lens could be observed microscopically through histological sectioning protocol. These results highlighted the need to develop a method to track ultrasound treatment of the lens in real time, and more specifically to monitor elasticity changes.

Secondly, noise correlation elastography algorithms were evaluated to detect ultrasound cavitation-induced softening in a gel mimicking lens protein aggregation. Then, by adapting these algorithms, it was possible to accurately measure the dispersion of surface waves over a wide frequency range. This enabled the clear identification of the surface waves properties. The method was applied to flat gelatin and agarose phantoms, numerical inclusions and porcine lens samples excised from the eye. The analysis of wave dispersion emphasized the need for higher frequencies, avoiding medium constraints that guide waves. The viscoelastic properties of the crystalline lens could then be quantified. However, at these frequencies, it was not possible to detect local changes in the lens's elasticity in depth. Indeed, it appears that the membrane of the lens on which the waves propagate may influence their propagation speed, disrupting the measurement.

This work represents the initial feasibility results of initiating ultrasonic cavitation in the crystalline lens using a clinically compatible device for the development of a potential treatment for presbyopia. Similarly, elastography studies have provided initial results for the development of methods to monitor the treatment, which will ultimately enable the evaluation of the effectiveness of such therapy.