

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Microscopie de localisation par ultrasons pour
l'angiographie myocardique**

PHILIPPE CORMIER

Institut de génie biomédical

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

Génie biomédical

Août 2020

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Microscopie de localisation par ultrasons pour l'angiographie myocardique

présenté par **Philippe CORMIER**

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

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

Frédéric LESAGE, président

Jean PROVOST, membre et directeur de recherche

François YU, membre

REMERCIEMENTS

J'aimerais premièrement remercier mon directeur de recherche Jean Provost, qui m'a offert l'opportunité de réaliser ce projet motivant et de m'initier au domaine de la recherche. Sa disponibilité ainsi que ses suggestions, tant au niveau technique qu'au niveau académique, m'ont été particulièrement bénéfiques et ont permis la réalisation de ce projet dans un climat favorisant l'apprentissage, la cohésion et le travail d'équipe.

Je tiens aussi à remercier mes collègues de laboratoire pour nos nombreuses discussions, les pauses café, les conseils reçus et l'ambiance agréable qui régnait dans le laboratoire. Spécialement, je tiens à remercier Jonathan Porée, qui a été un excellent mentor lors de ce projet et qui a su m'apporter un grand nombre d'apprentissages hautement enrichissants en échange de quelques expressions québécoises. Je voudrais remercier Chloé Bourquin, qui m'a particulièrement aidé à m'initier à l'échographie et à la conception de séquence ultrasonore. Également, je remercie mon voisin de bureau, Simon Blais, avec qui j'ai eu d'excellentes discussions sur une panoplie de sujets.

Finalement, j'aimerais remercier mes parents ainsi que mon frère, qui m'ont constamment supporté dans mon cheminement académique et qui m'ont toujours motivé à me surpasser dans ce qui me passionne.

RÉSUMÉ

Les maladies cardiovasculaires s'avèrent être la première cause de mortalité au monde ainsi que la deuxième cause de mortalité au pays. Plus spécifiquement, la maladie coronarienne est représentée par un blocage artériel au niveau coronarien qui peut mener à l'ischémie du myocarde. Les méthodes actuelles de diagnostic de la maladie coronarienne se concentrent sur l'observation du rétrécissement des vaisseaux dans le système vasculaire coronarien pour évaluer l'état de l'organe par un examen ionisant et invasif. De plus, l'atteinte physiologique ou à la fonction de la microvasculature coronarienne est maintenant reconnue comme étant précurseur d'ischémie du myocarde. Plusieurs mécanismes peuvent être en cause, mais une prévalence élevée a été démontrée chez les patients atteints de maladie coronarienne. En somme, nous tirerions grandement avantage d'une modalité d'imagerie non ionisante et non invasive capable de faire la cartographie et la mesure du débit des artérioles et capillaires intramyocardiques, car ils sont le véhicule direct de l'apport sanguin au myocarde.

Avec l'avènement des scanners ultrasonores ultrarapides, les modalités d'imagerie basées sur la localisation et le suivi des microbulles injectées comme agent de contraste permettent l'imagerie du système vasculaire d'un organe avec une résolution surpassant la limite de diffraction. Cependant, l'application de ces modalités d'imagerie vasculaire repose sur une accumulation cohérente des positions des microbulles au sein d'une région d'intérêt ne subissant qu'un mouvement tissulaire minimal. Ce mémoire introduit le développement de l'angiographie dynamique de localisation par ultrasons du myocarde (*Dynamic Myocardial Localization Angiography, MULA*) une modalité d'imagerie échographique destinée à améliorer le diagnostic et le suivi des traitements des pathologies coronariennes. Techniquement, ce projet visait à la cartographie dynamique des vaisseaux sanguins du myocarde par la localisation de microbulles au sein d'un organe aux mouvements complexes et de grandes amplitudes. De plus, ce mémoire présente les résultats associés à l'utilisation de cette nouvelle technologie pour l'imagerie cardiaque de petits animaux.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in the world as well as the second leading cause of death in the country. Specifically, coronary artery disease is represented by an arterial blockage at the coronary level, which can lead to myocardial ischemia. Current methods of diagnosing coronary artery disease focus on observing the narrowing of vessels in the coronary network to assess the condition of the organ, which is normally done by an ionizing or invasive procedure. In addition, physiological damage or the functional impairment of the coronary microvasculature is now recognized as a precursor to myocardial ischemia. Several mechanisms may be involved, but a high prevalence has been demonstrated in patients with coronary artery disease. In short, we would greatly benefit from a non-ionizing and non-invasive imaging modality capable of mapping and measuring the flow of intramyocardial arterioles and capillaries, because they are the direct vehicle of the myocardium's blood income.

With the advent of ultrafast ultrasound scanners, imaging modalities based on the localization and tracking of injected microbubbles allow for the subwavelength resolution imaging of an organ's vasculature. However, the application of these vascular imaging modalities relies on a consistent accumulation of microbubble positions within a region of interest with minimal tissue movement. This work introduces the development of Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography (MULA), an imaging modality intended to improve the diagnosis and treatment monitoring of coronary pathologies. This project was aimed at the dynamic mapping of myocardial blood vessels by localizing microbubbles within an organ undergoing complex movements of large amplitudes. In addition, this work presents the results associated with the performance of this new technology in the cardiac imaging of small animals.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ.....	IV
ABSTRACT	V
TABLE DES MATIÈRES	VI
LISTE DES FIGURES.....	IX
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Objectifs	3
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE.....	4
2.1 Maladies Cardiovasculaires.....	4
2.1.1 Généralités.....	4
2.1.2 Athérosclérose.....	6
2.1.3 Physiologie du flux coronariens	7
2.1.4 Traitements.....	8
2.1.5 Diagnostic par imagerie médicale.....	9
2.2 L'imagerie ultrasonore	13
2.2.1 Principe physique	13
2.2.2 Échographie médicale	16
2.3 Microscopie de localisation par ultrasons	26
2.3.1 Historique.....	26
2.3.2 Caractéristiques de l'ULM.....	29
2.3.3 Travaux antérieurs.....	34
2.4 Suivi du mouvement par ultrasons	37

CHAPITRE 3	MÉTHODOLOGIE.....	39
3.1	Installation expérimentale	39
3.1.1	Échographe.....	39
3.1.2	Sonde.....	39
3.1.3	Dispositif de suivi des signes vitaux	40
3.1.4	Système micrométrique de positionnement	41
3.1.5	Microbulles.....	42
3.2	Séquence ultrasonore.....	43
3.3	Post traitement.....	44
3.3.1	Acquisition dynamique	44
3.3.2	Beamforming Lagrangien	44
CHAPITRE 4	ARTICLE 1: DYNAMIC MYOCARDIAL ULTRASOUND LOCALIZATION ANGIOGRAPHY.....	46
4.1	Introduction	47
4.2	Methods.....	48
4.2.1	Experimental Procedure	48
4.2.2	Dynamic MULA	49
4.2.3	Comparison Approach.....	53
4.3	Results	56
4.3.1	Lagrangian Coordinates Generation.....	56
4.3.2	Motion Based Enhancements	57
4.3.3	Assessment of the Myocardium's Vasculature	58
4.4	Discussion	59
4.4.1	Measuring Heart Motion	60
4.4.2	Improving Vessel Mapping.....	60

4.4.3	Assessment of the Myocardium's Vasculature	62
4.5	Limitations	63
4.6	Conclusion.....	64
4.7	References	65
CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE		68
5.1	Développer et optimiser MULA à l'aide d'études in vivo	68
5.2	Démontrer la faisabilité initiale de MULA dans un petit modèle animal	69
CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		72
RÉFÉRENCES		73

LISTE DES FIGURES

Figure 2-1: Anatomie du cœur et du réseau vasculaire illustré par une coupe 4 chambres des cavités cardiaques. Figure adaptée de (https://fr.wikipedia.org/wiki/Atrium_(anatomie)), consultée le 28-07-2020).....	5
Figure 2-2: Caractéristiques hémodynamiques des vaisseaux du réseau coronarien en fonction de leur dimension et positionnement dans l'arborescence vasculaire. Extrait de [18].	8
Figure 2-3: Propagation d'une onde de compression dans un milieu. Extrait de [32].	14
Figure 2-4 : (A) Positionnement de la sonde pour un examen cardiaque dans l'axe court parasternal, extrait de [37]. (B) Champ d'imagerie de l'axe court parasternal, extrait de [37]. (C) Carte vasculaire des vaisseaux intramyocardiques dans l'axe court parasternal, extrait de [38]. ...	17
Figure 2-5 : Géométrie d'une sonde linéaire. Extrait de [12].	18
Figure 2-6 : Mode émission des signaux ultrasonores selon deux différentes configurations.....	19
Figure 2-7 : Mode réception des signaux ultrasonores provenant du milieu.	20
Figure 2-8 : Principe d'émission ultrasonore de l'échographie conventionnelle. La sélection d'éléments actifs se déplace selon l'axe de balayage pour couvrir le milieu étudié à l'aide de faisceaux ultrasonores focalisés.	21
Figure 2-9 : Émission angulaire d'onde plane par une fonction de délais rectiligne.	23
Figure 2-10 : Exemple de formation d'image d'une émission d'onde plane. Extrait de [47].	24
Figure 2-11 : Temps de parcours de l'onde ultrasonore lors d'une émission par onde plane. Extrait de [47].	25
Figure 2-12: Image B-mode d'un diffuseur unique (gauche) et sa réponse parabolique au sein des données RF (droite). Extrait de [58].	29
Figure 2-13 : Schématisation séquentielle des étapes de la microscopie de localisation par ultrasons. Extrait de [6].	34
Figure 2-14 : Réseau vasculaire d'une oreille de souris (gauche), extrait de [70]. Réseau vasculaire du cerveau de rat (centre), extrait de [2]. Vascularisation d'une tumeur (droite), extrait de [71].	35

- Figure 2-15 : Image d'un vaisseau non corrigé (A). Même vaisseau avec correction du mouvement (B). Profil d'intensité du vaisseau avant et après correction du mouvement (C). Extrait de [86].
.....38
- Figure 3-1 : Coupe de vue de l'axe court parasternal avec positionnement de la sonde. Illustration des deux ventricules: ventricule gauche (VG) et ventricule droit (VD). Modifiée de J.Lynch Patrick, *Heart short axis*, 13 April 201140
- Figure 3-2 : Installation expérimentale de l'imagerie échographique cardiaque. Les stabilisateurs ne sont pas présents dans cette figure.....42
- Figure 4-1 : Dynamic MULA framework. Dynamic acquisition procedure of ultrasound images: (a) Trigger signals are generated from the animal's ECG to drive the ultrasound system. (b) DAS beamformed images of the left ventricle in parasternal short axis view in the systolic period in brightness mode (Bmode, grayscale), overlaid with a yellow segmentation of the endocardium and epicardium. (c) Lagrangian coordinates of the diastolic period are shown as a red grid overlaid on the Bmode image. (d) Lagrangian beamformed images were processed through a time-dependent SVD filter to isolate the microbubble signal. (e) A 2D point spread function kernel was correlated with the filtered images followed by a 2D gaussian peak fitting to localize microbubble centroids. Microbubble centroids were accumulated in 17 ms sliding windows to create density maps in early (f) and end (g) diastole.55
- Figure 4-2 : Myocardial movement tracking through Lagrangian coordinates. Lagrangian coordinates grid (red) overlaid on Bmode images (grayscale) of the left ventricle in the systole period (a) and diastole period (b). (c) Curves of displacement respective to the peak systolic period are shown through the heartbeat cine-loop. (d) Simulated electrocardiogram for illustration purposes.56
- Figure 4-3 : Microbubble density profiles of vessels in different configurations. (a) DAS beamformed images without any motion correction. (b) Motion correction of the Microbubble positions localized from DAS beamformed images. (c) Dynamic MULA. (d) Microbubble density profiles of the three comparison configurations along the green dotted line with the full width half maximum measurement of three vessel profiles.57
- Figure 4-4 : Dynamic imaging of microbubble perfusion. (a) The microbubble density map in the early diastolic period is overlaid with the segmentation of the endocardium and epicardium

(yellow outline), with the region of interest (gray rectangle) for the dynamic analysis. (b) Image sequence of microbubble perfusion of vessels within the region of interest. (c) Color-coded sub regions are represented as the proximal, intermediate, and distal sections of the vessel relative to the epicardium. The three time-samples of the image sequence concord with the 25 % upstroke mark of microbubble filling within the proximal, intermediate and distal sub regions of the first heartbeat of the cine-loop. Dynamic evolution of microbubble density within each sub region of interest through the heartbeat cine-loop with respective 25 % upstroke marks shown in black dots is represented by respectively color-coded curves. (d) Simulated electrocardiogram shown as temporal reference.....59

Figure 5-1 : Volume vasculaire cardiaque reconstruit par imagerie micro-CT. Extrait de [90]. ...70

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

CAD	Maladie coronarienne
CT	Tomodensitométrie
DAS	Délai et somme
ECG	Électrocardiogramme
IRM	Imagerie par résonance magnétique
MCV	Maladies cardiovasculaires
MULA	Angiographie de localisation myocardique par ultrasons
PRF	Fréquence de répétition des pulses
PSF	Réponse impulsionnelle
RF	Radiofréquences
SVD	Décomposition en valeurs singulières
ULM	Microscopie de localisation par ultrason

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

Le secteur de l'imagerie médicale connaît une croissance fulgurante dans les dernières années. Que ce soit au niveau de l'imagerie anatomique ou fonctionnelle, les récents développements des secteurs informatiques et technologiques ont permis des améliorations sans précédent des techniques d'imageries ainsi que l'essor de nouvelles modalités. Toutefois, le contexte cardiologique demeure un défi de taille à ces avancements. Chez les patients atteints de coronaropathie connue ou présumée, les tests d'imagerie cardiaque constituent souvent la première étape du diagnostic et de la planification du traitement. L'approche priorisée dans la caractérisation de coronaropathie se concentre sur l'anatomie d'un arbre de l'artère coronaire en déterminant quelles artères coronaires subissent un rétrécissement ou une obstruction en utilisant une angiographie standard. Cependant, le rétrécissement observé ne correspond pas toujours bien à la fonction de pompage cardiaque et au flux sanguin dans les artères coronaires [1] ou, plus important encore, aux symptômes et au pronostic du patient. Malgré la présence de nombreuses modalités d'imagerie nécessitant souvent de grandes infrastructures fixes qui ont été développées afin d'obtenir ces informations de manière non invasive, elles souffrent de limitations en termes de sensibilité et de spécificité, ce qui peut conduire d'une part à une angiographie coronarienne à haut risque inutile ou inversement à des conditions potentiellement critiques non traitées.

Dans cette optique, ce projet au sein du Laboratoire d'Ultrasons Provost a été mis sur pied pour faire la cartographie des vaisseaux internes du muscle cardiaque par échographie, une modalité d'imagerie non-ionisante, non-invasive, largement disponible et qui comporte un coût relativement faible en comparaison aux autres modalités d'imageries. L'imagerie par échographie a récemment connu une transformation sans précédent avec l'avènement de scanners ultrasonore ultra rapides et programmables. En exploitant la possibilité d'acquérir des images à des débits très élevés (jusqu'à 20 000 images / s) et en accumulant des jeux de données volumineux, de nouveaux modes d'imagerie ont été développés qui permettent l'imagerie des vaisseaux sanguins à l'échelle capillaire [2] et la détection de gros vaisseaux intramyocardiques ($> 300 \mu\text{m}$) dans le cœur battant [3]–[5]. Plus spécifiquement, la microscopie de localisation par ultrasons (ULM) a permis des améliorations marquantes du pouvoir de résolution en imagerie vasculaire allant jusqu'à la cartographie de vaisseaux de quelques μm . Grâce à la localisation d'agent de contraste (microbulles de gaz) agissant comme diffuseurs ponctuels au sein du réseau sanguin, cette technique permettant

de surmonter la limite de diffraction des ondes ultrasonores de quelques ordres de grandeur a été validée dans plusieurs contextes anatomiques tels que l'imagerie vasculaire cérébrale, tumorale, rénale et autres [6], [7]. Toutefois, ces études ont été limitées à des régions d'intérêts subissant un mouvement d'amplitude faible et pouvant être décrit par des déplacements rigides. Typiquement, les étapes suivantes regroupent les points marquants de la microscopie de localisation par ultrasons.

1. Acquisition d'images ultrasonores avec présence de microbulles
2. Filtration du tissu pour extraire les signaux des microbulles
3. Localisation de la position des microbulles
4. Algorithme permettant la mesure ainsi que la correction du mouvement
5. Accumulation des positions des microbulles pour générer une carte vasculaire

La vascularisation intramyocardique étant composée de vaisseaux d'une dimension de quelques microns à quelques centaines de microns, nous avons construit ce projet sous l'hypothèse qu'il était possible d'adapter le cadre de travail de l'ULM au contexte cardiaque et d'imager à la fois l'anatomie et la fonction des vaisseaux intramyocardiques avec une résolution de quelques dizaines de microns. Le mouvement anatomique du cœur représentant un défi important à ce projet, nous avons proposé deux innovations à l'ULM pour ce projet : 1) La décomposition de l'acquisition ultrasonore en un grand nombre de courts films tous synchronisés avec le signal électrique du cœur (électrocardiogramme). 2) Le développement d'un algorithme permettant de mesurer et corriger le mouvement complexe du cœur composé de déformations, translations et rotations. En somme, l'introduction de ce nouveau mode d'imagerie appelé angiographie de localisation myocardique par ultrasons (*Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography*, MULA), pour imager spécifiquement ces vaisseaux, pourrait mener à une compréhension accrue des mécanismes pathologiques ainsi que le développement de nouveaux biomarqueurs plus performant pour le domaine de la cardiologie.

1.1 Objectifs

L'objectif de ce projet est donc de développer et démontrer la faisabilité initiale de MULA à cartographier de manière non invasive l'anatomie des vaisseaux intra myocardiques ainsi qu'à quantifier la perfusion sanguine associée, de sorte que par suite de ce projet, MULA sera prêt à être validé et appliqué dans une future recherche translationnelle vers une utilisation humaine. Nos deux objectifs spécifiques sont les suivants :

Objectif 1 : Développer et optimiser MULA à l'aide d'études in vivo. Cet objectif comprend notamment le développement d'algorithme nécessaire à la microscopie de localisation par ultrasons dans le cœur, mais aussi la paramétrisation de l'installation expérimentale et la séquence ultrasonore.

Objectif 2 : Démontrer la faisabilité initiale de MULA dans un modèle de petit animal.

Ces objectifs ont mené aux publications et présentations suivantes.

Article scientifique :

P. Cormier, J. Porée, C. Bourquin, and J. Provost, "Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography," *Submitted to IEEE Transactions on Medical Imaging on August 4th 2020.*

Brevet provisoire :

P. Cormier, J. Porée, J. Provost, "Methods and Systems for Ultrasound Imaging of a Body in Motion," 63061925, August 2020.

Présentation par affiche:

P. Cormier, J. Porée, C. Bourquin, and J. Provost, "Myocardial Ultrasound Localization Angiography," *Journée de l'innovation en Génie Physique.* 6 septembre 2019, Polytechnique Montréal.

Présentation en conférence:

P. Cormier, J. Porée, C. Bourquin, and J. Provost, "Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography," IEEE International Ultrasonics Symposium, Las Vegas, Nevada, USA, Sep. 06-11, 2020.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Maladies Cardiovasculaires

2.1.1 Généralités

Les maladies cardiovasculaires (MCV) s'avèrent être la première cause de mortalité au monde [8] ainsi que la deuxième cause de mortalité au pays [9]. Selon les plus récentes études effectuées en 2012-2013 au Canada, la prévalence de cardiomyopathie ischémique, la maladie cardiovasculaire la plus présente dans les pays développés, étaient de 2,4 millions ou 8,5 % des personnes âgés de 20 ans ou plus [10]. Cette maladie est décrite comme une défaillance de l'apport sanguin au myocarde. Cette condition apparaît lorsqu'une ou plusieurs artères coronaires subissent un blocage partiel qui peut mener à un apport insuffisant en sang oxygéné, appelé ischémie cardiaque. Les précurseurs de la maladie coronarienne (CAD) sont attribuables à des facteurs génétiques ainsi qu'à des facteurs de risques qui sont modulés par des habitudes de vie.

2.1.1.1 Anatomie du cœur

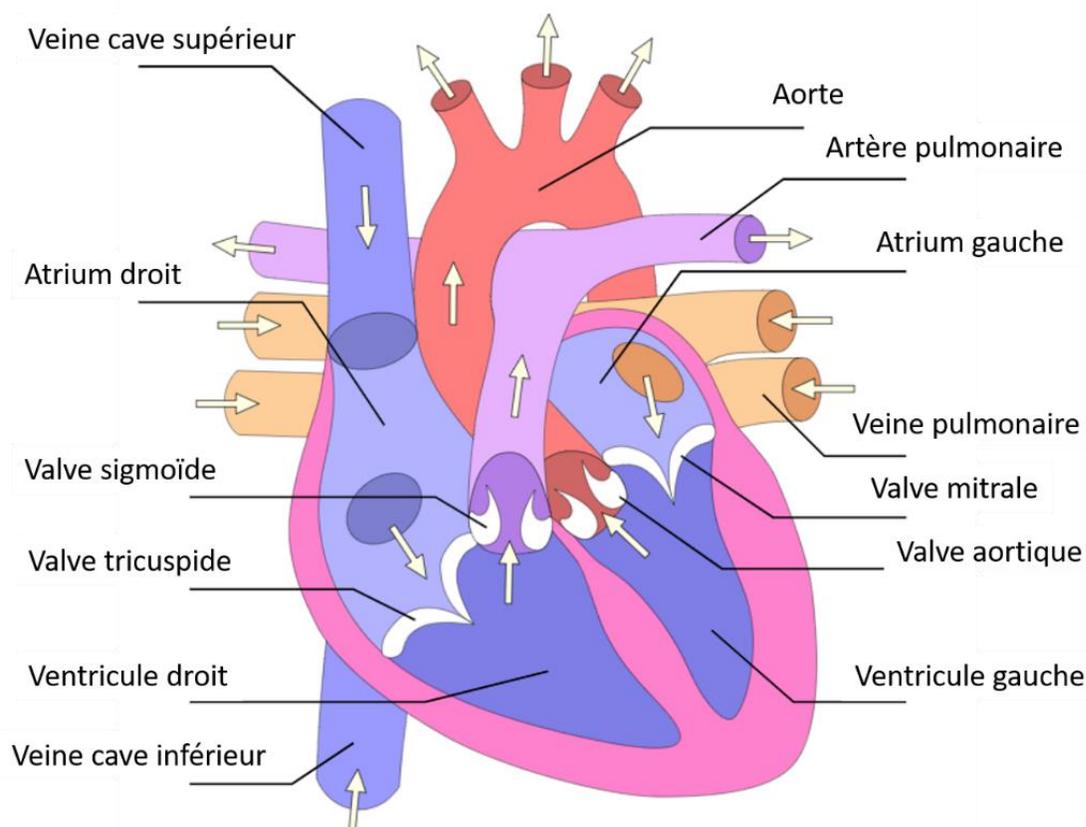


Figure 2-1: Anatomie du cœur et du réseau vasculaire illustré par une coupe 4 chambres des cavités cardiaques. Figure adaptée de ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Atrium_\(anatomie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Atrium_(anatomie)), consultée le 28-07-2020).

Le cœur est un muscle agissant comme pompe de la circulation sanguine de l'organisme. On le délimite en deux parties : le cœur droit est en charge de récupérer le sang provenant des organes par les veines et le dirige vers les poumons, le cœur gauche transporte le sang oxygéné provenant des poumons vers le réseau artériel par l'aorte. Chacune des deux sections est composée d'un atrium, un ventricule ainsi qu'un réseau de valves comme l'illustre la Figure 2-1. Le myocarde correspond au tissu musculaire qui héberge ces cavités. Sa contraction et sa dilatation, dirigées par un processus électromécanique, permettent de diriger le flux sanguins. Comme tout tissu, le myocarde nécessite un apport en sang oxygéné pour assurer son fonctionnement et sa viabilité. Les premiers embranchements de l'aorte mènent aux artères coronaires droites et gauches qui se retrouvent en

surface du myocarde. Ces artères permettent d'irriguer le muscle cardiaque par un large réseau de vaisseaux sous-jacents.

2.1.2 Athérosclérose

L'athérosclérose est le mécanisme derrière le blocage et le durcissement du système artériel. À ce jour, cette condition est reconnue comme étant reliée à de l'accumulation de lipides (athérome) ainsi qu'à une réaction d'inflammation immunologique. Initialement, le processus inflammatoire complexe se présente pour réhabiliter la paroi endothéliale suite à une attaque d'un mécanisme quelconque : biologique, mécanique, immunologique ou viral [11]–[13]. La couche endothéliale, initialement non-adhésive, réagence des molécules adhésives aux leucocytes (globules blancs du sang) par suite de cette inflammation. Cette réaction permet l'absorption de monocytes au sein de l'intima, la couche interne des vaisseaux sanguins comprenant l'endothélium. Ces monocytes se convertissent en macrophages qui sont susceptibles à l'absorption de particules lipidiques présentes dans le sang. Ces particules lipidiques sont présentes de façon normale au sein du sang, mais leur absorption extensive par ce processus mène à la formation d'un cœur lipidique au sein de l'intima qui se mélange ensuite à des débris cellulaires pour former un cœur nécrotique au sein de la paroi. Ensuite, l'inflammation persistante mènent aux recrutements et à la prolifération de cellules musculaires lisses provenant du média : la section du vaisseau englobant l'intima. Ces cellules vont former une couche protectrice autour du cœur nécrotique. Globalement, ce phénomène mène à l'excroissance initiale du vaisseau sanguin vers l'extérieur. Lorsque cette orientation offre une résistance suffisante, l'excroissance se redirige au sein de la lumière vasculaire et forme une sténose du vaisseau sanguin [13].

2.1.2.1 Complications

Le développement d'athérosclérose et ses complications au sein des artères coronaires peuvent mener ultimement à une cardiomyopathie ischémique. En détail, le blocage d'une artère, partielle (sténose) ou totale (thrombose), peut entraîner une réduction du flux sanguin oxygéné dirigé au myocarde. De manière plus insidieuse, lorsqu'un vaisseau s'obstrue graduellement, l'apport insuffisant en sang oxygéné demandé par la fonction du myocarde mène aux symptômes suivants : angine de poitrine (douleur thoracique) ainsi que la dyspnée (essoufflement).

Une complication sévère de l'athérosclérose survient lorsque la couche cellulaire englobant la plaque d'athérome se fissure et la plaque se rompt et obstrue complètement le flux sanguin, ce qui mène à la formation d'un caillot (thrombose). Au niveau cardiaque, les régions du myocarde dépourvues de sang oxygéné pendant un certain temps subissent une nécrose cellulaire (infarctus du myocarde). Lorsque ce phénomène atteint une région assez importante du myocarde, il entraîne ainsi une réduction de la contractilité (insuffisance cardiaque) [14].

De plus, cette condition peut aussi intervenir au niveau des artères carotidiennes et cérébrales, qui sont les vaisseaux approvisionnant le cerveau en sang oxygéné, le blocage effectué par un caillot ou l'embolisation de ce caillot peut donc mener à un accident vasculaire cérébral [15]. Il est aussi suggéré qu'une importante sténose peut mener à un amincissement de la paroi du vaisseau sanguin. Ce mécanisme provient de l'adaptation de la structure cellulaire aux variations des contraintes induites par la sténose et peut mener à une rupture du vaisseau (anévrisme), une condition qui peut s'avérer fatale [16], [17].

2.1.3 Physiologie du flux coronariens

Le système vasculaire du myocarde est divisé en trois sections [18]. La première comporte les vaisseaux épocardiques de grande dimension (diamètre $\sim 500\mu\text{m} - 5\text{mm}$) qui possèdent une fonction de capacitance. Ces vaisseaux se dilatent et peuvent accumuler jusqu'à 25 % plus de sang lors de la systole (contraction du myocarde). À l'initialisation de la diastole, cette énergie élastique est reconvertie en énergie cinétique contribuant à l'alimentation des vaisseaux intra myocardiques sous-jacents. La deuxième section est composée des pré-artérioles (diamètre $\sim 100-500 \mu\text{m}$) qui sont en charge de réguler la pression en amont du compartiment sous-jacent en s'ajustant aux variations de pressions et de vitesses du flux. La dernière section est composée des artérioles (diamètre $< 100 \mu\text{m}$) et est caractéristique d'une grande perte de pression le long de ses vaisseaux. Elle compose le lieu d'une régularisation métabolique du flux sanguin myocardique. Ce système permet donc l'approvisionnement et le contrôle du flux sanguin myocardique.

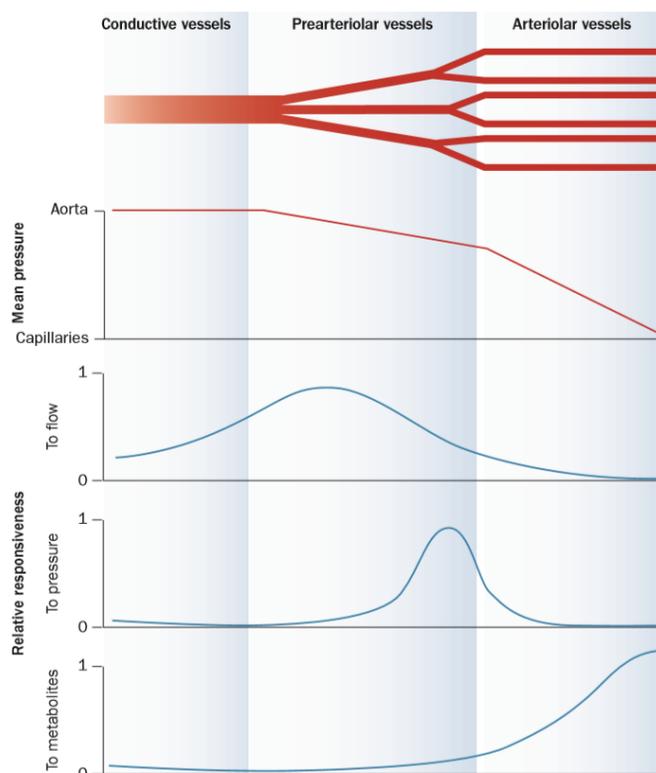


Figure 2-2: Caractéristiques hémodynamiques des vaisseaux du réseau coronarien en fonction de leur dimension et positionnement dans l'arborescence vasculaire. Extrait de [18].

Les pré-artérioles et les artérioles composent la micro-vascularisation du myocarde. Depuis quelques dizaines d'années, il est maintenant reconnu que l'atteinte à la fonction et/ou la physiologie de ces vaisseaux peut être précurseur d'ischémie du myocarde. Cette condition, nommée dysfonction de la microvasculature du myocarde, connaît une prévalence importante chez les patients suspects d'être atteint de maladie coronarienne (51% hommes, 54% femmes). Différents mécanismes pathogéniques de cette condition liés ou non à l'athérosclérose sont aujourd'hui connus [18], il en reste que les résultats clinique peuvent être défavorables. Finalement, il est aujourd'hui reconnue que la micro vascularisation du myocarde doit être étudiée pour améliorer le dépistage de maladies coronariennes [19].

2.1.4 Traitements

La première option pour traiter la maladie coronarienne correspond à une transition vers des habitudes de vie plus saines. Ensuite, plusieurs médicaments peuvent être prescrits selon différents objectifs. La médication modifiant le cholestérol peut être utilisée pour en réduire la proportion

dans le sang, spécialement les lipoprotéines de basse densité qui compose le matériau principal des plaques d'athéromes. Des bêtabloqueurs ont pour effet de diminuer le rythme cardiaque, la pression artérielle ainsi que la demande cardiaque en oxygène. D'autres options sont aussi disponibles pour diminuer la pression sanguine, dilater les artères ainsi qu'alléger les douleurs thoraciques [12], [20] Lorsque l'impact de la maladie devient trop important, deux interventions sont normalement considérées pour rétablir et améliorer le flux au sein des coronaires :

L'angioplastie et pose de stent est l'opération la plus fréquente. Un guide (cathéter) est inséré dans une artère au niveau de l'aîne ou du bras du patient puis est dirigé vers le blocage artérielle à l'aide d'outil d'imagerie. Le cathéter est muni d'un ballon qui est déployé lorsque son emplacement correspond à la plaque d'athérome. Ce ballon est déployé à plusieurs répétition pour aplatis la sténose et redonner au vaisseau sa lumière vasculaire. Finalement, un stent superposé au ballon est déployé pour maintenir la dilatation du vaisseau à long terme [19].

Le pontage cardiaque consiste à utiliser un autre vaisseau du corps pour venir contourner la sténose et ainsi assurer une perfusion sanguine du myocarde. Puisque cette opération requiert une chirurgie à cœur ouvert, elle est plus souvent effectuée chez les patients atteints de blocages multiples aux artères coronaires.

2.1.5 Diagnostic par imagerie médicale

Lorsque des patients présentent des symptômes de maladie coronarienne, le risque d'ischémie cardiaque est initialement investigué par un historique approfondi. La présence de comorbidités, des facteurs de risques ainsi qu'une analyse détaillée des symptômes vont ensuite permettre aux cliniciens d'émettre une probabilité de maladie coronarienne. Le choix d'un outil de diagnostic est généralement fonction de cette probabilité, mais repose aussi sur la disponibilité ainsi que l'expertise local des cliniciens [21]. Par exemple, une première option mise de l'avant est de suivre l'électrocardiogramme (ECG) du patient à l'exercice. Cependant, un tel test est uniquement valide s'il n'y a aucune anomalie de l'ECG au repos et le patient possède la capacité d'augmenter son rythme cardiaque de 85% [21]. Une variété d'outils de diagnostic est donc nécessaire à l'évaluation des pathologies cardiovasculaires chez une population diversifiée. Dans cet optique, l'imagerie médicale joue un rôle crucial dans le diagnostic des maladies cardiovasculaires. Les

modalités mises de l'avant reposent sur différentes méthodes : l'imagerie par rayons X, l'imagerie par résonance magnétique, l'imagerie nucléaire ainsi que l'imagerie ultrasonore.

2.1.5.1 Imageries non-invasives

2.1.5.1.1 Angiographie par tomodensitométrie

L'essor rapide de la tomodensitométrie cardiaque en fait aujourd'hui une modalité primée pour remplacer l'angiographie invasive chez les patients avec une probabilité intermédiaire de maladie coronarienne [22]. Le fonctionnement d'un scanner tomodensitométrique repose sur la reconstruction des mesures d'absorption de rayons X de diverses structures. Les protocoles d'utilisation de cet appareil recommandent une séquence initiale à faible radiation qui permet d'investiguer le comportement du myocarde, des valves et du flux cardiaque. Ensuite, l'injection d'un agent de contraste ionisant permet l'angiographie des coronaires. La résolution de quelques centaines de microns de cet appareil [12] est suffisante pour observer les artères coronaires majeures et même certaines portions distales du réseau permettant l'évaluation de la gravité d'une sténose. De plus, l'outil permet d'évaluer la calcification des plaques et d'en attribuer un score fonction du risque d'un événement cardiovasculaire. Le caractère ionisant de cette modalité est l'inconvénient majeur associé à son utilisation. L'accroissement du nombre de capteurs des nouveaux appareils jumelés à l'utilisation clinique plus fréquente de l'appareil ont amplifié la dose d'ionisation reçue par les patients et l'inquiétude des scientifiques entourant cette technologie [23].

2.1.5.1.2 Imagerie de perfusion myocardique

Pour évaluer la perfusion du muscle cardiaque, il est possible d'utiliser deux techniques de médecine nucléaire. La première est la tomographie par émission monophotonique, qui consiste à la formation d'images calculées à partir de photons gamma provenant de la désintégration nucléaire d'un agent radioactif [24]. Cette modalité largement disponible est reconnue pour observer le degré d'ischémie du muscle cardiaque et sa perfusion fonctionnelle. Cela permet d'évaluer la nécessité d'intervention rapide et agressive au site d'une sténose. Ensuite, la tomographie par émission de positron est aussi utilisée pour évaluer la viabilité ainsi que la perfusion du myocarde [23] et est mieux résolue que l'émission monophotonique mais sa disponibilité reste inférieure. Il en demeure que ces techniques ionisantes ne sont pas adaptées à une routine clinique pour le suivi d'un patient.

2.1.5.1.3 Échographie cardiaque

L'échographie cardiaque demeure aujourd'hui le choix priorisé pour l'évaluation de la structure et la fonction du cœur pour la majorité des contextes cliniques. Cette modalité permet un examen rapide avec un impact anxiogène minimal au patient tout en fournissant des informations importantes au diagnostic de maladies cardiovasculaires et ce à faible coût [25]. Plus spécifiquement, l'échographie transthoracique permet l'évaluation de la dimension et la forme des différentes chambres, l'évaluation fonctionnelle des valves cardiaques ainsi que l'évaluation du flux intra cardiaque par imagerie Doppler. De plus, grâce à des méthodes de suivi de la granularité des images (*speckle tracking*), il est aussi possible d'imager la dynamique du tissu myocardique. Cette technique est notamment utilisée cliniquement pour évaluer la fonction systolique et diastolique du ventricule gauche [26].

L'échographie cardiaque fait aussi partie des recommandations de gestion des maladies cardiovasculaires par la modalité d'échographie de stress [21], [27]. Cette technique repose sur le diagnostic d'ischémie du myocarde par l'observation d'anormalité du mouvement des parois du myocarde. Ce phénomène est ensuite utilisé pour établir la présence de sténose importante au sein des artères coronaires [28].

2.1.5.1.4 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) Cardiaque

L'imagerie par résonance magnétique est particulièrement reconnue pour son excellent contraste des structures tissulaires. Malgré le fait que de nombreuses études ont été réalisées à l'aide de l'IRM cardiaque, les résultats semblent grandement varier dans la littérature, ce qui est en partie explicable par le grand nombre de paramètres entourant cette modalité d'imagerie [23]. Dans le contexte clinique canadien, l'IRM cardiaque ne fait toujours pas partie de la routine pour la gestion d'ischémie cardiaque puisque l'outil n'est pas globalement accessible aux cliniciens. Cependant, il est possible d'utiliser l'IRM comme modalité complémentaire ou alternative [21]. Bien que les avancements de l'IRM cardiaque semblent encourageant [29], l'outil est coûteux, nécessite des temps d'acquisition relativement long et sa résolution spatiale restreint l'imagerie de portions distales du réseau vasculaire coronarien [12].

2.1.5.2 Imagerie Invasive

Lorsque la probabilité de maladie coronarienne obstructive est élevée, la coronarographie invasive demeure à ce jour l'examen standard [21]. Pour effectuer ce test, un cathéter est inséré dans une artère au niveau du bras ou de l'aîne. Le cathéter est ensuite dirigé dans le vaisseau sanguin jusqu'au cœur [30], [31] et un agent de contraste est administré. Le clinicien observe le réseau vasculaire cardiaque maintenant perfusé d'un agent de contraste grâce à un scan tomodensitométrie (CT).

En somme, les méthodes d'imageries pour effectuer le diagnostic de la maladie coronarienne sont relativement nombreuses. Toutefois, il n'en demeure qu'aucune d'entre elle ne permet de résoudre les micro-vaisseaux intramyocardiques, qui pourrait mener à l'établissement de nouveaux biomarqueurs diagnostics encore plus performants.

2.2 L'imagerie ultrasonore

L'échographie ou l'imagerie par ultrasons est une modalité basée sur la mesure de réflexions des ondes acoustiques dans un milieu. Elle est reconnue comme étant la modalité la moins inconfortable aux patients puisqu'un examen est rapide, non invasif et non ionisant. Dans cette section, nous abordons les principes physiques ainsi que le fonctionnement technique de ce mode d'imagerie sur lequel se projet repose.

2.2.1 Principe physique

Une onde ultrasonore est définie comme une onde de pression oscillant à une fréquence supérieure à 20 kHz, le seuil fréquentiel audible à l'humain. En termes d'imagerie médicale, les fréquences utilisées se situent dans l'ordre du MHz. Les principes physiques des ondes acoustiques traitées ici sont fonction de la propagation des ondes dans le milieu ainsi que les interactions avec le milieu.

2.2.1.1 Propagation

La vitesse de propagation de l'onde acoustique (c) est régie par la compressibilité du milieu (κ) et la densité (ρ) selon l'équation suivante.

$$c = \frac{1}{\sqrt{\rho\kappa}}. \quad (2.1)$$

En imagerie médicale, la vitesse constante de 1540 m/s est souvent utilisée comme vitesse de propagation de l'onde dans les tissus. Dans le cadre de ce travail et de manière générale en acoustique médicale, on considère uniquement le comportement longitudinal (onde de compression) de l'onde. Le champ de pression (p) se propage dans le milieu selon l'équation d'onde tridimensionnelle suivante :

$$\nabla^2 p = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2}. \quad (2.2)$$

L'onde plane est une solution analytique de cette équation qui est mise de l'avant dans le contexte acoustique. Il est possible d'exprimer la propagation de pression dans la direction axiale z comme suit :

$$p(z, t) = p_0 \cos[2\pi(\lambda z - ft)], \quad (2.3)$$

ou p_0 est l'amplitude de l'onde plane, λ est la longueur d'onde et f la fréquence d'oscillation.

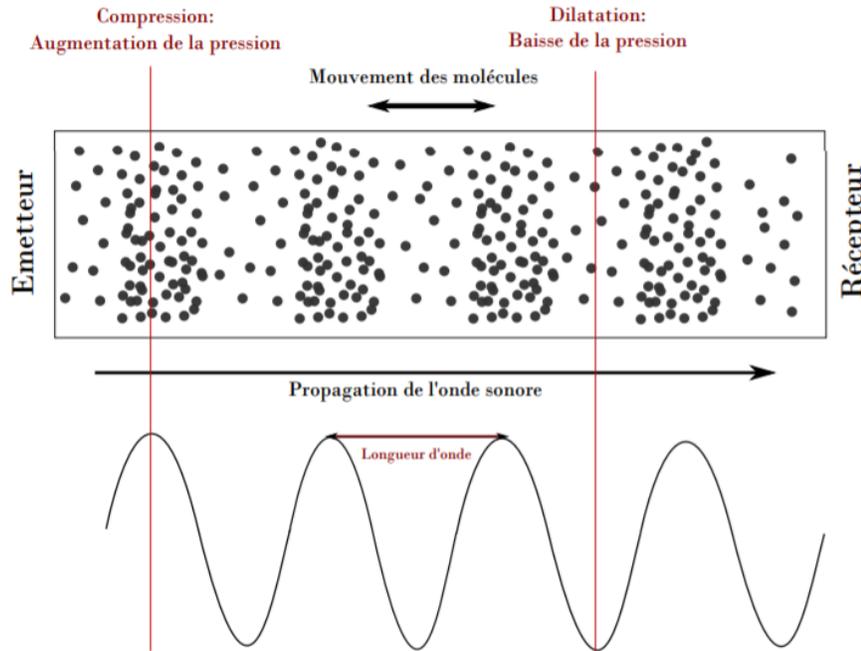


Figure 2-3: Propagation d'une onde de compression dans un milieu. Extrait de [32].

En plus de permettre la propagation de l'onde, les interactions particulières du milieu sont aussi responsables pour l'atténuation de l'onde dû à la conversion de l'énergie mécanique en chaleur. Cette absorption est fonction de la nature du tissu par un coefficient α évoluant avec la fréquence de l'onde ainsi que la profondeur de transmission de l'onde [24]:

$$p(z) = p_0 e^{-\alpha z}. \quad (2.4)$$

2.2.1.2 Réflexion

2.2.1.2.1 Réflexion aux interfaces (spéculaires)

L'impédance acoustique (Z) caractérise chaque milieu transmettant une onde acoustique en dirigeant l'amplitude de l'onde réfléchi et transmise aux interfaces. Elle est fonction de la densité (ρ) et la célérité de l'onde selon :

$$Z = \rho c. \quad (2.5)$$

Lorsqu'une onde à incidence normale se propageant dans un milieu d'impédance Z_1 rencontre une interface de dimension supérieure à la longueur d'onde d'un milieu d'impédance Z_2 le coefficient de réflexion (R) et le coefficient de transmission (T) sont données par [24]:

$$R = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 ; T = 1 - R = \frac{4Z_1Z_2}{(Z_1 + Z_2)^2}. \quad (2.6)$$

Les tissus biologiques et le sang étant majoritairement composés d'eau, les rapports d'impédances entre différentes régions anatomiques sont normalement plutôt faibles impliquant une bonne transmission de l'onde ultrasonore. Cependant, les os ont une impédance particulièrement élevée par rapport aux tissus mous impliquant que le coefficient R donné par l'équation 2.5 sera élevé. En imagerie médicale, ce phénomène intervient majoritairement à l'interface de grandes structures telles que les os.

2.2.1.2.2 Réflexion diffuse

Le second type de réflexion intervient lorsque l'onde ultrasonore rencontre des inhomogénéités au sein du tissu biologique qui ont une dimension inférieure à la longueur d'onde [24]. En effet, les tissus peuvent être modélisés comme de multiples structures de très faibles dimensions agencées de manière aléatoire. Lorsque ces inhomogénéités sont insonifiées par l'onde ultrasonore, elles se comportent comme des sources ponctuelles réémettant une onde ultrasonore sphérique se propageant dans le milieu. Ces rétrodiffusions sont notamment responsables de la granularité (*speckle*) des images ultrasonores et peuvent caractériser le tissu pour diverses applications.

2.2.2 Échographie médicale

2.2.2.1 Pratique clinique

L'appareil utilisé pour générer des images ultrasonores dans le contexte médical est un échographe. Son fonctionnement repose sur l'utilisation d'une sonde ultrasonore composée d'éléments piézoélectriques qui sont en charge de l'émission d'ondes ultrasonores ainsi que la conversion des échos ultrasonores du milieu en signaux électriques. L'appareil utilise ensuite des cartes d'acquisitions pour transformer les signaux et un ordinateur pour la formation d'images. La représentation classique des images ultrasonores est faite en B-mode (*Brightness mode*). Cela correspond à l'illustration en fonction de la brillance des structures au sein de l'image, normalement exprimée en décibel.

Comme mentionné à la section 2.2, de nombreuses modalités d'imagerie médicale sont disponibles et peuvent être mises en pratique en fonction de la cible d'intérêt, de son emplacement dans le corps, de la cadence d'imagerie nécessaire, de la source de contraste, de la disponibilité et le coût de l'outil. Utilisé pour la première fois dans les années 1940 [33], l'échographie demeure aujourd'hui une modalité clé pour imager le fœtus, le foie, les reins, les seins, le cœur ainsi que la vascularisation du corps. Par sa capacité d'imagerie les tissus mous en profondeur, cet outil est particulièrement utile au clinicien pour le diagnostic, pronostic ainsi que le suivi de traitements de plusieurs pathologies. En plus de fournir de l'information anatomique, les images ultrasonores sont fréquemment utilisées en parallèle avec l'imagerie Doppler. Ce mode permet de mesurer les vitesses du flux sanguin allant au-delà de quelques cm/s, ce qui permet d'ajouter aux images anatomiques une carte des vaisseaux sanguins importants et de leur flux. Cette mesure est aujourd'hui bien reconnue pour investiguer la fonction de plusieurs organes [6].

L'utilisation de microbulles injectées dans le réseau sanguin a d'abord servi à l'amélioration du contraste des images B-mode pour l'identification et la segmentation de structures caractéristiques du cœur lors d'un examen (chambres cardiaques) [34]. Ces microbulles, composées d'air ou de perfluorocarbone, d'une dimension de quelques microns restent confinées dans le réseau sanguin et permettent d'amplifier le signal du sang d'un facteur 100 [6]. Ce phénomène est dû à la différence importante d'impédance entre un gaz et le sang, ainsi qu'à la mise en résonance des microbulles par l'impulsions ultrasonores d'imagerie [35]. De plus, la réponse oscillatoire des

microbulles aux champs de pression d'échographie clinique peut devenir non linéaire, ce qui permet de les isoler efficacement de la réponse largement linéaire des tissus [36].

Plus en lien direct à ce projet, la Figure 2-4 illustre de quelle façon l'image échographique dans l'axe court parasternal est obtenue ainsi que la configuration vasculaire du muscle cardiaque dans cette orientation. Le résultat présenté ici à la Figure 2-4 (C) est obtenue par cryomicrotome, une technique permettant d'imager des tissus ex vivo par microscopie. L'observation de la vascularisation à cette échelle n'est aujourd'hui par réalisable par échographie.

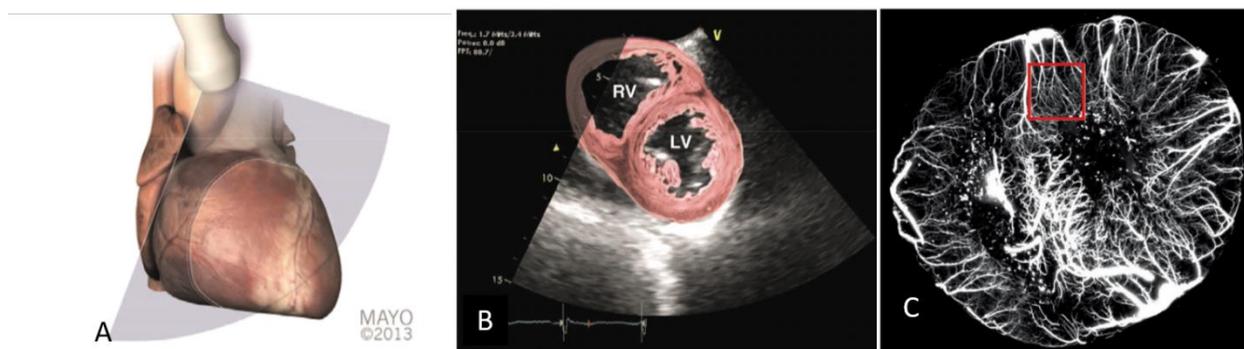


Figure 2-4 : (A) Positionnement de la sonde pour un examen cardiaque dans l'axe court parasternal, extrait de [37]. (B) Champ d'imagerie de l'axe court parasternal, extrait de [37]. (C) Carte vasculaire des vaisseaux intramyocardiques dans l'axe court parasternal, extrait de [38].

2.2.2.2 Sonde échographique

Une sonde échographique est composée d'un réseau d'éléments piézoélectriques spatialement configuré en fonction de l'application voulue. Un train d'impulsions électriques à haute fréquence est transmis pour mettre le cristal piézoélectrique en résonance et transmettre la vibration au milieu. Les mêmes éléments sont aussi utilisés comme récepteurs en transformant en signaux électriques les déformations mécaniques des cristaux produites par les échos de pression réverbérés par le milieu. Dans le cadre de ce travail, nous considérons la sonde linéaire, largement disponible et couramment utilisée pour examiner des régions peu profondes chez l'humain. Dans cette configuration, les cristaux piézoélectriques sont positionnés l'un à la suite de l'autre dans une seule rangée (Figure 2-5).

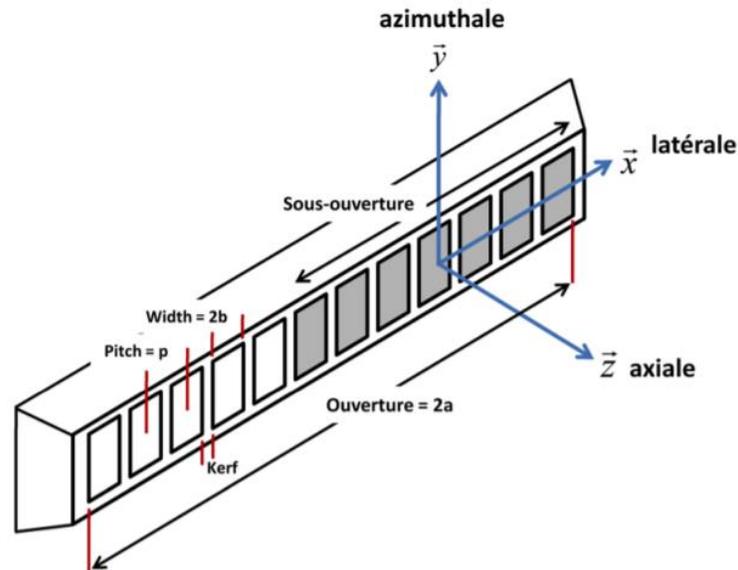


Figure 2-5 : Géométrie d'une sonde linéaire. Extrait de [12].

Les paramètres de dimensionnement de la sonde sont typiquement choisis pour accommoder des objectifs/besoins d'imagerie. Certaines caractéristiques majeures tel que la résolution axiale et latérale, la focalisation de la sonde, la fréquence centrale ainsi que le champ de vue d'imagerie sont toutes influencées par les paramètres illustrés à la Figure 2-5. La majorité des sondes linéaires sont composées de 64 à 256 éléments sur une longueur de quelques centimètres. Un compromis est souvent réalisé entre la résolution et la profondeur d'imagerie, puisque la fréquence intervient au niveau de la résolution ainsi qu'en terme d'atténuation de l'onde. Dans le cadre de l'imagerie cardiaque chez les petits animaux, une sonde à haute fréquence est bien adaptée puisque l'organe d'intérêt est situé à courte distance de l'interface de la sonde et une faible résolution est avantageuse pour imager les structures anatomiques à dimensions faibles en comparaison à l'être humain. Une sonde utilisée fréquemment pour ce projet est la sonde L22-14v composée de 128 éléments, un pitch de 100 μm , une fréquence centrale de 18 MHz et une focalisation axiale à 6 mm de l'interface de la sonde [39].

2.2.2.3 Génération et réception des ondes ultrasonores

L'échographe comprend la fonction de piloter chaque élément indépendamment et de manière dynamique. Cette fonctionnalité permet non seulement de guider le profil d'onde qui est émis dans le milieu mais aussi la mise en forme du signal des échos.

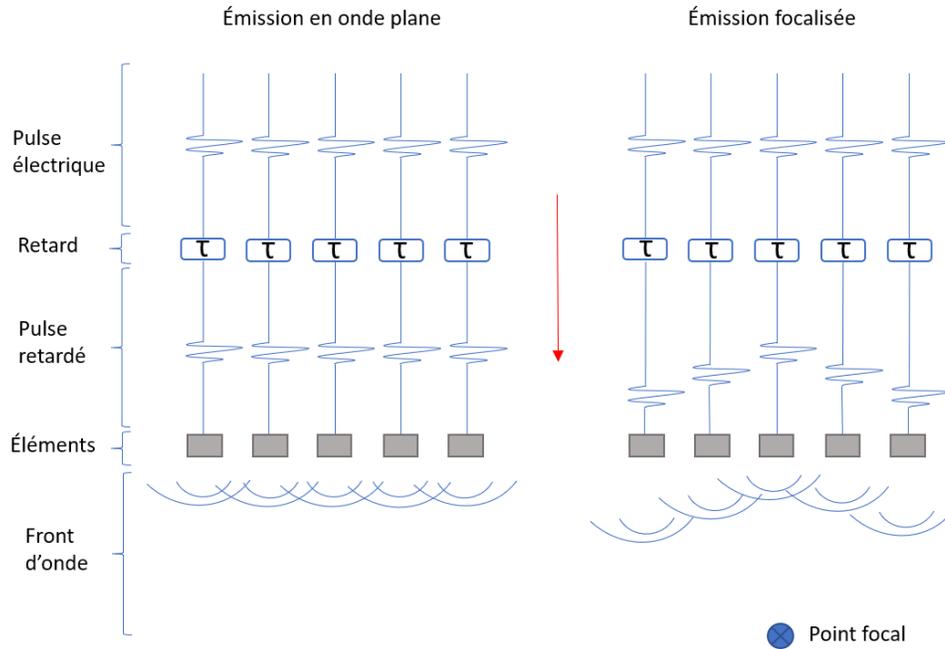


Figure 2-6 : Mode émission des signaux ultrasonores selon deux différentes configurations.

En émission, un pulse électrique modulé d'un délai τ est envoyé à chaque ligne active d'élément piézoélectrique. Différentes fonctions peuvent être transmises aux délais pour focaliser ou diriger le front d'onde dans le milieu (Figure 2-6). Par exemple, il est possible de diriger les ondes ultrasonores de sorte qu'elles arrivent toutes en même temps à un point donné de l'espace (point focal). La configuration des délais nous permet donc de moduler le front d'onde transmis au milieu, comme par exemple la génération d'onde plane, la focalisation et une angulation de la focalisation ou de l'onde plane.

En réception, les ondes ultrasonores réverbérées par le milieu sont converties en signal électrique par les capteurs. Grâce au module d'acquisition de l'échographe, ces signaux sont échantillonnés en signaux bruts radiofréquences (RF) puis servis au processus de formation de voie (*beamforming*) qui forme les images (Figure 2-7).

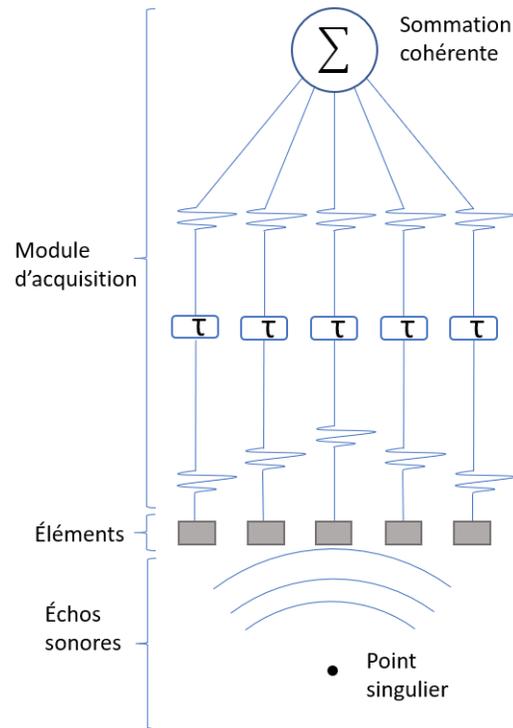


Figure 2-7 : Mode réception des signaux ultrasonores provenant du milieu.

L'échographe suit donc un processus séquentiel d'émission et réception pour former les images. L'échelle temporelle qui guide cette cadence d'imagerie peut être référée comme le temps long, tandis que l'échelle temporelle dirigeant l'échantillonnage des signaux RF bruts représente le temps court. De manière générale, on dénote la fréquence d'enchaînement des cycles émission/réception par la fréquence de répétition des pulses (*Pulse Repetition Frequency*, PRF). La PRF est dictée par le temps d'aller-retour de l'onde ultrasonore à la profondeur maximale du champ d'imagerie :

$$PRF = \frac{c}{2z_{max}}. \quad (2.7)$$

2.2.2.4 Imagerie conventionnelle

L'échographie conventionnelle correspond à la modalité d'imagerie qui est aujourd'hui utilisée en clinique. Son fonctionnement se base sur l'émission de faisceaux d'ondes focalisés (Fig. 2-8) par la barrette ultrasonore complète ou un nombre limité d'éléments piézoélectriques (sous-

ouverture). On effectue un balayage du champ d'imagerie par des émissions séquentielles de faisceau focalisé qu'on additionne pour reconstituer une image. Typiquement, selon les requis en termes de résolution spatiale et du champ d'imagerie voulu, on utilise entre 64 et 128 émissions (tirs) focalisés pour former une image.

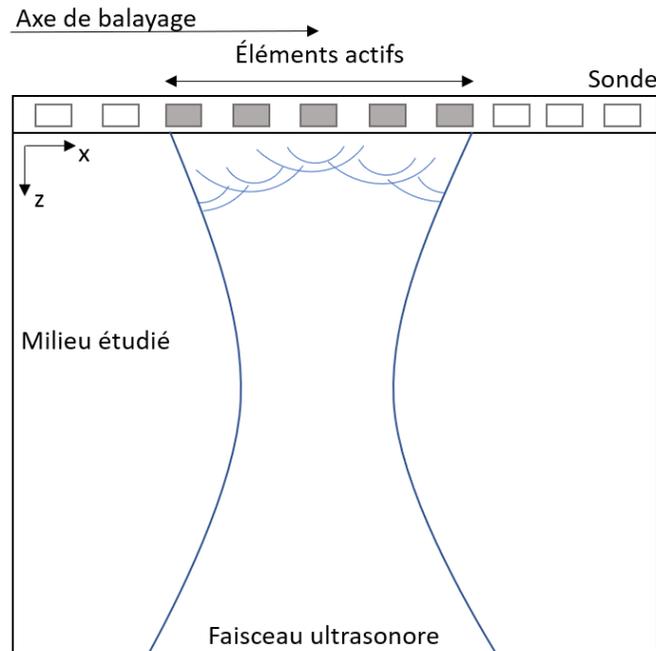


Figure 2-8 : Principe d'émission ultrasonore de l'échographie conventionnelle. La sélection d'éléments actifs se déplace selon l'axe de balayage pour couvrir le milieu étudié à l'aide de faisceaux ultrasonores focalisés.

La résolution de l'imagerie par ultrasons est définie par les trois résolutions spatiales (axiale, latérale, élévation) ainsi que la résolution temporelle.

2.2.2.4.1 Résolution axiale

La résolution axiale correspond à la distance minimale entre deux réflecteurs dans l'orientation de la profondeur qui seront distinguables par le système d'imagerie. Lorsque deux réflecteurs sont moins espacés que ce seuil, leur signal se recouvre et ils deviennent indistinguables l'un de l'autre. La résolution axiale est égale à la moitié de la longueur spatiale du pulse ultrasonore [40]. Cette longueur est donc fonction de la longueur d'onde ainsi que du nombre de cycle du pulse ultrasonore. La longueur du pulse est de son côté dirigée par l'amortissement du piézoélectrique suivant son excitation, un fort amortissement rétrécit le pulse et donc la résolution axiale.

Cependant, l'utilisation de fréquence élevée implique une atténuation plus grande au sein du milieu et un pulse court implique une perte d'amplitude de l'émission ultrasonore ainsi qu'une augmentation de la bande passante dans le domaine fréquentielle. La conception d'une sonde doit être faite en balançant ces caractéristiques en fonction de l'utilisation désirée.

2.2.2.4.2 Résolution latérale

La résolution latérale correspond à la distance minimale entre deux réflecteurs dans l'orientation latérale qui seront distinguables par le système d'imagerie. Lorsque l'émission ultrasonore est focalisée, on définit la résolution latérale R_L comme étant :

$$R_L = \lambda \frac{F_L}{D} \quad (2.8)$$

Où F_L représente la profondeur de focalisation et D représente l'ouverture (ou sous-ouverture) du transducteur [24], [41]. Cependant, la résolution se détériore lorsqu'on s'éloigne de la région focale, soit vers l'interface de la sonde ou vers l'infini dans le milieu.

2.2.2.4.3 Élévation

Dans l'axe azimutal (Fig. 2-4), on utilise plutôt le terme élévation pour décrire l'épaisseur du faisceau ultrasonore qui est émis dans cet axe. Conventionnellement, les sondes sont fabriquées avec une lentille acoustique qui permet la focalisation azimutale [42] du faisceau ultrasonore. L'élévation est la résolution la plus grande en échographie bidimensionnelle, dans le cadre de ce projet est de l'ordre du millimètre [39].

2.2.2.4.4 Résolution temporelle

La résolution temporelle par le temps séparant deux images consécutives ou inversement à la cadence d'imagerie du système. Dans le cas de l'échographie conventionnelle, la cadence d'imagerie correspond à [40]:

$$F_r = \frac{c}{N 2z_{max}} \quad (2.9)$$

Où N correspond au nombre de tirs nécessaires à la formation d'une image. Il est donc possible d'augmenter la résolution temporelle en diminuant le nombre de tirs, ce qui affecte négativement la résolution axiale ou le champ d'imagerie latéral.

2.2.2.5 Imagerie ultrarapide par ondes planes

L'imagerie ultrarapide a connu un fort développement au courant des dernières décennies avec comme objectif d'augmenter la cadence d'imagerie des acquisitions ultrasonores. En effet, la résolution temporelle de l'imagerie conventionnelle peut être limitante à l'imagerie de mouvement rapide et de grande amplitude [43], ce qui est particulièrement valide dans le cadre cardiologique. L'alternative est donc de réduire le nombre de transmissions pour couvrir l'image ce qui est réalisable par l'utilisation d'ondes planes. D'autres transmissions d'ondes sont aussi possibles mais ne seront pas considérées dans ce projet : ondes divergentes, ouverture synthétique et transmissions multilignes [44]. Ces développements ont été possibles grâce à des avancements majeurs en terme de capacité de calcul des appareils ainsi que le développement d'échographe programmable [45].

L'onde plane est générée lorsque tous les éléments d'une sonde linéaire émettent en même temps (Fig. 2-6, gauche) ou selon une loi de délai rectiligne pour anguler le front d'onde d'un angle θ (Fig.2-9).

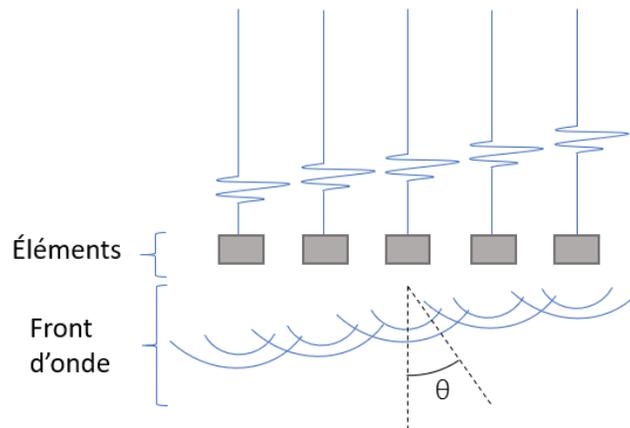


Figure 2-9 : Émission angulaire d'onde plane par une fonction de délais rectiligne.

Cette méthode permet d'insonifier le champ d'imagerie en un nombre réduit de tirs et d'augmenter la cadence d'imagerie jusqu'à environ 10 000 images par seconde [45], [46]. La Figure 2-10 illustre le traitement type de l'imagerie ultrarapide par onde plane. Le processus utilisant les données RF pour former l'image est décrit à la section suivante. L'utilisation d'onde plane n'est pas sans coût

en termes de qualité d'image. Puisqu'il n'y a pas de focalisation à l'émission, l'image produite est considérablement moins contrastée et moins résolue au niveau spatial. Cependant, la composition cohérente d'une succession d'onde plane permet de pallier ce problème [47].

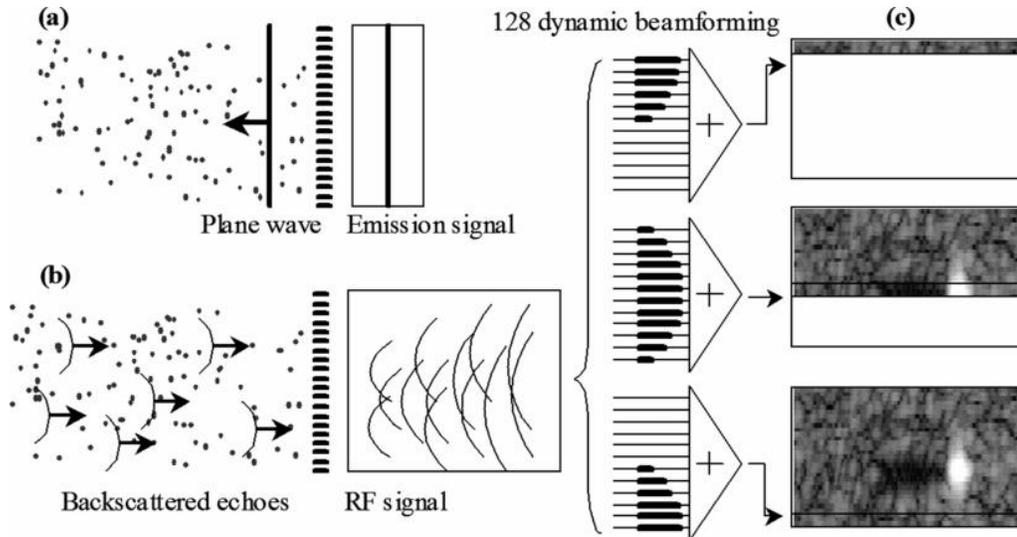


Figure 2-10 : Exemple de formation d'image d'une émission d'onde plane. Extrait de [47].

2.2.2.5.1 Composition cohérente

Comme mentionné préalablement, l'échographie ultrarapide par ondes planes repose sur des avancements majeurs en termes de capacité de calculs et de stockage des échographes. Le concept de composition cohérente est d'actualité dans le secteur de la recherche en imagerie ultrarapide et est étudié de manière plus extensive depuis la dernière décennie. Il consiste à accumuler les échos de plusieurs insonifications distinctes du milieu pour former une image avec un excellent compromis entre la qualité d'image et la cadence d'imagerie. Dans le cadre de ce projet, cette méthode a été utilisée en dualité avec l'émission de plusieurs ondes planes à angles variables. En combinant plusieurs tirs, cette stratégie permet notamment de réduire la présence d'artéfacts, d'augmenter le contraste et d'augmenter le rapport signal à bruit des images [47]. En termes pratiques, pour mettre en place cette méthode il faut donc générer de multiples tirs ultrasonores avec tous les éléments, balayant un certain nombre d'angles. Les signaux RF reçus sont ensuite stockés et combinés pour former les images. Cependant, tout dépendant de l'application et des capacités de calculs des appareils utilisés, cette étape est faite, à posteriori, ou bien en continu, lors de l'acquisition afin de produire des images en temps réel.

Les images sont construites à partir des données RF selon le concept de formation de voies, communément appelé « beamforming ». Différentes techniques sont aujourd’hui disponibles, mais le beamforming par délai et somme (DAS) demeure l’option la plus documentée et celle choisie pour réaliser ce projet. La figure 2-11 permet de visualiser le temps d’aller et de retour d’un point de l’espace (x, z) vers un la position x_1 d’un élément du transducteur d’une émission ultrasonore par onde plane avec ou sans angle.

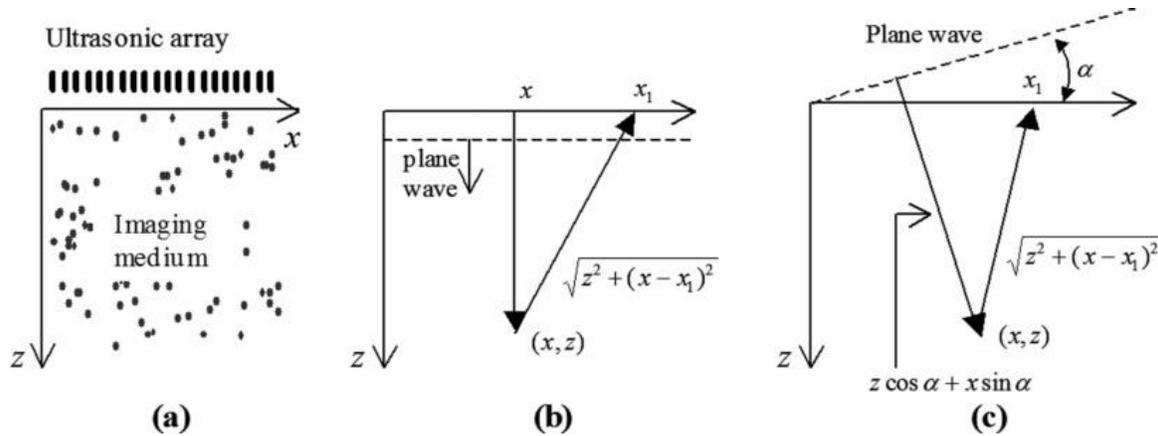


Figure 2-11 : Temps de parcours de l’onde ultrasonore lors d’une émission par onde plane. Extrait de [47].

La formule du délai temporel τ est représentée par l’équation suivante :

$$\tau(x, z, x_1, \alpha) = \left(z \cos \alpha + x \sin \alpha + \sqrt{z^2 + (x - x_1)^2} \right) / c. \quad (2.10)$$

De plus, la sous ouverture du transducteur à considérer pour la formation de l’image d’un point (x, z) est fonction de la directivité des éléments piézoélectriques. Le paramètre F est communément utilisé à cette fin et est défini de la façon suivante :

$$F = \frac{z}{2a} \quad (2.11)$$

où le paramètre a correspond à la sous ouverture à considérer de chaque côté de l’élément centré latéralement au pixel situé au point (x, z) pour former l’image [47]. La sous ouverture est donc fonction de la profondeur de la région d’intérêt, puisque la directivité des éléments est une fonction angulaire qui décroît de manière générale lorsque l’angle par rapport à la direction axiale de l’élément devient large [12]. Cela implique qu’une ouverture petite est utilisée en champ proche et

qu'elle croit avec la profondeur de la région imagée. En pratique, on utilise généralement un paramètre F compris entre 1 et 2.

En somme, cette méthode nous permet de faire une focalisation synthétique en émission, puisque la région commune insonifiée par la succession des ondes planes reçoit une quantité d'énergie supérieur au cas d'une onde plane singulière. Une focalisation synthétique est aussi réalisée en réception, puisque l'information provenant de chaque onde plane individuelle est sommée pour former l'image [47].

La formation d'une image est donc faite par l'équation suivante :

$$S(x, z) = \sum_{\alpha=\{\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_N\}} \int_{x-a}^{x+a} RF(x_1, \tau(x, z, x_1, \alpha)) dx_1 \quad (2.12)$$

Plusieurs marqueurs de qualité comme le contraste ainsi que le rapport signal à bruit (SNR) ont été étudiés en lien à cette méthode [47], mais il en reste que dans la grande majorité des applications d'ultrasons ultrarapides, la cadence d'imagerie nécessaire à l'observation du phénomène voulue dicte le nombre d'ondes planes utilisées.

Ces concepts techniques sont primordiaux à la réalisation de ce projet puisqu'il repose sur l'utilisation d'un échographe ultrarapide programmable ainsi que sur le développement complet des algorithmes de post traitements des données.

2.3 Microscopie de localisation par ultrasons

La technique permettant de faire l'imagerie du système vasculaire du myocarde, composé des pré-artérioles (diamètre $\sim 100-500 \mu\text{m}$) et des artérioles (diamètre $< 100 \mu\text{m}$), doit être en mesure de résoudre des vaisseaux de cette taille in vivo. Dans cette section, nous présentons la microscopie de localisation par ultrasons, une récente modalité d'imagerie permettant de vaincre la limite de diffraction pour l'imagerie vasculaire.

2.3.1 Historique

L'imagerie par ultrasons, comme tout mode d'imagerie à base d'onde, est confinée en termes de résolution par la limite de diffraction. De façon générale, la résolution correspond à la distance minimale entre deux objets qui seront discernable par l'outil. Puisque cette limite est directement

reliée à la longueur d'onde, la première option abordée pour améliorer la résolution de l'ultrasons est d'augmenter la fréquence de l'onde et ainsi en réduire la longueur [48]. L'augmentation en fréquence représente non seulement des défis en termes de construction d'équipements, la pénétration de l'onde dans le milieu en est réduite exponentiellement. Plus spécifiquement, cette solution permet d'atteindre une résolution sous les 100 μm mais limite le champ d'imagerie à une profondeur de quelques dizaines de millimètres. Cette technique est donc majoritairement considérée pour imager la peau, l'œil, la vascularisation par cathéter, le flux sanguin de tumeurs [49] ou bien l'imagerie de petits animaux [50].

Un avancement majeur pour améliorer la résolution de l'ultrason a été réalisé dans le cadre de l'angiographie par ultrasons pour l'imagerie de la vascularisation de tumeurs sous-cutanés [51], [52]. Cette méthode repose sur l'utilisation de deux éléments ultrasonores, le premier émettant une onde ultrasonore de fréquence relativement basse (quelques MHz) qui permet d'induire la résonance des microbulles injectées en agent de contraste dans le circuit sanguin. Le signal provenant d'une harmonique élevée de la vibration de la microbulle est ensuite récupéré par un second transducteur ce qui permet d'obtenir une amélioration importante en termes de résolution tout en conservant une pénétration suffisante de l'onde d'activation.

Plus en lien au concept de localisation, des travaux portant sur le retournement temporel et l'isolement du maximum probable ont permis d'atteindre des résultats pouvant être qualifiés par de la super-résolution [53], [54]. Ce terme revient à l'habileté d'isoler et de localiser un diffuseur avec une précision sous la longueur d'onde et en dessous de la limite de diffraction. Cette technique utilise un agencement spatial étendu des transducteurs ultrasonores en périphérie d'un milieu d'étude. Les échos provenant du milieu sont enregistrés par le système, puis inversés temporellement et retransmis par les transducteurs au milieu de manière itérative. Ces développements ont permis d'isoler des diffuseurs séparés par le tiers de la longueur d'onde dans un contexte expérimental mais son succès est contraint à un nombre limité de diffuseurs au sein du milieu [6]. Malgré des conclusions particulièrement intéressantes sur l'accessibilité de la super-résolution par la présence de diffuseurs limités, il en demeure que l'imagerie dans le contexte médical est liée à une source innombrable de diffuseurs agencés dans le milieu de façon aléatoire ce qui bloque l'application de cette technologie.

Plus récemment, le secteur de la microscopie optique a fait l'objet d'avancements majeurs en super-résolution. La méthode développée, nommée microscopie de localisation optique, permet d'imager des protéines intracellulaires avec une résolution de quelques nanomètres [55]. Pour y arriver, de nombreux sous-ensembles de protéines fluorescentes clairsemés sont photos activées, localisées puis blanchies. L'informations sur la position des sous-ensembles sont ensuite assemblés à posteriori pour former un image super-résolus du sujet. Ces travaux innovants et révolutionnaires ont notamment mérité le prix Nobel de chimie 2014 à Eric Betzig, Stefan Hell et William E. Moerner [56].

Comme mentionné précédemment, l'utilisation de microbulles comme agent de contraste est une pratique aujourd'hui bien répandue en clinique. Utilisant de faibles concentrations de microbulles dans une solution, une étude a démontrée que la sensibilité importante de l'ultrason aux microbulles de gaz permettait la détection de microbulles individuelles [57].

Quelques années suite à la publication marquante sur la microscopie de localisation optique, deux équipes de chercheurs ont proposé l'adaptation de cette méthodologie au contexte ultrasonore [58], [59]. Le concept présenté utilisait des microbulles comme source ponctuelle à localiser ainsi que leur mouvement ou leur effondrement comme vecteur de changement d'état. En jumelant ce concept à l'échographie ultrarapide, ils ont démontré qu'il était possible de surpasser la limite de diffraction en ultrason en exploitant les échos singuliers des microbulles. En effet, lorsque les échos d'un diffuseur singulier sont enregistrés en données RF brutes, on y retrouve un profil parabolique dû au temps de vols de la réflexion spéculaire du son sur ce diffuseur vers les éléments transducteurs de la sonde échographique. En présence d'un profil unique, un ajustement de cette parabole permet de retrouver la position de la microbulle avec une précision bien en dessous de la longueur d'onde [6].

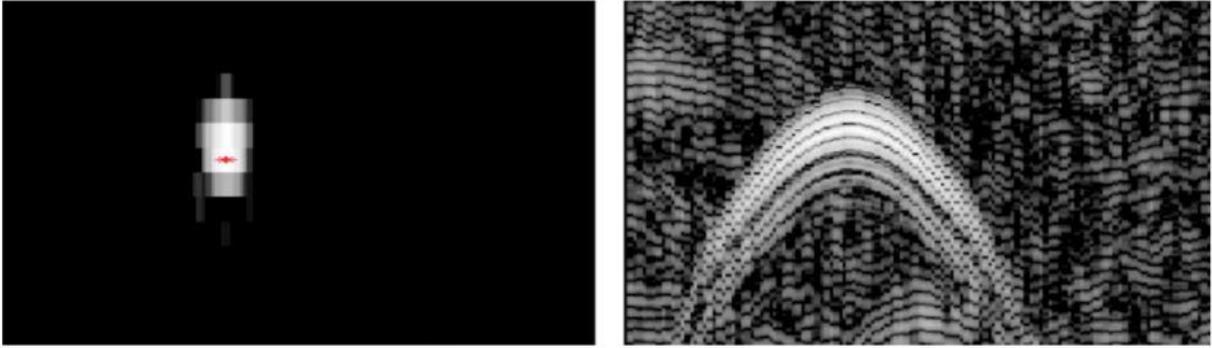


Figure 2-12: Image B-mode d'un diffuseur unique (gauche) et sa réponse parabolique au sein des données RF (droite). Extrait de [58].

En plus d'illustrer le phénomène d'isolement d'un diffuseur unique, la Figure 2-12 nous permet aussi de visualiser que la localisation du diffuseur peut être réalisée au sein de l'image formée par la réponse du processus de formation de voie en isolant le centre d'intensité.

En somme, cette étude a permis de valider la possibilité d'exploiter la philosophie proposée par la microscopie de localisation optique dans le contexte ultrasonore. Les travaux présentés à la section 4.1 pouvait déjà assumer le terme de super résolution, cependant leur implémentation au contexte médical, ou le tissu biologique est caractérisé par un nombre indiscernable de diffuseurs agencés de façon aléatoire, n'est pas envisageable. La méthode par localisation de microbulles a mené au développement de la microscopie de localisation par ultrasons (ULM) [6], qui non seulement permet d'exploiter les avantages de l'approche optique, mais comporte aussi plusieurs caractéristiques de sa nature acoustique.

2.3.2 Caractéristiques de l'ULM

L'engouement rapide envers la microscopie de localisation par ultrasons a impliqué que plusieurs groupes de recherches ont contribué aux développements de la technique et son implémentation dans divers contextes. Il en reste qu'une certaine constance est discernable au niveau des concepts directeurs de l'ULM.

2.3.2.1 Microbulles

Les microbulles de gaz sont particulièrement intéressantes dû à la sensibilité importante des ultrasons à leur présence. Comme mentionné plus haut, c'est grâce à leur importante différence en

impédance acoustique avec le sang ainsi qu'à leur mise en résonance par les fréquences caractéristiques de l'échographie médicale. La possibilité d'observer la réponse des microbulles en profondeur dans le tissu implique un certain avantage de l'ULM sur l'approche optique, puisque la lumière est rapidement absorbée par la matière. Ensuite, l'injection d'un agent de contraste externe représente un second avantage à la microscopie de localisation, celui de pouvoir insérer des diffuseurs isolés dans le champ d'imagerie [57]. La dimension d'une microbulle étant de quelques μm , leur taille est de plusieurs ordres de grandeur sous la plage de longueur d'onde utilisée en échographie médicale. De plus, l'utilisation des microbulles étant faite par injection intraveineuse, leur parcours est dirigé par la circulation sanguine du corps. Cet aspect pouvant être vu comme une restriction à l'étude d'un vaste nombre de phénomènes biologiques, il en reste que la circulation sanguine, et plus spécifiquement la micro-vascularisation, représente le site même de plusieurs pathologies cardiaques, cérébrales et cancéreuses [6], ce qui suggère une forte valeur clinique à l'utilisation de l'ULM pour le diagnostic, pronostic et suivi de traitements de ces conditions. Finalement, l'utilisation des agents de contraste étant aujourd'hui bien répandue en clinique (des centaines de milliers d'examen par année), les effets néfastes ont été largement étudiés [60], [61]. Ces études ont globalement conclu qu'aucun effet significativement nocif était induit par l'utilisation d'agent de contraste pour les examens échographiques. Toutefois, plusieurs recommandations en sont ressorties en fonction de la condition des patients et la concentration ou le type d'agent de contraste à utiliser. De plus, des recommandations ont été apportées en lien au seuil d'indice mécanique à utiliser lors d'un examen avec microbulles pour en éviter la rupture de micro-vaisseaux par l'effondrement des microbulles, puisqu'un indice mécanique supérieur à 0.4 a démontré des effets biologiques à la microvasculature lors d'étude *in vivo* [62].

2.3.2.2 Acquisition

Les ultrasons ultrarapides et leur cadence d'imagerie dans les kHz jumelés aux capacités de mémoire avancées des ordinateurs actuels représentent un grand avantage à cette technique. Il est non seulement possible d'accumuler rapidement de l'informations de plusieurs microbulles au cours du temps, il est aussi possible de suivre et d'échantillonner efficacement les mouvements anatomiques au sein de l'image [7]. Puisque les sujets d'intérêts d'un outil comme l'ULM sont soumis à du mouvement, qui peut être causé par la pulsativité et la respiration, il est avantageux de pouvoir corriger son effet puisque son influence à l'échelle du micromètre est non négligeable.

L'ultrason est donc particulièrement bien adapté à la microscopie de localisation, puisqu'il est possible d'accumuler rapidement de large quantité d'images et de générer des cartes super résolues de la vascularisation sanguine.

2.3.2.3 Détection

La détection des microbulles revient récupérer leur présence dans l'image du sujet qui possède encore une fois une quantité innombrable de diffuseurs spéculaires par sa composition anatomique de tissus musculaires, adipeux et osseux. Certaines techniques ont été étudiées dans le secteur de l'échographie à contraste amélioré [63] et d'autres techniques investiguées pour l'imagerie Doppler afin de séparer les signaux sanguins du tissu [3], [64] basé sur la décomposition en valeurs singulières (*Singular Value Decomposition*, SVD) ont contribué au développement récent de l'ULM [2]. Cette approche a été démontrée plus avantageuse aux ultrasons ultrarapides [65] que les méthodes de filtration temporelle et permet de détecter les bulles plus efficacement qu'avec les séquences non linéaires [6].

Prenons comme formalisme la fonction d'images ultrasonores décomposées en signaux complexes qui comprend : (1) la contribution du tissu t , (2) la contribution du sang sg et (3) la composition du bruit b .

$$s(x, z, t) = t(x, z, t) + sg(x, z, t) + b(x, z, t) \quad (2.13)$$

La méthode par SVD revient à redistribuer la fonction s dans une matrice de Casorati S de dimension $(n_x \times n_z, n_t)$ puis d'effectuer sa décomposition par SVD :

$$S = U\Delta V^*. \quad (2.14)$$

Où Δ est une matrice diagonale comprenant les valeurs singulières de la décomposition. Les matrices orthonormales U et V (* revient à la matrice conjuguée transposée), comprennent respectivement dans leur colonne les vecteurs propres spatiaux et temporels de la matrice S [65]. L'interprétation physique de cette opération revient à la possibilité de décomposer le système S en une somme de matrice A_i pondéré par la valeur singulière λ_i .

$$S = \sum_i \lambda_i A_i = \sum_i \lambda_i U_i \otimes V_i \quad (2.15)$$

Où A_i est composée du produit dyadique \otimes des vecteurs propres U_i et V_i .

De cette façon, la cohérence spatiotemporelle élevée du tissu implique qu'il sera compris au sein des premières valeurs singulières et vecteurs propres, tandis que le sang devrait se retrouver compris dans les valeurs propres et vecteurs propres de rang plus faible dû à sa cohérence spatiotemporelle réduite. Cette méthode permet donc de prendre avantage de la grande quantité d'informations des acquisitions d'ultrasons ultrarapides pour en faire une filtration plus précise des composantes de l'image. En ULM, l'hypothèse est que le signal des microbulles se retrouve dans une fenêtre de valeurs propres au sein de la fonction s , impliquant qu'une paramétrisation efficace de la recombinaison des valeurs et vecteurs propres permet d'isoler sa contribution.

Cependant, cette approche comporte des défis supplémentaires lors de son implémentation au contexte cardiaque. Le mouvement du tissu cardiaque étant rapide et de grande amplitude, sa décomposition par SVD implique qu'il influencera un plus grand nombre de valeurs singulières. Il en devient plus difficile d'isoler le signal sanguin ou même des microbulles de façon précise. Une approche proposée pour l'imagerie Doppler a été reprise pour ce projet [3]. Le concept était d'initialement décomposer le regroupement d'images en sous-ensemble dans l'échelle temporelle. De cette façon, la quantité de mouvement du tissu cardiaque est réduite dans chaque ensemble tandis que nous gardons l'hypothèse que le signal du sang, ou des microbulles, demeure spatiotemporellement moins cohérent. Cette technique demande toutefois d'isoler la durée temporelle des sous-ensembles ainsi que le seuil de coupure des valeurs singulières pour isoler les signaux voulus. Dans notre cas, ce processus a été fait de manière itérative, en testant plusieurs combinaisons selon la littérature, nos observations ainsi que notre intuition jusqu'à l'atteinte de résultats permettant la visualisation des microbulles et de leurs trajectoires.

2.3.2.4 Isolation

Puisque la microscopie de localisation permet de vaincre la limite de diffraction en ciblant des diffuseurs isolés, il est important d'éviter la présence de diffuseurs situés trop près l'un de l'autre, puisque leurs signaux seraient interférés [7]. La concentration de microbulles joue un grand rôle à l'égard de cet objectif et des méthodes de filtration d'images sont aussi possibles pour sélectionner

uniquement les microbulles isolées afin de localiser leur position. Pour ce projet, nous avons optés pour une approche basée sur la corrélation de l'image avec la réponse impulsionnelle du système. Puisque la dimension d'une microbulle est grandement inférieure à la longueur d'onde utilisé, cette hypothèse est globalement soutenue. En imposant un seuil minimal sur la valeur de corrélation, nous avons fait l'hypothèse que nous rejetons les regroupements de microbulles, puisqu'ils produisent théoriquement une réponse plus étendue avec une plus forte amplitude que la réponse d'une microbulle unique.

2.3.2.5 Localisation

Les ultrasons se propagent de manière cohérente dans le milieu et la réponse du système à un diffuseur ponctuel isolé est bien connue et documentée [7], [66] et peut être reliée à la réponse impulsionnelle du système (*Point Spread Function*, PSF). La procédure mesurant la position centrale de cette réponse, que ce soit fait sur les données RF brutes ou sur l'image formée permet donc de localiser la source avec une précision nettement supérieure à la limite de diffraction. Par conséquent, c'est cette étape de localisation qui régit de façon pratique la résolution de la microscopie de localisation par ultrasons. Dans le contexte de ce projet, un agencement gaussien à la carte de corrélation des microbulles a permis de retrouver les positions super résolues des microbulles [67].

2.3.2.6 Suivi des positions

Additionnellement, la position des microbulles peut être suivie entre différents instants temporels de l'acquisition permettant la définition d'un vecteur de déplacement, et ainsi de vitesse. Cet outil permet d'obtenir de l'information additionnelle sur le flux sanguin et peut grandement en améliorer l'interprétation [7]. Le suivi suppose toutefois qu'une microbulle demeure dans le plan d'imagerie durant plusieurs images subséquentes et qu'elle respecte les conditions d'appariement en fonction de critères comme la vitesse maximale. Au niveau de ce mémoire et du projet réalisé, l'implémentation d'un algorithme de suivi n'a pas été suffisamment concluant au développement de résultats, impliquant que cet aspect de la méthodologie n'est pas développé au sein de la publication présentée dans ce mémoire.

2.3.2.7 Accumulation

L'objectif de l'ULM étant de former une carte des structures parcourue par les microbulles, l'information d'une bulle singulière, malgré son caractère super-résolu, n'est pas suffisante. C'est en accumulant les positions d'un grand nombre de microbulles au cours du temps qu'il est possible de générer un résultat pertinent, tout comme dans l'approche optique.

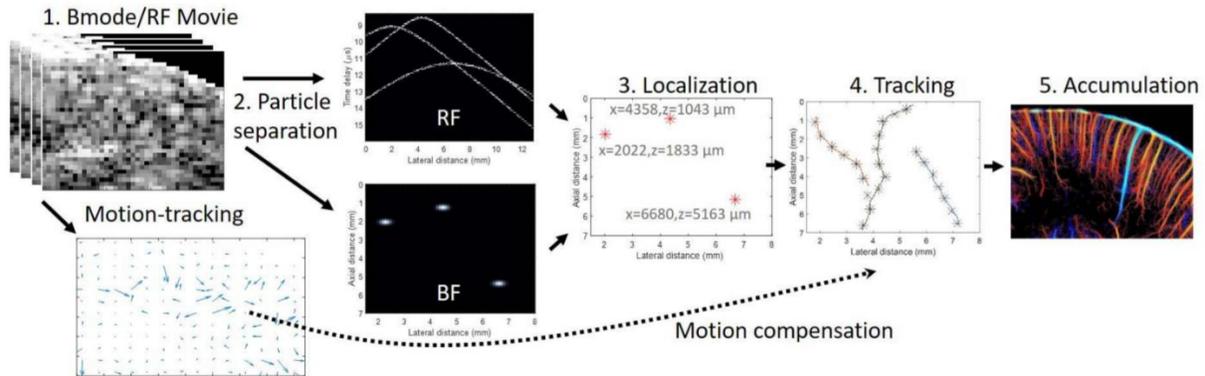


Figure 2-13 : Schématisation séquentielle des étapes de la microscopie de localisation par ultrasons. Extrait de [6].

2.3.3 Travaux antérieurs

L'ULM étant déjà bien établie dans le secteur de la recherche, cette section présente des exemples d'applications ainsi que des travaux marquants de cette technologie.

Les premiers travaux réalisés par divers groupes ont tous été réalisés *in vitro*. Tout d'abord, Couture et al. [58] ont utilisé la décorrélation des microbulles par imagerie ultrarapide suivi de leur localisation au sein de micro-canaux permettant de les représenter avec une résolution inférieure à la limite de diffraction. Parallèlement, Viessmann et al. [68], travaillant sur des fréquences d'imagerie conventionnelles, ont aussi utilisé une approche différentielle exploitant la non-linéarité des microbulles permettant de résoudre des canaux avec une mesure jusqu'à 5 fois plus précise que la résolution du système d'imagerie, caractérisé par sa réponse impulsionnelle. O'Reilly et al. [69], travaillant sur un fantôme de crâne et validant leur résultat par micro-CT, ont démontré que l'approche de super résolution offrait une grande amélioration sur l'imagerie vasculaire en profondeur et que cette technique pourrait être implémentée pour l'imagerie vasculaire cérébrale.

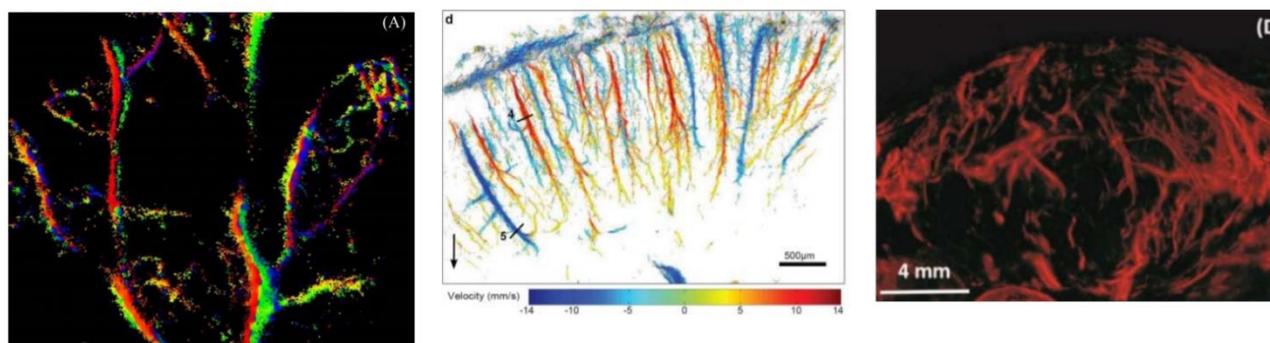


Figure 2-14 : Réseau vasculaire d'une oreille de souris (gauche), extrait de [70]. Réseau vasculaire du cerveau de rat (centre), extrait de [2]. Vascularisation d'une tumeur (droite), extrait de [71].

Dans les années qui ont suivis ces développements, plusieurs études marquantes ont permis d'illustrer le fort potentiel de la microscopie de localisation par ultrasons à l'imagerie de micro-vaisseaux in-vivo. Christensen-Jeffries et al. [70], ont réalisé l'imagerie des vaisseaux d'une oreille de souris avec une résolution allant jusqu'à $20\ \mu\text{m}$ l'aide d'un échographe conventionnel (Fig. 2-14 gauche). Ils ont aussi été en mesure de valider leurs résultats par la microscopie optique du même réseau vasculaire. Au court de la même année, Errico et al. [2] ont poursuivi les travaux de leur groupe utilisant l'ultrasons ultrarapide ainsi qu'un traitement différentiel faisant ressortir les signaux des bulles pour cartographier le réseau vasculaire du cerveau de rat avec une résolution allant jusqu'à $8\ \mu\text{m}$ (Fig. 2-14 centre). Ces deux groupes ont aussi incorporé le suivi des positions des microbulles au court du temps pour générer des cartes de vitesses. De cette façon, deux vaisseaux qui seraient indiscernables peuvent être séparés par l'amplitude de vitesse intraluminal ainsi que l'orientation du flux sanguin. L'utilisation d'un échographe ultrarapide permet toutefois une mesure plus robuste des profils de vitesses par sa cadence d'imagerie supérieure [6] et a permis dans le cas de cette étude de mesurer des flux allant de $1\ \text{mm/s}$ jusqu'à quelques cm/s .

Par suite de ces démonstrations, plusieurs groupes ont orienté leurs recherches vers l'utilisation de l'ULM in vivo pour l'imagerie de la morphologie des micro-vaisseaux menant à l'extraction de différents biomarqueurs. Les travaux de Lin et al. [71] ont utilisé l'ULM ultrarapide pour imager le réseau vasculaire d'une tumeur sous-cutanée (Fig. 2-14 droite). En accumulant de l'informations vasculaires selon plusieurs plans d'imagerie distincts, la représentation tridimensionnelle de la micro-vascularisation a mené à d'importantes observations sur la configuration vasculaire associée à l'angiogenèse tumorale. Opacic et al. [72] ont de leur côté utilisé l'ULM avec un échographe

conventionnel pour différencier 3 types de tumeurs par leur agencement et densité vasculaire distincte. Ensuite, Ghosh et al. [73] ont étudié l'effet d'un traitement inhibiteur de l'angiogenèse sur la vascularisation d'une tumeur à l'aide de l'ULM. À l'aide d'un échographe conventionnel et l'utilisation de l'imagerie harmonique des microbulles, ils ont observé une réduction de la densité vasculaire d'environ 60% deux heures suivant l'injection du traitement en comparative à 26% pour le cas non traité, démontrant de nouveau le potentiel de cette technologie en oncologie.

Ce groupe a aussi testé l'utilisation de l'ULM pour imager la microvasculature musculosquelettique de souris diabétiques suite à l'administration d'insuline [74]. Sous l'hypothèse que l'insuline permet de recruter des micro-vaisseaux et que cet effet est diminué chez les espèces atteintes d'obésité, l'étude proposait l'utilisation d'un échographe clinique en imagerie de contraste suivi d'une filtration par SVD pour isoler et localiser les microbulles au sein d'un muscle adducteur de souris de contrôle et atteintes d'obésité. Leurs conclusions démontraient une réponse microvasculaire déficiente chez les souris obèses, proposant que l'ULM pourrait être un outil performant au suivi des effets vasculaires liés au diabète [6].

Finalement, les travaux de Foiret et al. [75] ont transposé l'ULM à l'imagerie de la microvascularisation du rein du rat. Leur approche utilisait une séquence échographique ultrarapide jumelée à un traitement non linéaire basé sur la cohérence pour rejeter le tissu permettant de récupérer en prime le signal de microbulles voyageant à faible vitesse. De cette façon, ils ont cartographié des vitesses au sein de microvasculaire sous le seuil de 2 mm/s. De plus, ce groupe a implémenté une méthode pour faire le suivi du mouvement rigide de l'organe pour effectuer une correction au réseau vasculaire.

2.4 Suivi du mouvement par ultrasons

Jusqu'à présent, l'implémentation de l'ULM s'est restreinte à des sujets où le mouvement était relativement faible. Les mouvements anatomiques représentent un défi à l'accumulation cohérente des positions de microbulles puisque leur localisation en est affectée. Toutefois, le suivi du mouvement anatomique par ultrasons est un secteur bien exploité, notamment par sa sensibilité à la phase des signaux. Conventionnellement, l'échographie permet d'analyser la fonction du myocarde par deux méthodes : 1) l'imagerie Doppler du mouvement tissulaire, 2) le suivi analytique de la signature spéculaire du tissu.

En imagerie Doppler, la mesure du déphasage des signaux ultrasonores permet d'évaluer la vitesse de déplacement local d'un objet. Toutefois, cette méthode est uniquement sensible dans l'orientation de propagation du faisceau ultrasonore [76], c'est pourquoi diverses méthodes ont été proposées pour retrouver les vitesses axiales et latérales du tissu comme l'utilisation de plusieurs émissions ultrasonores angulaires [77]. Cette technique est cependant sujette à une amplitude élevée de bruit et une robustesse réduite des vitesses mesurées dû à la différence angulaire relativement faible entre les émissions. La régularisation du champ de vitesses à l'aide de lissage spatiotemporel est une proposition assez répandue [76], [78] pour résoudre ce problème.

Le suivi de la signature du tissu est typiquement effectué par corrélation entre les images B-mode subséquentes d'une acquisition ultrasonore et dépend donc grandement de la qualité des images. En échographie conventionnelle, il est possible d'augmenter le contraste de ces images en augmentant le nombre de tirs focalisés pour former une image, en diminuant toutefois la cadence d'imagerie ce qui peut complexifier le suivi de mouvement rapide au sein des images. C'est pourquoi cette technique est considérée pour l'évaluation de propriétés cardiaques de patients au repos [79], mais rencontre des difficultés lors d'échographie de stress lorsque la fréquence cardiaque des patients est augmentée [80].

D'autres techniques ont été étudiées pour faire le suivi bidimensionnel [81] des mouvements cardiaques à partir d'images échographiques. Sühling et al. [82] ont intégré les notions de flux optiques aux images B-mode. Cependant, un changement d'intensité drastique dans une séquence d'images (pouvant être causé par un mouvement hors plan), réduit grandement la performance de cette approche. Le jumelage du flux optique avec l'imagerie tissulaire Doppler a été proposé en solution à cette problématique [76], [83].

Comme mentionné plus tôt, l'échographie ultrarapide utilise le jumelage de plusieurs tirs pour former une image de meilleure qualité. Cette technique repose sur l'hypothèse que le champ d'imagerie demeure statique entre deux tirs, ce qui n'est pas valide dans le contexte cardiologique. Le suivi du mouvement ainsi que sa correction est donc aussi applicable au principe de composition cohérente. Premièrement, Denarie et al. [84]

ont validé que la correction de mouvement basé sur une mesure de déplacement par corrélation croisée permet de limiter les pertes du rapport signal à bruit ainsi que du contraste des images formées par composition cohérente d'un objet en déplacement rapide. Ensuite, Porée et al. [85] ont mesuré par effet Doppler tissulaire les déplacements entre tirs d'ondes divergentes pour en effectuer la correction au sein d'images cardiaques. Spécifiquement, l'approche proposée de correction de mouvement a permis de faire ressortir des structures anatomiques telles que le septum et le feuillet antérieur de la valve mitrale initialement indiscernable dû à la présence de mouvement rapide.

Au niveau de la microscopie de localisation, Hingot et al. [86] ont proposé d'utiliser la corrélation de phase entre les images pour mesurer le déplacement rigide. En définissant une image $I_1(x, z)$ ainsi que sa translation $I_2 = I_1(x + \Delta x, z + \Delta z)$, le développement de la corrélation croisée dans l'espace de Fourier nous permet de retrouver le déphasage en fonction du déplacement :

$$\frac{F(I_1)^\circ F(I_2)^*}{|F(I_1)^\circ F(I_2)|} = e^{j\phi(\Delta x, \Delta z)}. \quad (2.16)$$

À la suite de la correction du mouvement appliqué sur la position des microbulles, ils ont démontré que le contraste ainsi que la résolution des micro-vaisseaux étaient nettement améliorés (Fig. 2-15).

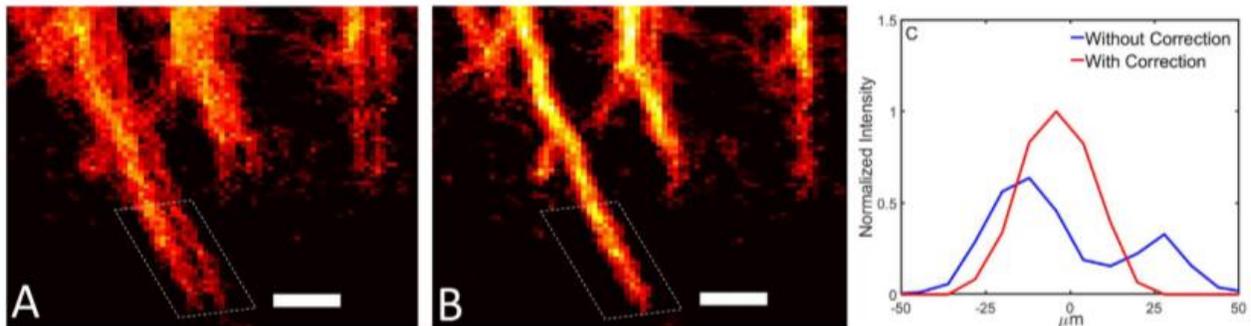


Figure 2-15 : Image d'un vaisseau non corrigé (A). Même vaisseau avec correction du mouvement (B). Profil d'intensité du vaisseau avant et après correction du mouvement (C). Extrait de [86].

Finalement, ces techniques sont importantes à l'analyse du mouvement cardiaque, ce qui représente un défi non négligeable à la translation de la microscopie de localisation par ultrasons pour l'imagerie des micro-vaisseaux du myocarde.

CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE

La méthodologie de ce projet peut être séparée en 3 sections. L'installation expérimentale, comprenant le matériel ainsi que les techniques d'utilisations nécessaires au succès des expériences. La séquence d'acquisition ultrasonore, qui a été conçue et paramétrée spécifiquement pour ce projet. Finalement, le post traitement des données, comprenant la mise en forme de nouveaux algorithmes permettant de cartographier avec une résolution sous la limite de diffraction les micro-vaisseaux intra myocardique.

3.1 Installation expérimentale

3.1.1 Échographe

Puisque nous avons comme objectif d'imager par ultrasons la micro-vascularisation cardiaque, l'échographe correspond à une composante maîtresse de ce projet. Le Laboratoire d'Ultrasons Provost était équipé avec deux systèmes Vantage (Verasonics, ÉUA) et un grand nombre de sondes ultrasonores. En détail, ce système permet le contrôle complet des paramètres de transmission ultrasonore, acquiert en temps réel les données brutes RF pour ses 256 canaux intrinsèques et est fourni avec l'utilisation sur MATLAB (Mathworks, ÉUA) de toute ses fonctionnalités. Puisque l'imagerie ultrarapide est majoritairement utilisée dans le secteur de la recherche, l'opportunité de travailler sur un échographe programmable est indispensable à la réalisation d'un tel projet. De plus, la conception et l'utilisation de la séquence ultrasonore représentait aussi une portion importante de ce projet et est discutée à la section suivante.

3.1.2 Sonde

Plusieurs sondes ont été testées pour réaliser ce projet. La sonde ATL L7-4 (Philips, ÉUA) représentait un bon candidat, mais est spatialement trop large et sa fréquence d'opération mène à une résolution élevée pour l'imagerie de petits animaux. La sonde CL15-7 (Philips, ÉUA) a aussi été considérée, puisque la fréquence d'opération comporte un excellent compromis entre la propagation ultrasonore et la résolution spatiale pour l'imagerie de petits animaux. Cependant, nous avons observé à son utilisation que de nombreux artefacts étaient présents : des lignes noirs constantes dans le champ d'imagerie probablement dû à un mauvais amortissement des cristaux piézoélectriques ainsi qu'une certaine sensibilité au bruit électronique. Finalement, nous avons opté pour une sonde haute fréquence L22-14 (Vermon, Tours, France) spécialement fabriquée pour l'imagerie de petits animaux avec une fréquence d'utilisation centrale de 15.625 MHz permettant encore une fois un bon compromis entre résolution et absorption. Malgré le fait que la microscopie de localisation permet de vaincre la limite de diffraction et qu'une résolution spatiale faible de la sonde semble moins importante, deux aspects de ce projet requièrent des images bien résolues. 1) Le positionnement

de la sonde en échographie transthoracique est complexe puisque le cœur est un organe en profondeur superposé par du tissu, les poumons ainsi que les côtes de l'animal.

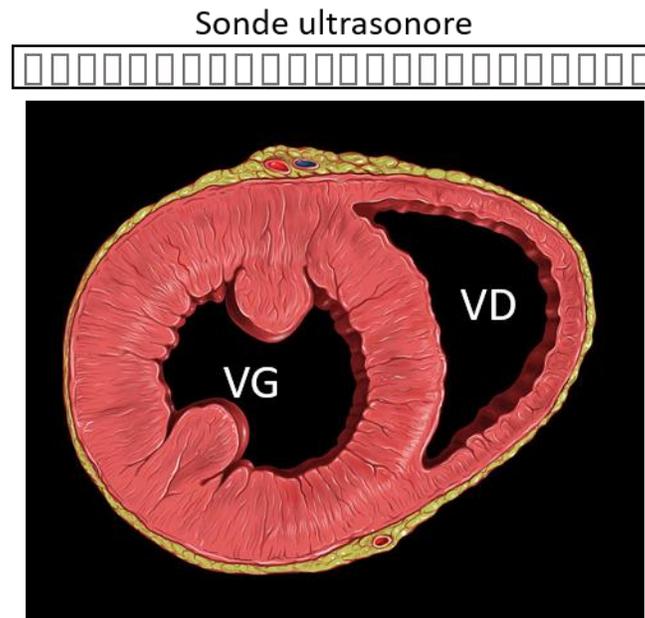


Figure 3-1 : Coupe de vue de l'axe court parasternal avec positionnement de la sonde. Illustration des deux ventricules: ventricule gauche (VG) et ventricule droit (VD). Modifiée de J.Lynch Patrick, *Heart short axis*, 13 April 2011

Dans le cadre de ce projet, nous avons procédé à un positionnement dans l'axe court parasternal, ce qui permet théoriquement d'avoir une coupe transversale importante du ventricule gauche et d'observer le chevauchement du ventricule droit en périphérie (Fig. 3-1). La reconnaissance de ces structures anatomiques n'étant pas assurée en imagerie cardiaque de petits animaux, nous avons aussi basé notre positionnement sur l'observation du rythme cardiaque de ces structures au sein du plan d'imagerie. Une bonne résolution spatiale était donc particulièrement importante à cette étape. Ensuite, comme décrit à la section 3.3, notre approche de post-traitement bénéficie grandement de la qualité des images tissulaires, impliquant que la résolution de la sonde permet d'améliorer les performances de cette technique. Pour ces raisons, l'utilisation de la sonde L22-14 a permis la complétion de ce projet pour l'imagerie bidimensionnelle du cœur de rat.

3.1.3 Dispositif de suivi des signes vitaux

Le dispositif utilisé pour faire le suivi des signes vitaux des animaux (Labeotech, CAN) lors des expériences avait une double fonction. Premièrement, les soins apportés aux animaux tel que l'ajustement de l'anesthésie ainsi que le réchauffement additionnel de l'animal par lampe UV/plaque chauffante était fait en fonction des mesures de température, de rythme cardiaque ainsi que le rythme respiratoire de l'animal. De plus, une

fonctionnalité primordiale à notre technique d'imagerie correspond à l'utilisation d'un déclencheur de signal lors de l'atteinte du pic de l'onde R de l'ECG qui permet de communiquer avec l'échographe. Une fonctionnalité additionnelle utilisée lors de ce projet est d'imposer au déclencheur de signal d'interagir uniquement lors de la diastole respiratoire, limitant le mouvement respiratoire au sein des acquisitions. En somme, l'animal était reposé sur la plateforme du dispositif sur le dos et ses pattes étaient positionnées sur les capteurs avec du gel conducteur ainsi qu'un ruban adhésif médical pour les maintenir en place (Fig. 3-2).

3.1.4 Système micrométrique de positionnement

Pour assurer le bon fonctionnement de la microscopie de localisation, il est important de limiter toutes sources de mouvement externe au sujet étudié. Dans le cadre de ce projet, il est donc particulièrement important que le couplage animal-sonde soit le plus immobile possible. Pour cet objectif, nous avons utilisé une station d'imagerie VeVo (Visualsonics, CAN), avec un support de sonde fait sur mesure. Le dispositif de suivi des signes vitaux étant compatible avec cette station, nous avons pu fixer l'animal en limitant ses mouvements sur la plateforme avec des stabilisateurs en mousse additionnels. De plus, cette station est munie d'un système micrométrique permettant la translation dans les trois axes spatiaux du bras tenant la sonde échographique. Cette fonctionnalité s'est avérée très avantageuse au positionnement de la sonde pour retrouver le plan d'imagerie voulue du cœur et en assurer la stabilité (Fig. 3-2).

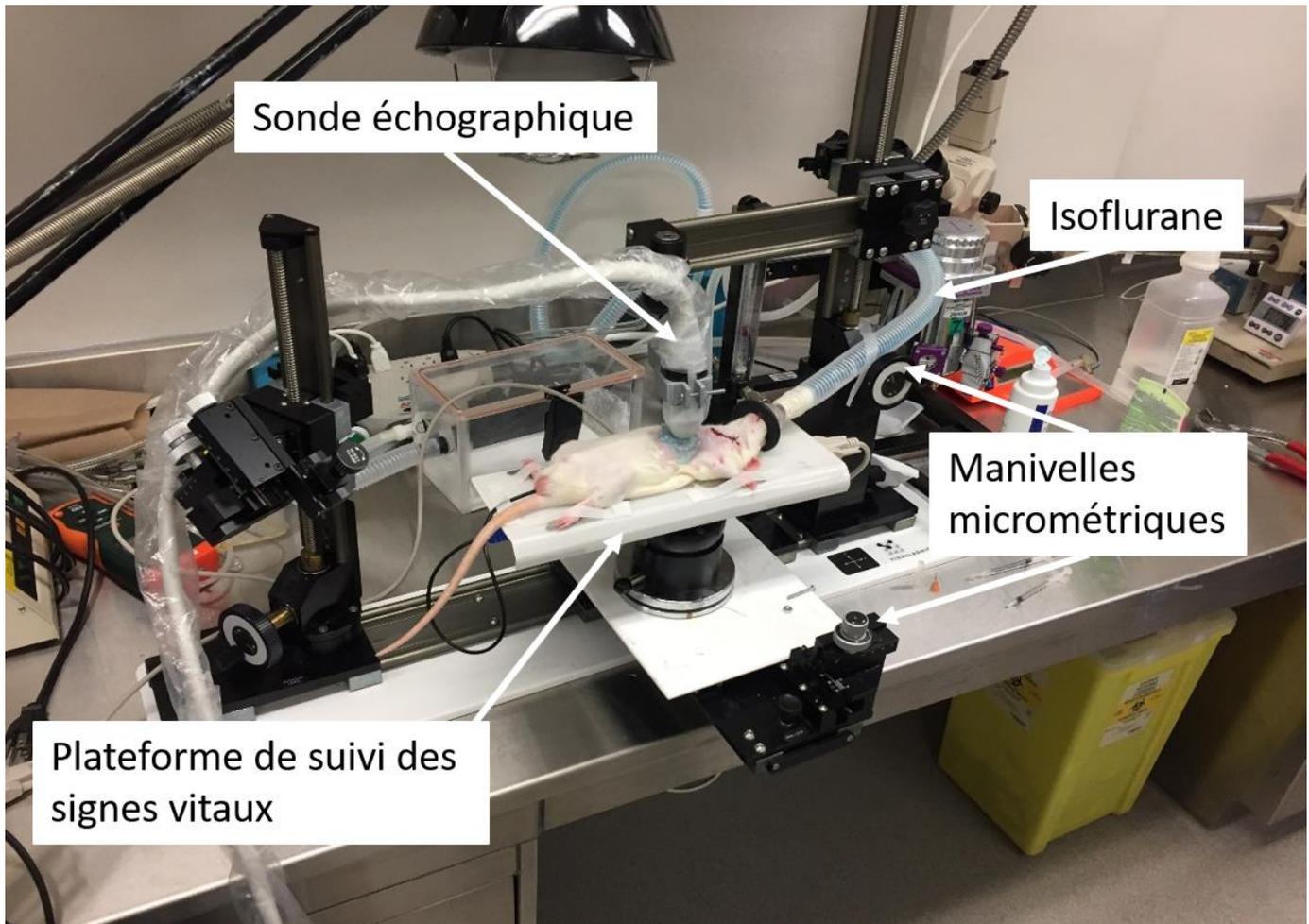


Figure 3-2 : Installation expérimentale de l'imagerie échographique cardiaque. Les stabilisateurs ne sont pas présents dans cette figure.

3.1.5 Microbulles

Les microbulles (DEFINITY, Lantheus, ÉUA) étant un agent de contraste utilisé fréquemment en clinique, notre partenariat avec l'Institut de Cardiologie de Montréal (ICM) a permis la récupération d'une grande quantité de fioles de microbulles. L'injection intraveineuse était effectuée par bolus dans la carotide, la chirurgie et la pose du cathéter étant effectuée par Marc-Antoine Gillis, technicien animalier de l'ICM. Le choix de la concentration est un défi associé à l'utilisation des microbulles. En effet, une concentration trop élevée implique que la probabilité d'avoir deux microbulles à une distance inférieure à la longueur d'onde (empêchant la microscopie de localisation) est plus élevée. De plus, la cavité du ventricule gauche est une portion importante du champ d'imagerie, impliquant qu'une quantité trop importante de microbulles dans la cavité réfléchirait une grande partie de l'énergie émise dans le milieu et bloquerait l'imagerie des vaisseaux de la paroi inférieure du myocarde. Toutefois, un aspect important de la microscopie de localisation par ultrasons est le temps nécessaire à la reconstruction de vaisseaux, qui est fonction de la probabilité des

microbulles de parcourir ces vaisseaux [87]. Une concentration trop faible de microbulles impliquerait donc une durée d'acquisition plus longue pour arriver à cartographier la microvasculature au sein du champ d'imagerie. Pour ce projet, nous avons basé notre choix de concentration sur un processus itératif, testant plusieurs concentrations qui étaient documentées dans la littérature. Nous avons donc opté pour un volume de 10 μL de microbulles injectées avec un volume de 90 μL de saline. Cette injection était effectuée environ 45 secondes suivant le début de l'acquisition ultrasonore. Nous avons ensuite injecté un volume de 100 μL de saline, assurant que les microbulles résiduelles dans le cathéter étaient bien injectées dans la circulation sanguine de l'animal.

3.2 Séquence ultrasonore

L'utilisation d'un échographe programmable permet la conception libre de la séquence ultrasonore en fonction des objectifs. Dans le cas de la microscopie de localisation ultrasonore du cœur, plusieurs considérations ont été prises en compte. 1) Le voltage de l'émission ultrasonore a été fixé à 20V, permettant un niveau d'énergie suffisant dans le milieu pour observer le cœur tout en minimisant la probabilité d'effondrer les microbulles présentes dans la circulation sanguine. De plus, ce voltage est suffisamment faible pour empêcher le surchauffement de la sonde lors d'acquisition longue. 2) La cadence d'imagerie sélectionnée permet d'échantillonner le mouvement cardiaque par effet Doppler (section 3.3) sans la présence d'aliasing. Ce phénomène intervient lorsque la PRF est inférieur au seuil nécessaire pour échantillonner une vitesse selon l'équation suivante[88] :

$$v_{max} = \frac{c}{2} \frac{f_{PRF}}{f_c}, \quad (3.1)$$

Où v_{max} est la vitesse d'aliasing, c est la vitesse du son, f_{PRF} est la cadence d'imagerie et f_c est la fréquence centrale de la sonde. En posant l'hypothèse que 15 cm/s est une vitesse nettement plus élevée que celle de déplacement du myocarde, nous avons calculé qu'une cadence d'imagerie de 3000 images par secondes serait choisie. 3) Nous avons opté pour l'imagerie par ondes planes avec angles pour augmenter le contraste de l'image à l'aide du concept de composition cohérente ainsi que l'opportunité de retrouver des composantes latérales aux vitesses Doppler tissulaires (section 3.3). Puisque l'ensemble des données RF est sauvegardé par notre système, nous devons cependant limiter le nombre d'angles pour respecter la taille de transfert de limite de l'échographe vers l'ordinateur. Pour ces raisons, la séquence ultrasonore génère 3 tirs d'ondes planes ($-3^\circ, 0^\circ, 3^\circ$) et sauvegardait les données RF de chaque tir. 4) La durée totale d'acquisition a été établie à 10 minutes, pour permettre l'imagerie de microbulles durant un temps maximal considérant le temps d'élimination suggéré par les spécifications. 5) Puisque l'acquisition devait être faite par un grand nombre

d'ensembles d'images (section 3.3) tous initialisés par une impulsion provenant du pic de l'onde R de l'ECG, un paramètre important est la durée temporelle de chaque séquence d'image. L'observation d'au moins deux cycles cardiaques étant bénéfique à l'algorithme de traitement d'images (section 3.3), et la fréquence cardiaque de l'animal étant d'environ 6 battements par seconde, nous avons fixé la durée de chaque ensemble d'images à 0.4 seconde. De plus, la cadence d'imagerie utilisée durant cette durée générerait un regroupement de données respectant la taille limite de transfert de nos composantes matériels (les disques durs, l'échographe).

3.3 Post traitement

La dernière partie méthodologique de ce projet correspond à la mise en forme d'algorithmes pour former ainsi que traiter les images ultrasonores du cœur avec microbulles. Premièrement, un algorithme de formation d'image basé sur les concepts de délais et somme et composition cohérente (Section 2.2.2.5.1) calculé sur le processeur graphique de l'ordinateur a été développé par Jonathan Porée, un chercheur postdoctoral du Laboratoire d'Ultrasons Provost, et utilisé pour générer les images composées des signaux IQ de l'acquisition. Deux innovations à la microscopie de localisation proposées par notre équipe ont permis de cartographier les micro-vaisseaux intramyocardiques : 1) Le fait d'acquérir les images en groupes de 0.4 seconde tous reproductibles dans le référentiel du battement cardiaque et 2) le développement d'un algorithme de correction de mouvement nommé Beamforming Lagrangien.

3.3.1 Acquisition dynamique

Puisque nous envisageons d'analyser la perfusion du myocarde, qui est un phénomène cyclique, nous avons la contrainte d'accumuler l'informations des microbulles d'une façon cohérente par rapport aux battements cardiaques. De cette façon, en plus de procéder à une séquence ultrasonore par groupes d'images déclenchés par un signal de l'ECG, nous avons procédé à la reconstruction des cartes vasculaires dynamiques en accumulant la position des microbulles aux mêmes instants du cycle cardiaque.

3.3.2 Beamforming Lagrangien

En vue d'accumuler de façon cohérente les positions de microbulles ainsi que diminuer les artefacts de flou et les erreurs de localisation, nous avons développé un algorithme permettant de mesurer et corriger les grands mouvements du cœur battant : Le Beamforming Lagrangien. Son fonctionnement repose sur le calcul de l'image ultrasonore en fonction des coordonnées Lagrangiennes du système (en référence au point matériel du champ d'imagerie) en opposition aux coordonnées Eulériennes (en référence à la sonde d'imagerie). Cette technique est novatrice, puisqu'elle présente une première tentative de corriger les effets du mouvement dès

lors de la formation d'images (Section 4.2.2.2). De cette façon, nous avons pu former des images où les mouvements anatomiques du battement cardiaque étaient nettement réduits, avec second objectif d'améliorer la filtration tissulaire par SVD.

CHAPITRE 4 ARTICLE 1: DYNAMIC MYOCARDIAL ULTRASOUND LOCALIZATION ANGIOGRAPHY

Authors : Philippe Cormier, Jonathan Porée, Chloé Bourquin, Jean Provost

Manuscript sent August 04 2020. This work was supported in part by the Fonds Québécois de Recherche Nature et Technologies (FRQNT 268556), the Canada Foundation for Innovation (38095), and IVADO. J. Porée is supported in part by IVADO and the Transmedtech Institute. C. B. is supported in part by the Transmedtech Institute, FRQNT, the Quebec Bio-imaging Network, and IVADO. Both IVADO and the Transmedtech Institute include support from the Canada First Research Excellence Fund (Apogee/CFREF).

Philippe Cormier, Jonathan Porée and Chloé Bourquin are with the Department of Engineering Physics, Polytechnique Montréal, H3T 1J4 Montréal, Canada.(e-mail: philippe.cormier@polymtl.ca; jonathan.poree@polymtl.ca; chloe.bourquin@polymtl.ca)

Jean Provost is with the Department of Engineering Physics, Polytechnique Montréal, H3T 1J4 Montréal, Canada and with the Montreal Heart Institute, H1T 1C8 Montréal, Canada. (e-mail: jean.provost@polymtl.ca)

Article in revision at IEEE Transactions on Medical Imaging.

Abstract: Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography (MULA) is an ultrasound-based imaging modality destined to enhance the diagnosis and treatment monitoring of coronary pathologies. Current diagnosis methods of coronary artery disease focus on the observation of vessel narrowing in the coronary vasculature to assess the organ's condition. However, we would strongly benefit from mapping and measuring flow from intramyocardial arterioles and capillaries as they are the direct vehicle of the myocardium blood income. With the advent of ultrafast ultrasound scanners, imaging modalities based on the localization and tracking of injected microbubbles allow for the subwavelength resolution imaging of an organ's vasculature. Yet, the application of these vascular imaging modalities relies on a coherent accumulation of cine loops of a region of interest undergoing no or minimal tissue motion. This work introduces the MULA framework that combines 1) the mapping of the dynamics of the microvascular flow using an ultrasound sequence triggered by the electrocardiogram with a 2) novel Lagrangian beamformer based on non-rigid motion registration algorithm to form images directly in the myocardium's material coordinates and thus correcting for the large myocardial motion and deformation. Specifically, we show that this framework enables the non-invasive imaging of the angioarchitecture and dynamics of intramyocardial flow in vessels as small as a few tens of microns in the rat's beating heart in vivo.

Index terms : Ultrasound Imaging, Cardiology, Localization Microscopy, Motion Correction, Myocardial Angiography

4.1 Introduction

In patients with known or suspected coronary artery disease (CAD), cardiac imaging tests often constitute the first step in diagnosis and treatment planning. The most typical approach in characterizing CAD focuses on the anatomy of a coronary artery tree by determining which arteries undergo narrowing or obstruction using standard angiography [1]. However, the observed narrowing does not always correlate well with blood flow [2] and heart function or, more importantly, with the patient's symptoms and prognosis [3]. The heart's arterial system is composed of three different compartments of dimensionally distinctive vessels having various functions. The large epicardial coronary arteries ($\sim 500 \mu\text{m}$ to $\sim 5 \text{mm}$) have a capacitance function and flow is subject to little resistance. The intramyocardial vessels, prearterioles ($\sim 100 \mu\text{m}$ to $500 \mu\text{m}$) and arterioles ($< 100 \mu\text{m}$), have respective functions of pressure regulation and metabolic regulation of the myocardial blood flow (MBF) [4]. These structures host the coronary microcirculation and compose the site of coronary microvascular dysfunction (CMD). In the last two decades, this condition has emerged as an important mechanism of myocardial ischemia with a high prevalence in patients with suspected CAD [4]. Guidelines regarding the management of stable CAD now consider atherosclerotic narrowing and CMD through its diagnostic and prognostic recommendations [5]. Furthermore, since coronary angiography is often insufficient to prescribe a percutaneous coronary intervention, clinical practice also relies on fractional flow reserve (FFR) [6] or coronary flow reserve (CFR) measurements to assess the myocardial ischemia risk. However, these measurements can be discordant for around 30 % of intermediate stenosis [3]. Despite the increasing focus on the myocardium's vasculature, no technique can directly visualize the coronary microcirculation in vivo in humans [4], [7]. Ultrasound techniques, based on contrast agents to achieve optimal opacification of the left ventricle, also deliver information on myocardial perfusion but is yet only used in emergency conditions [8]. Moreover, multiple imaging approaches often based on large fixed infrastructure have been developed to obtain diagnostic and prognostic information non-invasively and through indirect measures. However, they often suffer from limitations in terms of sensitivity and specificity, which may lead, on the one side, to an unnecessary coronary angioplasty or, on the other side, to untreated life-threatening conditions. The advent of Ultrafast ultrasound [9] paired with the capability to accumulate large datasets has recently opened the way for various novel ultrasound-based imaging modes. By transmitting plane waves rather than focused beams, frame rates rose from 50 to 20 000 images per second. For instance, Ultrafast Doppler Angiography has enabled the mapping of large intramyocardial vessels (few hundreds of micrometers in diameter) in the beating heart [10]–[13]. In organs undergoing minimal or no

tissue motion, Ultrasound Localization Microscopy (ULM) [14] has recently enabled the mapping of vessels of a few microns in diameter. However, Ultrafast Doppler Angiography is not sufficiently resolved to investigate smaller intramyocardial compartments, and the complex heart motion limits the implementation of ULM for cardiac imaging. ULM consists of locating and tracking highly echogenic, individual microbubbles within the vasculature. It overcomes the diffraction limit and enables sub-wavelength resolution of vascular pathways [14]. An important tradeoff in ULM is that the gain in spatial resolution is done at the cost of degraded temporal resolution as several minutes are required to fill the vascular network of an entire region of interest. While various microvascular structures like the brain [14], kidney [15], liver [16] and tumors [17], [18] have already been subjects to ULM in vivo studies [19], the heart, which is the target of this study, represents a peculiar challenge due to its fast and high amplitude non-rigid motion. Ultrafast ultrasound is particularly well suited to accurately map and correct for the large motion of the heart. This process is typically based on radiofrequency cross-correlation [20], speckle tracking [21], optical flow [22], [23] or tissue doppler [24], [25].

From a continuum mechanics perspective, motion correction and suppression requires the evaluation and tracking of material points (i.e., Lagrangian coordinates) through time in place of the Eulerian coordinates on which ultrasound images are usually acquired [26]. Such Lagrangian coordinates were used previously for instance in the context of myocardial elastography [27], [28].

Herein, we demonstrate the feasibility of Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography (MULA) to assess the myocardium's microvasculature and its dynamic flow behavior in the rat's beating heart in vivo. The development of this novel imaging modality resides on specific methods to adapt the ULM scheme to the cardiac context. Using ECG-gated sequences along with a novel Lagrangian beamformer, we accumulate microbubble events directly in the material coordinates, which enables the subwavelength heart perfusion dynamics visualization within the myocardial wall.

4.2 Methods

4.2.1 Experimental Procedure

This study was performed in accordance with the Animal Research Ethics Committee of the Montreal Heart Institute (Permit: 2018-32-03). 3 Sprague-Dawley anesthetized rats (1,5-2,5 % isoflurane) with depilated chests were placed on a monitoring platform (LabeoTech, CA) in a supine position to acquire ultrasound images. To minimize global displacements, fixed foam stabilizers were positioned in the periphery of the thorax. After injection of a 10- μ L bolus ($\sim 1.2 \times 10^8$) of Definity microbubbles (Lantheus, USA), an ultrasound

sequence was launched using a Vantage imaging system (Verasonics, USA) and a L22-14 probe (Vermon, Tours, France).

4.2.2 Dynamic MULA

The proposed method relies on novel solutions to reduce motion artefacts in the ULM process [16], [29] and enable dynamic imaging of microvessels' blood flow. First, we acquire ultrasound images by successive time ensembles, which are compatible in the referential of the ECG signal. Images are reconstructed through a Lagrangian beamformer, which corrects for the large non-rigid motion before tissue filtering and microbubble localization. Microbubble positions are then accumulated in a 2D+t microbubble density matrix to generate a subwavelength resolved cine-loop showing the flow dynamics of the vessels and microvessels contained in the field of view through time.

4.2.2.1 Ultrasound Sequence

A compound plane wave sequence of 3 angles (-3° to 3°) was used to acquire 800 continuous groups of 1200 images at 3000 fps (i.e., 400-ms-long windows) triggered at the ECG's R-wave during a 10-minute period (Fig. 1(a)). Each ensemble of 1200 images covering approximately 2.5 heartbeats was acquired after a minimal pause of 800 ms (the exact duration of the pause was determined by the following trigger signal from the ECG) and was chosen according to data transfer constraints.

4.2.2.2 Lagrangian beamformer

The Lagrangian beamformer was here introduced as means of reducing blurring artefacts and microbubble localization errors associated with large myocardial motion. In most ultrasound applications, beamforming is performed using a standard delay-and-sum (DAS) algorithm [30]:

$$S(\vec{x}) = \int RF(\vec{x}_1, \tau(\vec{x}_1, \vec{x})) d\vec{x}_1 \quad (1)$$

where $\vec{x} = \{x, z\}$ are the Eulerian coordinates of the pixels within the field of view, \vec{x}_1 are the coordinates of the elements of the probe and $\tau(\vec{x}_1, \vec{x})$ is the transmit-receive time of flight of the wave front. Because we aim at recovering microvessel positions in the myocardium coordinate system (i.e., as opposed to the probe coordinate system) we introduce a Lagrangian beamformer that can form ultrasound images in the myocardium Lagrangian (or, material) coordinates:

$$S_{Lag}(\vec{x}_{Lag}) = \int RF(\vec{x}_1, \tau(\vec{x}_1, \vec{x}_{Lag})) d\vec{x}_1 \quad (2)$$

where $\vec{x}_{Lag} = \{x_{Lag}(x, z, t), z_{Lag}(x, z, t)\}$ are the Lagrangian coordinates of the myocardium as a function of space and time. Lagrangian coordinates were evaluated using a regularized framework that can map the Lagrangian coordinates of the tissue from its velocity vector measurements $\vec{v}_T(\vec{x})$. It can be defined as follows:

$$\vec{x}_{Lag} = \underset{\vec{x}}{\operatorname{argmin}} \left\{ \left\| \frac{d\vec{x}}{dt} - \vec{v}_T(\vec{x}) \right\|^2 \right\} \quad (3)$$

where the tissue velocity vectors $\vec{v}_T(\vec{x})$ can be evaluated from tissue Doppler measurements (see the following sections). Since \vec{x} is non-regular, (3) must be evaluated iteratively as it requires the evaluation of \vec{v}_T at \vec{x} that is, at first unknown. To do so, we first initialize the Lagrangian coordinates as the Eulerian coordinates:

$$\vec{x}_{Lag}^0 = \vec{x}_{Euler} \quad (4)$$

and iteratively search for the Lagrangian coordinates using:

$$\vec{x}_{Lag}^i = \underset{\vec{x}}{\operatorname{argmin}} \left\{ \left\| \vec{x} - \vec{x}_{Euler} + \int_{t_{ref}}^t \vec{v}_T(\vec{x}_{Lag}^{i-1}, t) dt \right\|^2 \right\} \quad (5)$$

where t_{ref} is the reference time from which the Lagrangian coordinates evolves (i.e., at $t = t_{ref}$ we have $\vec{x}_{Lag} = \vec{x}_{Euler}$) and t is defined from the beginning to the end of the cine-loop duration. t_{ref} was chosen as the peak systole to maximize the myocardium's area transverse to the imaging field in the reference frame.

In practice, we first evaluated the regularized tissue vector field \vec{v}_{Tissue} using directional Color Doppler [31] as detailed in the following subsections.

4.2.2.2.1 Tissue Doppler measurement

Following in-phase quadrature (IQ) demodulation of the raw RF signals [32] and DAS beamforming (Fig. 1(b)), we proceeded to a multi-receive-angle (-5° , 0° , 5°) autocorrelation technique to retrieve directional Doppler shift measurements ϕN [33]. Phase shifts were converted to Doppler velocities as follows:

$$V_{D_N} = \frac{\lambda f_r \phi_N}{4\pi} \quad (6)$$

where V_{D_N} is the N^{th} angle Doppler velocity, λ is the emission wavelength and f_r is the frame rate. Autocorrelation was also used to formulate a weighting function:

$$\omega_{D_N} = \frac{|R_N(1)|}{R_N(0)} \quad (7)$$

Here $R_N(1)$ and $R_N(0)$ are the lag one and lag zero complex autocorrelations for the N^{th} receive angle, respectively.

The next operations describe how the tissue velocity field $\vec{v}_T = \{v_x, v_z\}$ was retrieved from Doppler velocity measurements. To alleviate Doppler noise and outliers, we adopted a spatiotemporal vector regularization framework. For numerical considerations, we separated spatial (see section 4.2.2.2) and temporal regularizations (see section 4.2.2.3).

4.2.2.2.2 Spatial Regularization

Here we refer to the spatially regularized velocity field as \vec{v}_s , which was found by solving the following minimization problem:

$$\vec{v}_s = \underset{\vec{v}}{\operatorname{argmin}} \{J_D(\vec{v}) + \alpha_s J_{TPS}(\vec{v})\} \quad (8)$$

where α_s is used to balance the smoothing $J_{TPS}(\vec{v})$ and data fitting $J_D(\vec{v})$ of the function. $J_D(\vec{v})$ corresponds to the error term between the Doppler measurements and the vector velocity projection onto the Doppler axis. It is defined as follows:

$$J_D(\vec{v}) = \sum_{\theta_N} \int_{\Omega, t} \omega_{D_N} (\vec{d}_{D_N} \cdot \vec{v} - V_{D_N})^2 \quad (9)$$

where \vec{d}_{D_N} is a unit vector describing the Doppler orientation [25], Ω is the domain of interest, which includes the entire heart, and θ_N are the selected Doppler orientations.

To ensure the spatial continuity of the velocity field, and hence the spatial continuity of the Lagrangian coordinates we used a thin plate spline constraint [34], defined as:

$$J_{TPS}(\vec{v}) = \sum_{i=\{x,z\}} \int_{\Omega,t} (\partial_{xx}v_i)^2 + 2(\partial_{xz}v_i)^2 + (\partial_{zz}v_i)^2 \quad (10)$$

4.2.2.2.3 Temporal Regularization

To ensure the temporal continuity of the velocity field and prevent drifting artefacts [35], we introduced a temporal constraint that is the weighted sum of the first order temporal derivative and a periodic derivative. It was defined as follows:

$$J_{regt}(\vec{v}) = \alpha_t \int_{\Omega,t} \|\partial_t \vec{v}\|^2 + \alpha_T \int_{\Omega,t} \|\partial_T \vec{v}\|^2 \quad (11)$$

where ∂_t is a temporal derivative operator and ∂_T a periodic derivative operator computing the slope between an instant and its periodic following, which in this study corresponds to the heartbeat period (i.e., $T = 1/HeartRate$) hence enforcing the velocity field to be reproducible between heartbeats. α_t and α_T coefficients were respectively chosen to weight the temporal and periodic smoothing.

The spatiotemporal regularized vector velocity field \vec{v}_{st} was found by solving the following minimization problem:

$$\vec{v}_{st} = \underset{\vec{v}}{\operatorname{argmin}} \left\{ \int_{\Omega,t} \omega_D \|\vec{v} - \vec{v}_s\|^2 + J_{regt}(\vec{v}) \right\} \quad (12)$$

where ω_D is the Doppler autocorrelation weighting function ω_{DN} averaged over Doppler orientations and \vec{v}_s is the spatially regularized vector velocity field found in section A.2.b).

4.2.2.2.4 Lagrangian Coordinates Generation

The following step was used to convert velocity fields into Lagrangian coordinates by integration as a solution of the equation (3). The key concept here was to implement motion within the imaging plane's mesh (Fig. 1(c)). This mesh was initialized as a Eulerian grid whose origin was set at the center of the aperture. The mesh was then updated iteratively using (5).

4.2.2.2.5 Algorithm Implementation

Approximate solutions to the minimization problems described in (8) and (12) were computed over a cartesian grid as described in previous studies [25], [36]. The algorithm was implemented through the following steps:

1. Retrieve Doppler velocities, directions and weighting functions through autocorrelation (see section B.2.a).
2. Build vectors and matrix operators for the numerical representation of the functionals (see [25] section III.B.).
3. Solve the spatial regularization least squares problem (8).
4. Solve temporal regularization least squares problem (12).
5. Compute Lagrangian coordinates \vec{x}_{Lag}^i
6. Evaluate Doppler Velocities and directions in Lagrangian coordinates (i.e., $V_{DN}(\vec{x}_{Lag}^i, t)$)
7. Repeat steps 2-6 to regularize the problem in Lagrangian coordinates.

In practice, Lagrangian coordinates were sufficiently stable after 3 iterations.

4.2.2.3 Localization

Following beamforming, we applied a time-dependent spatiotemporal filter consisting of a 17-ms (or, 50-frame) sliding window SVD (Singular Value Decomposition) filter [10], [19] to extract microbubbles, for each image ensemble. The SVD-filtered images were then correlated to a simulated point spread function (PSF) to locate microbubbles. Subwavelength centroids of the microbubbles were retrieved using a 2D gaussian fitting of the correlation map local peaks. Cine-loops were then generated by accumulating the microbubble centroids within 17-ms sliding temporal windows in a 10- μ m spatially resolved microbubble density map (Fig. 1(d)-(g)).

4.2.3 Comparison Approach

To evaluate the performance of the proposed Lagrangian method, we also developed two alternatives.

4.2.3.1 Dynamic angiography without motion correction

To quantify the performance of the Lagrangian beamformer, we also beamformed our data using a conventional Eulerian beamformer. For this approach, the localization process remains the same and no motion correction on the microbubbles is applied.

4.2.3.2 Dynamic angiography with motion correction on the microbubble positions

As additional means of comparison, we proposed a second method for motion correction. This alternative technique consists in the modification of the localized microbubble positions \vec{x}_{MB_t} , detected after Eulerian beamforming (1), with respect to the measured tissue motion retrieved by our algorithm. The computation of the motion corrected localizations $\vec{x}_{MB,MoCo_t}$ is made through a similar process as the material coordinates generation. The position of motion corrected microbubbles is given by:

$$\vec{x}_{MB,MoCo_t} = \vec{x}_{MB_t} - \int_{t_{ref}}^t \vec{v}_{st}(\vec{x}_{MB_t}, t) dt \quad (13)$$

4.2.3.3 Comparison

The comparison method relies on a vessel profile analysis. This was done by demarcating the same vessel structures in the density maps of each configurations and MULA, then measuring the full width half maximum (FWHM) of the structures.

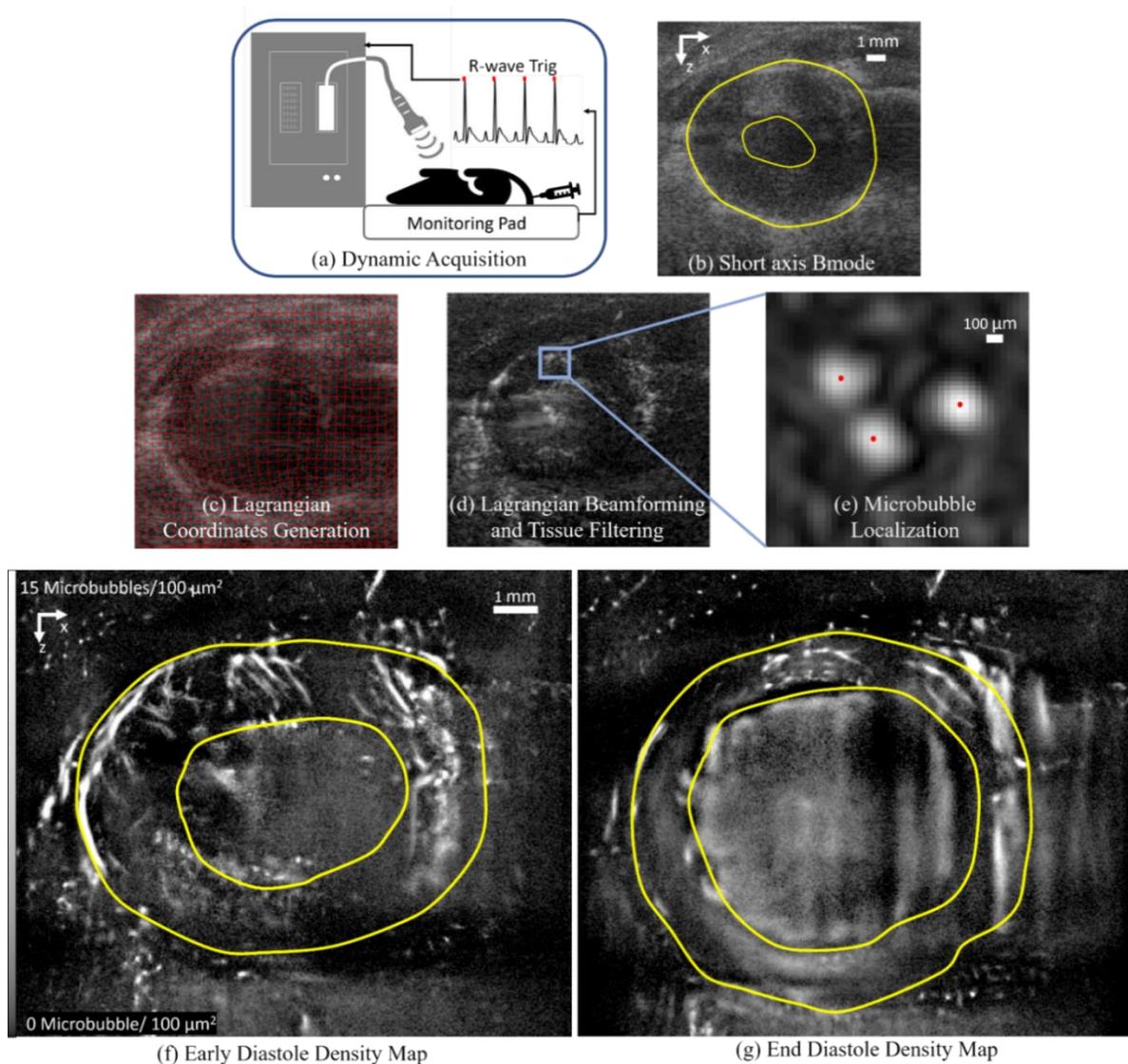


Figure 4-1 : Dynamic MULA framework. Dynamic acquisition procedure of ultrasound images: (a) Trigger signals are generated from the animal's ECG to drive the ultrasound system. (b) DAS beamformed images of the left ventricle in parasternal short axis view in the systolic period in brightness mode (Bmode, grayscale), overlaid with a yellow segmentation of the endocardium and epicardium. (c) Lagrangian coordinates of the diastolic period are shown as a red grid overlaid on the Bmode image. (d) Lagrangian beamformed images were processed through a time-dependent SVD filter to isolate the microbubble signal. (e) A 2D point spread function kernel was correlated with the filtered images followed by a 2D gaussian peak fitting to localize microbubble centroids. Microbubble centroids were accumulated in 17 ms sliding windows to create density maps in early (f) and end (g) diastole.

4.3 Results

4.3.1 Lagrangian Coordinates Generation

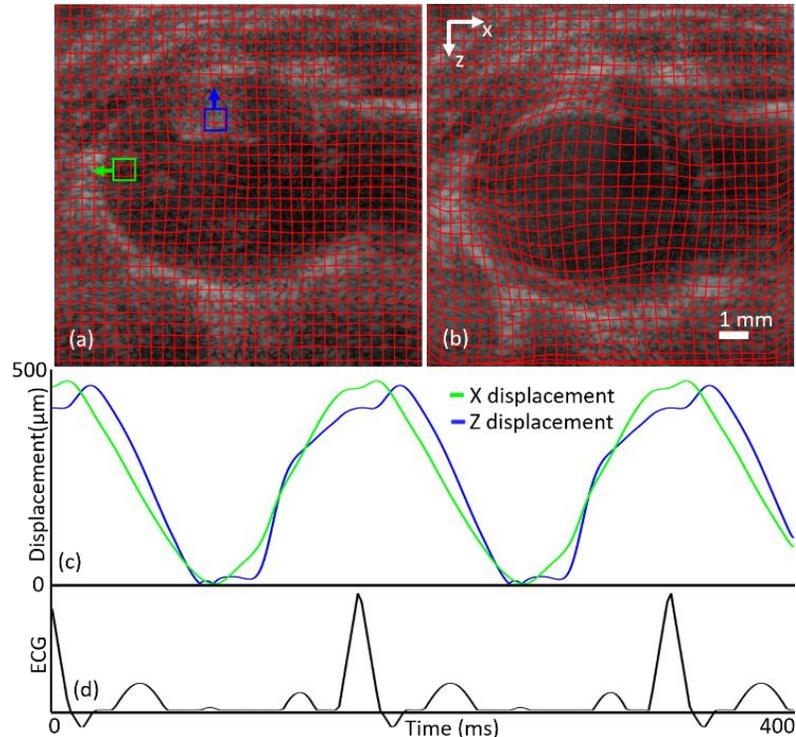


Figure 4-2 : Myocardial movement tracking through Lagrangian coordinates. Lagrangian coordinates grid (red) overlaid on Bmode images (grayscale) of the left ventricle in the systole period (a) and diastole period (b). (c) Curves of displacement respective to the peak systolic period are shown through the heartbeat cine-loop. (d) Simulated electrocardiogram for illustration purposes.

Figure 4-2 displays the Lagrangian coordinates behavior through the heartbeat cine-loop. The coordinates (red grid) are shown to follow a dilation pattern from systole to diastole (Fig. 4-2(a) and (b)). The blue and green regions of interest (Fig. 4-2(a)) are used to respectively measure vertical and lateral displacements of the Lagrangian coordinates and are located at a few hundreds of micrometers from the endocardium. Fig. 4-2 (c) presents the average displacements within the colored regions of interest (ROIs), relative to the reference of the Lagrangian grid (systole period) as a function of time. Peak mean displacement measurements are $490 \mu\text{m}$ laterally and $480 \mu\text{m}$ axially. Additionally, the supplementary video (Supplementary Video 1) shows the dynamic

evolution of the Lagrangian coordinates. It enables the visualization of temporal and spatial smoothness of the grid, the periodic behavior and the different patterns in the motion: dilation, contraction and rotation.

4.3.2 Motion Based Enhancements

To assess the differences between the proposed MULA framework and comparison configurations from section II.C, a line was drawn intersecting vessels emerging from a treelike structure on the microbubble density maps of each comparison configuration in the early diastolic period (Fig. 3(a)-(c)). Three transverse vessel profiles were selected for analysis based on their amplitude and well-defined peaks. Figure 3(d) shows the projection of the density maps on the line for all configurations. For the two largest vessel profiles on the right end of the green line, the MULA approach leads to a FWHM measurement which is 39 % smaller (134 μm to 81 μm) and 28 % smaller (89 μm to 64 μm) with higher peaks than the approach without motion correction. For the third vessel, the scenario without motion correction denotes the smallest FWHM but again with a lower peak. In the case where the positions of microbubbles were corrected (equation (13)), we obtained FWHM measurements of 70 μm , 66 μm and 93 μm .

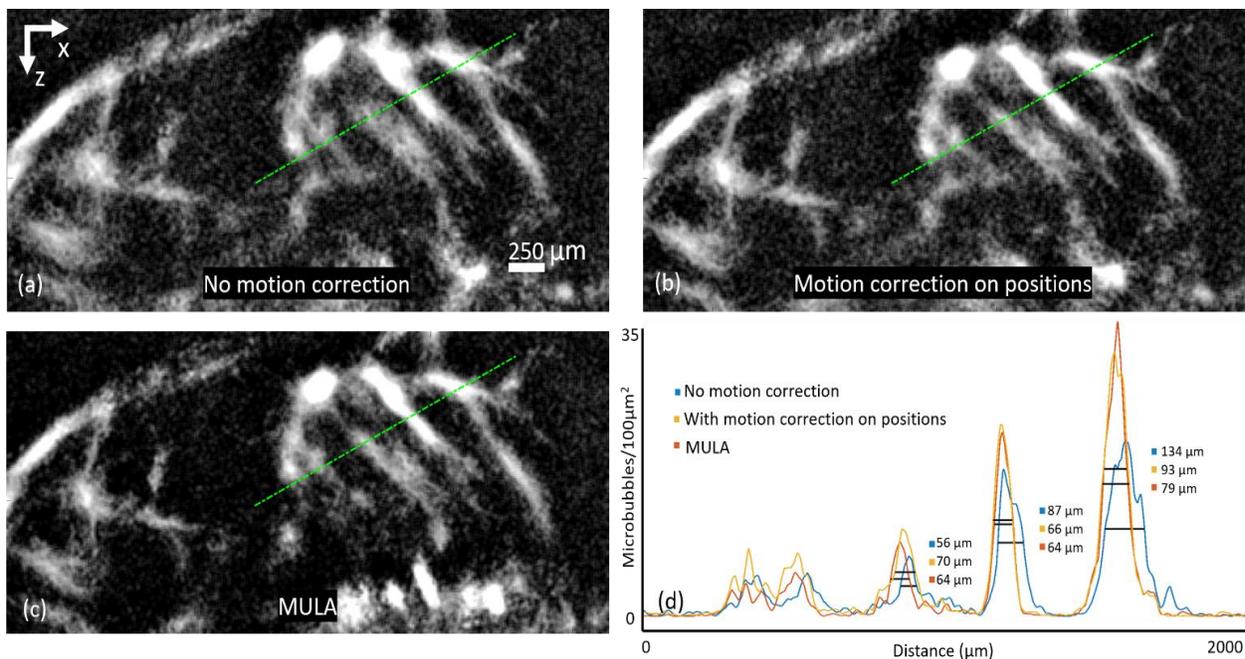


Figure 4-3 : Microbubble density profiles of vessels in different configurations. (a) DAS beamformed images without any motion correction. (b) Motion correction of the Microbubble

positions localized from DAS beamformed images. (c) Dynamic MULA. (d) Microbubble density profiles of the three comparison configurations along the green dotted line with the full width half maximum measurement of three vessel profiles.

4.3.3 Assessment of the Myocardium's Vasculature

The supplementary video 2 shows the microbubble density cine-loop produced by MULA projected on Eulerian coordinates. Few tens of vessels were localized within the intramyocardial region. The vessels can be seen pulsing periodically in various regions of the imaging plane with each heartbeat. The arrangement of these vessels varies through the heart cycle. Globally, few larger vessels are clearly shown emerging from the epicardium and remain discernable through most of the heartbeat. They spread downwards in smaller networks of more numerous vessels crossing the myocardial wall to the endocardium, which are mostly present when the myocardial wall is contracted. The size of the vessels located in the myocardium varied from 60 μm to 200 μm and more of them were discernable in the anterior section of the myocardium (top half of the imaging plane).

In Figure 4, the MULA vascular imaging framework was used to measure dynamic flow parameters of a vessel. The white rectangle in (a) delimits the ROI of the analysis, which is a posterior section of the left ventricle wall. Within the ROI, the 3 sub-regions were color coded to represent a proximal, intermediate and distal portion of a vessel relative to the epicardium (Fig. 4(b)). The image sequence of the ROI is shown at 25 % of the upstroke for each sub regions which are measured by taking 25 % of the microbubble filling peak within the sub-regions. Moreover, the red region includes a proximal large transversal section, the blue region includes the top section of an underlying vessel (intermediate) and the green region includes a deeper portion of the same vessel (distal). The 25 % upstroke timings (black dots in Fig. 4(c)) in the chronological order are the following: 64 ms (proximal), 73 ms (intermediate) and 77 ms (distal) for the first heartbeat of the cine-loop, and 243 ms (proximal), 249 ms (intermediate) and 253 ms (distal) for the second heartbeat of the cine-loop.

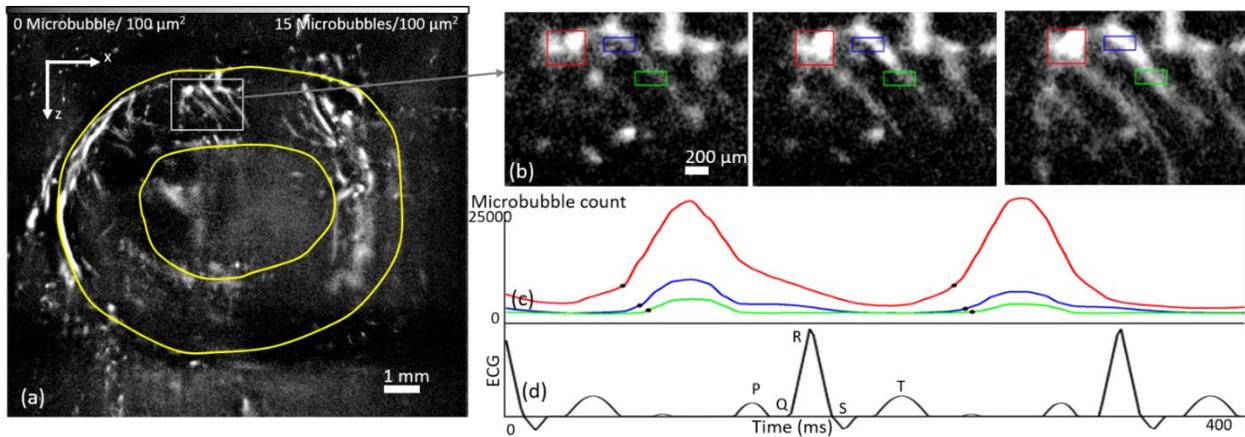


Figure 4-4 : Dynamic imaging of microbubble perfusion. (a) The microbubble density map in the early diastolic period is overlaid with the segmentation of the endocardium and epicardium (yellow outline), with the region of interest (gray rectangle) for the dynamic analysis. (b) Image sequence of microbubble perfusion of vessels within the region of interest. (c) Color-coded sub regions are represented as the proximal, intermediate, and distal sections of the vessel relative to the epicardium. The three time-samples of the image sequence concord with the 25 % upstroke mark of microbubble filling within the proximal, intermediate and distal sub regions of the first heartbeat of the cine-loop. Dynamic evolution of microbubble density within each sub region of interest through the heartbeat cine-loop with respective 25 % upstroke marks shown in black dots is represented by respectively color-coded curves. (d) Simulated electrocardiogram shown as temporal reference.

4.4 Discussion

In this study, we have demonstrated the feasibility of a novel imaging framework called MULA to map blood vessels with subwavelength resolution in presence of large motion within the myocardial wall. The chosen approach of an ECG-gated acquisition paired with a motion correction algorithm, which corrects for the heart non-rigid motion, has enabled the imaging of the angioarchitecture and hemodynamics of the intramyocardial microvasculature. The Lagrangian beamforming was successful at correcting for the displacements of the tissue during the entire heart cycle.

4.4.1 Measuring Heart Motion

The implementation of the motion registration algorithm was based on numerous parameters and configuration choices. Most of our analysis was made by iterating the smoothing and weighting parameters and observing the velocity fields and material coordinates overlaid on Bmode films (Fig. 2(b), external video). Since the left ventricle cavity was an important portion of the imaging field and had no coherent tissue information due to its blood composition, we have imposed a threshold on the pixelwise weighting parameter to suppress its influence in the algorithm (see equation (7)). The value of the threshold (0.75) was fixed through observations of Doppler measurements of the cavity. The motion and hence the Lagrangian coordinates in these regions of the imaging plane ($\omega_{DN} < 0.75$) were extrapolated from their neighbors thanks to the global regularization framework (see equations (8)-(12)).

As shown in Figure 2, the reference material coordinates grid was set for the systolic state and the grid follows the dilation and constriction movements of the heart. Figure 2 shows how the periodicity of the beating heart was well reproduced by our framework. We can also acknowledge that our framework has successfully performed the registration of both axial and lateral tissue motion since the magnitudes are similar, as expected in a short-axis view. The displacements clearly follow the ventricular systolic period, which lasts from the peak of the R-wave to the end of the T-wave, followed by a dilation period completing the ECG cycle, which is the ventricular diastole. On the displacement's amplitude point of view, our framework has led to peak displacements of 490 μm laterally and 480 μm axially. As means of comparison, we have measured on Bmode images (Fig. 1(b)) the peak-to-peak axial displacement from the constricted to dilated state, which is approximately 1 mm for the endocardium and 500 μm for the epicardium. Considering the chosen method, temporal and spatial smoothing components must be well dimensioned to ensure a coherent physiological movement of the model but weakens the large amplitude variations. Hence, we concluded that the magnitude of our measurements, which are composed at a few hundreds of μm from the endocardium, are representative of the heart's motion.

4.4.2 Improving Vessel Mapping

A key factor of the MULA application resides in the coherent accumulation of the microbubble positions over time. From our analysis of vessel maps without any motion compensation, we came

to these observations: 1) The myocardial movement drives the blood vessels to move in space over the heartbeat, which will be inducing large blurring effects when we compound periods of time to build vessel maps. 2) Since the tissue is in motion, implementing a clutter filter based on SVD is challenging due to the similarity in temporal behaviors between the perfusion of microbubbles and the myocardial motion. To assess both these constraints, we have used our Lagrangian beamformer to form cine loops with large motion correction. In parallel, we have analyzed vessel maps where motion correction was applied on the final localization of microbubbles from a standard DAS beamforming. As shown in Figure 3, all configurations are compared for a vessel map formed with 200 frames (which represents approximately 67 ms of the cine-loop) in the early diastole. The resolution of vessels was positively affected by the motion compensation: FWHM of vessels provided by the MULA framework were approximately 30 % smaller than without any motion correction. By performing our comparison method of motion correction on microbubble positions, we have confirmed that MULA is compensating the motion effects through the Lagrangian beamformer. Also, the results provided by MULA do seem to have a better contrast over the motion correction on positions results, which might be due to the improved tissue filtering of the Lagrangian beamformed images. This might explain why FWHM results coming from MULA were on average 9 % smaller than the alternate motion correction on positions scenario.

For further clinical applications of this modality, we believe that Lagrangian beamforming is the logical path to follow. Being able to compound larger portions of the cardiac cycle to create vessel maps would speed acquisition times, as we could form robust 2D vessel maps with less image ensembles. Yet this would decrease the temporal resolution of the dynamic analysis by reducing the time samples of the 2D+t density matrix. However, obtaining better resolved vessels through the Lagrangian beamformer can improve the sensibility of the modality. Furthermore, being able to filter efficiently the organ's tissue should help to decrease the time to build well defined vessel maps, since it can improve the contrast to noise ratio. In conclusion, the Lagrangian beamformer has allowed substantial improvements of the vessel cine loops over the cardiac cycle.

4.4.3 Assessment of the Myocardium's Vasculature

4.4.3.1 Cardiac Angiography

As shown in supplementary video 2, accumulating the microbubble centroids over short periods of time (i.e., 50 ms) enabled vessels to emerge in various sections of the imaging field. Early moments of the dilation movement of the heart muscle, corresponding to the early diastolic phase, had higher microbubble concentrations, which can be correlated with flow. Hence, density maps generated from this period had greater information on the angioarchitecture of the myocardium. The range of dimensions of imaged intramyocardial vessels, which goes from 64 μm to 200 μm , correlates with the size of pre-arterioles and arterioles within the myocardial wall. We have also depicted structures as small as 40 μm in diameter resembling vessel patterns which is encouraging for future developments of MULA. This would require further validation. Mostly larger vessels ($\sim 200 \mu\text{m}$) were detected in the epicardial region, which supports the hypothesis that this region is feeding downward vessel structures within the myocardium aimed towards the left ventricle cavity. This behavior is coherent with the perfusion cycle of the heart where the large epicardial coronary arteries feed the downstream myocardial arterioles and capillaries. For further use of our proposed approach to generate vascular maps, the selection of specific heartbeat periods where vessels look sharper and denser could be considered to make a static angioarchitecture analysis, but it was acknowledged that remaining tissue motion paired with the perfusion behavior of cardiac vessels is challenging the microbubble accumulation process through the complete heartbeat. The dimension of the vessels detected by MULA and their configuration suggest that the proposed method was able to recover the intramyocardial microvasculature.

4.4.3.2 Dynamic Analysis

Adjacent to the ability to image the angioarchitecture of the microvasculature, this study was meant to evaluate MULA's capability to investigate dynamic properties of the intramyocardial blood flow. The dynamic behavior suggesting a perfusion from larger epicardial vessels toward the myocardial microvasculature was also observed in the whole left ventricle wall during the heartbeat cine-loop. We did witness the flow, which was here represented by microbubble density variation, arriving firstly to the epicardium and then propagating to deeper intramyocardial structures (supplementary video 2). Figure 4 confirms this behavior for a well-defined vessel tree: the

subregion proximal to the epicardium (red) reaches 25 % of upstroke 9 ms before the intermediate subregion (blue) which is 4 ms before the distal subregion (green). This sequential order is maintained in the second heartbeat of the cine-loop (6 ms proximal-intermediate, 4 ms intermediate-distal) which increased the confidence of these results. We have also witnessed the coherence between the myocardial perfusion and the ECG signal. The ventricular diastole, which goes from the end of the T-wave to the peak of the R-wave, seems to host most of the perfusion of the analyzed intramyocardial ROI. This was expected since the heart starts dilating in the early diastole where there is a pressure drop in the aorta which allows the perfusion of the coronary vasculature. Intramyocardial vessels are compressed and restrain flow during systole due to high ventricular pressure. They are then subject to lower pressure and are freed of compression during the diastolic period, which allows for perfusion. This demonstrates the capabilities of MULA to image the intramyocardial vasculature dynamically. It also paves the way towards the monitoring of important blood flow biomarkers such as the Coronary Flow Reserve in situ [3] for the diagnostic of cardiovascular pathologies.

4.5 Limitations

This study has brought to light some limitations of the proposed MULA framework and its performance on the cardiac microvascular imaging of the rat in vivo.

- First, the proposed MULA framework resides in a 2-dimensional approach to a 3-dimensional problem. The heart's motion is composed of dilatation, contraction and torsion. The use of a linear array probes to form a 2D+t cine-loop will inevitably lead to the presence of out-of-plane motion. The relatively low elevation resolution of linear probes and the presence of out-of-plane motion inevitably impacts the motion correction performance. The adaptation of the MULA framework to 3D echography would lift these limitations and provide further validation of the methodology.
- Portions of the images had reduced signal due to the high echogenicity of the overlying ribs. The associated degraded image quality in these regions impacted both tissue motion and microbubble detection, which creates ambiguity as whether a given region is poorly perfused or simply shadowed. We believe that this shadowing would be highly reduced in human subjects where ultrasound operators are trained to position the probe in between ribs. Also, using phased arrays and diverging waves instead of linear probes and plane

waves allows for a large field of view while avoiding the presence of shadowing. This demands adaptation of the approach on many levels.

- Segmentation was performed on images formed by using plane wave emissions, which are suboptimal given their relatively low contrast. Sequences including an additional focused Bmode acquisition for segmentation, followed by a high frame rate plane wave acquisition could be used instead.
- The proposed Lagrangian beamformer design depends on manually chosen parameters affecting its performance and limiting of the generalization of MULA to a larger population. The weighting components of regularization terms were chosen by iteration and analysis of results, but it remains challenging to ensure a robust parametrization of the algorithm due to its nature. A quantitative metric should be drawn from the Doppler measurements to assess the validity of the motion field. However, numerous subjects would be required to test this hypothesis and validate its performance.

4.6 Conclusion

In this study, we have demonstrated the feasibility of Dynamic Myocardial Ultrasound Localization Angiography (MULA) to investigate the angioarchitecture and dynamic behavior of the myocardium's microvasculature in the in vivo beating heart of a rat. To our knowledge, this new method would be a first opportunity to assess these measurements directly, non-invasively and without ionization. With the ability to image a main therapeutic target for coronary artery diseases and coronary microvascular dysfunction, this technique could lead to a promising diagnosis and treatment monitoring tool.

Acknowledgment

The authors would like to thank Marc-Antoine Gillis for his contribution to the experimental procedures.

4.7 References

- [1] G. B. J. Mancini et al., “Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Diagnosis and Management of Stable Ischemic Heart Disease,” *Canadian Journal of Cardiology*, vol. 30, no. 8, pp. 837–849, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.cjca.2014.05.013.
- [2] P. A. L. Tonino et al., “Angiographic Versus Functional Severity of Coronary Artery Stenoses in the FAME Study,” *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 55, no. 25, pp. 2816–2821, Jun. 2010, doi: 10.1016/j.jacc.2009.11.096.
- [3] D. Garcia et al., “Relationship between FFR, CFR and coronary microvascular resistance – Practical implications for FFR-guided percutaneous coronary intervention,” *PLoS ONE*, vol. 14, no. 1, p. e0208612, Jan. 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0208612.
- [4] P. G. Camici, G. d’Amati, and O. Rimoldi, “Coronary microvascular dysfunction: mechanisms and functional assessment,” *Nat Rev Cardiol*, vol. 12, no. 1, pp. 48–62, Jan. 2015, doi: 10.1038/nrcardio.2014.160.
- [5] “2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease. The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology,” *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, vol. 67, no. 2, p. 135, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.rec.2013.11.008.
- [6] B. De Bruyne and J. Sarma, “Fractional flow reserve: a review: invasive imaging,” *Heart*, vol. 94, no. 7, pp. 949–959, Jul. 2008, doi: 10.1136/hrt.2007.122838.
- [7] S. Vijayan, D. S. Barmby, I. R. Pearson, A. G. Davies, S. B. Wheatcroft, and M. Sivananthan, “Assessing Coronary Blood Flow Physiology in the Cardiac Catheterisation Laboratory,” *CCR*, vol. 13, no. 3, Jul. 2017, doi: 10.2174/1573403X13666170525102618. 9 IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING, VOL. xx, NO. x, 2020
- [8] S. Orde and A. McLean, “Bedside myocardial perfusion assessment with contrast echocardiography,” *Crit Care*, vol. 20, no. 1, p. 58, Dec. 2016, doi: 10.1186/s13054-016-1215-7.
- [9] M. Tanter and M. Fink, “Ultrafast imaging in biomedical ultrasound,” *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.*, vol. 61, no. 1, pp. 102–119, Jan. 2014, doi: 10.1109/TUFFC.2014.2882.
- [10] D. Maresca et al., “Noninvasive Imaging of the Coronary Vasculature Using Ultrafast Ultrasound,” *JACC Cardiovasc Imaging*, vol. 11, no. 6, pp. 798–808, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.jcmg.2017.05.021.
- [11] B.-F. Osmanski, D. Maresca, E. Messas, M. Tanter, and M. Pernot, “Transthoracic ultrafast Doppler imaging of human left ventricular hemodynamic function,” *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.*, vol. 61, no. 8, pp. 1268–1275, Aug. 2014, doi: 10.1109/TUFFC.2014.3033.
- [12] J. Provost et al., “Simultaneous positron emission tomography and ultrafast ultrasound for hybrid molecular, anatomical and functional imaging,” *Nat Biomed Eng*, vol. 2, no. 2, pp. 85–94, 2018, doi: 10.1038/s41551-018-0188-z.
- [13] M. Correia et al., “Quantitative imaging of coronary flows using 3D ultrafast Doppler coronary angiography,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 65, no. 10, p. 105013, Jun. 2020, doi: 10.1088/1361-6560/ab8d78.

- [14] C. Errico et al., “Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging,” *Nature*, vol. 527, no. 7579, pp. 499–502, Nov. 2015, doi: 10.1038/nature16066.
- [15] P. Song et al., “Improved Super-Resolution Ultrasound Microvessel Imaging With Spatiotemporal Nonlocal Means Filtering and Bipartite Graph-Based Microbubble Tracking,” *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.*, vol. 65, no. 2, pp. 149–167, Feb. 2018, doi: 10.1109/TUFFC.2017.2778941.
- [16] Y. Hao et al., “Non-rigid Motion Correction for Ultrasound Localization Microscopy of the Liver in vivo,” in *2019 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)*, Glasgow, United Kingdom, Oct. 2019, pp. 2263–2266, doi: 10.1109/ULTSYM.2019.8925749.
- [17] M. R. Lowerison, C. Huang, F. Lucien, S. Chen, and P. Song, “Ultrasound localization microscopy of renal tumor xenografts in chicken embryo is correlated to hypoxia,” *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, p. 2478, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-59338-z.
- [18] F. Lin, S. E. Shelton, D. Espíndola, J. D. Rojas, G. Pinton, and P. A. Dayton, “3-D Ultrasound Localization Microscopy for Identifying Microvascular Morphology Features of Tumor Angiogenesis at a Resolution Beyond the Diffraction Limit of Conventional Ultrasound,” *Theranostics*, vol. 7, no. 1, pp. 196–204, 2017, doi: 10.7150/thno.16899.
- [19] O. Couture, V. Hingot, B. Heiles, P. Muleki-Seya, and M. Tanter, “Ultrasound Localization Microscopy and Super-Resolution: A State of the Art,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 65, no. 8, pp. 1304–1320, Aug. 2018, doi: 10.1109/TUFFC.2018.2850811.
- [20] C. Papadacci, E. A. Bunting, E. Y. Wan, P. Nauleau, and E. E. Konofagou, “3D myocardial elastography and electromechanical wave imaging in vivo,” p. 21, 2018. [21] C. P. Loizou, C. S. Pattichis, and J. D’hooge, Eds., “Introduction to speckle tracking in cardiac ultrasound imaging,” in *Handbook of Speckle Filtering and Tracking in Cardiovascular Ultrasound Imaging and Video*, Institution of Engineering and Technology, 2018, pp. 571–598.
- [22] D. Barbosa, B. Heyde, T. Dietenbeck, D. Friboulet, J. D’hooge, and O. Bernard, “Fast Left Ventricle Tracking in 3D Echocardiographic Data Using Anatomical Affine Optical Flow,” in *Functional Imaging and Modeling of the Heart*, vol. 7945, S. Ourselin, D. Rueckert, and N. Smith, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, pp. 191–199.
- [23] N. Ouzir, A. Basarab, O. Lairez, and J.-Y. Tournet, “Robust Optical Flow Estimation in Cardiac Ultrasound Images Using a Sparse Representation,” *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 38, no. 3, pp. 741–752, Mar. 2019, doi: 10.1109/TMI.2018.2870947.
- [24] C.-M. Yu, J. E. Sanderson, T. H. Marwick, and J. K. Oh, “Tissue Doppler Imaging: A New Prognosticator for Cardiovascular Diseases,” *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 49, no. 19, pp. 1903–1914, May 2007, doi: 10.1016/j.jacc.2007.01.078.
- [25] J. Poree, M. Baudet, F. Tournoux, G. Cloutier, and D. Garcia, “A Dual Tissue-Doppler Optical-Flow Method for Speckle Tracking Echocardiography at High Frame Rate,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 37, no. 9, pp. 2022–2032, Sep. 2018, doi: 10.1109/TMI.2018.2811483.
- [26] R. L. Maurice and M. Bertrand, “Lagrangian speckle model and tissue motion estimation-theory [ultrasonography],” *IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING*, vol. 18, no. 7, p. 11, 1999.

- [27] W.-N. Lee, J. Provost, K. Fujikura, J. Wang, and E. E. Konofagou, "In vivo study of myocardial elastography under graded ischemia conditions," *Phys. Med. Biol.*, vol. 56, no. 4, pp. 1155–1172, Feb. 2011, doi: 10.1088/0031-9155/56/4/017.
- [28] Wei-Ning Lee, C. M. Ingrassia, S. D. Fung-Kee-Fung, K. D. Costa, J. W. Holmes, and E. E. Konofagou, "Theoretical Quality Assessment of Myocardial Elastography with In Vivo Validation," *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.*, vol. 54, no. 11, pp. 2233–2245, Nov. 2007, doi: 10.1109/TUFFC.2007.528.
- [29] V. Hingot, C. Errico, M. Tanter, and O. Couture, "Subwavelength motion-correction for ultrafast ultrasound localization microscopy," *Ultrasonics*, vol. 77, pp. 17–21, May 2017, doi: 10.1016/j.ultras.2017.01.008.
- [30] G. Montaldo, M. Tanter, J. Bercoff, N. Benech, and M. Fink, "Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography," *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.*, vol. 56, no. 3, pp. 489–506, Mar. 2009, doi: 10.1109/TUFFC.2009.1067.
- [31] B. Dunmire, K. W. Beach, K.-H. Labs, M. Plett, and D. E. Strandness, "Cross-beam vector Doppler ultrasound for angle-independent velocity measurements," *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 26, no. 8, pp. 1213–1235, Oct. 2000, doi: 10.1016/S0301-5629(00)00287-8.
- [32] J. Kirkhorn, "Introduction to IQ-demodulation of RF-data," p. 13, 1999.
- [33] C. Kasai, K. Namekawa, A. Koyano, and R. Omoto, "Real-Time TwoDimensional Blood Flow Imaging Using an Autocorrelation Technique," p. 7.
- [34] F. L. Bookstein, "Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations," *IEEE Trans. Pattern Anal. Machine Intell.*, vol. 11, no. 6, pp. 567–585, Jun. 1989, doi: 10.1109/34.24792.
- [35] T. Shiota, *3D Echocardiography*, Second Edition. CRC Press, 2013.
- [36] K. C. Assi et al., "Intraventricular vector flow mapping—a Dopplerbased regularized problem with automatic model selection," *Phys. Med. Biol.*, vol. 62, no. 17, pp. 7131–7147, Aug. 2017, doi: 10.1088/1361-6560/aa7fe7.

CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE

Ce chapitre présente une discussion et un retour sur les objectifs spécifiques de ce projet en illustrant quels avancements futurs pourraient être bénéfiques à la technologie développée lors de cette maîtrise.

5.1 Développer et optimiser MULA à l'aide d'études in vivo

Premièrement, la conception de la séquence ultrasonore a été réalisée pour assurer une répétabilité dans les cycles cardiaques ainsi qu'échantillonner le mouvement du myocarde par effet Doppler. Une addition pertinente serait de programmer une acquisition focalisée (ou avec un grand nombre d'angles) en début d'acquisition pour ainsi générer des images B-mode mieux contrastées. De cette façon, la cartographie des vaisseaux pourrait être visualisée en superposition aux images B-mode à hauts contrastes permettant la segmentation visuelle du myocarde de façon plus efficace.

Le développement du Beamforming Lagrangien ainsi que l'approche de filtration par SVD sur fenêtre glissante ont permis de détecter de façon cohérente les signaux des microbulles au sein d'images cardiaques. Toutefois, le processus de paramétrisation de ces algorithmes a mené à plusieurs observations. Au niveau de la filtration, le seuil de coupure des vecteurs propres pour la reconstruction des images a été établi par un processus heuristique, s'arrêtant sur une valeur qui visuellement semblait faire ressortir un maximum de microbulles dans la région d'intérêt. Une approche qui pourrait être bénéfique à cette étape serait de localiser un vaisseau bien défini, et d'en évaluer le contraste par mesure de puissance Doppler (*Power Doppler*) post SVD, puis d'itérer cette mesure avec des seuils de coupure différents. En misant sur une valeur maximale de contraste pour un vaisseau, cet algorithme pourrait localiser indépendamment un seuil de coupure au processus de la SVD qui serait en accord avec les objectifs de MULA.

Au niveau de l'algorithme de suivi du mouvement, une suggestion pouvant mener à l'amélioration de la performance de l'algorithme serait le design d'un fantôme cardiaque ou bien d'un simulateur de mouvement cardiaque. Connaissant le mouvement, il serait possible de valider la paramétrisation de l'algorithme ainsi que d'observer l'influence des différents paramètres par rapport à l'estimation du mouvement. Nous pourrions aussi suggérer reprendre l'approche proposé

ci-haut pour la filtration tissulaire par SVD, et itérer les paramètres de l'algorithme de suivi du mouvement en fonction de la résolution des vaisseaux retrouvés par MULA. Cependant, puisque le Beamforming Lagrangien est une des premières étapes de MULA, il serait plus rapide de simplement corriger la position des microbulles avec la mesure du mouvement, comme nous le faisons pour le cas comparatif de l'article (Section 4.2.3), pour en faire les mesures de résolution. De plus, lors du développement de notre technique, nous avons opté pour un cadre de travail limitant la présence de mouvement rigide : 1) Nous avons stabilisé le thorax des animaux lors des acquisitions avec des supports en mousse et 2) nous avons fait une mesure de mouvement rigide entre les groupes d'images pour faire abstraction de ceux avec un déplacement trop grand. Dans le futur, il pourrait être bénéfique d'implémenter à notre approche une composante mesurant le mouvement rigide entre les groupes d'acquisitions et d'ainsi en faire la correction, augmentant possiblement le contraste des vaisseaux.

Finalement, le suivi des microbulles pour mesurer la vitesse du flux sanguin n'a pas été concluant dans le cadre de ce projet de maîtrise. La technique testée pour cet aspect de l'ULM était basée sur le problème d'appariement du plus proche voisin [6] et ne semblait pas produire des trajectoires fidèles à nos attentes. Malgré plusieurs itérations et modifications de paramètres, nous avons donc opté pour l'analyse dynamique de flux sanguin en fonction des variations de densité de microbulles au sein d'une région d'intérêt (Section 4.3.3). En parallèle à nos avancements, une méthode a été développée au sein du laboratoire pour faire le suivi des microbulles en fonction de la corrélation entre une microbulles et sa présence apparente dans l'image suivante. Des résultats particulièrement convaincants en sont ressortis pour l'imagerie dynamique de la perfusion du cerveau [89]. Cependant, son implémentation n'a pas été possible au sein de ce projet pour respecter l'échéancier. Cette approche devrait toutefois être transmissible au contexte cardiologique et l'identification des profils de vitesses pourrait améliorer les capacités analytiques de MULA.

5.2 Démontrer la faisabilité initiale de MULA dans un petit modèle animal

Les résultats produits par MULA pour imager la micro-vascularisation au sein du cœur battant d'un rat semblent avoir une forte plausibilité anatomique et fonctionnelle. Toutefois, il en demeure

qu'une pratique essentielle au développement d'une technologie médicale est de se comparer à un étalon-or œuvrant dans le même secteur. Pour ce projet, la prochaine étape serait donc d'évaluer les performances de MULA en effectuant additionnellement l'angiographie du myocarde par une technologie tel que le micro-CT. Pour ce faire, le cœur du rat devra être rempli d'un agent de contraste et être extrait de l'animal pour en faire l'imagerie. Cette technique permet théoriquement de résoudre la vascularisation complète du myocarde avec une fine résolution [90] comme l'illustre la Figure 5-1. Cette technique nous permettrait donc de confirmer la présence et l'anatomie des vaisseaux intramyocardiques représentés par MULA.

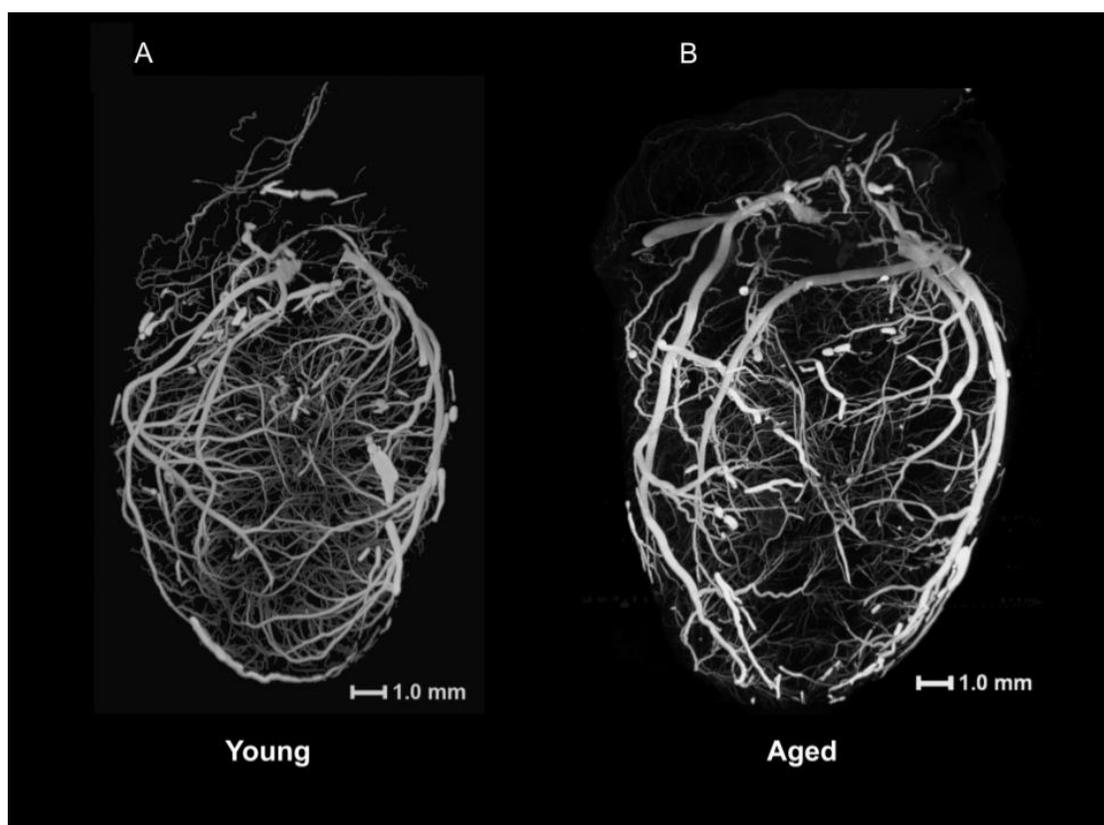


Figure 5-1 : Volume vasculaire cardiaque reconstruit par imagerie micro-CT. Extrait de [90].

Toutefois, puisque l'état actuel de MULA se limite à l'imagerie bidimensionnelle, la localisation de la tranche d'imagerie pour effectuer une analyse comparative représente un défi supplémentaire. En lien à cet objectif, il serait possible de balayer par corrélation le plan d'imagerie 2D aux différents plans du volume 3D qui démontreraient des similitudes, et de localiser la corrélation maximale pour effectuer l'analyse comparative. Il en demeure que les développements futurs de MULA devraient être majoritairement dirigés vers l'imagerie tridimensionnelle du cœur.

Puisque cette modalité d'imagerie a été conçue dans l'optique d'améliorer le diagnostic des pathologies vasculaires et microvasculaires du système artérielle cardiaque, il serait particulièrement pertinent d'évaluer les performances de MULA dans un modèle pathologique animal. En pratique, une cohorte d'animaux atteint d'une ischémie du myocarde (généré chirurgicalement) pourrait être imager par MULA en parallèle à une cohorte d'animaux sains. De cette façon, nous aurions une perspective des performances de MULA pour le diagnostic d'une affectation cardiaque aigüe, ce qui représenterait une excellente première étape vers des études translationnelles de cette modalité pour l'application humaine.

CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Le cheminement de ce projet a permis le développement d'une toute première modalité d'imagerie permettant l'observation et l'analyse dynamique des micro-vaisseaux intra myocardiques de manière non invasive et non ionisante. Grâce aux expériences in vivo ainsi qu'aux développements d'algorithmes de post traitement, nous avons pu tirer parti de la microscopie de localisation par ultrasons pour imager la vascularisation d'un organe aux mouvements complexes et de grandes amplitudes. Pour ce faire, nous avons proposé des innovations importantes du côté des procédures expérimentales, de la filtration tissulaire ainsi que la correction de mouvement non rigide. Par ce cadre de travail, cette modalité pourrait aussi faire l'objet d'études pour l'imagerie vasculaire d'autres organes en mouvement tel que les poumons. Il en demeure que l'imagerie tridimensionnelle représente aujourd'hui un engouement généralisé, puisqu'elle permet de représenter les sujets d'imageries de façon tangible et potentiellement fournir plus d'informations sur l'anatomie et la fonction. Pour cette raison, nous suggérons que la suite de ce projet devrait être globalement orientée vers la translation de MULA à l'imagerie ultrasonore tridimensionnelle.

L'utilisation potentielle de cet outil en cardiologie clinique représenterait un accomplissement de taille. Puisque l'échographie représente déjà une modalité importante au diagnostic de pathologies cardiaques, MULA pourrait s'insérer rapidement dans un examen et améliorer le potentiel diagnostique et pronostic de la maladie coronarienne de façon non ionisante et non invasive.

Ce projet s'insère donc particulièrement bien au domaine du génie biomédical, où les développements technologiques visent l'innovation et l'amélioration des pratiques du secteur de la santé.

RÉFÉRENCES

- [1] P. A. L. Tonino *et al.*, “Angiographic Versus Functional Severity of Coronary Artery Stenoses in the FAME Study,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 55, no. 25, pp. 2816–2821, Jun. 2010, doi: 10.1016/j.jacc.2009.11.096.
- [2] C. Errico *et al.*, “Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging,” *Nature*, vol. 527, no. 7579, pp. 499–502, Nov. 2015, doi: 10.1038/nature16066.
- [3] D. Maresca *et al.*, “Noninvasive Imaging of the Coronary Vasculature Using Ultrafast Ultrasound,” *Jacc Cardiovasc. Imaging*, vol. 11, no. 6, pp. 798–808, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.jcmg.2017.05.021.
- [4] B.-F. Osmanski, M. Pernot, G. Montaldo, A. Bel, E. Messas, and M. Tanter, “Ultrafast Doppler Imaging of Blood Flow Dynamics in the Myocardium,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 31, no. 8, pp. 1661–1668, Aug. 2012, doi: 10.1109/TMI.2012.2203316.
- [5] J. Provost *et al.*, “Simultaneous positron emission tomography and ultrafast ultrasound for hybrid molecular, anatomical and functional imaging,” *Nat. Biomed. Eng.*, vol. 2, no. 2, pp. 85–94, 2018, doi: 10.1038/s41551-018-0188-z.
- [6] O. Couture, V. Hingot, B. Heiles, P. Muleki-Seya, and M. Tanter, “Ultrasound Localization Microscopy and Super-Resolution: A State of the Art,” *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 65, no. 8, pp. 1304–1320, Aug. 2018, doi: 10.1109/TUFFC.2018.2850811.
- [7] K. Christensen-Jeffries *et al.*, “Super-resolution Ultrasound Imaging,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 46, no. 4, pp. 865–891, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2019.11.013.
- [8] “Renseignements généraux | Institut de cardiologie de l’Université d’Ottawa | Centre de la prévention et du mieux-être.” <http://pwc.ottawaheart.ca/fr/educatives/education-en-sante-cardiaque/renseignements-generaux> (accessed Apr. 09, 2020).
- [9] “Les principales causes de décès, population totale, selon le groupe d’âge.” <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tb11/fr/tv.action?pid=1310039401> (accessed Nov. 25, 2019).
- [10] A. de la santé publique du Canada, “Les maladies du cœur au Canada : Faits saillants du Système canadien de surveillance des maladies chroniques, 2017,” *aem*, Aug. 22, 2017. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/publications/maladies-et-affections/maladies-coeur-canada-fiche-technique.html> (accessed Apr. 09, 2020).
- [11] P. Libby, P. M. Ridker, and A. Maseri, “Inflammation and Atherosclerosis,” *Circulation*, vol. 105, no. 9, pp. 1135–1143, Mar. 2002, doi: 10.1161/hc0902.104353.
- [12] J. Porée, “Évaluation de la biomécanique cardiovasculaire par élastographie ultrasonore non-invasive,” Mar. 2017, Accessed: Apr. 13, 2020. [Online]. Available: <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/18571>.
- [13] E. Falk, “Pathogenesis of Atherosclerosis,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 47, no. 8, pp. C7–C12, Apr. 2006, doi: 10.1016/j.jacc.2005.09.068.

- [14] L. R. Loehr, W. D. Rosamond, P. P. Chang, A. R. Folsom, and L. E. Chambless, "Heart Failure Incidence and Survival (from the Atherosclerosis Risk in Communities Study)," *Am. J. Cardiol.*, vol. 101, no. 7, pp. 1016–1022, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.amjcard.2007.11.061.
- [15] P. M. Kochanek and J. M. Hallenbeck, "Polymorphonuclear leukocytes and monocytes/macrophages in the pathogenesis of cerebral ischemia and stroke.," *Stroke*, vol. 23, no. 9, pp. 1367–1379, Sep. 1992, doi: 10.1161/01.STR.23.9.1367.
- [16] J. Golledge, G.-P. Shi, and P. Norman, "Pathogenesis of Aortic Aneurysms," in *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*, R. Fitzridge and M. Thompson, Eds. Adelaide (AU): University of Adelaide Press, 2011.
- [17] J. Golledge and P. E. Norman, "Atherosclerosis and Abdominal Aortic Aneurysm: Cause, Response, or Common Risk Factors?," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 30, no. 6, pp. 1075–1077, Jun. 2010, doi: 10.1161/ATVBAHA.110.206573.
- [18] P. G. Camici, G. d'Amati, and O. Rimoldi, "Coronary microvascular dysfunction: mechanisms and functional assessment," *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 12, no. 1, pp. 48–62, Jan. 2015, doi: 10.1038/nrcardio.2014.160.
- [19] S. Vijayan, D. S. Barmby, I. R. Pearson, A. G. Davies, S. B. Wheatcroft, and M. Sivananthan, "Assessing Coronary Blood Flow Physiology in the Cardiac Catheterisation Laboratory," *Curr. Cardiol. Rev.*, vol. 13, no. 3, Jul. 2017, doi: 10.2174/1573403X13666170525102618.
- [20] "Coronary artery disease - Diagnosis and treatment - Mayo Clinic." <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/coronary-artery-disease/diagnosis-treatment/drc-20350619> (accessed May 05, 2020).
- [21] G. B. J. Mancini *et al.*, "Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Diagnosis and Management of Stable Ischemic Heart Disease," *Can. J. Cardiol.*, vol. 30, no. 8, pp. 837–849, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.cjca.2014.05.013.
- [22] N. A. Ramjattan, V. Lala, O. Kousa, and A. N. Makaryus, "Coronary CT Angiography," in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
- [23] Z. Sun, "Cardiac Imaging Modalities in the Diagnosis of Coronary Artery Disease," *Coron. Heart Dis.*, p. 4, 2013.
- [24] J. L. Prince and J. Links, *Medical Imaging Signals and Systems*. Pearson Education, 2014.
- [25] Anita. Sadeghpour and Azin. Alizadehasl, "Chapter 5 - Echocardiography," in *Practical Cardiology*, M. Maleki, A. Alizadehasl, and M. Haghjoo, Eds. Elsevier, 2018, pp. 67–111.
- [26] C.-M. Yu, J. E. Sanderson, T. H. Marwick, and J. K. Oh, "Tissue Doppler Imaging: A New Prognosticator for Cardiovascular Diseases," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 49, no. 19, pp. 1903–1914, May 2007, doi: 10.1016/j.jacc.2007.01.078.
- [27] "2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease. The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology," *Rev. Esp. Cardiol. Engl. Ed.*, vol. 67, no. 2, p. 135, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.rec.2013.11.008.
- [28] T. H. Marwick, "Stress echocardiography," *Heart*, vol. 89, no. 1, pp. 113–118, Jan. 2003.

- [29] M. Henningson, J. Shome, K. Bratis, M. S. Vieira, E. Nagel, and R. M. Botnar, “Diagnostic performance of image navigated coronary CMR angiography in patients with coronary artery disease,” *J. Cardiovasc. Magn. Reson.*, vol. 19, no. 1, p. 68, Dec. 2017, doi: 10.1186/s12968-017-0381-3.
- [30] J. W. Kennedy and Registry Committee of the Society for Cardiac Angiography, “Complications associated with cardiac catheterization and angiography,” *Cathet. Cardiovasc. Diagn.*, vol. 8, no. 1, pp. 5–11, 1982, doi: 10.1002/ccd.1810080103.
- [31] “Cardiac catheterization techniques: Normal hemodynamics - UpToDate.” https://www.uptodate.com/contents/cardiac-catheterization-techniques-normal-hemodynamics?search=cardiac%20catheterization&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1 (accessed Apr. 15, 2020).
- [32] J. Faurie, “Caractérisation de vortex intraventriculaires par échographie Doppler ultrarapide,” p. 199.
- [33] A. M. K. Thomas and A. K. Banerjee, *The History of Radiology*. OUP Oxford, 2013.
- [34] R. Gramiak, P. M. Shah, and D. H. Kramer, “Ultrasound Cardiography: Contrast Studies in Anatomy and Function,” *Radiology*, Apr. 1969, doi: 10.1148/92.5.939.
- [35] *The Acoustic Bubble*. Elsevier, 1994.
- [36] H. Mulvana *et al.*, “Characterization of Contrast Agent Microbubbles for Ultrasound Imaging and Therapy Research,” *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 64, no. 1, pp. 232–251, Jan. 2017, doi: 10.1109/TUFFC.2016.2613991.
- [37] “Focused cardiac and lung ultrasonography: implications and applicability in the perioperative period,” *Romanian J. Anaesth. Intensive Care*, vol. 23, no. 1, Apr. 2016, doi: 10.21454/rjaic.7518.231.lus.
- [38] on behalf of the Quantitative Cardiac Imaging Study Group *et al.*, “Clinical quantitative cardiac imaging for the assessment of myocardial ischaemia,” *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 17, no. 7, pp. 427–450, Jul. 2020, doi: 10.1038/s41569-020-0341-8.
- [39] M. Vega, “Vermon Single Crystal High Frequency Linear Arrays.” Accessed: May 13, 2020. [Online]. Available: <https://verasonics.com/high-frequency-transducers/>.
- [40] A. Ng and J. Swanevelder, “Resolution in ultrasound imaging,” *Contin. Educ. Anaesth. Crit. Care Pain*, vol. 11, no. 5, pp. 186–192, Oct. 2011, doi: 10.1093/bjaceaccp/mkr030.
- [41] T. Farncombe and K. Iniewski, “Medical Imaging: Technology and Applications,” p. 733.
- [42] K. Iniewski, *Medical imaging electronics*. Hoboken, N.J: Wiley, 2009.
- [43] J. Bercoff, “Ultrafast Ultrasound Imaging,” *Ultrasound Imaging - Med. Appl.*, Aug. 2011, doi: 10.5772/19729.
- [44] M. Cikes, “Ultrafast Cardiac Ultrasound Imaging,” *Cardiovasc. IMAGING*, vol. 7, no. 8, p. 12, 2014.
- [45] J. S. Au, R. L. Hughson, and A. C. H. Yu, “Riding the Plane Wave: Considerations for In Vivo Study Designs Employing High Frame Rate Ultrasound,” p. 12, 2018.

- [46] M. Tanter and M. Fink, "Ultrafast imaging in biomedical ultrasound," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 61, no. 1, pp. 102–119, Jan. 2014, doi: 10.1109/TUFFC.2014.2882.
- [47] G. Montaldo, M. Tanter, J. Bercoff, N. Benech, and M. Fink, "Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 56, no. 3, pp. 489–506, Mar. 2009, doi: 10.1109/TUFFC.2009.1067.
- [48] G. R. Lockwood, D. H. Turnball, D. A. Christopher, and F. S. Foster, "Beyond 30 MHz [applications of high-frequency ultrasound imaging]," *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.*, vol. 15, no. 6, pp. 60–71, Nov. 1996, doi: 10.1109/51.544513.
- [49] D. E. Goertz, J. L. Yu, R. S. Kerbel, P. N. Burns, and F. S. Foster, "High-frequency Doppler ultrasound monitors the effects of antivascular therapy on tumor blood flow," *Cancer Res.*, vol. 62, no. 22, pp. 6371–6375, Nov. 2002.
- [50] F. S. Foster *et al.*, "A New 15–50 MHz Array-Based Micro-Ultrasound Scanner for Preclinical Imaging," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 35, no. 10, pp. 1700–1708, Oct. 2009, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.04.012.
- [51] R. C. Gessner, C. B. Frederick, F. S. Foster, and P. A. Dayton, "Acoustic angiography: a new imaging modality for assessing microvasculature architecture," *Int. J. Biomed. Imaging*, vol. 2013, p. 936593, 2013, doi: 10.1155/2013/936593.
- [52] S. E. Shelton *et al.*, "Quantification of Microvascular Tortuosity during Tumor Evolution Using Acoustic Angiography," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 41, no. 7, pp. 1896–1904, Jul. 2015, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2015.02.012.
- [53] P. Blomgren, G. Papanicolaou, and H. Zhao, "Super-resolution in time-reversal acoustics," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 111, no. 1, pp. 230–248, Jan. 2002, doi: 10.1121/1.1421342.
- [54] S. K. Lehman and A. J. Devaney, "Transmission mode time-reversal super-resolution imaging," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 113, no. 5, pp. 2742–2753, May 2003, doi: 10.1121/1.1566975.
- [55] E. Betzig *et al.*, "Imaging Intracellular Fluorescent Proteins at Nanometer Resolution," *Science*, vol. 313, no. 5793, pp. 1642–1645, Sep. 2006, doi: 10.1126/science.1127344.
- [56] L. Möckl, D. C. Lamb, and C. Bräuchle, "Super-resolved Fluorescence Microscopy: Nobel Prize in Chemistry 2014 for Eric Betzig, Stefan Hell, and William E. Moerner," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 53, no. 51, pp. 13972–13977, Dec. 2014, doi: 10.1002/anie.201410265.
- [57] A. L. Klibanov *et al.*, "Detection of Individual Microbubbles of Ultrasound Contrast Agents: Imaging of Free-Floating and Targeted Bubbles," *Invest. Radiol.*, vol. 39, no. 3, pp. 187–195, Mar. 2004, doi: 10.1097/01.rli.0000115926.96796.75.
- [58] O. Couture, B. Besson, G. Montaldo, M. Fink, and M. Tanter, "Microbubble ultrasound super-localization imaging (MUSLI)," in *2011 IEEE International Ultrasonics Symposium*, Orlando, FL, USA, Oct. 2011, pp. 1285–1287, doi: 10.1109/ULTSYM.2011.6293576.
- [59] M. Siepmann, G. Schmitz, J. Bzyl, M. Palmowski, and F. Kiessling, "Imaging tumor vascularity by tracing single microbubbles," p. 4.

- [60] T. M. Khumri and M. L. Main, "Safety and Risk-Benefit Profile of Microbubble Contrast Agents in Echocardiography," *J. - Saf. Risk-Benefit Profile Microbubble Contrast Agents Echocardiogr.*, Oct. 2008, Accessed: Jul. 16, 2020. [Online]. Available: <https://www.uscjournal.com/articles/Microbubble-Contrast-ECG>.
- [61] K. Wei, S. Shah, W. A. Jaber, and A. DeMaria, "An Observational Study of the Occurrence of Serious Adverse Reactions among Patients Who Receive Optison in Routine Medical Practice," *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, vol. 27, no. 9, pp. 1006–1010, Sep. 2014, doi: 10.1016/j.echo.2014.04.020.
- [62] G. ter Haar, "Safety and bio-effects of ultrasound contrast agents," *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 47, no. 8, pp. 893–900, Aug. 2009, doi: 10.1007/s11517-009-0507-3.
- [63] D. Cosgrove and N. Lassau, "Imaging of perfusion using ultrasound," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 37, no. S1, pp. 65–85, Aug. 2010, doi: 10.1007/s00259-010-1537-7.
- [64] J. Baranger, B. Arnal, F. Perren, O. Baud, M. Tanter, and C. Demene, "Adaptive Spatiotemporal SVD Clutter Filtering for Ultrafast Doppler Imaging Using Similarity of Spatial Singular Vectors," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 37, no. 7, pp. 1574–1586, Jul. 2018, doi: 10.1109/TMI.2018.2789499.
- [65] C. Demene *et al.*, "Spatiotemporal Clutter Filtering of Ultrafast Ultrasound Data Highly Increases Doppler and fUltrasound Sensitivity," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 34, no. 11, pp. 2271–2285, Nov. 2015, doi: 10.1109/TMI.2015.2428634.
- [66] R. S. C. Cobbold, *Foundations of Biomedical Ultrasound*. Oxford University Press, 2007.
- [67] H. Guo, "A Simple Algorithm for Fitting a Gaussian Function [DSP Tips and Tricks]," *IEEE Signal Process. Mag.*, vol. 28, no. 5, pp. 134–137, Sep. 2011, doi: 10.1109/MSP.2011.941846.
- [68] O. M. Viessmann, R. J. Eckersley, K. Christensen-Jeffries, M. X. Tang, and C. Dunsby, "Acoustic super-resolution with ultrasound and microbubbles," *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 18, pp. 6447–6458, Sep. 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/18/6447.
- [69] M. A. O'Reilly and K. Hynynen, "A super-resolution ultrasound method for brain vascular mapping: Super-resolution ultrasound method for brain vascular mapping," *Med. Phys.*, vol. 40, no. 11, p. 110701, Oct. 2013, doi: 10.1118/1.4823762.
- [70] K. Christensen-Jeffries, M.-X. Tang, C. Dunsby, and R. J. Eckersley, "In Vivo Acoustic Super-Resolution and Super-Resolved Velocity Mapping Using Microbubbles," *IEEE Trans. Med. IMAGING*, vol. 34, no. 2, p. 8, 2015.
- [71] F. Lin, S. E. Shelton, D. Espíndola, J. D. Rojas, G. Pinton, and P. A. Dayton, "3-D Ultrasound Localization Microscopy for Identifying Microvascular Morphology Features of Tumor Angiogenesis at a Resolution Beyond the Diffraction Limit of Conventional Ultrasound," *Theranostics*, vol. 7, no. 1, pp. 196–204, 2017, doi: 10.7150/thno.16899.
- [72] T. Opacic *et al.*, "Super-Resolution Ultrasound Bubble Tracking for Preclinical and Clinical Multiparametric Tumor Characterization," p. 41.
- [73] D. Ghosh *et al.*, "Monitoring early tumor response to vascular targeted therapy using super-resolution ultrasound imaging," p. 4.

- [74] D. Ghosh *et al.*, “Super-resolution ultrasound imaging of the microvasculature in skeletal muscle: A new tool in diabetes research,” p. 4.
- [75] J. Foiret, “Ultrasound localization microscopy to image and assess microvasculature in a rat kidney,” *Sci. Rep.*, p. 12.
- [76] J. Poree, M. Baudet, F. Tournoux, G. Cloutier, and D. Garcia, “A Dual Tissue-Doppler Optical-Flow Method for Speckle Tracking Echocardiography at High Frame Rate,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 37, no. 9, pp. 2022–2032, Sep. 2018, doi: 10.1109/TMI.2018.2811483.
- [77] M. Arigovindan, M. Suhling, C. Jansen, P. Hunziker, and M. Unser, “Full Motion and Flow Field Recovery From Echo Doppler Data,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 26, no. 1, pp. 31–45, Jan. 2007, doi: 10.1109/TMI.2006.884201.
- [78] K. C. Assi *et al.*, “Intraventricular vector flow mapping—a Doppler-based regularized problem with automatic model selection,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 62, no. 17, pp. 7131–7147, Aug. 2017, doi: 10.1088/1361-6560/aa7fe7.
- [79] T. Baron and F. A. Flachskampf, “Simultaneous 4-Chamber Strain: More and Faster Analysis, But Is It Good Enough?,” *Circ. Cardiovasc. Imaging*, vol. 9, no. 3, Mar. 2016, doi: 10.1161/CIRCIMAGING.116.004544.
- [80] P. Reant *et al.*, “Experimental Validation of Circumferential, Longitudinal, and Radial 2-Dimensional Strain During Dobutamine Stress Echocardiography in Ischemic Conditions,” *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 51, no. 2, pp. 149–157, Jan. 2008, doi: 10.1016/j.jacc.2007.07.088.
- [81] E. E. Konofagou and J. Provost, “Electromechanical wave imaging for noninvasive mapping of the 3D electrical activation sequence in canines and humans in vivo,” *J. Biomech.*, vol. 45, no. 5, pp. 856–864, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.jbiomech.2011.11.027.
- [82] M. Sühling *et al.*, “Multiscale Motion Mapping: A Novel Computer Vision Technique for Quantitative, Objective Echocardiographic Motion Measurement Independent of Doppler: First Clinical Description and Validation,” *Circulation*, vol. 110, no. 19, pp. 3093–3099, Nov. 2004, doi: 10.1161/01.CIR.0000146899.05499.72.
- [83] A. R. Porras *et al.*, “Improved Myocardial Motion Estimation Combining Tissue Doppler and B-Mode Echocardiographic Images,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 33, no. 11, pp. 2098–2106, Nov. 2014, doi: 10.1109/TMI.2014.2331392.
- [84] B. Denarie *et al.*, “Coherent Plane Wave Compounding for Very High Frame Rate Ultrasonography of Rapidly Moving Targets,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 32, no. 7, pp. 1265–1276, Jul. 2013, doi: 10.1109/TMI.2013.2255310.
- [85] J. Poree, D. Posada, A. Hodzic, F. Tournoux, G. Cloutier, and D. Garcia, “High-Frame-Rate Echocardiography Using Coherent Compounding With Doppler-Based Motion-Compensation,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 35, no. 7, pp. 1647–1657, Jul. 2016, doi: 10.1109/TMI.2016.2523346.
- [86] V. Hingot, C. Errico, M. Tanter, and O. Couture, “Subwavelength motion-correction for ultrafast ultrasound localization microscopy,” *Ultrasonics*, vol. 77, pp. 17–21, May 2017, doi: 10.1016/j.ultras.2017.01.008.

- [87] V. Hingot, C. Errico, B. Heiles, L. Rahal, M. Tanter, and O. Couture, “Microvascular flow dictates the compromise between spatial resolution and acquisition time in Ultrasound Localization Microscopy,” *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 2456, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41598-018-38349-x.
- [88] J. A. Jensen, “Estimation of Blood Velocities Using Ultrasound: A Signal Processing Approach,” p. 319.
- [89] C. Bourquin, “In vivo pulsatility mapping of cerebral microcirculation using Dynamic Ultrasound Localization Microscopy,” Glasgow, Oct. 2019.
- [90] S. J. Sangaralingham *et al.*, “Cardiac Micro-Computed Tomography Imaging of the Aging Coronary Vasculature,” *Circ. Cardiovasc. Imaging*, vol. 5, no. 4, pp. 518–524, Jul. 2012, doi: 10.1161/CIRCIMAGING.112.973057.