

# UNIVERSITÉ FRANÇOIS – RABELAIS DE TOURS

## ÉCOLE DOCTORALE EMSTU

UMR « Imagerie et Cerveau » Inserm U930, Université François-Rabelais

# THÈSE

présentée par :

**Leila AIRED-SELMANI**

soutenue le : 19 Mars 2013

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François – Rabelais de Tours**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé

## Caractérisations théoriques et expérimentales d'agents de contraste ultrasonore ciblés

### THÈSE dirigée par :

**M. BOUAKAZ Ayache**

Directeur de recherche INSERM, Tours

### RAPPORTEURS :

**M. MARMOTTANT Philippe**

**M. MENSAH Serge**

Chargé de recherche CNRS (HDR), Grenoble

Maître de Conférences (HDR), Université d'Aix-Marseille 2

### JURY :

**M. BOUAKAZ Ayache**

**M. CACHARD Christian**

**M. DOS SANTOS Serge**

**M. DOINIKOV A. Alexander**

**M. MARMOTTANT Philippe**

**M. MENSAH Serge**

Directeur de recherche INSERM, Tours

Professeur, Université Lyon 1

Maître de Conférences (HDR), I'ENI Val de Loire, Blois

Professeur, Université de Biélorussie

Chargé de recherche (HDR) CNRS, Grenoble

Maître de Conférences (HDR), Université d'Aix-Marseille 2



## Remerciements

Je tiens à remercier en tout premier lieu mon directeur de thèse, Ayache Bouakaz, pour m'avoir fait partager ses connaissances et son expérience en imagerie de contraste, pour son encadrement, son soutien et sa confiance tout au long de ces trois années de thèse. J'adresse un remerciement tout particulier à Alexander Doinikov professeur à l'université de Biélorussie qui m'a énormément aidé dans la prise en main des modèles théoriques et ses précieuses remarques pour la rédaction des articles.

J'adresse mes sincères remerciements à Philippe Marmottant, chargé de recherche au LIPHY de Grenoble, ainsi qu'à Serge Mensah, maître de conférences au LMA de Marseille pour avoir accepté de rapporter mon travail de thèse.

Je remercie très sincèrement Christian Cachard, professeur au laboratoire CREATIS de Lyon pour avoir accepté de présider mon jury de thèse. Je lui suis très reconnaissante des différentes remarques qu'il m'a adressées et qui ont contribué à l'amélioration de ce manuscrit. Je remercie le laboratoire Bracco, de m'avoir fourni plusieurs échantillons de produit de contraste.

J'exprime ma gratitude à Serge Dos Santos, maître de conférences à l'ENI Val de Loire de Tours, d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Merci également à tous les membres de équipes 5 « Imagerie et Ultrasons » pour les bons moments que j'ai pu partager avec eux, pour cette incroyable aventure scientifique et surtout humaine. Je tiens tout particulièrement à remercier Anthony, Jean-Yves Tartu pour leur contribution dans l'avancée de mes travaux.

J'adresse mes profonds remerciements à Stéphanie pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa bonne humeur. Je tiens à remercier l'ensemble de mes collègues de bureau, Anthony, Jennifer, et Jean Michel, pour l'excellente ambiance de travail durant ces années. Plus particulièrement, Aya pour sa chaleur sa gentillesse que je considère comme une sœur, Julien

pour son amabilité. Je remercie également Mélouka pour sa disponibilité et son amitié, Chloé et Tony pour les moments de fou rire qu'on a partagé, Frédéric pour les discussions intéressantes que nous avons eu.

Enfin, je remercie très sincèrement ma famille et plus particulièrement mes parents qui ont su être présents et me soutenir durant ces trois ans. Je remercie énormément mon mari Massinissa pour son soutien sans faille et à tout ce qu'il a pu m'apporter pour franchir les obstacles les plus difficiles.

## Résumé

Depuis leur introduction, les agents de contraste ont révolutionné l'imagerie échographique. Ils sont composés de microbulles gazeuses, qui injectés par voie intraveineuse dans le sang, ils améliorent l'image échographique. Une autre application pour laquelle les caractéristiques physiques des agents de contraste sont exploitées est l'imagerie ciblée. Une approche basée sur l'utilisation de ligands intégrés à la paroi des microbulles, ces microbulles adhèrent aux facteurs de surfaces cellulaires surexprimés par les cellules endothéliales qui tapissent la paroi interne des vaisseaux sanguins. Pour pouvoir distinguer ces microbulles de celles qui circulent librement, elles doivent réfléchir un signal acoustique suffisamment intense. Cependant, le faible taux d'adhérence des microbulles engendre une réduction du signal acoustique. Pour résoudre ce problème, il est important de déterminer l'effet des parois sur leurs dynamiques acoustiques. Dans cette thèse, nous avons étudié l'effet des parois élastiques sur le comportement dynamique des microbulles constituant les agents de contraste. Dans un premier temps, un modèle théorique représentant une paroi avec une épaisseur finie a été développé. Il a été démontré que l'amplitude de l'écho rétrodiffusé par une microbulle proche d'une paroi avec une épaisseur finie est inférieure à celui d'une microbulle se trouvant dans un fluide infini. D'autres parts, pour représenter la paroi d'un vaisseau sanguin, les propriétés mécaniques de la paroi élastique ont été intégrées au modèle. Il a été observé que la fréquence de résonance d'une microbulle proche d'une paroi est supérieure à celle dans un fluide infini. Par la suite, nous avons étudié l'effet de trois types de parois sur le comportement d'une microbulle parmi lesquelles la paroi d'OptiCell communément utilisée en expérimentations ultrasonores. Les résultats ont montré que la microbulle proche de la paroi d'OptiCell diffuse un écho supérieur à celui de la microbulle éloignée de la paroi, lorsque la fréquence d'excitation est au-dessus de sa fréquence de résonance. Nous avons constaté aussi que les petites bulles sont plus sensibles à la proximité de la paroi. Par la suite, nous avons développé

un modèle décrivant une microbulle attachée à une paroi élastique. Nous avons montré que le contact direct de la bulle avec la paroi induit une diminution de l'écho par rapport à la même bulle dans un liquide infini. Le contact direct de la bulle avec la paroi engendre une augmentation de la fréquence de résonance par rapport à une bulle sans contact direct. Enfin, une étude expérimentale a montré l'avantage de l'imagerie sous-harmonique pour différencier les microbulles attachées des microbulles libres.

Mots clés: Agent de contraste ; Ultrasons; Microbulle; Imagerie ciblée; Paroi élastique; Sous-harmonique.

## Abstract

Since they were introduced, contrast agents have revolutionized the ultrasound imaging. They are composed of tiny gaseous microbubbles and when injected intravenously into the blood, they improve the ultrasound image. Targeted imaging is another application based on the physical characteristics of contrast agents. This approach is based on the ligands incorporation into the microbubbles shell. The microbubble attach to the molecular factors overexpressed by endothelial cells, covering the inner wall of blood vessels. To distinguish these microbubbles from those freely circulating, attached microbubble have to produce an acoustic signal that is sufficiently strong. However, the low microbubbles adhesion induces a decrease of the acoustic signal. To make it possible, it is important to determine the effect of the elastic wall on their acoustic response. This thesis aimed to study the effect of elastic walls on the ultrasonic behavior of targeted microbubbles. First, a theoretical model describing a wall with finite thickness was developed. It has been shown that the scattered echo amplitude by a microbubble near a wall with finite thickness is small in comparison to the echo from a microbubble located in an infinite fluid. Furthermore, and in order to account for the effect of blood vessel wall, the mechanical properties of the wall have been incorporated into the model. The results showed that the resonane frequency of a microbubble near the wall is higher than the resonanace of the same microbubble in an infinite medium. Subsequently, we studied the effect of three types of walls on the microbubble behavior including the wall of OptiCell chamber which is commonly used in ultrasonic experiments. We have shown that microbubbles near the OptiCell wall diffuses a higher echo than those far from the wall when the excitation frequency is above the microbubble resonance frequency. On the other side, we observed that small microbubbles to the presence of the wall. Afterward, we developed a model describing a microbubble attached to the wall. We have shown that the microbubble in direct contact with the wall induces a decrease of the echo amplitude compared to the same

bubble in infinite liquid. Moreover, the direct contact of the bubble with the wall generates an increase of the resonance frequency relative to a bubble without direct contact. Finally, an experimental study has shown the advantage of the subharmonic imaging to differentiate attached microbubbles from the free ones.

Keywords: Contrast agent; Ultrasound; Microbubble; Targeted imaging; Elastic wall; Subharmonic.



## Publications

### Publications dans des journaux à comité de lecture

- Aired, L.,** Bouakaz, A., Doinikov, A. Effect of an elastic wall on the dynamics of an encapsulated microbubble: A simulation study. *Ultrasonics*, volume 53, Issue 1, pages 23-28, January 2013.
- Doinikov, A., **Aired, L.,** Bouakaz, A. Dynamis of a contrast agent microbubble attached to an elastic wall. *IEEE Transaction on Medical Imaging*, 31(3):654-655, March 2012.
- Doinikov, A., **Aired,L.,** Bouakaz, A. Acoustic scattering from a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness. *Phys. Med. Biol.* 56 6951–6967, Octobre 2011.
- Doinikov, A., **Aired, L.,** Bouakaz, A. Acoustic response from a bubble pulsating near a fluid layer of finite density and thickness. *Journal of the Acoustical Society of America*, 129(2):616-21, Feb 2011.

### Actes de congrès

- Aired, L.,** Doinikov, A., Bouakaz, A. Effect of an elastic wall on the behavior of encapsulated microbubbles. *Proceedings of the Acoustics 2012 Nantes Conference*, pp.1619-1624.
- Doinikov, A., **Aired, L.,** Bouakaz, A. Effect of contact with an elastic wall on the spectral characteristics of the scattered echo of a contrast microbubble. *Proceedings of the Acoustics 2012 Nantes Conference*, pp.1577-1582.
- Doinikov, A., **Aired, L.,** Bouakaz, A. Modeling and experiments on the far-field scattering of a bubble pulsating near a wall with finite density and thickness. *IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings*, no. 1, pp. 1133-1136, 2010.
- Aired, L.,** Doinikov, A., Bouakaz,A. Modélisation de la réponse acoustique d'une microbulle oscillante à proximité d'une paroi rigide. *10<sup>ème</sup> Congrès Français d'Acoustique, Lyon , France*, 2010.



## Table des matières

Remerciements .....	3
Résumé .....	5
Abstract .....	7
Table des matières .....	11
Liste des tableaux .....	14
Liste des figures .....	15
<b>Introduction générale</b> .....	19
<b>Chapitre 1 L'imagerie ultrasonore ciblée</b> .....	25
1.1 L'imagerie de contraste ultrasonore.....	26
1.1.1 Agent de contraste ultrasonore .....	26
1.1.2 Dynamique acoustique d'une microbulle .....	27
1.2 Technique d'imagerie de contraste.....	30
1.2.1 Imagerie fondamentale .....	30
1.2.2 Imagerie harmonique.....	31
1.2.3 Imagerie sous-harmonique .....	31
1.3 Imagerie moléculaire ultrasonore .....	32
1.3.1 Agents de contraste ciblés .....	32
1.3.2 Stratégie de ciblage .....	35
1.4 Les applications de l'imagerie moléculaire .....	36
1.4.1 Le ciblage de l'athérosclérose.....	36
1.4.2 Le ciblage de l'angiogenèse.....	37
1.5 L'adhérence des agents de contraste sous la contrainte de cisaillement .....	40
1.6 Techniques de détection de microbulles ciblées .....	42
<b>Chapitre 2 Comportement dynamique d'un agent de contraste à proximité d'une paroi rigide</b> .....	45
2.1 Introduction .....	45
2.2 Modèles d'agent de contraste .....	47
2.2.1 Modèle de De Jong.....	47
2.2.2 Modèle de Marmottant .....	47
2.3 Le comportement d'un agent de contraste à proximité d'une paroi rigide .....	49
2.3.1 Equation de mouvement de deux bulles côte à côte.....	49
2.3.2 Microbulle à proximité d'une paroi.....	50

2.4	Résultats et discussion.....	51
2.5	Conclusions et perspectives .....	57
<b>Chapitre 3 Réponse acoustique d'une bulle proche d'une couche de fluide de densité et d'épaisseur finies .....</b>		<b>59</b>
3.1	Introduction .....	59
3.2	Résumé de l'article.....	60
3.3	Article : Acoustic response from a bubble pulsating near a fluid layer of finite density and thickness.....	61
3.4	Conclusions et perspectives .....	79
<b>Chapitre 4 Réponse acoustique d'une microbulle d'agent de contraste proche d'une paroi élastique avec une épaisseur finie .....</b>		<b>81</b>
4.1	Introduction .....	81
4.2	Résumé de l'article.....	83
4.3	Article: Acoustic scattering from a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness .....	85
4.4	Conclusions et perspectives .....	113
<b>Chapitre 5 Etude numérique de l'effet d'une paroi élastique sur la dynamique d'une microbulle de contraste.....</b>		<b>115</b>
5.1	Introduction .....	115
5.2	Résumé de l'article.....	116
5.3	Article: Effect of an elastic wall on the dynamics of an encapsulated microbubbles: a simulation study.....	117
5.4	Conclusions et perspectives .....	137
<b>Chapitre 6 Modèle d'une microbulle de contraste attachée à une paroi élastique....</b>		<b>139</b>
6.1	Introduction .....	139
6.2	Résumé de l'article.....	140
6.3	Article: Dynamics of a contrast agent microbubble attached to an elastic wall.....	141
6.4	Conclusions et perspectives .....	170
<b>Chapitre 7 Détection d'agents de contraste ciblés .....</b>		<b>171</b>
7.1	Introduction .....	171
7.2	Matériel et méthodes .....	172
7.2.1	Ciblage des microbulles sur une paroi élastique .....	172
7.2.2	Dispositifs expérimentaux.....	173

## Table des matières

---

7.3	Résultats et discussion.....	175
7.3.1	Microscopie.....	175
7.3.2	Simulation .....	177
7.3.3	Mesures Acoustiques.....	179
7.4	Conclusions et perspectives .....	181
	<b>Conclusion générale</b> .....	<b>183</b>
	Annexes .....	204

## Liste des tableaux

Tableau 1.I <i>Agents de contraste</i> .....	27
Tableau 1.II <i>Agents de contraste ciblés</i> .....	34

## Liste des figures

Figure 1.1	<i>Oscillations d'une microbulle sous l'effet de la pression acoustique</i> .....	28
Figure 1.2	<i>Spectre de la réponse d'une bulle BR14<sup>®</sup> d'un rayon de 2.4<math>\mu</math>m. La pression acoustique est de 250kPa, 32 cycles à 4MHz. Les paramètres d'élasticité et de viscosité de la paroi sont ceux définis par Sijl et al [38]</i> .....	30
Figure 1.3	<i>Microbulle fonctionnalisée</i> [52].....	33
Figure 1.4	<i>Méthode de ciblage actif des agents de contraste ultrasonores. Par moyens indirects, non covalente (par l'intermédiaire d'avidine-biotine) et covalente (par des groupes réactifs). Par moyens directs (par l'intermédiaire d'absorption de surface) pour attacher les ligands à des cibles spécifiques (par exemple, des anticorps) à la coque d'agent de contraste. Un bras flexible de polyéthylène glycol peut être incorporé pour étendre le bras du ligand et améliorer la capacité de la cible</i> [68] .....	35
Figure 1.5	<i>Ciblage de l'athérosclérose</i> [11] .....	37
Figure 1.6	<i>Ciblage de l'angiogenèse</i> [82].....	40
Figure 1.7	<i>Adhérence et détachement d'une microbulle sous la contrainte de cisaillement</i> ....	41
Figure 2.1	<i>Modèle d'une microbulle de contraste proche d'une paroi rigide</i> .....	51
Figure 2.2	<i>Echo d'une microbulle de 2<math>\mu</math>m soumise à une excitation de pression 210 kPa, fréquence 2MHz prédit par le (-) Modèle de Marmottant (-) le Modèle de de Jong</i> .....	52
Figure 2.3	<i>Energie de l'écho rétrodiffusé en fonction de la taille des bulles, pression 210 kPa, fréquence 2MHz (-) Modèle de Marmottant (-) Modèle de de Jong</i> .....	53
Figure 2.4	<i>Energie de l'écho rétrodiffusé à la fréquence fondamentale en fonction de la taille des bulles pour une excitation de pression 210 kPa, fréquence 2MHz (-) Bulles proches de la paroi (-) bulles libres</i> .....	55
Figure 2.5	<i>Energie de l'écho rétrodiffusé à la fréquence harmonique en fonction de la taille des bulles pour une excitation de pression 210 kPa, fréquence 2MHz (-) Bulles proches de la paroi (-) bulles libres</i> .....	55
Figure 2.6	<i>Différences d'amplitude entre les bulles à proximité de la paroi et libres (a) fondamentale (b) deuxième harmonique</i> .....	56
Figure 3.1	<i>Schematic sketch of a bubble near a fluid layer of finite density and thickness</i> .....	67
Figure 3.2	<i>The peak amplitude of the scattered pressure in the far-field zone as a function of the initial bubble radius</i> .....	74
Figure 3.3	<i>The peak amplitude of the scattered pressure in the far-field zone as a function of the density <math>\rho_2</math> of a fluid layer for a bubble with <math>R_0=2.5\mu</math>m</i> .....	76

Figure 4.1 Schematic sketch of a bubble near a wall.  $\rho_1$  is the density of the liquid surrounding the bubble;  $\rho_2$ ,  $K$ ,  $\mu$ , and  $h$  are the density, the bulk modulus, the shear modulus, and the thickness of the wall, respectively;  $\rho_3$  is the density of the liquid behind the wall;  $d$  is the distance between the bubble center and the wall;  $r$  and  $z$  are the coordinates of the cylindrical system originated at the bubble center..... 92

Figure 4.2 The simulated resonance curves for a 2.45  $\mu\text{m}$ -radius bubble insonified with an 8 cycle, 200 kPa Gaussian pulse. The dashed line represents the resonance curve for the bubble in an unbounded liquid, the solid line corresponds to the bubble near an elastic (OptiCell) wall, and the dotted line shows the resonance curve for the bubble near a rigid wall ..... 104

Figure 4.3 The simulated radius-time curves corresponding to the driving frequency 2.25 MHz in figure 4.2 ..... 106

Figure 4.4 The simulated scattered pressure for the cases shown in figure 4.3 ..... 107

Figure 4.5 The simulated resonance curves for the radial oscillation and the scattered pressure of a 1.5  $\mu\text{m}$  radius bubble near the arterial vessel wall..... 109

Figure 5.1 Dependence of the shell elasticity and viscosity on bubble size. The closed circles indicate the experimental values obtained in [165] for the contrast agent SonoVue<sup>®</sup>. The solid lines show a polynomial approximation for the experimental points..... 123

Figure 5.2 Two cases compared in the simulations: the bubble is in the immediate vicinity of the wall and the same bubble is at a distance of 50  $\mu\text{m}$  from the wall ..... 124

Figure 5.3 (a) The magnitude of the fundamental component in the spectrum of the bubble scattered pressure versus driving frequency for the OptiCell wall. The solid lines correspond to the bubbles at  $d = 1.5R_0$  and the dashed lines to the same bubbles at  $d = 50 \mu\text{m}$ . The curves were normalized by the acoustic pressure amplitude (200kPa). (b) The deviation of the solid curves from the dashed curves..... 125

Figure 5.4 The same results as in Figure 5.3 for the aluminium wall..... 126

Figure 5.5 The same results as in Figure 5.3 for tissue ..... 127

Figure 5.6 The magnitude of the 2nd harmonic in the spectrum of the bubble scattered pressure versus driving frequency for the OptiCell wall. The solid lines correspond to the bubbles at  $d = 1.5R_0$  and the dashed lines to the same bubbles at  $d = 50 \mu\text{m}$ . (b) The deviation of the solid curves from the dashed curves..... 129

Figure 5.7 The same results as in Figure 5.6 for the aluminium wall..... 130



Figure 5.8 *The same results as in Figure 5.6 for tissue* ..... 131

Figure 5.9 (a) *The maximum increase of the fundamental near the OptiCell wall as a function of equilibrium bubble radius. (b) The peak value of the fundamental versus bubble radius. (c) The result of the division of the 5.9a curve by the 5.9b curve (the relative increase of the fundamental)* ..... 133

Figure 5.10 (a) *The maximum increase of the 2nd harmonic near the OptiCell wall as a function of equilibrium bubble radius. (b) The peak value of the 2nd harmonic versus bubble radius. (c) The result of the division of the 5.10a curve by the 5.10b curve (the relative increase of the 2nd harmonic)*..... 134

Figure 5.11  $f_{1 \max}$  and  $f_{2 \max}$  *are the driving frequencies at which the maximum increases of, respectively, the fundamental and the 2nd harmonic are reached at different bubble radii. The dashed line shows the fundamental resonance frequency of bubbles* ..... 135

Figure 6.1 *An encapsulated bubble oscillating in contact with an elastic wall: geometry of the system. The angles  $\theta_1$  and  $\theta_2$  are measured from the positive direction of the  $z$  axis.* 147

Figure 6.2 *Resonance curves for (a) the radial oscillation and (b) the scattered pressure of a  $2 \mu\text{m}$  radius encapsulated bubble oscillating in an unbounded liquid (no wall), in contact with a rigid wall, and in contact with an OptiCell (plastic) wall*..... 162

Figure 6.3 *Comparison of resonance curves for a  $2 \mu\text{m}$  radius encapsulated bubble oscillating in an unbounded liquid (no wall), near an OptiCell wall (no contact), and in contact with an OptiCell wall (contact)*..... 163

Figure 6.4 *Examples of (a) radius-time and (b) pressure-time curves for a  $2 \mu\text{m}$  radius encapsulated bubble oscillating in an unbounded liquid, near an OptiCell wall, and in contact with an OptiCell wall. The bubble is insonified with a 10 cycle, 40 kPa, 2.1 MHz Gaussian pulse* ..... 166

Figure 6.5 *Fourier spectra of the pressure-time curves shown in Figure 6.4(b). Note that contact with the wall gives rise to a strong second harmonic as the bubble resonance frequency becomes closer to twice the driving frequency*..... 167

Figure 7.1 *Microbulle de BG7725 attachée à une paroi*..... 172

Figure 7.2 *Dispositifs expérimentaux (a) mesures d'atténuation (b) mesures de rétrodiffusion* ..... 175

Figure 7.3 *Image de microbulles attachées sur une gélatine biotinylée et le contrôle* ..... 176

Figure 7.4 *Nombre de bulles attachées sur 3 échantillons différents* ..... 176

Figure 7.5 *La courbe de résonance de la composante fondamentale d'une bulle de  $1.4 \mu\text{m}$* . 177

Figure 7.6 (a) *La courbe de résonance de la composante sous-harmonique d'une bulle de 1.4 $\mu$ m. (b) Différence d'amplitude du sous-harmonique entre la courbe de résonance de la bulle attachée et libre* ..... 178

Figure 7.7 *Estimation de la fréquence de résonance d'un échantillon de bulles BG7725 par mesure d'atténuation*..... 179

Figure 7.8 *Amplitude du sous-harmonique en fonction de la fréquence d'une population de bulles BG7725. (b) Différence d'amplitude du sous-harmonique entre les bulles attachées et libres*..... 180

# **Introduction générale**



Les ultrasons sont largement utilisés dans le milieu médical pour le diagnostic, le suivi du développement fœtal lors d'une grossesse ou la thérapie. L'imagerie ultrasonore possède des avantages certains car elle est non invasive et non ionisante, et s'effectue en temps réel. Cependant les images échographiques ne permettent pas la quantification de la perfusion des organes examinés. Cela est dû à la présence des niveaux d'échogénicités dans les tissus à discriminer qui les rendent indiscernables. Pour résoudre ce problème le praticien doit faire appel à des méthodes invasives et coûteuses telles que l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou la tomographie par émission de positons (TEP). Néanmoins, de multiples stratégies ont été élaborées pour améliorer l'examen échographique telles que le perfectionnement des sondes ou l'injection d'agents de contraste.

Depuis l'introduction des agents de contraste, l'échographie a connu une évolution permanente [1–4]. Les agents de contraste sont constitués de microbulles de gaz, injectées par voie intraveineuse, augmentent l'intensité du signal réceptionné et permettent une visualisation des vaisseaux sanguins habituellement non observables.

D'autres études ont démontré que lors du développement et la progression des tumeurs cancéreuses, des protéines sont surexprimées au niveau de l'endothélium vasculaire, parmi elles le facteur de croissance endothéliale vasculaire VEGFR-2, les intégrines ( $\alpha_v\beta_3$ ) et les marqueurs inflammatoires (molécules d'adhésion intercellulaires ICAM-1, et la E-P-sélectine). Cette surexpression des marqueurs cellulaires a conduit à l'apparition d'une nouvelle technique d'imagerie « moléculaire ». Cette technique consiste à utiliser des microbulles ciblées. Le ciblage s'effectue en intégrant des ligands à la paroi des microbulles. Une forte concentration de microbulles attachées au niveau des tissus ciblés révélera à l'échographie la présence de zones pathologiques. Cependant seulement un taux très faible de microbulles s'attachent aux marqueurs de surfaces cellulaires, de l'ordre de 10 microbulles/mm<sup>3</sup> [5], [6]. Afin d'optimiser la détection de ces microbulles, il est important de

déterminer l'effet des parois des vaisseaux sanguins sur leurs dynamiques. C'est dans cette direction que sont orientés les travaux de cette thèse. Les objectifs sont de comprendre l'effet des parois sur le comportement dynamique des microbulles, et ainsi de proposer des méthodes pour les différencier des microbulles qui circulent librement.

Le **premier chapitre** de ce manuscrit est consacré à la présentation des agents de contraste ultrasonore et les agents ciblés. Ce chapitre introduit les différentes stratégies de ciblage sur les différents sites pathologiques. De plus les différentes techniques d'imageries exploitées pour la détection des produits de contraste ultrasonore et ciblés sont présentées.

L'étude portant sur la détection d'une microbulle proche d'une paroi est présentée dans le **chapitre 2**. Le comportement de microbulles proches d'une paroi rigide est comparé à celui de microbulles circulant librement. Dans le **chapitre 3**, un modèle d'une microbulle oscillante à proximité d'un fluide avec une densité et une épaisseur finies a été développé. Nous démontrons que l'épaisseur de la paroi du fluide joue un rôle plus important que celui de sa densité. Dans le **chapitre 4** pour représenter une paroi élastique, nous intégrons les paramètres mécaniques de la paroi au modèle présenté dans le chapitre précédent. Nous démontrerons que la fréquence de résonance de la microbulle dépend des propriétés mécaniques de la paroi. Dans le **chapitre 5** nous proposons une étude théorique basée sur le modèle présenté dans le chapitre 4 pour déterminer l'effet des propriétés mécaniques de différentes parois élastiques sur le comportement des microbulles de différentes tailles.

En imagerie moléculaire les microbulles adhèrent aux parois des vaisseaux sanguins. Pour ce besoin un modèle de microbulles attachées à une paroi est développé dans le **chapitre 6**. Nous démontrerons que l'effet d'un contact mécanique direct avec la paroi (microbulle attachée) joue un rôle important dans la dynamique de la microbulle. Finalement dans le **chapitre 7** une étude théorique et expérimentale met en évidence l'intérêt de l'imagerie sous-harmonique pour

différencier les microbulles attachées des microbulles circulant librement. Enfin la conclusion et les perspectives de ce travail sont présentées.





## Chapitre 1 L'imagerie ultrasonore ciblée

Les maladies cardiovasculaires, et le cancer sont les principales causes de décès dans le monde [7–9]. L'introduction des agents de contrastes a apporté une nouvelle dimension dans le diagnostic et la détection de ces maladies grâce à une imagerie plus sensible [4]. Cependant, l'évaluation clinique de ces dérégulations vasculaires reste basée sur des changements anatomiques [4]. Toutefois, il a été démontré que ces maladies prennent leur origine au niveau moléculaire, en surexprimant des marqueurs de surfaces cellulaires (VEGFR, VCAM, ICAM, l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$ ) [10–14]. Cependant, les avancées significatives dans la compréhension moléculaire de ces dérégulations restent limitées. L'utilisation d'agents de contraste ultrasonore (microbulles) ciblés peut remédier à ces limitations, permettant la détection précoce et de façon non invasive de ces événements moléculaires. Cette approche est basée sur la fonctionnalisation des microbulles, en utilisant des ligands qui ciblent les protéines surexprimées par le tissu malade. Ces agents de contraste sont détectés avec une grande sensibilité, et de ce fait effectuer un repérage précis de la zone pathologique [15], [16]. Ce procédé a été testé en clinique sur le cancer de la prostate en ciblant le VEGFR-2 [17]. Par ailleurs, la possibilité de procéder à un traitement thérapeutique peut être aussi envisageable de façon non invasive, en chargeant les microbulles de substances thérapeutiques [18]. La destruction de ces microbulles engendre une perméabilisation cellulaire [19] et ainsi une meilleure incorporation des thérapeutiques dans les cellules.

## 1.1 L'imagerie de contraste ultrasonore

### 1.1.1 Agent de contraste ultrasonore

Les agents de contraste ultrasonore sont des microbulles de gaz encapsulées dans une paroi composée de matériaux biocompatibles. Leur introduction dans le domaine médical a révolutionné l'imagerie échographique, notamment l'imagerie des petits vaisseaux, tels que les artérioles et les capillaires. La taille de ces vaisseaux est généralement inférieure à la résolution ultrasonore (de l'ordre 200-400  $\mu\text{m}$ ) [20]. La visualisation de ces vaisseaux est pratiquement impossible de façon non invasive. En injectant ces agents de contraste ultrasonore par voie intraveineuse dans la circulation sanguine, l'intensité de l'écho rétrodiffusé par le sang augmente en raison d'une importante rupture d'impédance acoustique au niveau de l'interface agent de contraste/sang (densité et compressibilité du gaz sont très différentes de celles du sang) [21–23] et permet la visualisation de ces petits vaisseaux.

Le premier agent de contraste a été introduit par Gramiak et Shah [24] en générant in-situ des microbulles remplies d'air dans l'aorte durant un examen échocardiographique. Par la suite, une première génération d'agent de contraste a été produite par agitation de solutions, comme une solution saline de dextrose, de peroxyde d'hydrogène [25], [26]. Cependant, ces microbulles manquaient de persistance et leurs tailles étaient trop grandes pour résister au passage transpulmonaire [27]. Un peu plus tard, une deuxième génération d'agent de contraste est arrivée. Les microbulles ( $\sim 1\text{-}8 \mu\text{m}$  de diamètre) sont remplies d'un gaz avec un poids moléculaire lourd, tels que l'hexafluorure de soufre et les hydrocarbures perfluorés, et encapsulées dans une couche de phospholipides (coque), d'albumine ou polymères, ce qui les rend solides [28–30]. Cette teneur en gaz rend les microbulles fortement échogènes [31]. Aujourd'hui plusieurs agents de contraste (e.g., Levovist, SonoVue®, Definity) sont disponibles et certains sont utilisés en clinique pour évaluer la perfusion tissulaire et tumorale [32], [33]. Ces agents de contraste sont présentés dans le tableau 1.

Nom	Fabricant	Gaz	Taille (diamètre $\mu\text{m}$ )	Nature de la paroi	Autorisé chez l'homme
<b>Albunex</b>	Molecular Biosystems	Air	4.5	Albumine humain	
<b>Definity</b>	Lantheus Medical imaging	$\text{C}_3\text{F}_8$	1.5	Phospholipides	Mondial
<b>Levovist</b>	Bayer Schering Pharma	Air	2-3	Galactose	
<b>Micromarker</b>	Bracco	$\text{C}_4\text{F}_{10}/\text{N}_2$	2.3-2.9	Phospholipides	
<b>Optison</b>	GE Healthcare	$\text{C}_3\text{F}_8$	3-5	Albumine humain	UE, USA
<b>Sonazoid</b>	Amersham Health	$\text{C}_6\text{F}_{10}$	2.6	Phospholipides	Japon
<b>SonoVue</b>	Bracco	$\text{SF}_6$	2.5	Phospholipides	Europe, Chine, Corée S, Inde, Singapour

Tableau 1.I Agents de contraste

### 1.1.2 Dynamique acoustique d'une microbulle

Lorsqu'une microbulle est excitée par une onde ultrasonore à une fréquence  $f_0$ , celle-ci est mise en oscillation forcée et diffuse une onde de pression sphérique. Sa capacité de diffusion est liée à ses propriétés physiques (compressibilité du gaz, densité, taille), à celles dues au milieu (compressibilité, densité), ainsi qu'aux paramètres d'excitations (fréquence d'excitation, pression acoustique,...) [31], [34].

Sous l'action de cette onde ultrasonore, la microbulle est entraînée dans des oscillations radiales. La taille de la microbulle diminue pendant la phase de compression de l'onde ultrasonore et augmente lors de la décompression de l'onde (figure 1.1). Lorsque la pression appliquée est élevée, les phases de compressions et de dilatations de la microbulle deviennent asymétriques, engendrant un comportement non linéaire caractérisé par la génération d'harmoniques ( $2f_0, 3f_0, 4f_0, \dots$ ).

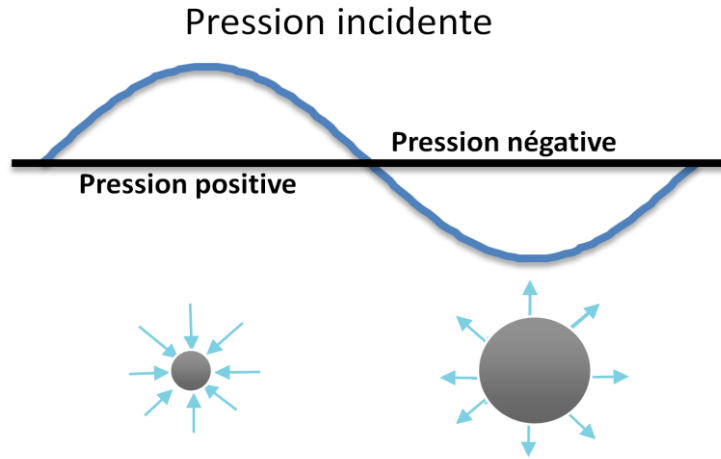


Figure 1.1 Oscillations d'une microbulle sous l'effet de la pression acoustique

### Fréquence de résonance

Sous l'effet d'une impulsion ultrasonore, la microbulle se comporte comme un oscillateur harmonique amorti. Lorsque la fréquence ultrasonore est proche de la fréquence de résonance de la microbulle ( $f_{res}$ ), celle-ci oscille autour de sa position d'équilibre, augmentant alors l'énergie rétrodiffusée.

La fréquence de résonance d'une microbulles encapsulée est donnée par l'expression [35]:

$$f_{res} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{1}{\rho R_0} \left( 3kP_0 + (3\kappa - 1) \frac{2\sigma(R_0)}{R_0} + \frac{4\chi}{R_0} \right)} \quad (1.1)$$

Avec  $R_0$  : le rayon initiale de la bulle,  $\kappa$  : le coefficient polytropique du gaz,  $P_0$ : la pression du milieu,  $\rho$  : la densité du milieu,  $\sigma(R_0)$  : la tension de surface exercée sur la microbulle,  $\chi$  : l'élasticité de la paroi de la microbulle.

## Index mécanique

Lors d'un examen échographique de contraste, un élément important informe en temps réel sur l'énergie transmise par l'échographe " index mécanique (IM) ". Cet index renseigne sur le comportement des microbulles pendant l'examen [36]. Il est défini par le rapport de la pression négative (MPa) à la racine carrée de la fréquence d'excitation (MHz).

$$IM = \frac{P_-}{\sqrt{f_0}} \quad (1.2)$$

L'index mécanique est un paramètre fondamental pour l'imagerie de contraste ultrasonore [37]. En effet, pour de faibles IM (<0.1) les microbulles oscillent de façon linéaire. Leur détection reste difficile à cause de leur faible réponse. Cependant l'augmentation de l'index mécanique engendre un comportement non linéaire des bulles. Ce régime est exploité pour la détection des agents de contraste (en mode harmonique). Un index mécanique compris entre 0.1 et 0.5 reste un compromis entre la sensibilité et la destruction [4]. Pour des valeurs de IM >0.5, la microbulle entre dans un régime non linéaire, qui engendre une cassure de sa coque, et finalement sa destruction.

Les agents de contraste sont très sensibles aux différents paramètres d'excitations ultrasonores (pression, fréquence,...). La bulle réagit différemment pour chaque fréquence d'excitation générant différentes composantes harmoniques ( $f_0/2, f_0, 3f_0/2, 2f_0, 3f_0, 4f_0, \dots$ ). Un exemple de cette génération d'harmonique est illustré dans la figure 1.2 qui représente la réponse simulée d'une bulle de 2.4  $\mu\text{m}$ . Les paramètres de la coque sont similaires à ceux déterminés par Sijl et al [38]. La pression d'excitation est de 250 kPa et la fréquence de 4MHz.

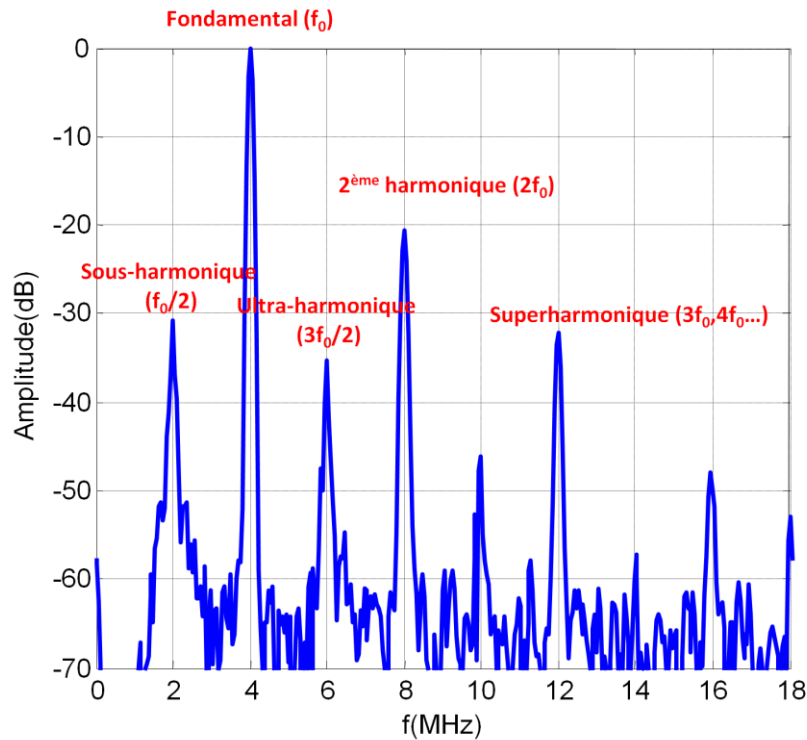


Figure 1.2 Spectre de la réponse d'une bulle BR14® d'un rayon de 2.4µm. La pression acoustique est de 250kPa, 32 cycles à 4MHz. Les paramètres d'élasticité et de viscosité de la paroi sont ceux définis par Sijl et al [38]

## 1.2 Technique d'imagerie de contraste

### 1.2.1 Imagerie fondamentale

Le principe de cette technique est de transmettre une onde ultrasonore à la fréquence  $f_0$ , l'image reconstruite utilisant toute l'information fréquentielle se trouve nettement améliorée par l'injection d'agents de contraste.

Les premières utilisations de microbulles ont ainsi pu mettre en évidence un accroissement de l'échogénicité des cavités cardiaques ou encore une augmentation du signal Doppler, celle-ci pouvant atteindre plusieurs dizaines de décibels. Cependant, ce mode d'imagerie a montré ses limites pour l'imagerie des microbulles dans les petits vaisseaux [39], [40].

### 1.2.2 Imagerie harmonique

Le comportement non linéaire des microbulles et la génération de composantes harmoniques, a ouvert la voie à une imagerie ultrasonore nouvelle « l'imagerie harmonique », qui est l'une des premières techniques d'imagerie de contraste [41]. En mode imagerie harmonique de contraste, la deuxième composante harmonique est utilisée pour construire l'image échographique en mode B. L'onde incidente se propage à la fréquence  $f_0$  et l'image est reconstruite uniquement autour de la fréquence  $2f_0$ . Cependant l'hypothèse que les ondes ultrasonores se propagent dans les tissus de façon linéaire s'est avérée invalide aux intensités utilisées actuellement. Ces intensités engendrent des distorsions dans l'onde acoustique lors de sa propagation dans le milieu [42]. Des composantes non linéaires sont générées (notamment la composante  $2f_0$ ) par les tissus et s'ajoutent à la composante non linéaire  $2f_0$  générée par les microbulles.

### 1.2.3 Imagerie sous-harmonique

L'une des premières études réalisées sur la génération de sous harmoniques par les bulles et celle d'Eller et Flynn [43]. Les auteurs ont observé une composante harmonique correspondant à la moitié de la fréquence d'excitation. Depuis, plusieurs études se sont focalisées sur la génération des sous harmoniques. Récemment Shi et al [44] ont démontré que l'apparition de la composante sous harmonique dépend de la pression d'excitation, de la fréquence émise et de la durée du signal. Il a été confirmé que le seuil de pression requis pour la génération du sous harmonique est minimal lorsque la fréquence d'excitation est égale à deux fois la fréquence de résonance [45].

Plus récemment, plusieurs études ont rapporté que la génération des sous harmoniques se produit également à faibles pressions acoustiques en raison du comportement « Compression-seule » des microbulles [46]. Ce comportement lié à un état de flambage de la coque, a été principalement décrit par une oscillation asymétrique de la microbulle. Cette asymétrie est

due à une forte compression de la bulle durant la phase de pression positive alors que son expansion reste faible durant la phase de pression négative.

L'étude de Sijl et al., et celle de Frinking et al [47] ont démontré une relation entre ce phénomène de « compression-seule » et la génération du sous-harmonique [38]. Ils ont ainsi démontré que la génération du sous-harmonique dépend de la tension de surface. La microbulle génère une composante sous-harmonique à partir d'une tension de surface nulle. Aussi, De Jong et al [48] ont démontré qu'à faibles pressions acoustiques (à partir de 48 kPa) les microbulles génèrent une composante sous-harmonique. Tout récemment, Faez et al [49] ont démontré que l'augmentation de la pression induit une augmentation de la fréquence de résonance du sous-harmonique jusqu'à 10% des bulles de diamètre inférieur à 3 $\mu$ m, cela s'explique par un durcissement de la paroi.

Depuis plusieurs années, cette composante non linéaire a été exploitée pour l'imagerie de contraste, afin de différencier les bulles des tissus. L'imagerie sous harmonique n'est pas sensible à la propagation non linéaire [50]. Forsberg et al [51] ont démontré l'intérêt de l'imagerie sous harmonique en reconstruisant l'image à partir de l'écho rétrodiffusé et filtré autour de  $f_0/2$ .

### 1.3 Imagerie moléculaire ultrasonore

#### 1.3.1 Agents de contraste ciblés

Contrairement aux agents de contraste classiques, des ligands (molécules se fixant sur un récepteur) spécifiques à certaines molécules surexprimées en surnombre sur le tissu pathologique sont intégrés à la paroi des microbulles. Une nouvelle fonction a été attribuée à la paroi.

L'une des liaisons les plus utilisées dans la fonctionnalisation des microbulles est l'affinité streptavidine-biotine. Cette stratégie de ciblage consiste alors à conjuguer des anticorps



biotinylés à de la streptavidine. La streptavidine étant incorporée à la coque de la microbulle, l'anticorps dont l'extrémité est biotinylé vient s'y lier (figure 1.3)[52].

L'une des premières études exploitant l'interaction avidine-biotine pour cibler les récepteurs moléculaires spécifiques contenus dans un modèle de thrombus de porc est celle de Lanza et al [53]. Le but de cette étude était le ciblage de la fibrine, l'une des protéines qui constitue le thrombus. Ce travail se résume en trois étapes. Dans un premier temps, des anticorps biotinylés anti-fibrine injectés se fixent à la fibrine exprimée au niveau du thrombus. Ensuite l'avidine ajoutée va se conjuguer aux anticorps anti-fibrine biotinylés. Et enfin, des microbulles constituées d'une paroi biotinylée qui permet leur fixation aux liaisons déjà préformées sont administrées. L'accumulation des microbulles fonctionnalisées sur le site d'intérêt produit une augmentation significative de sa réflectivité comparativement aux microbulles standards. Par la suite, l'étude *in vivo* présentée par Lindner et al [54] a démontré, grâce à la microscopie intravital, une accumulation des agents de contraste fonctionnalisés par leurs liaisons au niveau des régions ciblées. Contrairement aux microbulles non fonctionnalisées, une nette amélioration du contraste ultrasonore en provenance de la région ciblée a été constatée.

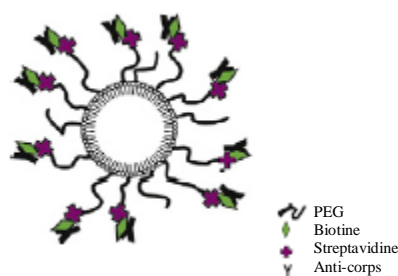


Figure 1.3 *Microbulle fonctionnalisée*[52]

Une nouvelle génération de microbulles ciblées (BR55) destinées à l'imagerie moléculaire humaine ciblant le récepteur du facteur de croissance VEGFR-2 a été développée par Bracco [55]. Cet agent de contraste est composé d'une mixture de perfluorobutane et nitrogène ( $C_4F_{10}N_2$ ) encapsulée dans une coque phospholipidique-PEG-peptide hétérodimère, avec une

taille des microbulles allant de 1 à 10  $\mu\text{m}$ . Contrairement aux agents de contraste avec une paroi en streptavidine, le peptide composant la paroi de ces microbulles est non toxique, en outre une faible immunogénicité est constatée. Cet agent de contraste a été utilisé dans l'étude de Frinking et al [56] sur un modèle d'adénocarcinome (tumeur maligne) de la prostate chez le rat. En appliquant des forces de radiation (force volumique qui se crée dans le milieu lors de la propagation d'une onde de compression par transfert de quantité de mouvement avec le milieu), la visualisation de la vascularisation tumorale s'est améliorée de 7 fois par rapport au signal rétrodiffusé par les microbulles sans application de forces de radiation.

Un autre agent de contraste (YSPSL-MB) a été développé pour un usage commercial [57], [58]. Un recombinant dimérique humain PSGL-1 est intégré à la surface de la paroi. Il est lié à la fois à la P- et E-sélectine pour détecter une lésion ischémique. Le tableau 2 représente un sommaire d'agents de contraste dédiés à l'imagerie moléculaire.

Nom	Fabricant	Liaisons	Ligands	Cibles	Applications possibles
<b>BR55</b>	Bracco	PEG-lipide	Peptide heterodimer	VEGFR2	Angiogenèse
<b>Micromarker</b>	Bracco	Streptavidine	Ligands biotinylés	Marqueurs de surfaces	Dépend du ligand
<b>Selectin agent</b>	Bracco	Streptavidine	PSGL-1 biotinylé	P et E sélectine	Maladies inflammatoires
<b>Targestar</b>	Targeson	Streptavidine	Ligands biotinylés	Marqueurs de surfaces	Dépend du ligand
<b>Visistar integrin</b>	Targeson	PEG-lipide	Peptide RGD	Integrine $\alpha_v B_3$	Angiogenèse
<b>Visistar VEGFR2</b>	Targeson	PEG-lipide		VEGF	Angiogenèse
<b>YSPSL-MB</b>	Oregon H&S University	PEG-lipide	PSGL-1	P et E sélectine	Ischémie cardiaque

Tableau 1.II Agents de contraste ciblés

### 1.3.2 Stratégie de ciblage

Le ciblage d'un agent de contraste sur un site d'intérêt spécifique peut être actif ou passif. L'une des façons de cibler passivement les sites inflammatoires [59] se repose sur l'adhérence des microbulles aux macrophages (cellules du système immunitaire), qui pourrait être indicatif de la présence de macrophages dans le tissu. Le ciblage actif a besoin d'un ligand tel un anticorps (e.g. P-Sélectine), des peptides ou des hydrates de carbone (e.g. Sialy Lewis<sup>x</sup>) qui peuvent être conjugués à différents types de surfaces d'agent de contraste servant de point d'attache pour ces ligands [60]. Les ligands peuvent être fixés soit indirectement, par liaison covalente (via des groupes réactifs) [61] ou non covalente (via l'interaction avidine-biotine)[53] ou directement via l'absorption de surface [62](figure 1.4).

Les microbulles ciblées ont été étudiées *in vitro* et *in vivo* pour le ciblage et l'imagerie des marqueurs impliqués dans les maladies d'inflammations, les maladies cardiaques et l'angiogénèse [52], [63–67].

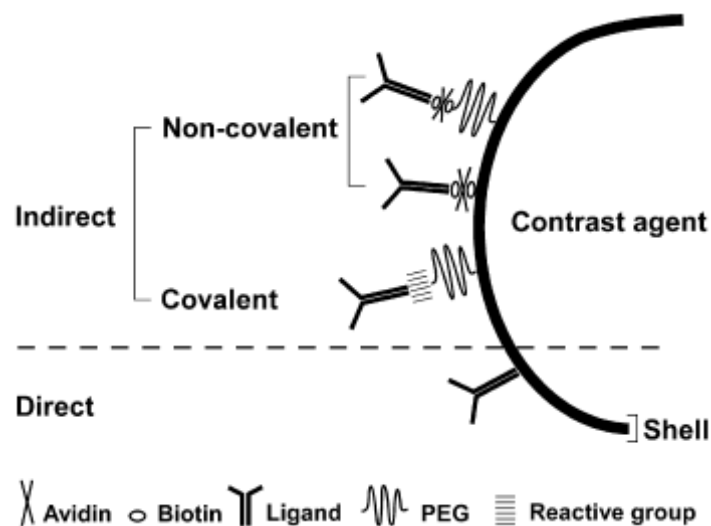


Figure 1.4 Méthode de ciblage actif des agents de contraste ultrasonores. Par moyens indirects, non covalente (par l'intermédiaire d'avidine-biotine) et covalente (par des groupes réactifs). Par moyens directs (par l'intermédiaire d'absorption de surface) pour attacher les ligands à des cibles spécifiques (par exemple, des anticorps) à la coque d'agent de contraste. Un bras flexible de polyéthylène glycol peut être incorporé pour étendre le bras du ligand et améliorer la capacité de la cible [68]

## 1.4 Les applications de l'imagerie moléculaire

Ces dernières années, l'imagerie moléculaire s'est basée essentiellement sur le ciblage des marqueurs moléculaires surexprimés lors du développement des maladies cardiaques [69] et des cancers. Elle exige des agents de contraste spécifiques, qui peuvent préférentiellement s'attacher à ces cibles et aider à les identifier. Dans cette section, cette approche de ciblage est développée essentiellement autour de l'athérosclérose et l'angiogenèse.

### 1.4.1 Le ciblage de l'athérosclérose

L'athérosclérose (formation de plaques lipidiques sur la paroi interne des artères) peut être la source de nombreux cas cliniques, l'infarctus du myocarde, l'angine de poitrine chronique, les AVCs et les maladies périphériques vasculaires (telles que l'obstruction des artères) [15].

Il a été démontré que les phases d'athérosclérose sont orchestrées par un processus d'inflammation caractérisé par la formation de plaques. La progression et la rupture de ces plaques sont régies par un processus moléculaire et cellulaire [11]. Lors du processus inflammatoire (figure 1.5), des marqueurs de surface cellulaires sont surexprimés par les cellules endothéliales de la paroi du vaisseau. Ce processus inflammatoire est contrôlé par plusieurs molécules de la famille des sélectines, telles que les P- et E-sélectines exprimées à la surface des cellules endothéliales, et des molécules d'adhésion intercellulaires telles que les molécules d'adhésion cellulaires vasculaires VCAM-1 [12], et intercellulaires ICAM-1 [61].

L'une des premières études *in vitro* exploitant l'une de ces molécules d'adhésion pour le ciblage de l'athérosclérose est celle de Villanueva et al [61]. Un anti-ICAM-1 a été intégré à la paroi des microbulles pour cibler l'ICAM-1 surexprimé par un modèle cellulaire perfusé d'artère coronaire. Cette étude a démontré que le ciblage de l'ICAM-1 améliore largement le signal en provenance de la région ciblée.

Une autre étude de ciblage du VCAM-1[63] a permis de quantifier les modifications inflammatoires vasculaires qui se produisent à différents stades de l'athérosclérose.

Dans une étude *in vitro* et *in vivo* [70] un autre récepteur a été exploité, le CD81, pour sa surexpression dans la formation primaire de la plaque athérosclérotique [71]. Il a été démontré que l'accumulation des bulles sur l'endothélium vasculaire peut fournir la détection précoce des plaques athérosclérotiques.

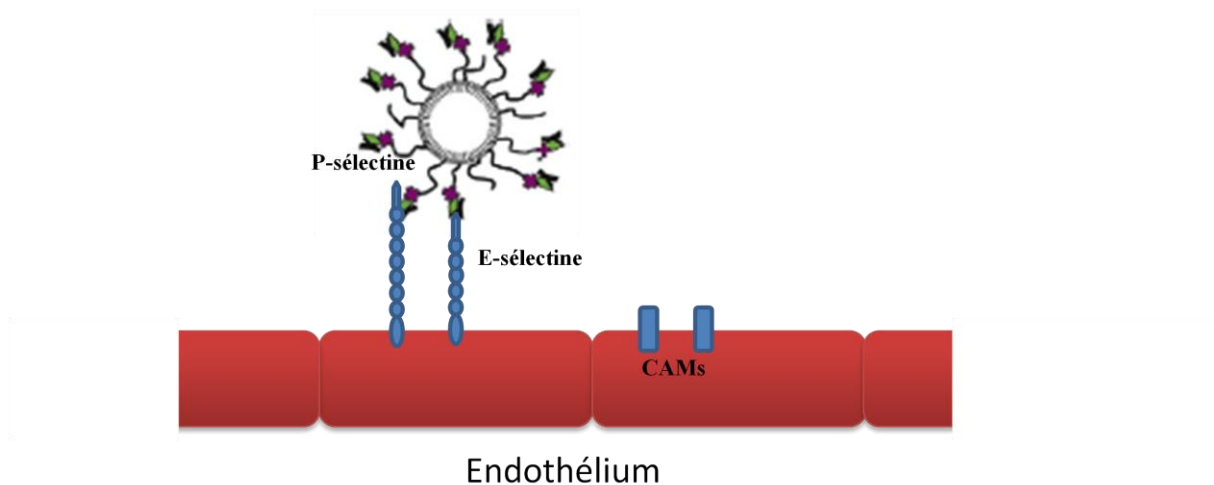


Figure 1.5 Ciblage de l'athérosclérose [11]

### 1.4.2 Le ciblage de l'angiogenèse

Le développement et la progression des tumeurs sont associés à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, à partir de vaisseaux préexistants. Ce processus est appelé angiogenèse [72]. Le phénotype des cellules de l'endothélium vasculaire change en réponse à des activateurs de molécules angiogéniques. Des protéines sont surexprimées par rapport à l'endothélium vasculaire au repos. Plusieurs types de molécules surexprimées au niveau de l'endothélium vasculaire sont considérés et sont résumés dans ce qui suit:

### **Le VEGFR-2**

L'une des principales molécules connue pour contrôler le processus angiogénique est le facteur de croissance endothéliale vasculaire VEGF-A, qui est surexprimé par des cellules cancéreuses et qui agit part l'intermédiaire des récepteurs VEGF-1 et VEGF-2 exprimés sur l'endothélium vasculaire (figure1.6).

Dans leur étude, Holmes et al [10] ont constaté que l'expression du VEGFR-2 est de 3 à 5 fois plus élevée dans la vascularisation de gliomes (tumeurs cérébrales), que dans le système vasculaire sain. De ce fait, l'imagerie avec les agents ciblés peut être utilisée pour objectiver l'expression du VEGFR [73–75]. L'approche la plus utilisée pour le ciblage des microbulles de VEGFR-2, se fait en conjuguant l'anticorps anti-VEGFR-2 à la coque de la microbulle. L'utilisation de telles microbulles (BR55), induit une augmentation de l'intensité du signal rétrodiffusé de 3 à 4 fois par rapport à la réflectivité de microbulles non fonctionnalisées dans un modèle d'angiosarcome (tumeur des artères) et de gliome [73]. Par ailleurs l'examen échographique peut ainsi être prolongé, car une plus longue durée de vie des microbulles est constatée [76].

Pysz et al [77] ont étudié la spécificité de microbulles ciblées de VEGFR-2, en les administrant à un modèle xéno greffes (injection sous cutané de cellules humaines du cancer chez le petit animal) du cancer du côlon. Le signal rétrodiffusé a été amélioré par rapport à l'administration du même agent de contraste sans anti-VEGFR-2.

Dans une autre étude *in vivo* et *in vitro* [78], le ciblage spécifique du VEGFR-2 a été combiné à la vascularisation. Après injection de microbulles ciblant le VEGFR-2, l'intensité du signal a augmenté de 20 fois dans des tumeurs xéno greffes par rapport au tissu musculaire. Dans la même étude, il a été observé que l'intensité du signal rétrodiffusé s'est améliorée de 2,5 fois pour un modèle très vascularisé (modèle agressif de cellules humaines du cancer du sein

(MDA-MB-231)) par rapport à un modèle peu vascularisé (cellules humaines du cancer du sein MCF-7).

Les performances réalisées *in vivo*, ont aboutie à des essais cliniques. Sur 12 patients atteints de cancer de la prostate, Wijkstra et al [17] ont démontré que les microbulles ciblées de VEGFR-2 améliorent la localisation et la détection du cancer de la prostate.

### **Les intégrines**

Les intégrines sont des récepteurs d'adhésion cellulaire (protéines transmembranaires) (figure1.6). Les récepteurs des intégrines jouent un rôle dans l'adhésion des cellules endothéliales à la matrice extracellulaire au cours de l'angiogenèse. Parmi eux, le récepteur de l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  surexprimé par les tumeurs associées l'endothélium vasculaire [13].

Le ciblage du récepteur  $\alpha_v\beta_3$  est une approche qui a été largement utilisée dans le développement des agents de contraste ciblés. La première étude préclinique exploitant les microbulles ciblant le récepteur  $\alpha_v\beta_3$  a été réalisée par Leong et al [6]. Dans cette étude, il a été montré que l'intensité du signal rétrodiffusé par les microbulles conjuguées à l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  corrélait à la fois à la surexpression de l'intégrine et à la vascularisation sanguine tumoral. Ces résultats ont été également confirmés par la suite par Ellegala et al [79].

### **Les marqueurs inflammatoires**

L'inflammation étant souvent associée au cancer, l'agent de contraste ultrasonore ciblant les marqueurs inflammatoires peut être pertinent pour l'amélioration de l'imagerie du cancer. Cela a été démontré dans le cas d'une molécule d'adhésion intercellulaire (ICAM-1), qui a été associé à des cellules endothéliales activées lors du processus angiogénique [80]. Dans une étude [81], d'un modèle sous-cutané du cancer de la prostate chez le rat, il a été démontré que l'accumulation spécifique de microbulles ciblant l'ICAM-1 était similaire à celle de microbulles ciblant l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  (figure1.6). Dans une autre étude, il a été démontré que l'utilisation du triple ciblage de microbulles (microbulles d'avidine-biotine liées à un anti-

$\alpha_v\beta_3$ , P-Sélectine et VEGFR-2 injectées à un xéno greffes du cancer du sein) améliore le signal rétrodiffusé par rapport au double ciblage du VEGFR et l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  [82]. Les microbulles de ciblage des molécules d'adhésion P-sélectine pourraient donc potentiellement être des outils utiles pour évaluer la composante inflammatoire des tumeurs.

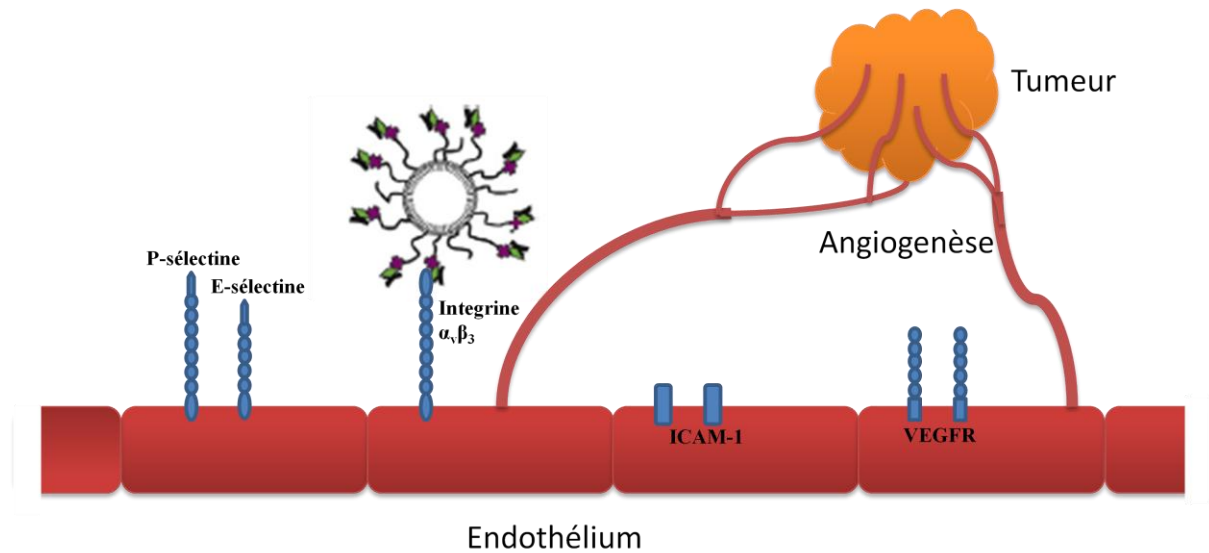


Figure 1.6 Ciblage de l'angiogenèse[82]

## 1.5 L'adhérence des agents de contraste sous la contrainte de cisaillement

Les performances de l'imagerie de contraste ciblée impliquent principalement le taux d'adhérence des microbulles aux sites ciblés. Des études d'adhérence d'agent de contraste *in vitro* [63], [65], [83–86] et *in vivo* [53], [54], [63], [64], [85], [87] ont été principalement réalisées sous les conditions d'écoulement. Le taux d'adhérence et de détachement a été corrélé à plusieurs paramètres tels que la vitesse d'écoulement (figure 1.7)[88–91], le taux de cisaillement [61], [92–94] et la contrainte de cisaillement [63], [65], [83–86].



### Contrainte de cisaillement

L'endothélium des artères subit sous l'effet de la vitesse du flux sanguin, une contrainte de cisaillement de la part des composantes présentes à l'intérieur des vaisseaux sanguins. Cette contrainte, qui représente le rapport de la force de cisaillement par unité de surface, tend à déplacer les cellules de l'endothélium dans le sens de la direction du flux artériel. La contrainte de cisaillement est donnée par :

$$\delta_{cisaillement} = \frac{4\eta\Phi}{\pi r_0^2} \quad (1.3)$$

où  $\eta$  représente la viscosité dynamique,  $\Phi$  le flux artériel, et  $r_0$  le rayon moyen de l'artère. Cependant, il est nécessaire de garder à l'esprit que cette contrainte évolue au cours du cycle cardiaque et que sa direction peut s'inverser.

La contrainte de cisaillement de la paroi, peut être aussi estimée comme le produit du taux de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ ) de la paroi et la viscosité du sang ( $\eta$ )  $\delta_{cisaillement} = \dot{\gamma} \cdot \eta$ . Le taux de cisaillement de la paroi étant défini comme la dérivée radiale de distribution de la vitesse d'écoulement du sang sur le diamètre de la paroi [95].

$$\dot{\gamma} = \frac{v_{max}}{d} \quad (1.4)$$

Où,  $v$  est la vitesse maximale du flux et  $d$  est le diamètre interne de l'artère.

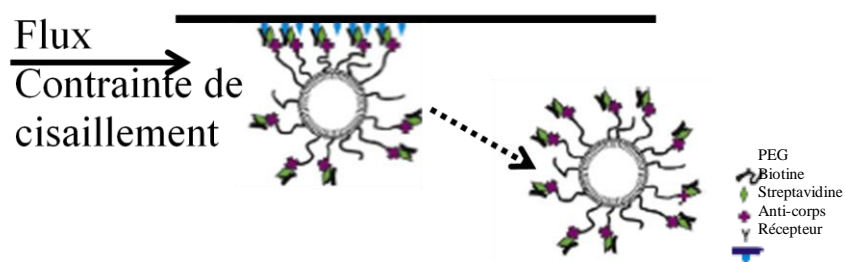


Figure 1.7 Adhérence et détachement d'une microbulle sous la contrainte de cisaillement

La plupart des études d'adhérence des microbulles ont montré que les bulles ciblées sont en mesure d'adhérer mais avec de faibles contraintes de cisaillement, et que le taux d'adhérence diminue avec l'augmentation de la contrainte de cisaillement [52], [63–65], [86], [92], [94]. Plus précisément, ces études ont montré que l'adhésion a été atteinte par un faible taux de microbulles (max 10% du flux de microbulles total) avec des contraintes de cisaillement allant de 0.02 à 0.5 Pa, ce qui est loin de la valeur moyenne de 1.2 Pa dans l'artère carotide commune humaine [95], [96]. Une seule de ces études *in vitro* a montré la capacité d'adhérence des microbulles avec des contraintes de cisaillement élevées de 0.8 et 1.2 Pa, mais le taux d'adhérence était assez faible [63].

Bien que ces études aient été prometteuses, certains défis demeurent importants en imagerie moléculaire par ultrasons. Le premier problème estimé est la faible efficacité de ciblage. Cependant, cette efficacité du ciblage peut être considérablement augmentée avec l'application de la force de radiation [92], [97].

### 1.6 Techniques de détection de microbulles ciblées

L'une des premières techniques destinées à la détection de microbulles ciblées a été proposée par Kruse et al [98]. Cette technique est basée sur une combinaison de filtres afin d'éliminer les signaux des tissus et des microbulles non attachées. Dans cette étude, une série de forces de radiation (elles poussent les microbulles vers les parois) est appliquée pour renforcer l'attachement des microbulles ciblées. Par la suite, un filtre passe haut est appliqué aux images acquises en mode B afin d'éliminer les signaux en provenance des tissus (le filtre passe haut est utilisé pour rejeter les structures immobiles ou se déplaçant lentement comme les tissus). Ce processus est ensuite suivi par un filtre passe bas (le filtre passe bas est utilisé pour rejeter le signal des structures mobiles comme les microbulles non attachées) afin de rejeter le signal des microbulles non attachées et conserver le signal des bulles attachées. Cependant, le principal inconvénient de cette technique est la suppression du signal

fondamental généré par les bulles attachées au cours de l'application du premier filtrage passe haut, conduisant à un affaiblissement du signal des bulles attachées.

Une autre étude [99] basée sur le même principe de filtrage utilisé par Kruse et al a suivi. Cependant après l'acquisition des images contenant le signal des bulles non attachées et du tissu, des forces de radiation sont appliquées afin de renforcer l'attachement des microbulles. Un processus de soustraction d'images a permis d'obtenir une image contenant le signal des bulles attachées. Néanmoins, la principale limitation de cette technique est sa performance dans le cas du mouvement des tissus, car elle est fondée sur le principe de soustraction.

Par la suite, Hu et al [100] ont proposé une méthode qui a aussi permis la séparation des échos des bulles attachées de ceux des bulles libres et des tissus. Leur mode d'imagerie non linéaire est basé sur une transmission d'impulsions à une basse fréquence et une réception à haute fréquence (TLRH). Cette technique s'appuie sur la détection des harmoniques d'ordre supérieurs à partir des signaux des bulles, et supprime les harmoniques non linéaires des tissus. Une série de forces de radiations est appliquée afin d'augmenter le taux d'adhérence des microbulles. Une fois les images acquises, un filtre passe haut et passe bas sont appliqués pour éliminer le signal du tissu et des microbulles libres.

Christiansen et al [101] ont proposé une méthode d'imagerie temporelle qui consiste à attendre l'épure des bulles non attachées avant d'acquérir les échos de celles qui sont attachées. Toutefois, le signal généré par les tissus obscurcit les échos des microbulles attachées, et le temps d'attente nécessaire pour la disparition des bulles non attachées est de 10 mn. Cependant ce temps d'attente engendre le détachement des microbulles sous l'effet de la contrainte de cisaillement, ce qui réduit davantage l'intensité du signal rétrodiffusé.



## **Chapitre 2      Comportement dynamique d'un agent de contraste à proximité d'une paroi rigide**

### 2.1 Introduction

Les modèles décrivant la réponse d'un agent de contraste à une excitation ultrasonore ont aidé à comprendre l'interaction ultrasons-bulles, et à interpréter les phénomènes d'oscillations par lesquels passe la microbulle. Rayleigh [102] a été l'un des premiers à avoir présenté un modèle simplifié en étudiant une cavité sphérique dans un liquide incompressible. Plesset [103] a modélisé une bulle de vapeur soumise à une pression acoustique en prenant en compte la tension de surface. Par la suite, l'intégration de la viscosité du milieu conduit au modèle Rayleigh-Plesset [104]. Une autre modélisation est alors apparue, telle que celle de Keller et Miksis [105] qui tient compte de l'amortissement induit par le rayonnement de la bulle.

De Jong [106] a proposé l'un des premiers modèles de microbulles encapsulées en introduisant les paramètres élastiques de la paroi des microbulles d'Albunex. Un peu plus tard, Church [107] a présenté un modèle assez similaire de celui de De Jong. Il a utilisé une généralisation du modèle de Rayleigh-Plesset en introduisant l'épaisseur de la paroi et les propriétés viscoélastiques ainsi que le module de cisaillement.

Hoff et al [108], se basant sur le modèle de Church ont proposé un modèle simplifié pour déterminer les paramètres viscoélastiques de la coque d'un agent de contraste produit par Nycomed. Par ailleurs, Morgan et al [109] ont étudié un agent de contraste phospholipidique. Ils ont utilisé des séquences d'images de vibrations de microbulles pour déterminer les valeurs des paramètres élastiques de la coque.

En 2005, Marmottant et al [46] ont proposé un modèle dynamique, où l'élasticité de la coque de la microbulle varie entre différents régimes (flambage, élastique, rupture). Ce modèle est capable de prévoir le comportement non linéaire « compression seule » de la microbulle.

Au contact d'une paroi, le comportement dynamique d'un agent de contraste est différent du comportement dynamique d'un agent de contraste libre. Pour pouvoir différencier une microbulle oscillante près d'une paroi d'une autre circulant librement, quelques études ont été réalisées ces dernières années.

Shima et Tomina [110] ont développé un modèle qui décrit l'effet d'une paroi rigide sur l'oscillation radiale d'une bulle non encapsulée. Ils ont exploité l'hypothèse que l'interaction d'une bulle avec une paroi rigide est équivalente à l'interaction entre deux bulles de même taille et en phase [111], [112]. En utilisant la même hypothèse, Strasberg [113] a montré que la fréquence de résonance d'une bulle diminue à proximité d'une paroi rigide. La présence d'une paroi rigide est équivalente à la présence d'une bulle miroir en phase avec la bulle réelle [114]. On peut dire que la présence de la bulle miroir augmente la masse effective d'inertie de la bulle réelle et diminue donc sa fréquence naturelle. La prédiction théorique de la faible résonance d'une bulle proche d'une paroi rigide par rapport aux mêmes bulles dans un liquide infini a été ensuite confirmée expérimentalement par plusieurs auteurs [115–118].

Dans une autre étude, Doinikov et al [119], ont démontré que le signal rétrodiffusé par les microbulles adhérentes était plus intense que celui des microbulles libres. D'autres modèles ont été développés par la suite, notamment, pour modéliser une microbulle oscillante près d'une paroi élastique [120], ainsi qu'une microbulle attachée à une paroi [121]. Ces modèles sont présentés dans les chapitres 4 et 6.

Dans ce chapitre nous allons mettre en évidence l'avantage d'utiliser le modèle de Marmottant pour modéliser une microbulle encapsulée oscillante à proximité d'une paroi rigide et différencier son signal de celui d'une microbulle libre.

## 2.2 Modèles d'agent de contraste

### 2.2.1 Modèle de De Jong

De Jong [106] est l'un des premiers à avoir proposé un modèle de bulle encapsulée. Le modèle décrit la vibration de la microbulle par une équation de mouvement d'une bulle de gaz dans un liquide. L'encapsulation de la coque est définie par deux paramètres : l'élasticité  $\chi$  et la viscosité  $\kappa_s$ .

$$\rho_l \left( R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 \right) = \left[ P_0 + \frac{2\sigma_w}{R_0} \right] \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} \left( 1 - \frac{3k}{c} \dot{R} \right) - \frac{2\sigma_w}{R} - 4\chi \left( \frac{1}{R_0} - \frac{1}{R} \right) - \frac{4\eta\dot{R}}{R} - \frac{4\kappa_s\dot{R}}{R^2} - (P_0 + P_{ac}(t)) \quad (2.1)$$

$\rho_l$  est la densité du liquide environnant,  $R_0$  le rayon initial de la bulle,  $R$  le rayon de la bulle à l'instant  $t$ ,  $\dot{R}$  la dérivée temporelle de  $R$ ,  $\ddot{R}$  la dérivée temporelle seconde de  $R$ ,  $P_0$  la pression hydrostatique de l'eau,  $\sigma_w$  la tension de surface de l'eau,  $\kappa$  l'exposant polytropique du gaz,  $\eta$  la viscosité du milieu et  $P_{ac}(t)$  la pression ultrasonore appliquée sur la bulle à l'instant  $t$ .

### 2.2.2 Modèle de Marmottant

Jusqu'ici, la tension de surface  $\sigma$  avec une valeur constante caractérisait l'interface considérée ( $\sigma_w=0.072$  N/m pour l'interface air/eau). Cependant, Marmottant et al [46] ont proposé un modèle qui permet de prendre en compte l'évolution de la tension de surface exercée sur la bulle en fonction de son rayon.

Il a été observé que la tension de surface variait au cours des oscillations radiales de la microbulles. Lors de la compression, au dessus d'une valeur seuil  $R_{flambage}$ , on observe un flambage de la couche phospholipidique de la microbulle encapsulée. La tension de surface tend alors vers zéro. Inversement lors de l'expansion, la microbulle adopte un comportement élastique ce qui fait élargir la couche phospholipidique, et accroître la tension de surface.

L'équation du mouvement de la microbulle décrite par Marmottant est donnée par l'expression suivante :

$$\rho_l \left( R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 \right) = \left[ P_0 + \frac{2\sigma(R_0)}{R_0} \right] \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} \left( 1 - \frac{3k}{c}\dot{R} \right) - \frac{2\sigma(R)}{R} - \frac{4\eta\dot{R}}{R} - \frac{4k_S\dot{R}}{R^2} - (P_0 + P_{ac}(t)) \quad (2.2)$$

La différence entre ce modèle et celui de de Jong est la variation de la tension de surface  $\sigma(R)$  qui dépend des l'oscillations radiales de la microbulle. Selon la pression appliquée la microbulle emprunte trois régime en fonction de sa taille : flambage, élastique et cassure.

$$\sigma(R) = \begin{cases} 0 & R \leq R_{flambage} \\ \chi \left( \frac{R^2}{R_{flambage}^2} - 1 \right) & R_{flambage} \leq R \leq R_{cassure} \\ \sigma_w & R \geq R_{rupture} \end{cases} \quad (2.3)$$

$R_{flambage}$  : est défini comme inférieur ou égal au rayon initial  $R_0$ .

$R_{cassure}$  : est le rayon pour lequel la coque se brise, cependant les molécules phospholipidiques restent localisées sur la surface de la bulle. Lorsque la taille de la bulle diminue, il est alors possible aux molécules de se recombier.

$R_{rupture}$  : est le rayon pour lequel la coque va rompre. Une partie de la surface du gaz sera alors en contact direct avec le milieu environnant et la tension de surface devient constante et égale à celle de l'eau  $\sigma_w$ .

Le modèle de Marmottant a été modifié par Overvelde et al [34] en définissant  $R_{flambage} =$

$$R_0 / \sqrt{\frac{\sigma(R_0)}{\chi} + 1} \text{ en fonction de la tension de surface, et } R_{cassure} = R_{flambage} \sqrt{\frac{\sigma_w}{\chi} + 1}.$$



## 2.3 Le comportement d'un agent de contraste à proximité d'une paroi rigide

Dans notre étude et afin de caractériser une microbulle proche d'une paroi rigide, nous avons exploité la théorie utilisée dans l'étude de Doinikov et al [122]. L'interaction d'une bulle avec une paroi rigide est équivalente à l'interaction entre deux bulles de même taille. Par conséquent; nous allons dans un premier temps établir les équations de mouvement radial pour deux bulles encapsulées; et, ensuite les appliquer au cas d'une bulle à proximité d'une paroi.

### 2.3.1 Equation de mouvement de deux bulles côte à côte

Lorsque deux bulles proches sont en mouvement vibratoire, elles exercent l'une sur l'autre une force d'attraction (seconde force de Bjerknes). Cette force est prise en compte dans la description du mouvement radial pour chacune des bulles [123], [124].

Le mouvement radial des deux bulles est donné par :

$$R_\alpha \ddot{R}_\alpha + \frac{3}{2} \dot{R}_\alpha^2 = \frac{P_\alpha}{\rho_l} + T_\alpha, \quad (2.4)$$

$$R_\beta \ddot{R}_\beta + \frac{3}{2} \dot{R}_\beta^2 = \frac{P_\beta}{\rho_l} + T_\beta, \quad (2.5)$$

Où  $R_\alpha$  est le rayon de la première bulle  $\alpha$ , et  $R_\beta$  est le rayon de la deuxième bulle  $\beta$ , et  $P_\alpha$  et  $P_\beta$  sont décrits par l'équation (2.1) et (2.2). Le terme  $T_\alpha$  décrit l'effet du voisinage de la bulle  $\beta$ , sur les oscillations de la bulle  $\alpha$ , qui est décrit par :

$$T_\alpha = -\left(R_\beta \ddot{R}_\beta + 2\dot{R}_\beta^2\right) \frac{R_\beta}{d} \quad (2.6)$$

$$T_\alpha = T_\beta$$

Avec  $d$  la distance entre les centres des deux bulles.

### 2.3.2 Microbulle à proximité d'une paroi

La modélisation d'une paroi rigide est basée sur la méthode de la bulle image. La présence d'une bulle miroir est équivalente à la présence d'une paroi rigide. L'équation du mouvement d'une bulle à proximité d'une paroi rigide peut être obtenue à partir du système de deux bulles, en supposant que les deux bulles sont identiques, et vibrent en phase. Ainsi l'équation du mouvement d'une bulle poche d'une paroi rigide peut être obtenue avec les équations (2.4) et (2.6). Nous allons supposer que la bulle réelle est la bulle  $\alpha$  et remplacer son rayon par  $R$ . Par conséquent, l'équation du mouvement radial pour une bulle proche d'une paroi rigide peut s'écrire:

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = P - (R\ddot{R} + 2\dot{R}^2)\frac{R}{2x} \quad (2.7)$$

Où  $x=R_0$  est la distance entre le centre de la bulle et la paroi, et  $P$  est donné par ((2.1) et (2.2)).

La pression rétrodiffusée par la bulle proche de la paroi s'écrit :

$$P_{scat} = \rho_l(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)\left(\frac{1}{L_1} + \frac{1}{L_2}\right) \quad (2.8)$$

où  $L_1$  est la distance entre le centre de la bulle réelle et le point d'observation et  $L_2$  est la distance entre le centre de la bulle imaginaire et le point d'observation. En supposant que la distance entre la bulle réelle et le point d'observation est grande par rapport à la distance entre la bulle et la paroi, la pression rétrodiffusée à la distance  $L = L_1$  peut être représentée comme :

$$P_{scat} = 2\rho_l(R\ddot{R} + 2\dot{R}^2)\left(\frac{R}{L}\right) \quad (2.9)$$

Cette équation montre que la pression rétrodiffusée met en hypothèse deux bulles identiques en oscillations au même point de l'espace. Cependant, cela ne signifie pas que la pression rétrodiffusée par une bulle proche de la paroi est deux fois plus importante que la pression

rétrodiffusée par la même bulle dans un milieu infini. L'oscillation de la bulle est affectée par la paroi.

Les paramètres élastiques de la paroi des microbulles sont ceux définis par [34],  $\chi=2.5\text{N/m}$ ,  $\kappa_s=6.10^{-9}\text{kg/s}$ ,  $\sigma(R_0)=0.02\text{N/m}$ .

Les propriétés du milieu sont  $\rho_l=1000\text{ kg/m}^3$ ,  $\eta=0.001\text{Pa.s}$ ,  $c=1480\text{ m/s}$ ,  $\kappa=1.095$ ,  $P_0=101.3\text{ Pa}$ ,  $L=0.01\text{m}$ .

## 2.4 Résultats et discussion

Pour étudier une microbulle proche d'une paroi, des simulations ont été réalisées en résolvant l'équation (2.7). Des microbulles de  $(0.5-5)\ \mu\text{m}$  insonifiées à une fréquence de  $2\text{ MHz}$ ,  $8$  cycles ont été considérées. La réponse acoustique a été obtenue pour une pression incidente de  $210\text{ kPa}$  (figure 2.1).

L'écho rétrodiffusé (voir figure 2.2) par une bulle de  $2\ \mu\text{m}$  en utilisant les deux modèles (de Jong (2.1) et Marmottant (2.2)) montre une différence d'amplitude de plus de  $250\text{ Pa}$  entre les deux modèles, cette différence est régie par les termes qui dépendent de la variation de la tension de surface du modèle de Marmottant.

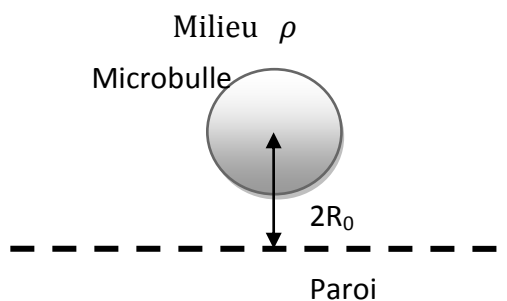


Figure 2.1 *Modèle d'une microbulle de contraste proche d'une paroi rigide*

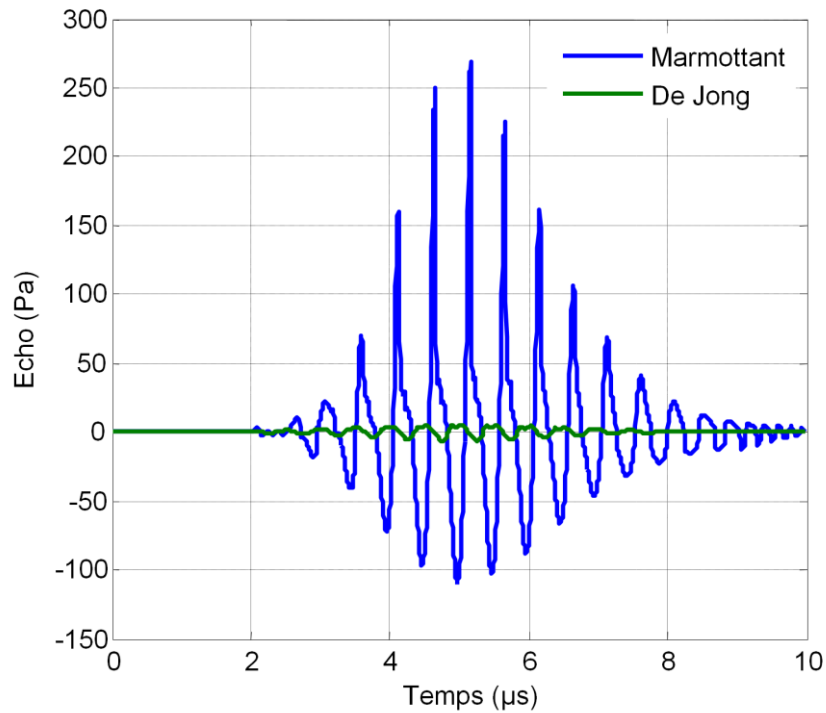


Figure 2.2 Echo d'une microbulle de  $2\mu\text{m}$  soumise à une excitation de pression 210 kPa, fréquence 2MHz prédit par le (-) Modèle de Marmottant (-) le Modèle de de Jong

La figure 2.3 représente l'énergie de la composante fondamentale de l'écho calculé avec les deux modèles pour différentes tailles de bulles. Elle montre une différence de résonance pour les deux modèles. D'après Overvelde et al [34], lorsqu'une bulle est dans un régime élastique, sa fréquence de résonance dépend de la pression appliquée. Ainsi, lorsque la pression augmente la fréquence de résonance diminue. Cependant, lorsqu'une bulle est dans un régime linéaire (modèle de De Jong), sa fréquence de résonance est indépendante de la pression appliquée (voir annexe 1).

Un autre paramètre explique cette différence entre les deux modèles : l'effet de la tension de surface, qui dépend de la variation du rayon de la bulle. Dans le modèle de De Jong ce phénomène est négligé. La tension de surface est constante.

Pour les bulles entre  $0.5$  et  $3.5 \mu\text{m}$ , avec le modèle de Marmottant, les microbulles génèrent plus d'énergie qu'avec le modèle de de Jong (figure 2.3). Ceci s'explique par un changement

de fréquence de résonance. La fréquence appliquée est plus proche de la fréquence de résonance pour les bulles considérées. Le contraire est observé avec le modèle de de Jong. Ce sont les grandes bulles qui sont le plus sensibles à cette fréquence.

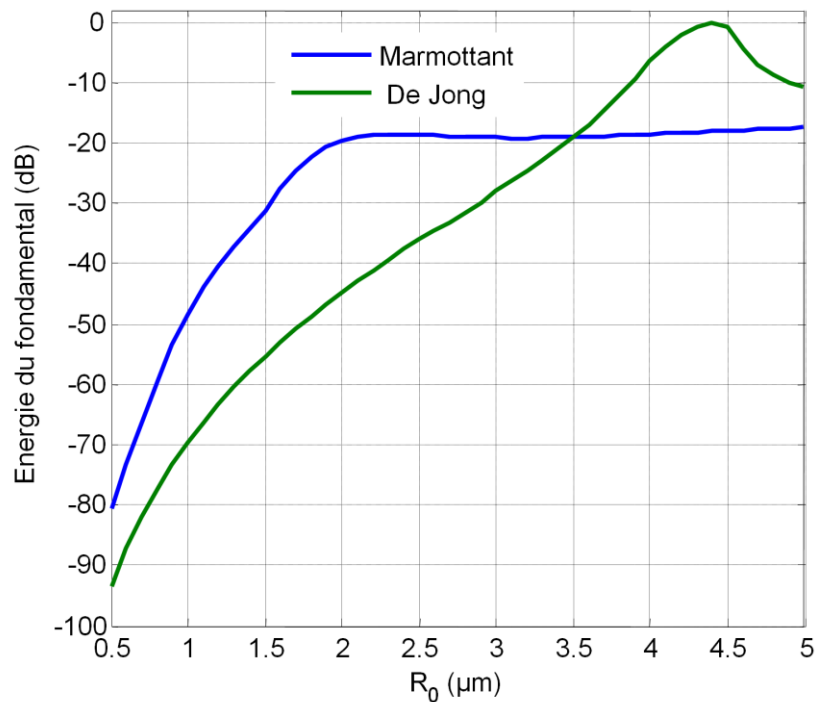


Figure 2.3 Energie de l'écho rétrodiffusé en fonction de la taille des bulles, pression 210 kPa, fréquence 2MHz (-) Modèle de Marmottant (-) Modèle de de Jong

Après avoir identifié le modèle le plus approprié en démontrant qu'avec le modèle Marmottant l'énergie rétrodiffusé par les microbulles est plus importante qu'avec le modèle de de Jong (figure 2.3). Pour représenter un agent de contraste, nous avons adapté le modèle de Marmottant pour décrire une paroi rigide.

Pour simuler un agent de contraste près d'une paroi, nous avons dérivé l'équation (2.7) de l'oscillation radiale de la microbulle.

Les résultats basés sur la modèle de Marmottant sont présentés dans les figures 2.3-2.5.

L'analyse de la figure 2.4 révèle une énergie de la composante fondamentale des microbulles proches d'une paroi rigide plus importante que celles des microbulles dans un milieu infini. L'interaction des microbulles avec la paroi a tendance à augmenter l'énergie de la composante fondamentale de 4 à 6 dB en comparaison aux bulles libres. Ce résultat est en accord avec les observations expérimentales de Zhao et al [125]. On peut dire que la présence de la paroi augmente la masse effective d'inertie de la bulle réelle et diminue donc sa fréquence de résonance comme décrit par Maksimov [114].

Cela suggère que l'augmentation de la composante fondamentale des bulles proches d'une paroi peut être exploitée pour distinguer leur écho de l'écho rétrodiffusé par des bulles circulant librement.

Dans la figure 2.5, on constate une augmentation de la composante harmonique en raison de l'interaction avec la paroi. Cependant, pour les bulles entre 2 et  $3\mu\text{m}$  un effet inverse est constaté, ceci s'explique par un changement de fréquence de résonance. En effet, la paroi modifie la fréquence de résonance des bulles, elle est inférieure à celle des bulles libres pour les tailles étudiées.

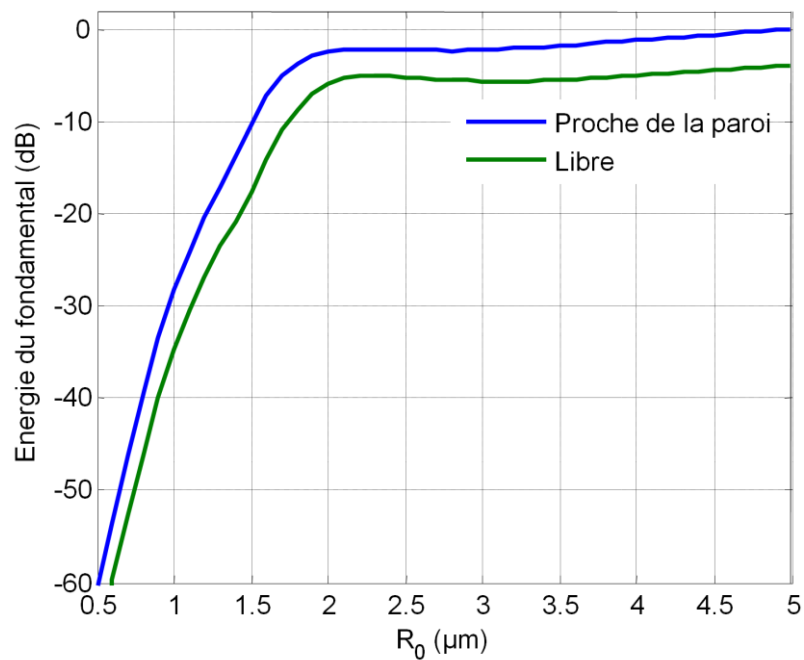


Figure 2.4 Energie de l'écho rétrodiffusé à la fréquence fondamentale en fonction de la taille des bulles pour une excitation de pression 210 kPa, fréquence 2MHz (-) Bulles proches de la paroi (-) bulles libres

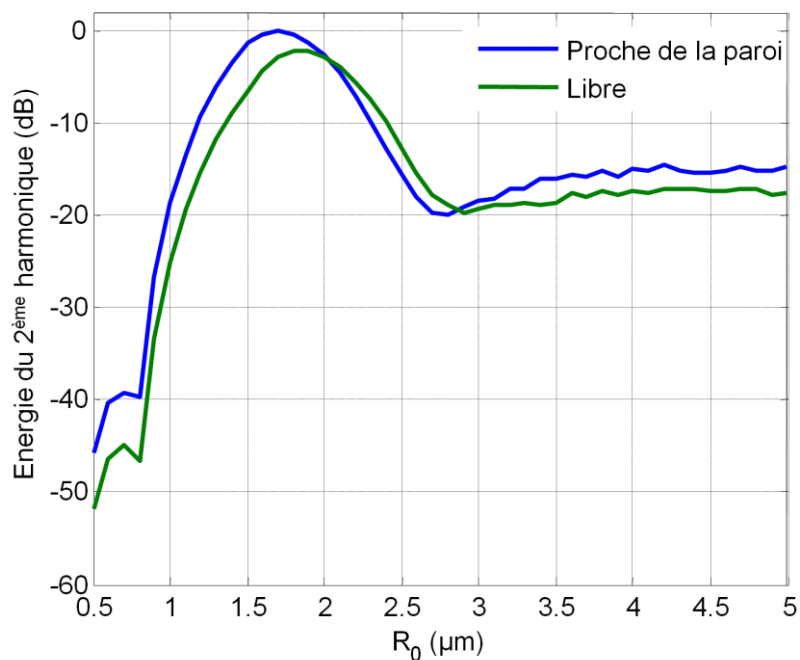


Figure 2.5 Energie de l'écho rétrodiffusé à la fréquence harmonique en fonction de la taille des bulles pour une excitation de pression 210 kPa, fréquence 2MHz (-) Bulles proches de la paroi (-) bulles libres

La figure 2.6 représente la différence d'amplitude des composantes fondamentale et harmonique entre les bulles proches de la paroi et les bulles libres. On constate que cette différence est plus importante pour les petites bulles qui sont plus sensibles à la proximité de la paroi.

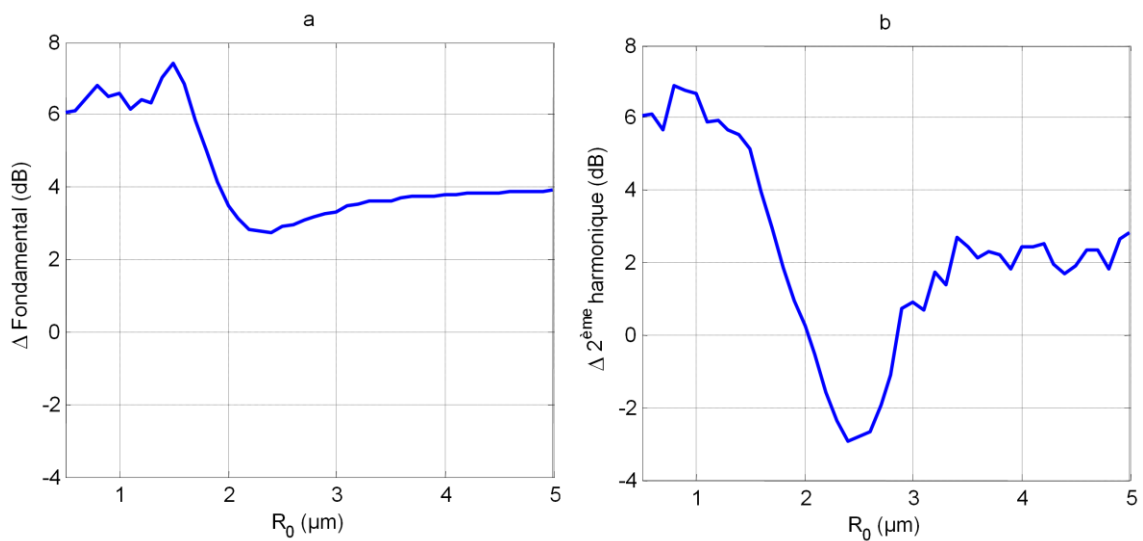


Figure 2.6 *Differences d'amplitude entre les bulles à proximité de la paroi et libres (a) fondamentale (b) deuxième harmonique*



## 2.5 Conclusions et perspectives

Dans cette étude, nous avons montré que pour différencier les bulles proches d'une paroi des bulles libres, il est nécessaire de choisir le modèle adéquat afin d'optimiser l'énergie rétrodiffusée par les bulles. Le modèle de Marmottant est celui qui convient le mieux pour prendre en compte le phénomène de compression. Son utilisation rapproche des réalités expérimentales.

A la fréquence étudiée, la différence des amplitudes du fondamental et harmonique est plus importante pour les bulles entre  $0.5-1.5\mu\text{m}$ . Les petites bulles sont plus sensibles à la présence de la paroi.

Etudier le comportement dynamique de microbulles proches d'une paroi avec le modèle d'une paroi rigide permet de les différencier des microbulles oscillantes dans un milieu infini. Ce modèle n'est toutefois pas le modèle le plus représentatif d'une bulle proche d'une paroi. Ce modèle se base sur l'hypothèse que l'épaisseur de la paroi est infinie. Cette hypothèse est valable si une action locale de la bulle sur la paroi est d'un intérêt majeur. Par contre, dans le cas d'imagerie ciblée, l'écho rétrodiffusé dans le champ lointain est d'un intérêt primordial. L'épaisseur de la paroi d'un vaisseau sanguin est grande par rapport à la taille d'une microbulle, mais elle est beaucoup plus petite que la distance où l'écho rétrodiffusé est mesuré. Pour cette raison, l'épaisseur d'une paroi du vaisseau sanguin ne peut pas être considéré comme infinie. En outre, dans nos futures études il est important de développer un modèle avec une paroi finie, tenant compte de ses paramètres mécaniques. Ce travail est présenté dans les prochains chapitres.



## **Chapitre 3 Réponse acoustique d'une bulle proche d'une couche de fluide de densité et d'épaisseur finies**

### 3.1 Introduction

Depuis plusieurs années, l'intérêt d'étudier la dynamique d'une bulle proche d'une surface a été principalement consacré aux problèmes de cavitation sur des surfaces solides [126–129]. Cependant les études théoriques qui ont traité le problème bulle-surface n'ont pas été aussi nombreuses que ceux des études expérimentales et numériques [111–113], [118], [130]. Dans ces travaux, l'effet d'une paroi rigide sur la fréquence de résonance d'une bulle a été étudié. L'hypothèse sur laquelle se sont reposées ces études pour comprendre l'interaction d'une bulle avec une paroi rigide, est les bulles images. Cette hypothèse a été utilisée dans d'autres études telle que celle décrite par Doinikov et al [122], où le comportement de la dynamique d'une microbulle proche d'une paroi rigide a été étudié. Cependant ce modèle peut conduire à des conclusions erronées sur le comportement d'une bulle qui oscille à proximité d'une paroi, puisque l'épaisseur de la paroi est très importante devant à la taille de la bulle.

L'une des premières études théorique menées, afin de comprendre l'effet d'un fluide sur le comportement d'une microbulle fut réalisée par Zavtrak et al [131]. Les auteurs ont étudié la dynamique des microbulles proches de trois fluides de différentes densités. Le but de cette étude fût de comprendre comment les propriétés du fluide influencent la direction du déplacement de la bulle. Pour résoudre ce problème, Zavtrak [131] a développé une extension du potentiel de vitesse de la bulle en termes d'images sources [130], [132]. Le principe de cette méthode est que le champ engendré par l'image d'une source ultrasonore est exploitée pour reproduire l'effet des limites sur le comportement de la bulle.

Dans ce chapitre, nous exploitons la théorie de Zavtrak pour étudier le comportement d'une bulle proche d'une couche de fluide d'épaisseur finie et d'étudier comment les paramètres propres du fluide (la densité et l'épaisseur) agissent sur l'écho rétrodiffusé par la bulle dans la zone de champ lointain. Il sera montré que l'épaisseur de la paroi est un facteur plus important que le rapport de la densité de la paroi et celle d'un fluide adjacent.

Cette étude a été publiée dans Journal of the Acoustical Society of America Février 2011 [133].

### 3.2 Résumé de l'article

La théorie développée dans cette étude permet de comprendre le comportement d'une bulle proche d'une couche de fluide de densité et d'épaisseur finies. Cette théorie démontre que l'épaisseur de la couche de fluide est un facteur très important lorsque l'écho rétrodiffusé d'une bulle dans la zone du champ lointain est considéré. Les amplitudes des pressions rétrodiffusées dans les cas de couches infinies et finies sont différentes, bien que les deux couches soient de mêmes densités. L'amplitude de la pression rétrodiffusée par une microbulle au voisinage d'une couche infinie est plus importante que celle de la bulle dans un fluide infini. L'inverse est observé dans le cas d'une couche finie, l'amplitude de la pression rétrodiffusée de la bulle dans un fluide infini est plus importante. Il est également démontré que plus la densité de la couche de fluide est élevée, plus la différence entre les amplitudes de pressions rétrodiffusées pour les couches infinies et finies est importante.

### 3.3 Article : Acoustic response from a bubble pulsating near a fluid layer of finite density and thickness

Publié dans *Journal of Acoustical Society of America*, vol. 128, no. 2, pp. 616-621, Feb. 2011.

Alexander A. Doinikov, **Leila Aired** , Ayache Bouakaz

*INSERM U930 CNRS ERL3106, Université François Rabelais, CHU Bretonneau, 2*

*Boulevard Tonnellé, 37044 Tours Cedex 9, France*



**Abstract**

A theory is developed that allows one to consider the dynamics of an acoustically induced bubble near a fluid layer of finite density and thickness. The theory reveals that, as far as the scattered field of a bubble in the far-field zone is concerned, the layer thickness is a very important factor because the behavior of the scattered field in the cases of infinite and finite layers is qualitatively different even if both layers are of the same density. The amplitude of the scattered pressure from a bubble pulsating in the vicinity of an infinite layer is larger than that for the same bubble in an unbounded fluid, while in the case of a finite layer, on the contrary, the amplitude of the scattered pressure for a bubble near the layer is smaller than that in an unbounded fluid. It is also shown that the higher the layer density, the greater the difference between the scattered pressure amplitudes for infinite and finite layers.

## **I.Introduction**

In past years interest in the dynamics of a bubble near a boundary was mainly motivated by two problems: cavitation damage to solid surfaces and the interaction of bubbles with the surface of the ocean; see reviews in Blake and Gibson [134], Brennen [135], Blake et al [136], Bruajan et al , [137], and Prearson et al [128], [129]. There have been extensive experimental and numerical investigations on both problems. Analytical studies have not been so numerous. As regards the analytical description of a boundary, in accordance with the two problems mentioned above, there are in effect two models: A rigid wall (with the boundary condition of zero normal velocity) and a free surface (with the boundary condition of constant pressure) [138].

In the present paper, a model is developed that treats a boundary as a fluid layer of finite density and thickness. This model is then compared with the model of a rigid wall. Physically, the assumption of rigidity implies a very great value for the wall density (if the wall is assumed to be a liquid) or very great values for the elastic constants (if the wall is assumed to be a solid). It is shown in the present paper that implicitly the model of a rigid wall also implies that the wall thickness is infinite. For the problem of cavitation damage, where the thickness of a boundary is usually much larger than the size of a cavitation bubble and of major interest is the local erosive action of the bubble on the boundary, the assumption of an infinite-thickness wall is quite acceptable. However, our study reveals that the situation is different if the scattered field of a bubble in the far-field zone is of interest. It will be shown that in this case the thickness of a boundary is a more important factor than the ratio of the density of the boundary to that of an adjacent fluid. The consequence of this fact is that using the model of a rigid wall can lead to wrong conclusions regarding the behavior of the far scattered field generated by a bubble that oscillates near a boundary with finite thickness.



## II.Theory

Let us consider a bubble suspended in an incompressible inviscid fluid (medium 1) with density  $\rho_1$ ; see Figure 3.1. The bubble is situated at a constant distance  $d$  from a boundary (medium 2). It is assumed that medium 2 is an incompressible inviscid fluid layer of density  $\rho_2$  and thickness  $h$ . The opposite side of the layer is contiguous with another fluid (medium 3). Medium 3 is also assumed to be an incompressible inviscid fluid with density  $\rho_3$ . Under the above assumptions, the motion of all the three media is governed by the following equations:

$$\nabla \cdot v_i = 0 \quad (3.1)$$

$$\frac{\partial v_i}{\partial t} + (v_i \nabla) v_i + \frac{1}{\rho_i} \nabla \cdot p_i = 0 \quad (3.2)$$

where  $i=1, 2, 3$ ,  $v_i$  is the velocity, and  $p_i$  is the pressure. Setting  $v_i = \nabla \varphi_i$ , where  $\varphi_i$  is the velocity potential, Eqs. (3.1) and (3.2) can be recast to

$$\Delta \varphi_i = 0 \quad (3.3)$$

$$p_i = p_{i0} - \rho_i \left[ \frac{\partial \varphi_i}{\partial t} + \frac{1}{2} (\nabla \varphi_i)^2 \right] \quad (3.4)$$

where  $p_{i0}$  is the equilibrium pressure in the  $i$ th medium.

The velocity potentials for the three media can be written as

$$\varphi_1 = \frac{a_1(t)}{\sqrt{r^2+z^2}} + \frac{b_1(t)}{\sqrt{r^2+(2d-z)^2}} + \frac{c_1(t)}{\sqrt{r^2+(2d+2h-z)^2}} + \frac{d_1(t)}{\sqrt{r^2+(2h+z)^2}} \quad (3.5)$$

$$\varphi_2 = \frac{a_2(t)}{\sqrt{r^2+z^2}} + \frac{b_2(t)}{\sqrt{r^2+(2d+2h-z)^2}} \quad (3.6)$$

$$\varphi_3 = \frac{a_3(t)}{\sqrt{r^2+z^2}} \quad (3.7)$$

It can be checked that these expressions satisfy equation (3.3). Mathematically, this solution is a set of image point sound sources which are disposed so as to satisfy the boundary conditions at the two interfaces [131], [138]. The terms of Equation. (3.5)–(3.7) can be interpreted as follows. The term with  $a_1(t)$  in Eq. (3.5) describes the scattered wave from the bubble in medium 1. The term with  $b_1(t)$  describes the reflection from the first (adjacent to the bubble) side of the fluid layer. The term with  $a_2(t)$  in Eq. (3.6) describes the transmitted wave in medium 2. The term with  $b_2(t)$  in Eq. (3.6) describes the reflection from the second side of the layer. Equation (3.7) describes the transmitted wave in medium 3. Finally, the terms with  $c_1(t)$  and  $d_1(t)$  in Eq. (3.5) describe the secondary reflection from the layer sides.

To find the time-dependent functions in Eqs. (3.5)–(3.7), the boundary conditions on both sides of the fluid layer are used,

$$\frac{\partial \varphi_1}{\partial z} = \frac{\partial \varphi_2}{\partial z} \quad \text{at } z = d \quad (3.8)$$

$$p_1 = p_2 \quad \text{at } z = d \quad (3.9)$$

$$\frac{\partial \varphi_2}{\partial z} = \frac{\partial \varphi_3}{\partial z} \quad \text{at } z = d + h \quad (3.10)$$

$$p_2 = p_3 \quad \text{at } z = d + h \quad (3.11)$$

Substituting Eqs. (3.5) and (3.6) into Eq. (3.8), one gets

$$a_2(t) = a_1(t) - b_1(t) \quad (3.12)$$

$$b_2(t) = c_1(t) - d_1(t) \quad (3.13)$$

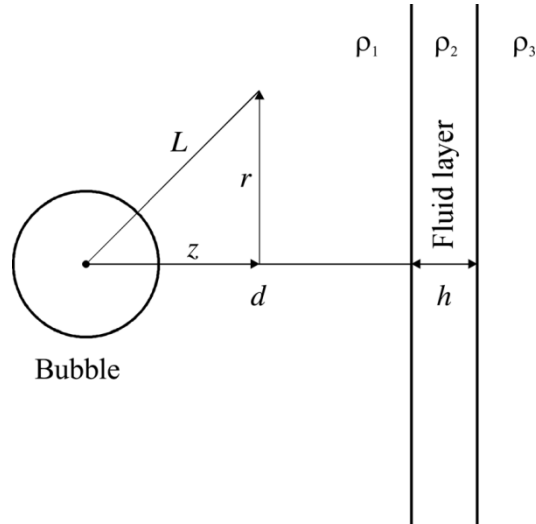


Figure 3.1 Schematic sketch of a bubble near a fluid layer of finite density and thickness

Substitution of Eqs. (3.6) and (3.7) into Eq. (3.10) gives

$$a_3(t) = a_2(t) - b_2(t) \quad (3.14)$$

In this derivation, it is assumed that  $R/d \ll 1$  and  $R/h \ll 1$ , where  $R$  is the radius of the bubble, and all calculations are carried out with accuracy up to terms of the first order in the small parameters  $R/d$  and  $R/h$ . In this approximation, from Eqs. (3.5)–(3.7) it follows that the term  $(\nabla\varphi_i)^2/2$  in Equation (3.4) is of the order  $(R/d)^4$  at  $z=d$ , while the order of the term  $\frac{\partial\varphi_i}{\partial t}$  is  $R/d$ . This statement can be verified when the time-dependent functions in Eqs. (3.5)–(3.7) are found. As a consequence, the term  $(\nabla\varphi_i)^2/2$  can be neglected, and  $p_1$  and  $p_2$  at  $z=d$  can be written as

$$p_1 \approx p_{10} - \rho_1 \left( \frac{\dot{a}_1 + \dot{b}_1}{\sqrt{r^2 + d^2}} + \frac{\dot{c}_1 + \dot{d}_1}{\sqrt{r^2 + (d+2h)^2}} \right) \quad (3.15)$$

$$p_2 \approx p_{20} - \rho_2 \left( \frac{\dot{a}_2}{\sqrt{r^2 + d^2}} + \frac{\dot{b}_2}{\sqrt{r^2 + (d+2h)^2}} \right) \quad (3.16)$$

where the overdot denotes the time derivative, i.e., for example,  $\dot{a}_1 = da_1/dt$ . Substituting Eqs. (3.15) and (3.16) into Eq. (3.9) and using Eq. (3.12), one obtains  $p_{10} = p_{20}$  and

$$b_1(t) = -\frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} a_1(t) \quad (3.17)$$

$$a_2(t) = \frac{2\rho_1}{\rho_1 + \rho_2} a_1(t) \quad (3.18)$$

$$\rho_2 b_2(t) = \rho_1 [c_1(t) + d_1(t)] \quad (3.19)$$

The common value of  $p_{10}=p_{20}$  will be denoted below as  $P_0$ .

With the same accuracy, for  $p_2$  and  $p_3$  at  $z=d+h$ , one has

$$p_2 \approx p_{20} - \rho_2 \frac{\dot{a}_2 + \dot{b}_2}{\sqrt{r^2 + (d+h)^2}} \quad (3.20)$$

$$p_3 \approx p_{30} - \rho_3 \frac{\dot{a}_3}{\sqrt{r^2 + (d+h)^2}} \quad (3.21)$$

Substituting Eqs. (3.20) and (3.21) into Eq. (3.11) and using Eqs.(3.14) and (3.18), one obtains  $p_{10}=p_{30}=P_0$  and

$$b_2(t) = -\frac{2\rho_1(\rho_2 - \rho_3)}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)} a_1(t) \quad (3.22)$$

$$a_3(t) = \frac{4\rho_1\rho_2}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)} a_1(t) \quad (3.23)$$

Finally, using Eqs. (3.13), (3.19), and (22), one finds

$$c_1(t) = -\frac{\rho_2 - \rho_3}{(\rho_2 + \rho_3)} a_1(t) \quad (3.24)$$

$$d_1(t) = \frac{(\rho_1 - \rho_2)(\rho_2 - \rho_3)}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)} a_1(t) \quad (3.25)$$

As a result, we have all the time-dependent functions expressed through  $a_1(t)$ . To find  $a_1(t)$ , the boundary condition for the normal component of the liquid velocity on the bubble surface is used,

$$v_1 \cdot \mathbf{n} = \dot{R} \quad \text{at } \sqrt{r^2 + z^2} = R(t) \quad (3.26)$$

where  $\mathbf{n}$  is the unit outward normal to the bubble surface, given by  $\mathbf{n} = (r\mathbf{e}_r + z\mathbf{e}_z)/\sqrt{r^2 + z^2}$ . Calculating  $v_1$  by using Eq. (3.5) and substituting into Eq. (3.26), with accuracy up to the first order in  $R/d$  and  $R/h$ , one has

$$a_1(t) = -R^2\dot{R} \quad (3.27)$$

Now that  $\varphi_1$  can be expressed in terms of the bubble radius  $R(t)$ , one can derive a modified Rayleigh–Plesset equation governing the radial oscillation of a bubble near a fluid layer of finite density and thickness. To this end, let us equate normal stresses on the inner and outer sides of the bubble surface.

The result is

$$\left(P_0 + \frac{2\sigma}{R_0}\right)\left(\frac{R_0}{R}\right)^{3\kappa} = P_0 + \frac{2\sigma}{R} - 4\eta\frac{\dot{R}}{R} + P_{ac}(t) + P_{scat} \quad (3.28)$$

where  $\sigma$  is the surface tension,  $R_0$  is the bubble radius at rest,  $\kappa$  is the ratio of specific heats of the gas,  $\eta$  is the shear viscosity of the ambient liquid (medium 1),  $P_{ac}(t)$  is the driving acoustic pressure, and  $P_{scat}$  is the pressure of the scattered wave from the bubble. To calculate  $P_{scat}$  on the bubble surface, Eq. (3.5) is substituted into Eq. (3.4), setting

$\sqrt{r^2 + z^2} = R$  and using Eqs. (3.17), (3.24), (3.25), and (3.27). Performing this calculation with accuracy up to the first order in  $R/d$  and  $R/h$ , and then substituting the resulting expression into Eq. (3.28), one obtains

$$\begin{aligned} R\ddot{R} & \left[ 1 - \left(\frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2}\right)\frac{R}{2d} - \left(\frac{\rho_2 - \rho_3}{\rho_2 + \rho_3}\right)\frac{R}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \rho_2)(\rho_2 - \rho_3)}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)}\frac{R}{2h} \right] \\ & + \frac{3}{2}\dot{R}^2 \left[ 1 - \left(\frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2}\right)\frac{2R}{3d} - \left(\frac{\rho_2 - \rho_3}{\rho_2 + \rho_3}\right)\frac{2R}{3(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \rho_2)(\rho_2 - \rho_3)}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)}\frac{2R}{3h} \right] \\ & = \frac{1}{\rho_1} \left[ \left(P_0 + \frac{2\sigma}{R_0}\right)\left(\frac{R_0}{R}\right)^{3\kappa} - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta\frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) \right] \end{aligned} \quad (3.29)$$

To allow for compressibility corrections in Eq. (3.29), the following method can be applied. The most commonly used compressibility corrections to the original Rayleigh–Plesset equation were proposed by Keller and Miksis [105]. The part of Eq. (3.29) inherited from the original Rayleigh–Plesset equation is the same as in the Keller–Miksis equation. Therefore one may expect that the compressibility corrections remain the same as well and can be just introduced into Eq. (3.29). This results in

$$\begin{aligned}
 R\ddot{R} & \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \right) \frac{R}{2d} - \left( \frac{\rho_2 - \rho_3}{\rho_2 + \rho_3} \right) \frac{R}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \rho_2)(\rho_2 - \rho_3)}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)} \frac{R}{2h} - \frac{\dot{R}}{c} \right] \\
 & + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \right) \frac{2R}{3d} - \left( \frac{\rho_2 - \rho_3}{\rho_2 + \rho_3} \right) \frac{2R}{3(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \rho_2)(\rho_2 - \rho_3)}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)} \frac{2R}{3h} - \frac{\dot{R}}{3c} \right] \\
 & = \frac{1}{\rho_1} \left( 1 + \frac{\dot{R}}{c} + \frac{R}{c} \frac{d}{dt} \right) \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) \right] \quad (3.30)
 \end{aligned}$$

where  $c$  is the speed of sound in the ambient liquid.

Let us now calculate the scattered pressure wave from the bubble in the far-field zone. Let  $L$  be the distance between the center of the bubble and the point of measurement. Substituting Eq. (3.5) into Eq. (3.4), setting  $\sqrt{r^2 + z^2} = L$ , and using Eqs. (3.17), (3.24), (3.25), and (3.27), with accuracy up to dominant terms with respect to  $1/L$ , one obtains

$$\begin{aligned}
 p_{scat} & = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{L} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \right) \frac{L}{\sqrt{L^2 + 4d^2 - 4dz_L}} - \left( \frac{\rho_2 - \rho_3}{\rho_2 + \rho_3} \right) \right. \\
 & \quad \left. \frac{L}{\sqrt{L^2 + 4(d+h)^2 - 4(d+h)z_L}} + \frac{(\rho_1 - \rho_2)(\rho_2 - \rho_3)}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)} \frac{L}{\sqrt{L^2 + 4h^2 + 4hz_L}} \right] \quad (3.31)
 \end{aligned}$$

where  $z_L$  is the coordinate  $z$  of the point of measurement. In the far-field zone,  $L$  is large compared to  $d$  and  $h$ , and Eq. (3.31) reduces to

$$p_{scat}(L \gg d, h) = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{L} \frac{4\rho_2\rho_3}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3)} \quad (3.32)$$

Let us consider different particular cases. For  $\rho_1 = \rho_2 = \rho_3$ , we have a bubble in an unbounded liquid. In this case, Eq. (3.29) reduces to the Rayleigh–Plesset equation, Eq. (3.30) to the Keller and Miksis [105] model given by the following equation:

$$R\ddot{R} \left[ 1 - \frac{\dot{R}}{c} \right] + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 - \frac{\dot{R}}{3c} \right] = \frac{1}{\rho_1} \left( 1 + \frac{\dot{R}}{c} + \frac{R}{c} \frac{d}{dt} \right) \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) \right] \quad (3.33)$$

and Eq. (3.31) gives the well-known expression for the scattered field of a pulsating bubble in an unbounded liquid,

$$p_{scat}(\rho_1 = \rho_2 = \rho_3) = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2RR\dot{R}^2)}{L} \quad (3.34)$$

If  $\rho_3 = \rho_2 \neq \rho_1$ , we have a bubble near a fluid layer of infinite thickness. In this case, Eqs. (3.30) and (3.31) become

$$R\ddot{R} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \right) \frac{R}{2d} - \frac{\dot{R}}{c} \right] + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \right) \frac{2R}{3d} - \frac{\dot{R}}{3c} \right] = \frac{1}{\rho_1} \left( 1 + \frac{\dot{R}}{c} + \frac{R}{c} \frac{d}{dt} \right) \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) \right] \quad (3.35)$$

$$p_{scat}(\rho_3 = \rho_2) = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2RR\dot{R}^2)}{L} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \right) \frac{L}{\sqrt{L^2 + 4d^2 - 4dz_L}} \right] \quad (3.36)$$

In the far-field zone, where  $L \gg d$ , Eq. (3.36) gives

$$p_{scat}(\rho_3 = \rho_2, L \gg d) = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2RR\dot{R}^2)}{L} \frac{2\rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \quad (3.37)$$

Note that Eqs. (3.35) and (3.36) follow from Eqs. (3.30) and (3.31) not only when  $\rho_3 = \rho_2$  but also when  $h \rightarrow \infty$ , as one would expect. If it is set in Eqs. (3.35)–(3.37) that  $\rho_2 \gg \rho_1$ , we get a bubble near a rigid wall [122]. This result shows that, as said in the Introduction, the model of a rigid wall implicitly assumes that the wall thickness is infinite.

Finally, in order to understand better the physical sense of Eq. (3.29), let us analyze its linear version. Assuming that  $R(t) = R_0 + x(t)$ , where  $|x(t)| \ll R_0$ , Eq. (3.29) can be linearized as follows:

$$\ddot{x} + \delta \dot{x} + \omega_0^2 x = - \frac{P_{ac}(t)}{\rho_1 R_0 \alpha} \quad (3.38)$$

where the damping constant  $\delta$  and the angular resonance frequency  $\omega_0$  are given by

$$\delta = \frac{4\eta}{\alpha\rho_1 R_0^2} = \frac{\tilde{\delta}}{\alpha} \quad (3.39)$$

$$\omega_0 = \frac{1}{R_0} \left[ \frac{1}{\alpha\rho_1} \left( 3\kappa P_0 + \frac{2(3\kappa-1)\sigma}{R_0} \right) \right]^{1/2} = \frac{\tilde{\omega}_0}{\sqrt{\alpha}} \quad (3.40)$$

the quantity  $\alpha$  is equal to

$$\alpha = 1 - \left( \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1 + \rho_2} \right) \frac{R_0}{2d} - \left( \frac{\rho_2 - \rho_3}{\rho_2 + \rho_3} \right) \frac{R_0}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \rho_2)(\rho_2 - \rho_3) R_0}{(\rho_1 + \rho_2)(\rho_2 + \rho_3) 2h} \quad (3.41)$$

and  $\tilde{\delta}$  and  $\tilde{\omega}_0$  denote the damping constant and the resonance frequency in an unbounded fluid. Assuming that  $P_{ac}(t) = P_a \exp(i\omega t)$ , where  $P_a$  is the acoustic pressure amplitude and  $\omega$  is the driving frequency, the complex amplitude  $A$  of the bubble oscillation  $x(t)$  is found from Eq. (3.38) to be

$$A = \frac{P_a}{\alpha\rho_1 R_0 (\omega^2 - \omega_0^2 + i\omega\delta)} = \frac{P_a}{\rho_1 R_0 (\alpha\omega^2 - \tilde{\omega}_0^2 + i\omega\tilde{\delta})} \quad (3.42)$$

Note that  $\alpha$  cannot be negative because it is assumed that  $R_0/d \ll 1$  and  $R_0/h \ll 1$ , but  $\alpha$  can be both smaller and greater than 1 depending on the properties of the fluid layer.

Accordingly,  $\delta$  and  $\omega_0$  can both increase and decrease in the vicinity of the fluid layer. For example, for  $\rho_1 < \rho_2 = \rho_3$ ,  $\delta$  and  $\omega_0$  are decreased relative to their values in an unbounded fluid. Finally, Eq. (3.42) shows that the amplitude of the bubble oscillation changes in the vicinity of the fluid layer as if the driving frequency changed with respect to  $\tilde{\omega}_0$ . As a result, the bubble oscillation can become both stronger and weaker as compared to that in an unbounded fluid.



### III. Numerical examples:

We compare four cases: (i) A bubble in an unbounded fluid, Eqs. (3.33) and (3.34); (ii) a bubble near a rigid wall, Eqs. (3.35) and (3.37) at  $\rho_2 \rightarrow \infty$ ; (iii) a bubble near a fluid layer with finite density and infinite thickness, Eqs. (3.35) and (3.37) at finite  $\rho_2$ ; and (iv) a bubble near a fluid layer of finite density and thickness, Eqs. (3.30) and (3.32).

Calculations have been carried out by means of the program package MATHEMATICA (Wolfram Research, Inc., Champaign, IL). The values of the physical parameters used in the calculations were the following:  $P_0=101.3$  kPa,  $\rho_1=1000$  kg/m<sup>3</sup>,  $\eta=0.001$  Pa.s,  $\sigma=0.072$  N/m,  $c=1500$  m/s,  $\kappa=1.4$ ,  $L=0.01$  m, and  $d=10R_0$ . Bubbles were assumed to be driven by a ten-cycle pulse with a Gaussian envelope. The acoustic pressure amplitude was set to be  $P_a=50$  kPa and three values of the center frequency  $f$  were used: 1.0, 1.5, and 2 MHz. The results obtained are presented in Figures 3.2 and 3.3.

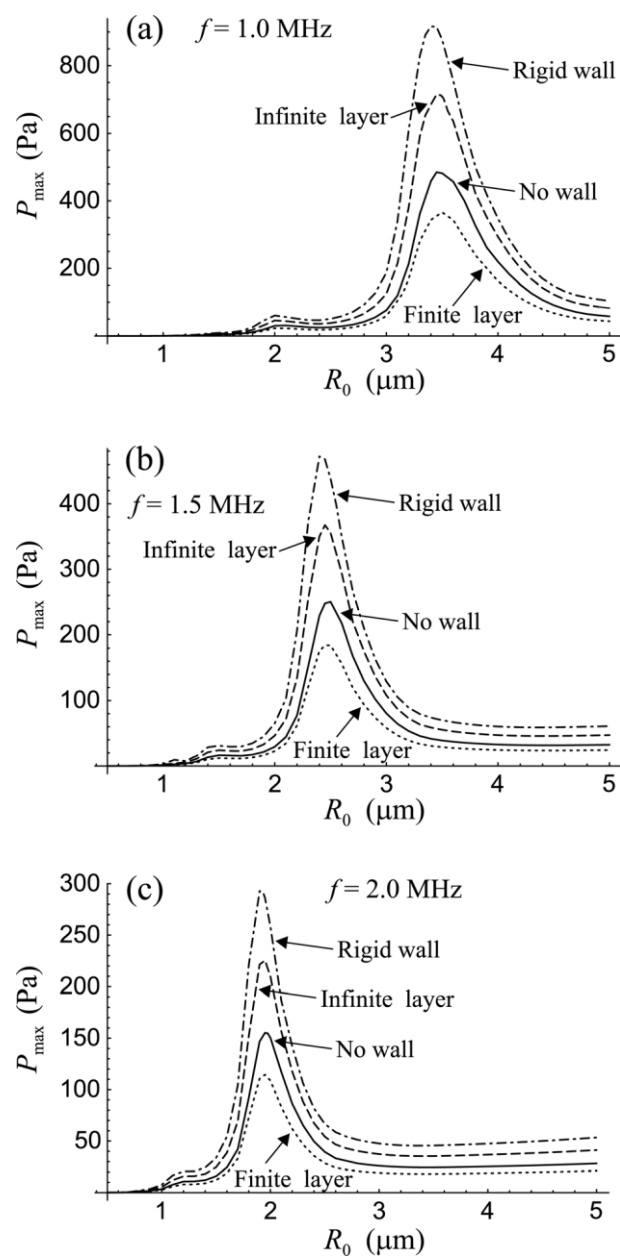


Figure 3.2 The peak amplitude of the scattered pressure in the far-field zone as a function of the initial bubble radius

Figure 3.2 shows the peak amplitude  $P_{max}$  of the scattered pressure in the far-field zone as a function of the initial bubble radius. It will be recalled that in the far-field zone, the monopole component of the scattered pressure is dominant. In terms of spatial coordinates, the monopole component depends only on the distance  $L$  from the center of the bubble; see Eq. (3.32). It is the peak amplitude of the monopole component that is depicted in Fig. 3.2. In respect to the boundary, it is assumed that the scattered pressure is measured at some point located at the distant  $L$  behind the bubble. It is also assumed in Fig. 3.2 that  $\rho_2=3000$  kg/m<sup>3</sup>, and in the case of a finite-thickness layer,  $\rho_3=\rho_1$  and  $h=50$   $\mu$ m. Figure 3.2 shows that for all the three frequencies tested, the model of a rigid wall (dashed-dotted line) predicts the strongest scattered pressure. The scattered pressure from a bubble near a fluid layer of infinite thickness (dashed line) is stronger than the scattered pressure from the same bubble in an unbounded fluid (solid line). Finally, the scattered pressure from a bubble near a fluid layer of finite thickness (dotted line) is weaker than the scattered pressure from the same bubble in an unbounded fluid. Another way of putting it is that a fluid layer of finite thickness decreases the scattered pressure as compared to a fluid layer of infinite thickness even if they are of the same density. The above effects are especially profound for bubbles of resonance size.

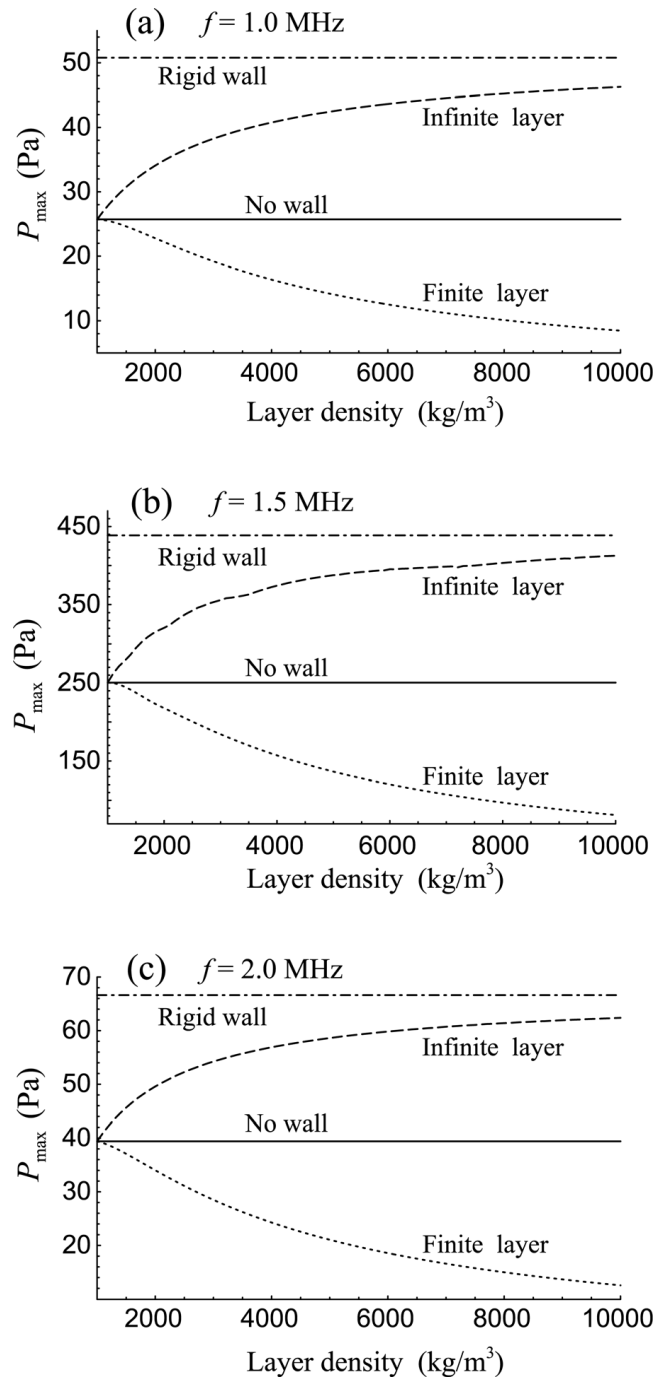


Figure 3.3 The peak amplitude of the scattered pressure in the far-field zone as a function of the density  $\rho_2$  of a fluid layer for a bubble with  $R_0=2.5\mu\text{m}$

Another interesting result is revealed by Figure 3.3. Figure 3.3 shows the peak amplitude of the scattered pressure as a function of the density  $\rho_2$  of a fluid layer for a bubble with  $R_0=2.5\mu\text{m}$ . The other parameters are as in Figure 3.2. One can see that for a fluid layer of infinite

thickness the scattered pressure is increased with increasing layer density, while for a layer of finite thickness, the scattered pressure is decreased.

This result can be explained as follows. For an infinite layer, the higher the layer density, the larger the part of wave energy which is reflected back to medium 1. In the case of a finite layer, the situation is different as some energy is carried away to medium 3, and some energy does not return to medium 1 because of re-reflection inside the layer. Figure 3.3 suggests that this energy loss increases with increasing layer density, which results in the decay of the scattered wave in medium 1.

#### **IV. Conclusion**

In this paper, a theory has been developed that allows one to consider the dynamics of a bubble near a fluid layer of finite density and thickness. The main purpose of the present study was to reveal how the layer thickness affected the scattered field of a bubble in the far-field zone. It has been shown that, as far as the scattered field at large distances is concerned, the layer thickness is a more important factor than the layer density because the behavior of the scattered field in the cases of infinite and finite layers is qualitatively different even if both layers are of the same density. Specifically, if the layer density is higher than the densities of the adjacent liquids, then in the case of an infinite layer, the amplitude of the scattered pressure from a bubble pulsating near the layer is larger than the amplitude of the scattered pressure from the same bubble in an unbounded fluid.

Whereas in the case of a finite layer, the amplitude of the scattered pressure for a bubble near the layer is smaller than that in the case of an unbounded fluid. It has been also found that the higher the layer density, the greater the difference between the scattered pressure amplitudes for infinite and finite layers. This result shows that boundary models implying infinite

thickness, such as the model of a rigid wall, are not adequate approximation if the far scattered field of a bubble pulsating near a boundary of finite thickness is considered.

One of the modern challenging problems where one has to deal with the dynamics of a bubble pulsating near a boundary of finite density and thickness is the problem of microbubble contrast agents in blood vessels [3], [85], [139]. The results of the present study are not directly applicable to this case because a blood vessel wall behaves as an elastic solid rather than as a fluid layer. Nevertheless, they suggest that, in the qualitative sense, the finite thickness of a blood vessel wall may affect the scattered field of a contrast microbubble in the same fashion as described in the present paper.

### 3.4 Conclusions et perspectives

Cette étude met en évidence l'effet de l'épaisseur d'une couche de fluide sur l'écho rétrodiffusé par une bulle. L'amplitude de l'écho rétrodiffusé par une bulle à proximité de la couche de fluide est inférieure à celle se trouvant dans un fluide infini. Il a été également constaté que plus la densité de la couche est élevée, plus la différence entre les amplitudes des échos rétrodiffusés par une bulle proche d'une couche infinie et finie est importante.

Nous avons également mis en évidence que le modèle d'une paroi avec une épaisseur infinie n'est pas le modèle adéquat, lorsque l'intérêt est l'écho rétrodiffusé par une bulle dans la zone du champ lointain.

Cette étude peut apporter des réponses et des améliorations en imagerie de contraste. La détection des microbulles d'agents de contraste proches d'une paroi de vaisseaux sanguins, dépend du comportement des microbulles [3], [139], [140]. Cependant les résultats de cette étude ne sont pas directement applicables. Le vaisseau sanguin se comporte comme un solide élastique, et non comme une couche de fluide. Néanmoins, cette étude reste d'intérêt, car l'épaisseur du vaisseau sanguin peut affecter le comportement des microbulles de contraste. D'un autre côté, ce modèle est exploitable pour représenter un solide élastique, en intégrant ses propriétés mécaniques. Ainsi, la possibilité de représenter la paroi d'un vaisseau sanguin est envisageable. Ce cas fera l'objet de l'étude présentée dans le chapitre suivant.





# **Chapitre 4 Réponse acoustique d'une microbulle d'agent de contraste proche d'une paroi élastique avec une épaisseur finie**

## 4.1 Introduction

Ces dernières années, l'interaction d'une bulle avec une paroi est devenue très importante dans le contexte de diverses applications médicales, spécialement, en échographie de contraste. Par exemple, la détection des microbulles oscillantes près de parois de vaisseaux sanguins [2], [3].

Récemment, des agents de contraste ont été conçus pour adhérer spécifiquement à des sites ciblés. Leur détection permet l'évaluation de certaines pathologies, tels que les maladies cardiovasculaires et les cancers. La problématique liée à l'imagerie ciblée est le faible taux de microbulles qui adhèrent aux marqueurs de surfaces cellulaires, de l'ordre de 10 microbulles/mm<sup>3</sup> [5], [6]. Dans ce cas, il est difficile de différencier les microbulles qui adhèrent aux parois de l'endothélium vasculaire des microbulles qui circulent librement. Une étude théorique s'est penchée sur ce problème, en modélisant une microbulle proche d'une paroi rigide [122]. Cependant, ce modèle implique une paroi avec une épaisseur infinie. Cela est envisageable seulement si l'intérêt est une action locale de la bulle sur la paroi. Toutefois, en imagerie ciblée ce n'est pas le cas, l'intérêt primordial de l'écho rétrodiffusé se fait dans le champ lointain. Il est connu que l'épaisseur de la paroi d'un vaisseau sanguin est large par rapport à la taille d'une microbulle de contraste, mais elle est beaucoup plus petite que la distance à laquelle l'écho est mesuré.

## Chapitre 4 Réponse acoustique d'une microbulle d'agent de contraste proche d'une paroi élastique avec une épaisseur finie

---

Une autre étude a été consacrée à la modélisation d'une bulle oscillante près d'une couche de fluide d'épaisseur finie [133]. Les auteurs ont étudié l'influence des paramètres de la couche de fluide sur l'écho rétrodiffusé par la microbulle dans la zone du champ lointain. Cependant, considérer la paroi d'un vaisseau sanguin comme une couche de fluide n'est pas adéquate puisque, la paroi se comporte comme un solide élastique et non comme un fluide.

Dans ce chapitre, le modèle représentant une microbulle encapsulée oscillante au voisinage de la paroi est basé sur la même théorie que celle étudiée dans le chapitre 3. Par contre, les paramètres mécaniques de la paroi y sont inclus. L'intégration des paramètres mécaniques est primordiale pour pouvoir différencier correctement une bulle qui se trouve près d'une paroi d'une bulle en oscillation dans un milieu infini.

Cette étude a été publiée dans le journal *Physics in Medecine and Biology* Novembre 2011[120].

## 4.2 Résumé de l'article

L'intérêt du problème posé dans cette étude est destiné à l'imagerie de contraste ciblée, où l'étude du comportement des microbulles d'agents de contraste proches de parois de vaisseaux sanguins est le principal intérêt.

Une modification de l'équation de Rayleigh-Plesset décrivant l'oscillation d'une microbulle d'agent de contraste proche d'une paroi élastique d'épaisseur finie a été développée. Contrairement au modèle d'une paroi rigide, qui prédit la décroissance de la fréquence de résonance d'une bulle proche d'une paroi, ce modèle décrivant une paroi élastique, révèle l'augmentation de la fréquence de résonance. L'influence d'une paroi élastique sur la réponse acoustique d'une bulle est déterminée par de nombreux paramètres : les propriétés mécaniques, la masse volumique de la paroi, et la masse volumique du liquide entourant la bulle. Le modèle démontre que l'effet de la paroi artérielle sur la réponse acoustique de la bulle est faible et ne peut être exploité pour distinguer la réponse de la bulle proche de la paroi. Néanmoins, des variations de la fréquence de résonance peuvent être exploitées lorsque la bulle est proche de la paroi.



4.3 Article: Acoustic scattering from a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness

Publié dans *Physics in Medicine and Biology*, vol. 56, no. 21, pp. 6951-6967, Nov. 2011.

Alexander A. Doinikov, **Leila Aired** , Ayache Bouakaz

*INSERM U930 CNRS ERL3106, Université François Rabelais, CHU Bretonneau, 2*

*Boulevard Tonnellé, 37044 Tours Cedex 9, France*



**Abstract**

Interest in the problem under consideration in this study is motivated by targeted ultrasound imaging where one has to deal with microbubble contrast agents pulsating near blood vessel walls. A modified Rayleigh–Plesset equation is derived that describes the oscillation of a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness. It is assumed that the medium behind the wall is a fluid but it is shown that the equation obtained is easily transformable to the case that the medium behind the wall is an elastic solid. In contrast to the model of a rigid wall, which predicts decreasing natural frequency of a bubble near the wall, the elastic wall model reveals that the bubble natural frequency can both decrease and increase, and in cases of interest for medical applications, the bubble natural frequency usually increases. It is found that the influence of an elastic wall on the acoustic response of a bubble is determined by the ratio between a cumulative parameter, which integrally characterizes the mechanical properties of the wall and has the dimension of density, and the density of the liquid surrounding the bubble. It is shown that the acoustic influence of the arterial wall on the bubble is weak and apparently cannot be used to recognize the moment when the bubble approaches the wall. However, in experiments where the behavior of bubbles near various plastic walls is observed, changes in the bubble response, such as increasing natural frequency and decreasing oscillation amplitude, are detectable.

## 1.Introduction

Interest in the dynamics of a gas bubble near a solid boundary originates from investigations on cavitation phenomena, especially from those on the problem of cavitation damage. The literature on these investigations is very extensive. A great deal of work has been done in the experimental and numerical fields. Detailed reviews of experimental observations of many years can be found in Blake and Gibson [134], Leighton [138], and Brennen [135]. More recent experiments on the interaction of a cavitation bubble with various compliant boundaries are reported by [127], [137], [141], [142]. Progress of numerical techniques that were employed to model the motion of a bubble near a boundary can be traced through the review by Blake and Gibson [134] and subsequent works by [128], [136], [143–154]. Over the last decades, most of numerical studies have used various modifications of the boundary integral method and have been focused on modeling the violent a spherical collapse of a bubble near a rigid boundary, with the formation of a liquid jet which has been considered as one of the main mechanisms of cavitation damage. In the context of the present study, however, of prime interest are the results of analytical calculations on the bubble-boundary problem. They have not been as numerous as those of experimental and numerical studies. Pioneering works go back to [111–113], [118], [130]. Herring [111] and Davies et al [112] derived an equation for the translational motion experienced by a pulsating bubble in the presence of a rigid boundary. These studies were carried out in the context of underwater explosions. This subject area is described in depth in the book by [113], [118], [130] calculated the effect of a rigid wall on the resonant frequency of a bubble. It appears that in the works on underwater explosions the fact has first been used that mathematically the interaction of a bubble with a rigid boundary is equivalent to the interaction between two equal bubbles pulsating in phase. Since then this equivalence has been utilized in many studies for considering different problems; see, for example, [110], [116], [122], [146], [155].



The work by Shima and Tomita [110] is worthy of particular notice as it is directly related to the present study. In this work, a modified Rayleigh-Plesset equation has been obtained that includes corrections for the effects of a rigid wall and the liquid compressibility, the compressibility corrections corresponding to Herring's theory for a bubble in an unbounded slightly compressible fluid [111], [156].

There are works in which the dynamics of a bubble near a fluid-fluid interface is considered. Zavtrak [131] has considered the translational motion of a bubble near interfaces between three fluids of differing density. This situation can be also described as a bubble near a fluid layer of finite thickness. The purpose of his study was to reveal how the layer properties affected the direction of the bubble translation, assuming this direction to coincide with the direction of the liquid jet responsible for cavitation damage. To solve this problem, Zavtrak [131] has developed an expansion of the bubble velocity potential in terms of image sources. This development has recently been used by Doinikov *et al* [133] to derive a modified Rayleigh-Plesset equation for a bubble near a fluid layer of finite thickness and to study how the layer parameters affect the scattered echo of the bubble in the far-field zone. To our knowledge, there are no modifications of the Rayleigh-Plesset equation for other types of boundaries, such as an elastic wall of finite thickness. Present-day interest in this type of a boundary is explained in what follows.

In the last few decades, the interaction of a bubble with a boundary has become very important in the context of various medical applications. A general review of this area is given by Leighton [138]. More recent findings are described by Brujan *et al* [137], [152], [157–161]. One of the very recent applications is targeted ultrasound imaging where one has to deal with microbubble contrast agents pulsating near blood vessel walls. Ultrasound contrast agents are micron-sized encapsulated gas bubbles which are produced by pharmaceutical companies for medical ultrasound applications [2], [3]. The encapsulation is

necessary to prevent microbubbles from fast dissolution in blood and from coalescence. Currently, contrast agents are used in ultrasonic diagnostics. They are injected into the bloodstream of the patient in order to increase the contrast between blood and tissue during an ultrasonic examination and thereby to improve the quality of ultrasonic images and diagnosis confidence. Recently, specific contrast agents have been designed that are capable of selectively adhering to desired target sites in the human body [85], [139]. Adhering to specific sites or tissues, such targeted agents can enhance the acoustic differences between normal and abnormal parts of organs and thereby improve the detectability of abnormalities, such as lesions, inflammatory processes and thrombi. Targeted ultrasound imaging poses a challenging problem: How to distinguish the scattered echoes produced by contrast agents pulsating near a blood vessel wall from echoes produced by agents freely circulating in blood. There have been attempts to employ the model of a rigid wall [122]. However, this model implicitly means that the wall thickness is infinite. If of major interest is a local action of the bubble on the wall, as in the case of cavitation damage, then the assumption of an infinite-thickness wall may be admissible. However, in the case of targeted imaging the situation is different as of prime interest is the scattered echo in the far-field zone. The thickness of the wall of a blood vessel is large compared to a typical size of a contrast microbubble, but it is much smaller than a distance at which the scattered echo is measured. For this reason, the thickness of a blood vessel wall cannot be treated as infinite when the scattered echo is considered. Also, the model of a rigid wall implies that the wall density is much higher than that of an adjacent fluid, whereas the densities of blood, vessels and tissues are not much different. Modeling the wall of a blood vessel as a fluid layer is not adequate either as it is generally believed that such a boundary behaves as an elastic solid rather than as a fluid.

The purpose of the present study is to derive a modified Rayleigh-Plesset equation for a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness and to reveal how the presence of the wall affects the acoustic response of the microbubble.

## 2. Theory

Consider a spherical bubble suspended in an ideal incompressible fluid (medium 1) with density  $\rho_1$ ; see figure 4.1. The bubble is at distance  $d$  from a wall (medium 2) with thickness  $h$ . It is assumed that the material of the wall behaves as an elastic solid with density  $\rho_2$ , bulk modulus  $K$ , and shear modulus  $\mu$ . The medium behind the wall (medium 3) is an ideal incompressible fluid with density  $\rho_3$ . Under the above assumptions, the motion of media 1 and 3 obeys the equation of continuity and Euler's equation[162],

$$\nabla \cdot \mathbf{v}_i = 0 \quad (4.1)$$

$$\frac{\partial \mathbf{v}_i}{\partial t} + (\mathbf{v}_i \cdot \nabla) \mathbf{v}_i + \frac{1}{\rho_i} \nabla p_i = 0 \quad (4.2)$$

where  $i = 1$  or  $3$ ,  $\mathbf{v}_i$  is the velocity, and  $p_i$  is the time-varying pressure. Setting  $\mathbf{v}_i = \nabla \varphi_i$ ,

where  $\varphi_i$  is the velocity potential, (4.1) and (4.2) can be recast to

$$\Delta \varphi_i = 0 \quad (4.3)$$

$$p_i = -\rho_i \left[ \frac{\partial \varphi_i}{\partial t} + \frac{1}{2} (\nabla \varphi_i)^2 \right] \quad (4.4)$$

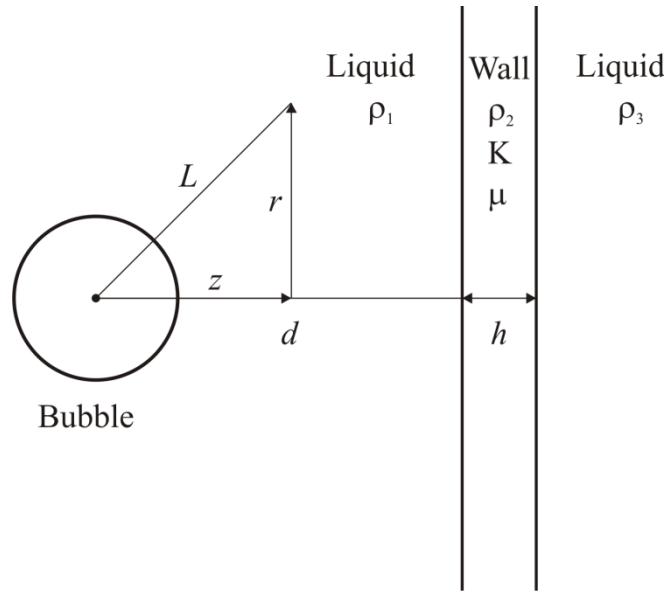


Figure 4.1 Schematic sketch of a bubble near a wall.  $\rho_1$  is the density of the liquid surrounding the bubble;  $\rho_2$ ,  $K$ ,  $\mu$ , and  $h$  are the density, the bulk modulus, the shear modulus, and the thickness of the wall, respectively;  $\rho_3$  is the density of the liquid behind the wall;  $d$  is the distance between the bubble center and the wall;  $r$  and  $z$  are the coordinates of the cylindrical system originated at the bubble center

where  $\Delta$  denotes the Laplace operator. The velocity potentials for media 1 and 3 can be written as

$$\varphi_1 = \frac{a_1(t)}{\sqrt{r^2 + z^2}} + \frac{b_1(t)}{\sqrt{r^2 + (2d - z)^2}} + \frac{c_1(t)}{\sqrt{r^2 + (2d + 2h - z)^2}} + \frac{d_1(t)}{\sqrt{r^2 + (2h + z)^2}} \quad (4.5)$$

$$\varphi_3 = \frac{a_3(t)}{\sqrt{r^2 + z^2}} \quad (4.6)$$

It is easy to check that (4.5) and (4.6) satisfy Laplace's equation (4.3). The representation of the velocity potentials by (4.5) and (4.6) is referred to as the expansion in terms of image sources. The method of image sources is well known in hydrodynamics; see, for example, the books by Cole [130] and Milne-Thomson [132]. The idea of this method is that a system of virtual point sound sources is introduced in order to reproduce the effect of boundaries on a bubble. Equation (4.5) for the velocity potential of a bubble near the interfaces of three

different media was proposed by Zavtrak [131]. The term with  $a_1(t)$  describes the radial motion of the bubble surface. The term with  $b_1(t)$  is a mirror image of the bubble about the first (adjacent to the bubble) interface. This term is introduced to satisfy the boundary conditions on the first interface. The terms with  $c_1(t)$  and  $d_1(t)$  are needed to compensate the effect of image sources on the motion of the real bubble. The role of such terms is explained in detail by Cole [130]. Finally, (4.6) is an image source that describes the transmitted wave in medium 3.

The wall material (medium 2) is assumed to behave as an elastic solid so its motion is governed by a different equation [163]:

$$\frac{\partial^2 \mathbf{u}}{\partial t^2} = c_t^2 \Delta \mathbf{u} + (c_l^2 - c_t^2) \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) \quad (4.7)$$

where  $\mathbf{u}$  is the displacement vector,  $c_t$  is the transverse velocity of sound, and  $c_l$  is the longitudinal velocity of sound. We assume  $\mathbf{u} = \nabla \varphi_2$ , which means that we allow for compressive strain in the wall material and neglect shear strain. Admittedly, neglecting shear strain is a certain theoretical idealization. Recourse to such simplifications is necessary; otherwise analytical calculations would be unfeasible. In the case under study, the neglect of shear strain is justified because it is a simplification of the same order as neglecting the viscosity of the neighboring liquid. The main source of the scattered wave in the liquid is the change of the liquid pressure, that is, an effect related mainly to compressibility rather than to viscosity. Therefore the liquid viscosity can be ignored. As the wall motion is caused by the liquid motion, it is reasonable to assume that the main contribution to the wall motion also comes from compressive rather than shear deformation.

Substitution of the above expression for  $\mathbf{u}$  into (4.7) gives

$$\Delta \varphi_2 - \frac{1}{c_l^2} \frac{\partial^2 \varphi_2}{\partial t^2} = 0 \quad (4.8)$$

For the problem of the interaction of a bubble with a wall, a characteristic spatial dimension is on the order of the initial bubble radius  $R_0$ . For such distances, the correction given by the term  $c_1^{-2} \partial^2 \varphi_2 / \partial t^2$  to the solution given by the term  $\Delta \varphi_2$  is on the order of  $(R_0/\lambda)^2$ , where  $\lambda$  is the sound wavelength in the wall material. For MHz frequencies and micron-sized bubbles,  $\lambda \gg R_0$ . Therefore the second term on the left-hand side of (4.8) can be omitted and  $\varphi_2$  can be calculated from Laplace's equation  $\Delta \varphi_2 = 0$ . As a result,  $\varphi_2$  can be represented as

$$\varphi_2 = \frac{a_2(t)}{\sqrt{r^2 + z^2}} + \frac{b_2(t)}{\sqrt{r^2 + (2d + 2h - z)^2}} \quad (4.9)$$

Here, the method of image sources is applied again. The term with  $a_2(t)$  is an image source that describes the transmitted wave in medium 2, and the term with  $b_2(t)$  is introduced to satisfy the boundary conditions on the interfaces of medium 2. The particle velocity inside the wall is calculated as

$$\mathbf{v}_2 = \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} = \nabla \frac{\partial \varphi_2}{\partial t} \quad (4.10)$$

To find the time-dependent functions in (4.5), (4.6), and (4.9), the boundary conditions on both sides of the wall are used,

$$\frac{\partial \varphi_1}{\partial z} = \frac{\partial^2 \varphi_2}{\partial z \partial t} \quad \text{at } z = d \quad (4.11)$$

$$-p_1 = \sigma_{zz}^{(2)} \quad \text{at } z = d \quad (4.12)$$

$$\frac{\partial^2 \varphi_2}{\partial z \partial t} = \frac{\partial \varphi_3}{\partial z} \quad \text{at } z = d + h \quad (4.13)$$

$$\sigma_{zz}^{(2)} = -p_3 \quad \text{at } z = d + h \quad (4.14)$$

where  $\sigma_{zz}^{(2)}$  is the normal component of the stress tensor of the wall material. These boundary conditions mean the continuity of the normal velocities and the normal stresses on the sides of the wall.

Substituting (4.5) and (4.9) into (4.11), one has

$$\dot{a}_2 = a_1 - b_1 \quad (4.15)$$

$$\dot{b}_2 = c_1 - d_1 \quad (4.16)$$

where the overdot denotes the time derivative. Substitution of (4.6) and (4.9) into (4.13) gives

$$a_3 = \dot{a}_2 - \dot{b}_2 \quad (4.17)$$

In this derivation, it is assumed that  $R/d \ll 1$  and  $R/h \ll 1$ , where  $R$  is the radius of the bubble, and all calculations are carried out with accuracy up to terms of the first order in the small parameters  $R/d$  and  $R/h$ . In this approximation, the term  $(\nabla\varphi_i)^2/2$  in (4) is negligible compared to the term  $\partial\varphi_i/\partial t$  at  $z=d$  and  $z=d+h$ . Therefore  $p_1$  at  $z=d$  can be written as

$$p_1 = -\rho_1 \left( \frac{\dot{a}_1 + \dot{b}_1}{\sqrt{r^2 + d^2}} + \frac{\dot{c}_1 + \dot{d}_1}{\sqrt{r^2 + (d+2h)^2}} \right) \quad (4.18)$$

The quantity  $\sigma_{zz}^{(2)}$  is defined as [163]

$$\sigma_{zz}^{(2)} = K(\nabla \cdot \mathbf{u}) + 2\mu(u_{zz} - \nabla \cdot \mathbf{u}/3), \quad (4.19)$$

where  $u_{zz} = \partial u_z / \partial z = \partial^2 \varphi_2 / \partial z^2$ . From (4.9) it follows that at  $z=d$  and  $z=d+h$   $u_{zz}$  is on the order of  $(R/d)^3$  and therefore can be omitted in our derivation. As a result, using (4.8) and the expression for  $c_1$ ,

$$c_1 = \sqrt{(3K + 4\mu)/(3\rho_2)} \quad (4.20)$$

$\sigma_{zz}^{(2)}$  can be represented as

$$\sigma_{zz}^{(2)} = \rho_2 \left( \frac{3K - 2\mu}{3K + 4\mu} \right) \frac{\partial^2 \varphi_2}{\partial t^2} \quad (4.21)$$

Substituting (4.9), (4.18), and (4.21) into (4.12), one obtains

$$\rho_1(a_1 + b_1) = \beta \dot{a}_2 \quad (4.22)$$

$$\rho_1(c_1 + d_1) = \beta \dot{b}_2 \quad (4.23)$$

where the parameter  $\beta$  is defined as

$$\beta = \rho_2 \frac{3K - 2\mu}{3K + 4\mu} = \rho_2 \frac{\nu}{1 - \nu} \quad (4.24)$$

and  $\nu$  denotes Poisson's ratio for the wall material.

For  $p_3$  at  $z = d + h$ , one has

$$p_3 = -\rho_3 \frac{\dot{a}_3}{\sqrt{r^2 + (d + h)^2}} \quad (4.25)$$

Substituting (4.9), (4.21), and (4.25) into (4.14), one obtains

$$\rho_3 a_3 = \beta(\dot{a}_2 + \dot{b}_2) \quad (4.26)$$

Finally, from (4.15), (4.16), (4.17), (4.22), (4.23), and (4.26), one finds

$$b_1 = -\frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} a_1 \quad (4.27)$$

$$c_1 = -\frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} a_1 \quad (4.28)$$

$$d_1 = \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} a_1 \quad (4.29)$$

$$\dot{a}_2(t) = \frac{2\rho_1}{\rho_1 + \beta} a_1 \quad (4.30)$$

$$\dot{b}_2 = -\frac{2\rho_1(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} a_1 \quad (4.31)$$

$$a_3 = \frac{4\rho_1\beta}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} a_1 \quad (4.32)$$

These equations give the sought-for functions expressed through  $a_1(t)$ . To find  $a_1(t)$ , the boundary condition for the normal component of the liquid velocity on the bubble surface is used,



$$\mathbf{v}_1 \cdot \mathbf{n} = \dot{R} \quad \text{at} \quad \sqrt{r^2 + z^2} = R(t) \quad (4.33)$$

where  $\mathbf{n}$  is the unit outward normal to the bubble surface, given by  $\mathbf{n} = (re_r + ze_z)/\sqrt{r^2 + z^2}$ .

Calculating  $\mathbf{v}_1$  by (4.5) and substituting into (4.33), with accuracy up to the first order in  $R/d$  and  $R/h$ , one has

$$a_1(t) = -R^2 \dot{R} \quad (4.34)$$

To get a modified Rayleigh-Plesset equation that describes the radial oscillation of a bubble near an elastic wall with finite thickness, let us equate normal stresses on the inner and outer sides of the bubble surface. The result is

$$\left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0^3 - a^3}{R^3 - a^3} \right)^\kappa = P_0 + \frac{2\sigma}{R} + 4\eta \frac{\dot{R}}{R} + P_{ac}(t) + P_{scat} + S \quad (4.35)$$

where  $P_0$  is the hydrostatic pressure in the surrounding liquid,  $\sigma$  is the surface tension,  $R_0$  is the bubble radius at rest,  $a$  is the radius of the bubble's van der Waals hard core [  $a \approx 0.1976R_0$  for the gas  $C_4F_{10}$  utilized in lipid-coated contrast agents [164]],  $\kappa$  is the ratio of specific heats of the gas,  $\eta$  is the shear viscosity of the ambient liquid,  $P_{ac}(t)$  is the driving acoustic pressure,  $P_{scat}$  is the pressure of the scattered wave from the bubble, and the term  $S$  describes the effect of encapsulation. To calculate  $P_{scat}$  on the bubble surface, (4.5) is substituted into (4.4), setting  $\sqrt{r^2 + z^2} = R$  and using (4.27) – (4.29) and (4.34). Performing this calculation up to the first order in  $R/d$  and  $R/h$ , and then substituting the resulting expression into (35), one finds

$$\begin{aligned} & R\ddot{R} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{R}{2d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{R}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{R}{2h} \right] \\ & + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{2R}{3d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{2R}{3(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{2R}{3h} \right] \end{aligned}$$

$$= \frac{1}{\rho_1} \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0^3 - a^3}{R^3 - a^3} \right)^\kappa - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right] \quad (4.36)$$

Equation (4.36) neglects the radiation damping due to liquid compressibility. This effect can be taken into account as follows. The most commonly used compressibility corrections to the original Rayleigh-Plesset equation were obtained by Keller and Miksis [105]. The part of (4.36) inherited from the original Rayleigh-Plesset equation is the same as in the Keller-Miksis equation. Therefore one may expect that the compressibility corrections remain the same as well and can be just incorporated into (4.36). Doing so, one obtains

$$\begin{aligned} & R\ddot{R} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{R}{2d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{R}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{R}{2h} - \frac{\dot{R}}{c} \right] \\ & + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{2R}{3d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{2R}{3(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{2R}{3h} - \frac{\dot{R}}{3c} \right] \\ & = \frac{1}{\rho_1} \left( 1 + \frac{\dot{R}}{c} + \frac{R}{c} \frac{d}{dt} \right) \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0^3 - a^3}{R^3 - a^3} \right)^\kappa - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right] \quad (4.37) \end{aligned}$$

where  $c$  is the speed of sound in medium 1. The dimensionless form of (4.37) is provided in the Appendix.

Let us now calculate the scattered echo from the bubble in the far-field zone. Let  $L$  be the distance between the center of the bubble and the point of measurement. Substituting (4.5) into (4.4), setting  $\sqrt{r^2 + z^2} = L$ , and using the equations for  $a_1$ ,  $b_1$ ,  $c_1$ , and  $d_1$ , with accuracy up to dominant terms with respect to  $1/L$ , one obtains

$$\begin{aligned} p_{scat} &= \frac{\rho_1 (R^2 \ddot{R} + 2R \dot{R}^2)}{L} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{L}{\sqrt{L^2 + 4d^2 - 4dz_L}} \right. \\ & \left. - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{L}{\sqrt{L^2 + 4(d+h)^2 - 4(d+h)z_L}} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{L}{\sqrt{L^2 + 4h^2 + 4hz_L}} \right] \quad (4.38) \end{aligned}$$

where  $z_L$  is the coordinate  $z$  of the point of measurement. If  $L$  is large compared to  $d$  and  $h$ , (38) yields

$$p_{scat}(L \gg d, h) = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{L} \frac{4\beta\rho_3}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \quad (4.39)$$

Let us consider limiting cases resulting from (4.37) and (4.39). As follows from the definition of the bulk modulus  $K$ , for  $K \rightarrow \infty$  the wall becomes incompressible. In this case,  $\beta = \rho_2$ . If, in addition to the condition  $K \rightarrow \infty$ , it is set that  $\rho_3 = \rho_2$ , we obtain an incompressible wall of infinite thickness. If then  $\rho_2$  is set to be infinite, (4.37) and (4.39) reduce to the model of a rigid wall,

$$\begin{aligned} & R\ddot{R} \left[ 1 + \frac{R}{2d} - \frac{\dot{R}}{c} \right] + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 + \frac{2R}{3d} - \frac{\dot{R}}{3c} \right] \\ &= \frac{1}{\rho_1} \left( 1 + \frac{\dot{R}}{c} + \frac{R}{c} \frac{d}{dt} \right) \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0^3 - a^3}{R^3 - a^3} \right)^\kappa - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right] \end{aligned} \quad (4.40)$$

$$p_{scat}(L \gg d, h) = \frac{2\rho_1(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{L} \quad (4.41)$$

Equation (4.40) is identical to the equation of Shima and Tomita [110], except that they used the compressibility corrections of different (Herring) form. Note that the transition from (4.37) to (4.40) reveals that the model of a rigid wall implicitly means that the wall thickness is infinite.

Finally, it is interesting to compare (4.37) and (4.39) with the equations derived by Doinikov et al [133] for a bubble near a fluid layer. The comparison reveals that the equations for a fluid layer turn into the equations for an elastic wall if  $\rho_2$  is replaced with  $\beta$ . This observation shows that (4.37) and (4.39) can readily be transformed for the case that medium 3 is an elastic solid. It is enough to replace  $\rho_3$  in (4.37) and (4.39) with the quantity

$\xi = \rho_3(3K_3 - 2\mu_3)/(3K_3 + 4\mu_3)$ , where  $K_3$  and  $\mu_3$  are the bulk modulus and the shear modulus for medium 3.

### 3. Linear analysis

It is instructive to analyze the linear version of (4.37). Assuming  $R(t) = R_0 + x(t)$ , where  $|x(t)| \ll R_0$ , and taking the shell term  $S$  in the form of the de Jong model [35], [165], one obtains from (4.37)

$$\ddot{x} + \delta\dot{x} + \omega_0^2 x = -\frac{P_{ac}(t)}{\rho_1 R_0 \alpha} \quad (4.42)$$

where

$$\delta = \frac{4(\eta + \kappa_s/R_0)}{\rho_1 R_0^2 \alpha} + \frac{R_0 \omega_0^2}{c} = \frac{\delta_\infty}{\alpha} \quad (4.43)$$

$$\omega_0^2 = \frac{1}{\rho_1 R_0^2 \alpha} \left( 3\kappa P_0 + \frac{2(3\kappa - 1)\sigma}{R_0} + \frac{4\chi}{R_0} \right) = \frac{\omega_\infty^2}{\alpha} \quad (4.44)$$

$$\alpha = 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{R_0}{2d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{R_0}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{R_0}{2h} \quad (4.45)$$

$\kappa_s$  is the shell viscosity,  $\chi$  is the shell elasticity [46], and  $\delta_\infty$  and  $\omega_\infty$  denote the damping constant and the resonance frequency in an unbounded fluid. Assuming  $P_{ac}(t) = P_m \exp(i\omega t)$ , where  $P_m$  is the acoustic pressure amplitude and  $\omega$  is the angular driving frequency, the amplitude  $x_m$  of the bubble oscillation  $x(t)$  is found from Eq. (4.42) to be

$$x_m = \frac{P_m}{\rho_1 R_0 \alpha [(\omega^2 - \omega_0^2)^2 + \omega^2 \delta^2]^{1/2}} = \frac{P_m}{\rho_1 R_0 [(\alpha \omega^2 - \omega_\infty^2)^2 + \omega^2 \delta_\infty^2]^{1/2}} \quad (4.46)$$

Equation (4.46) allows one to establish the restriction on the acoustic pressure amplitude which corresponds to the linear regime. From the condition  $x_m \ll R_0$ , using (4.46), one obtains that  $P_m$  should obey the following condition:

$$P_m \ll \rho_1 R_0^2 \alpha [(\omega^2 - \omega_0^2)^2 + \omega^2 \delta^2]^{1/2} \quad (4.47)$$

As is seen from (4.43) – (4.46), the presence of a wall affects all the parameters of the bubble response: the damping constant  $\delta$ , the resonance frequency  $\omega_0$ , and the oscillation amplitude  $x_m$ .

For a rigid wall,  $\alpha = 1 + 0.5R_0/d$ . In this case, the resonance frequency and the damping decrease as the bubble approaches the wall. The change of the oscillation amplitude will depend on how the bubble is driven with respect to its resonance frequency in an unbounded fluid,  $\omega_\infty$ . As follows from (4.46), if  $\omega \geq \omega_\infty$  (the bubble is driven at or above resonance),  $x_m$  will decrease as the bubble approaches the wall. If  $\omega < \omega_\infty$  (the bubble is driven below resonance),  $x_m$  will increase. Note, however, that this increase will occur up to the wall only if  $\omega$  is sufficiently small compared to  $\omega_\infty$ . If  $\omega$  is smaller than but close to  $\omega_\infty$ ,  $\alpha\omega^2$  can become greater than  $\omega_\infty^2$  at some value of  $d$ , and then  $x_m$  will start decreasing with decreasing  $d$ .

In the general case of an elastic wall,  $\alpha$  can both increase and decrease with decreasing  $d$  so  $\delta$  and  $\omega_0$  can both decrease and increase in the vicinity of the wall. To analyze the dependence of  $\alpha$  on  $d$ , let us take the derivative of (4.45) with respect to  $d$  and analyze its sign. Doing so, one obtains that the sign of the derivative is determined by the following equation:

$$(\rho_1 - \beta)(\beta + \rho_3)(d + h)^2 + (\beta - \rho_3)(\rho_1 + \beta)d^2 \quad (4.48)$$

As follows from mathematical analysis, for  $(4.48) > 0$ ,  $\alpha$  will decrease with decreasing  $d$ , while for  $(4.48) < 0$ ,  $\alpha$  will increase with decreasing  $d$ . Let us consider three particular cases.

(a)  $\rho_1 > \beta > \rho_3$

This inequality means that the liquid behind the wall is less dense than that surrounding the bubble. In the case (a),  $(4.48) > 0$ , so  $\alpha$  decreases with decreasing  $d$  and hence  $\delta$  and  $\omega_0$  increase in the vicinity of the wall.

(b)  $\rho_1 < \beta < \rho_3$

In this situation, the denser liquid is behind the wall. In the case (b),  $(4.48) < 0$ , so  $\alpha$  increases with decreasing  $d$  and hence  $\delta$  and  $\omega_0$  decreases in the vicinity of the wall.

(c)  $\rho_1 = \rho_3$

This equality means the liquid behind the wall is identical to that surrounding the bubble. This situation often takes place in experiments [97], [125]. Equation (4.48) shows that for  $\rho_1 = \rho_3 > \beta$ ,  $\alpha$  decreases with decreasing  $d$ , while for  $\rho_1 = \rho_3 < \beta$ ,  $\alpha$  increases with decreasing  $d$ . Note also that if  $\rho_1 = \rho_3 > \beta$  and the bubble is driven below resonance ( $\omega < \omega_\infty$ ), (4.46) shows that the bubble oscillation amplitude will decrease as the bubble approaches the wall.

#### 4. Numerical simulations

In this section, we present numerical simulations which have been made using (4.37) and (4.39) in the parameter range of interest for medical ultrasound applications. The simulations were carried out by means of the program package MATHEMATICA (Wolfram Research, Inc., Champaign, IL); see the note in the Appendix. As representative data, we adopted parameters from experiments by Garbin *et al* [166]. In their experiments, radius-time ( $R-t$ ) curves were recorded for a contrast agent bubble when the bubble was away from a plastic

wall (OptiCell, BioCrystal, Inc.) and when it was in contact with the wall. The experiments were carried out under the following physical conditions:  $P_0 = 101.3$  kPa,  $\rho_1 = 1000$  kg/m<sup>3</sup>,  $\eta = 0.001$  Pa·s,  $\sigma = 0.072$  N/m,  $c = 1500$  m/s,  $\rho_2 = 1060$  kg/m<sup>3</sup>,  $K = 3.75$  GPa,  $\mu = 1.34$  GPa,  $h = 75$   $\mu$ m, and  $\rho_3 = 1000$  kg/m<sup>3</sup>. The measurements were made for the contrast agent BR-14 (Bracco Research SA, Geneva, Switzerland). The resting radius of the tested bubble was  $R_0 = 2.45$   $\mu$ m. The bubble was insonified with an 8 cycle, 200 kPa, 2.25 MHz Gaussian pulse. Unfortunately, Garbin *et al* [166] do not provide the values of the shell parameters of the bubble. We made an attempt to evaluate these values using the  $R$ - $t$  curve which was recorded by Garbin *et al* [166] when the bubble was away from the wall; see figure 4.2 in their paper. We performed the fitting of this curve using the de Jong shell model [35]. The best-fit values of the shell elasticity and the shell viscosity were found to be  $\chi = 0.51$  N/m and  $\kappa_s = 6.9 \times 10^{-8}$  kg/s. While the value of the shell elasticity is in good agreement with those reported by other investigators [35], [119], [165], [167], the value of the shell viscosity is unusually high as compared to the estimates of other investigators. For example, for similar conditions (a BR14 bubble insonified with a 200 kPa, 2 MHz pulse), Marmottant *et al* [46] give  $\kappa_s = 0.72 \times 10^{-8}$  kg/s. According to experimental data by Tu *et al* [165] for SonoVue<sup>®</sup> bubbles, which are manufactured by the same company (Bracco Research SA, Geneva, Switzerland) and also have lipid encapsulation, a 2.45  $\mu$ m radius bubble insonified with a 150 kPa, 2.5 MHz pulse has the shell viscosity on the order of  $1.0 \times 10^{-8}$  kg/s; see figure 4.4(b) in their paper. The reason why our fitting gives the improbably large value of the shell viscosity is unclear. This may occur because we have to make the fitting for the inaccurate curve adopted from the figure. Since Garbin *et al* [166] provide the data only for one measurement, it is impossible to make a check and establish a definite cause. The problem with the shell viscosity makes it impossible to conduct a correct quantitative comparison between our

simulations and the results of Garbin *et al* [166]. Therefore the results presented below should be considered as a qualitative comparison.

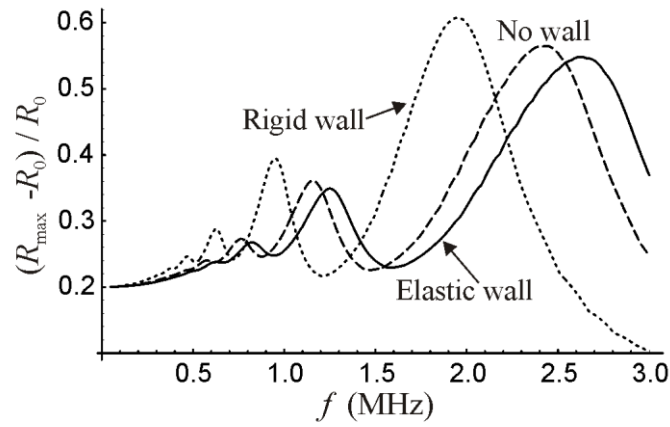


Figure 4.2 The simulated resonance curves for a  $2.45 \mu\text{m}$ -radius bubble insonified with an 8 cycle, 200 kPa Gaussian pulse. The dashed line represents the resonance curve for the bubble in an unbounded liquid, the solid line corresponds to the bubble near an elastic (OptiCell) wall, and the dotted line shows the resonance curve for the bubble near a rigid wall

Using the parameters pointed out in the preceding paragraph, we calculated resonance curves for a  $2.45 \mu\text{m}$  radius bubble insonified with an 8 cycle, 200 kPa Gaussian pulse with a center frequency in the range 0.05–3.0 MHz. The shell term  $S$  in (4.37) was taken in the form of the de Jong model [35]. To be in agreement with data available in the literature, we took the value of the shell viscosity given by Marmottant *et al* [46],  $\kappa_s = 0.72 \times 10^{-8}$  kg/s. The value of the shell elasticity was set to be  $\chi = 0.51$  N/m. The results obtained are presented in figure 4.2.  $R_{\text{max}}$  is the maximum value of the bubble radius  $R(t)$  during the oscillation. The dashed line represents the resonance curve when the bubble is in an unbounded liquid, and the solid line corresponds to the bubble being in the immediate vicinity of the elastic wall,  $d = R_0$ . For comparison, the dotted line shows the resonance curve given by the rigid wall model. Garbin *et al* [166] report that the vicinity of the wall suppresses the amplitude of the bubble oscillation. Comparing the dashed and the solid curves at the driving frequency 2.25 MHz used by Garbin *et al* [166], one can see that the bubble oscillation amplitude decreases near



the elastic wall as compared to that in an unbounded liquid. That is, the tendency predicted by our theory is in agreement with the observations of Garbin *et al* [166]. It may be argued that at 2.25 MHz the rigid wall model predicts the same tendency. However, there is a fundamental distinction between the two models that allows one to establish which one of them is really correct. This distinction is that the rigid wall model predicts that the bubble natural frequency should decrease near the wall, while the elastic wall model predicts an increase in the bubble natural frequency. Figure 4.3 shows how this difference manifests itself in simulated  $R-t$  curves given by the models. The curves were calculated at  $f = 2.25$  MHz, the other parameters being as in figure 4.2. It is seen that, as a result of the decrease of the bubble natural frequency, the  $R-t$  curve given by the rigid wall model (dotted line) is stretching along the time axis in reference to the  $R-t$  curve for the bubble in an unbounded liquid (dashed line). Whereas the increase of the bubble natural frequency predicted by the elastic wall model results in the compression of the  $R-t$  curve (solid line). The measurements of Garbin *et al* [166] allow one to establish what occurs in reality. Figure 4.2 of their paper clearly shows that the  $R-t$  curve near the wall shrinks in relation to the  $R-t$  curve for the case that the bubble is away from the wall, i.e., the experimental curve behaves as the simulated  $R-t$  curve given by the elastic wall model. In connection with this result, it is also pertinent to mention a paper by Qin and Ferrara [159]. In this paper, the natural frequency of contrast agents in microvessels was studied numerically using a different (lumped-parameter) model. The simulations showed that the natural frequency of bubble oscillation in a compliant vessel increased with decreasing vessel radius, i.e., the effect of the same nature as in our study was observed. Thus our simulations show that the theory developed is capable of predicting the correct tendency in the bubble behavior near an elastic wall. It should be admitted, however, that the decrease in the oscillation amplitude is considerably smaller than that reported by Garbin *et al* [166]. This appears to suggest that the shift of the resonance frequency in the vicinity of the wall is

not a single reason for the decrease in the oscillation amplitude. Garbin *et al* [166] mention other possible mechanisms: additional damping due to the viscous boundary layer at the wall and asymmetrical oscillations of the bubble. These effects are not taken into account in our theory, which is likely to lead to a weaker suppression of the bubble oscillation.

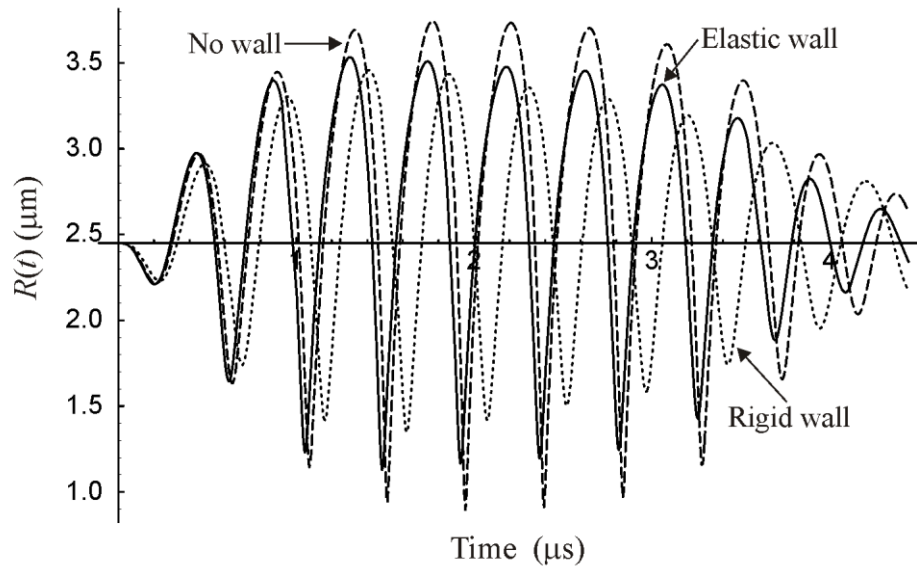


Figure 4.3 The simulated radius-time curves corresponding to the driving frequency 2.25 MHz in figure 4.2

An important point is that the presence of a wall influences not only the radial oscillation of a bubble, but the scattered pressure in the ambient liquid as well; see (4.39). The scattered pressure is changed due to two factors. First, the wall affects the bubble radial oscillation. As a result, (4.37) becomes different from the original Rayleigh-Plesset equation. Second, the wall reflects the bubble scattered wave. As a result, (4.39) becomes different from the equation for the scattered pressure from a bubble in an unbounded liquid. In addition, the equation for the scattered pressure is an essentially nonlinear function which is responsive to both amplitude and phase changes in the bubble radial oscillation. Therefore the change of the scattered pressure may be rather considerable even if the change of the bubble oscillation amplitude looks minor. This statement is confirmed by figure 4.4 which shows the scattered

pressure calculated for the cases presented in figure 4.3. The scattered pressure was calculated at the distance  $L = 0.01$  m from the bubble center. As one can see, the presence of a wall reflects on the amplitude of the scattered pressure more strongly than on the amplitude of the bubble radial oscillation.

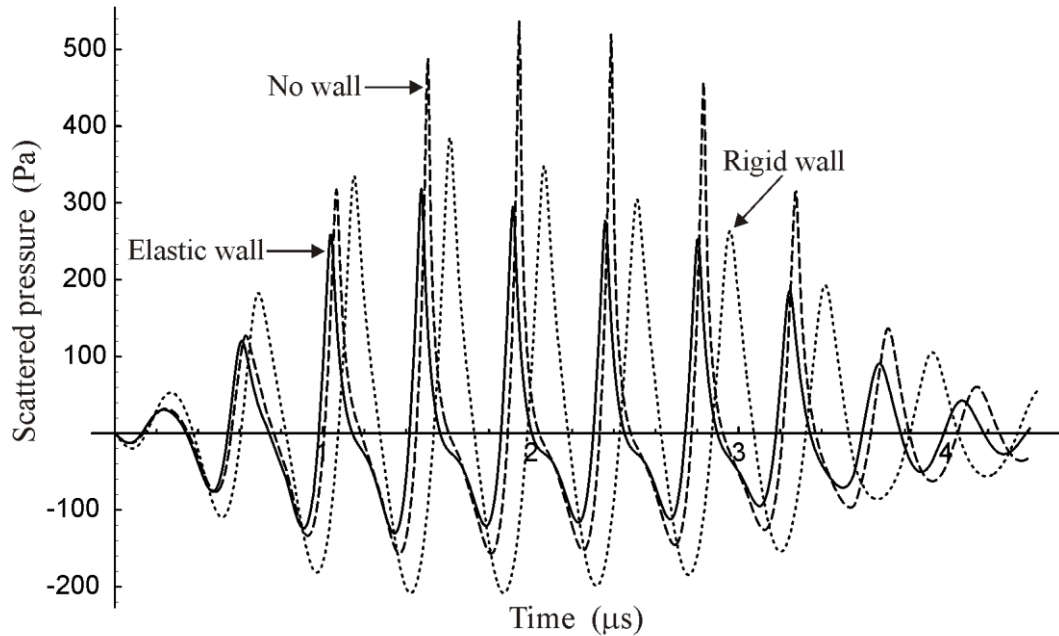


Figure 4.4 The simulated scattered pressure for the cases shown in figure 4.3

We have applied (4.37) and (4.39) to evaluate how the acoustic response of a bubble is affected by a wall whose parameters correspond to the material properties of the arterial vessel wall. In most investigations, Poisson's ratio of the arterial wall is set to be equal to 0.5 [159], [161], [168], [169]. Mathematically, this means that the arterial wall is treated as an incompressible medium. Carew *et al* [170] explored this problem for different types of blood vessels: the thoracic and abdominal aortas, and the carotid, iliac, and pulmonary arteries. They estimated Poisson's ratio to be  $\nu = 0.4998$ , which represents 0.04 % deviation from  $\nu = 0.5$ . Based on these findings, Carew *et al* [170] have concluded that for many practical purposes the assumption of incompressibility of the arterial wall may be justified. Following their conclusion, we set  $\nu = 0.5$  in our simulation. The density of the arterial wall was adopted

from the work by Qin and Ferrara [159],  $\rho_2 = 900 \text{ kg/m}^3$ . As reported in the literature, the diameter of arteries ranges from about 0.5 to 12.5 mm [171] and the wall thickness of an artery is approximately 10–13 % of its radius [168], [172]. It follows that, for example, the wall thickness of a 2 mm diameter artery is on the order of  $100 \mu\text{m}$ . We used this value as  $h$  in our simulation. The physical parameters for media 1 and 3 were taken as for blood:  $\rho_1 = 1060 \text{ kg/m}^3$ ,  $\eta = 0.0035 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ ,  $\sigma = 0.056 \text{ N/m}$ ,  $c = 1580 \text{ m/s}$ , and  $\rho_3 = 1060 \text{ kg/m}^3$  [173], [174]. We made calculations for a bubble with  $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$ , a typical mean radius of lipid-coated contrast agents such as BR14. As in figure 4.2, the bubble was insonified with an 8 cycle, 200 kPa Gaussian pulse, and the shell term  $S$  in (4.37) was taken in the form of the de Jong model with the parameters  $\kappa_s = 0.72 \times 10^{-8} \text{ kg/s}$  and  $\chi = 0.51 \text{ N/m}$ . Figure 4.5(a) shows resonance curves for the radial bubble oscillation, and figure 4.5(b) displays the difference between the positive  $P_{\max}$  and the negative  $P_{\min}$  peaks of the scattered pressure from the bubble as a function of frequency. The scattered pressure was calculated at the distance  $L = 0.01 \text{ m}$  from the bubble center. The dashed lines correspond to the bubble in an unbounded liquid, and the solid lines, to the bubble in the immediate vicinity of the wall,  $d = R_0$ . As one can see, distinctions between the dashed and the solid curves are insignificant. The reason is as follows. The elastic wall model shows that the behavior of a bubble near a wall is mainly determined by the ratio between the parameter  $\beta$ , which integrally characterizes the mechanical properties of the wall, and the density  $\rho_1$  of the liquid surrounding the bubble. For the arterial wall, the value of  $\beta$  is close to  $\rho_1$ . Physically, this means that the natural frequency of the bubble does not change much when the bubble approaches the wall, as can be seen in figure 4.5(a). In addition, the factor  $4\beta\rho_3/[(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)]$  in (4.39), which distinguishes (4.39) from the equation for the scattered pressure in an unbounded liquid, is

found for the arterial wall to be equal to 0.99334. Therefore the presence of the wall does not produce any significant changes in the scattered pressure either.

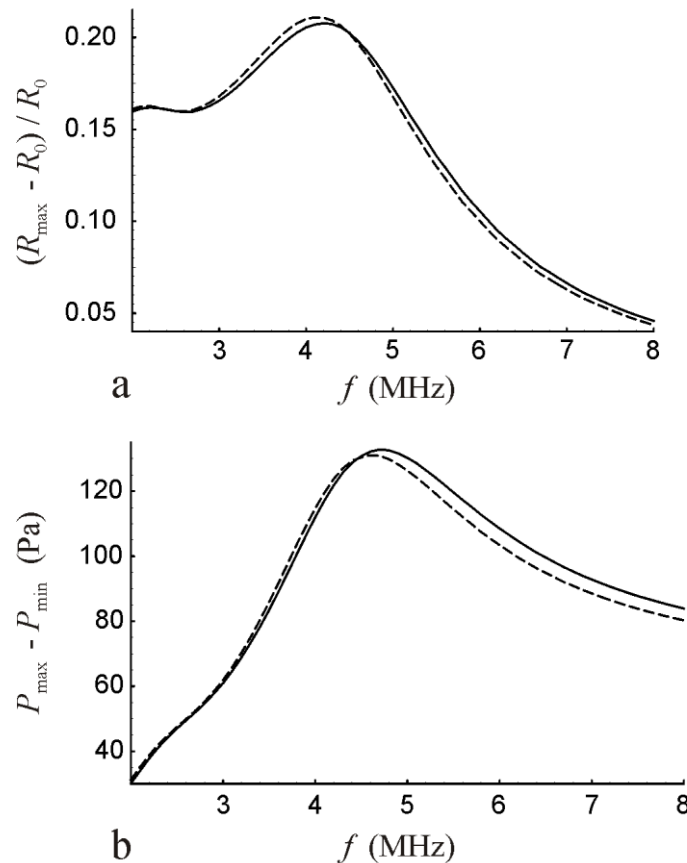


Figure 4.5 The simulated resonance curves for the radial oscillation and the scattered pressure of a  $1.5 \mu\text{m}$  radius bubble near the arterial vessel wall

One more point needs to be made. According to Bergel [168], [172], the larger the artery, the thicker its wall. The arterial diameter does not appear as a parameter in our theory, whereas the wall thickness  $h$  does appear in (4.37). However, when the bubble is in the immediate proximity of the wall, the bubble response is virtually independent of  $h$ . Our simulations show that in this case the results for  $h = 100 \mu\text{m}$  and  $h = 1000 \mu\text{m}$  are practically identical. The reason is as follows. In our derivation, it is assumed that  $R_0 \ll h$ . Near the

wall,  $d$  is on the same order as  $R_0$ , which gives  $d \ll h$ . As a result, the terms of (4.37) which involve  $h$  become negligible in comparison with those involving  $d$  alone. This means that the results presented in figure 4.5 can be applied to arteries of different diameters, providing the arterial diameter is large compared to the bubble size.

The results obtained for the arterial wall suggest that the acoustic influence of the arterial wall on a contrast microbubble is weak and apparently cannot be used to recognize the moment when the bubble approaches the wall. Further theoretical development is required in order to include into consideration other processes, such as bubble asymmetric oscillations, acoustic microstreaming, etc. However, in experiments where the behavior of bubbles near various plastic walls is observed, e.g., under the conditions as in figures 4.2–4.4, the influence of such walls can be detectable.

## 5. Conclusions

In this paper, a modified Rayleigh-Plesset equation has been derived that describes the radial oscillation of a contrast agent bubble near an elastic wall of finite thickness. It has been shown that there are qualitative differences between the predictions of this equation and the model of a rigid wall which was used previously. In particular, the rigid wall model predicts that the natural frequency of a bubble always decreases as the bubble approaches the wall, while the elastic wall model reveals that the bubble natural frequency can both decrease and increase depending on the mechanical properties of the wall, and in cases of interest for medical applications, the bubble natural frequency usually increases. It has been found that the influence of an elastic wall on the acoustic response of a bubble is determined by the ratio between the parameter  $\beta$ , which integrally characterizes the mechanical properties of the wall and has the dimension of density, and the density  $\rho_1$  of the liquid surrounding the

bubble. It has been shown that for a contrast bubble near the arterial wall, the value of  $\beta$  is close to  $\rho_1$  and therefore the influence of the arterial wall on the bubble is very weak and apparently cannot be used to recognize the moment when the bubble approaches the wall. However, in experiments where the behavior of bubbles near various plastic walls is observed, the influence of such walls can be detectable.

### Appendix. Dimensionless version of (4.37)

To transform (3.37) to dimensionless form,  $R_0$  is assigned as the characteristic length of the problem,  $1/\omega$  as the characteristic time and accordingly  $\omega R_0$  as the characteristic velocity.

The density of medium 1,  $\rho_1$ , is assigned as the characteristic density. Finally, the characteristic pressure is defined via the characteristic velocity as  $\rho_1 \omega^2 R_0^2$ . As a result, one obtains

$$\begin{aligned}
 & R' \frac{d^2 R'}{dt'^2} \left[ 1 - \left( \frac{1-\beta'}{1+\beta'} \right) \frac{R'}{2d'} - \left( \frac{\beta' - \rho'_3}{\beta' + \rho'_3} \right) \frac{R'}{2(d'+h')} + \frac{(1-\beta')(\beta' - \rho'_3)}{(1+\beta')(\beta' + \rho'_3)} \frac{R'}{2h'} - M \frac{dR'}{dt'} \right] \\
 & + \frac{3}{2} \left( \frac{dR'}{dt'} \right)^2 \left[ 1 - \left( \frac{1-\beta'}{1+\beta'} \right) \frac{2R'}{3d'} - \left( \frac{\beta' - \rho'_3}{\beta' + \rho'_3} \right) \frac{2R'}{3(d'+h')} + \frac{(1-\beta')(\beta' - \rho'_3)}{(1+\beta')(\beta' + \rho'_3)} \frac{2R'}{3h'} - \frac{M}{3} \frac{dR'}{dt'} \right] \\
 & = \left( 1 + M \frac{dR'}{dt'} + MR' \frac{d}{dt'} \right) \left[ \left( P'_0 + \frac{2}{We} \right) \left( \frac{1-a'^3}{R'^3 - a'^3} \right)' - \frac{2}{WeR'} - \frac{4}{ReR'} \frac{dR'}{dt'} - P'_0 - P'_{ac}(t') - S' \right], \quad (A1)
 \end{aligned}$$

where the prime denotes dimensionless quantities,  $\beta' = \beta/\rho_1$ ,  $\rho'_3 = \rho_3/\rho_1$ ,  $M = \omega R_0/c$  is the Mach number,  $We = \rho_1 \omega^2 R_0^3/\sigma$  is the Weber number,  $a' = a/R_0$ ,  $Re = \rho_1 \omega R_0^2/\eta$  is the Reynolds number, and  $S' = S/(\rho_1 \omega^2 R_0^2)$  is the shell term normalized by the characteristic pressure.

In the present study, numerical simulations have been carried out by means of the program package MATHEMATICA (Wolfram Research, Inc., Champaign, IL). The interface of this program allows one to input equations to be solved in the normal mathematical form so no special preparatory steps are required to start the computational process.



## 4.4 Conclusions et perspectives

Dans cette étude, nous avons mis en évidence que le modèle d'une paroi élastique révèle que les propriétés mécaniques de la paroi modifient le comportement d'une bulle. Cette conclusion est d'un intérêt pour des applications médicales, afin de détecter les bulles qui oscillent près des parois artérielles. Contrairement au modèle d'une paroi rigide qui prédit une diminution certaine de la fréquence de résonance d'une bulle lorsqu'elle se rapproche de la paroi, le modèle d'une paroi élastique révèle une augmentation de la fréquence de résonance de la bulle.

L'influence d'une paroi élastique sur la réponse acoustique d'une bulle est déterminée par le rapport entre les paramètres qui caractérisent les propriétés mécaniques de la paroi, sa masse volumique, ainsi que la densité du liquide environnant la bulle.

Dans cette étude, le contact mécanique entre la bulle et la paroi n'est pas considéré. Dans le cas de microbulles ciblées, elles sont adhérentes aux régions ciblées. L'intérêt est donc de développer un modèle représentatif d'une bulle attachée à la paroi. Ce modèle sera le but de l'un des chapitres suivants, où un contact mécanique entre la bulle et la paroi sera considéré.



# **Chapitre 5 Etude numérique de l'effet d'une paroi élastique sur la dynamique d'une microbulle de contraste**

## **5.1 Introduction**

En imagerie ciblée, l'interaction de microbulles avec la paroi d'un vaisseau sanguin [139], [140] est d'un intérêt primordial. Pour cela, l'effet d'une paroi sur une microbulle d'agent de contraste a été l'objet de plusieurs études ces dernières années. Dans ces études, l'interaction des microbulles de contraste avec les parois a été réalisée avec des parois de différents matériaux tels que l'OptiCell [125], [166], [175].

Les résultats expérimentaux montrent que la proximité d'une paroi peut produire des changements considérables dans l'amplitude des oscillations des microbulles [89], [125], [166], [175]. Lankford et al [89] a rapporté que le signal acoustique de microbulles s'est réduit par leur adhérence à des surfaces rigides alors que leur adhérence aux cellules endothéliales a causé seulement une réduction insignifiante du signal. Garbin et al [166] ont observé que l'amplitude des oscillations d'une microbulle de BR14 (Bracco, Genève, Suisse) proche d'une paroi d'OptiCell a été réduite de moitié.

Des études théoriques prédisent que la présence d'une paroi proche d'une microbulle diminue ou augmente sa fréquence de résonance en fonction des propriétés mécaniques de la paroi [120], [159], [161], [176]. Cependant, ces effets restent basés sur des études non approfondies car un seul type de paroi est étudié.

Dans ce chapitre nous proposons une étude numérique pour déterminer l'effet des propriétés mécaniques de différentes parois élastiques (Aluminium, OptiCell, et tissu biologique) sur le

comportement dynamique des microbulles de différentes tailles. Ainsi, nous avons identifié les conditions d'excitations optimales pour différencier l'écho des microbulles proches d'une paroi de celles éloignées de la paroi.

Ces travaux ont été publiés dans le journal *Ultrasonics* de Mars 2012 [177].

## 5.2 Résumé de l'article

Le but de la présente étude est de montrer de quelle façon les surfaces avec des propriétés mécaniques différentes affectent la réponse acoustique des microbulles de contraste. Le modèle théorique présenté dans le chapitre précédent a été exploité. Pour cela, des simulations numériques sont réalisées pour trois types de parois : plastique (OptiCell), aluminium, et tissu biologique. Pour chaque paroi, le comportement de trois tailles de microbulles de contraste est étudié. Les spectres fréquentiels des échos rétrodiffusés par les microbulles sont comparés pour deux cas : lorsque la bulle oscille loin de la paroi, et la même bulle oscillante au voisinage immédiat de la paroi. Les résultats de simulations permettent de faire les conclusions suivantes. L'effet de la paroi d'OptiCell sur la réponse acoustique de la bulle est plus important que celui des parois en aluminium et du tissu. Les changements dans la réponse de la bulle proche de la paroi sont plus importants lorsque les bulles sont excitées au dessus de leurs fréquences de résonance. Il est constaté aussi que le changement des amplitudes du fondamental et du deuxième harmonique par rapport aux amplitudes maximales de ces composantes, est plus important pour les petites bulles, et que les variations du deuxième harmonique sont plus importantes que celles du fondamental. Ces résultats permettent d'avoir un aperçu sur l'effet d'une paroi élastique et les conditions d'excitations pour lesquelles la réponse acoustique d'une microbulle de contraste proche d'une paroi est importante, ainsi plus facile à détecter.

### 5.3 Article: Effect of an elastic wall on the dynamics of an encapsulated microbubbles: a simulation study

Publié dans *Ultrasonics*, vol. 53, no. 1, pp. 23-28, Jan. 2013.

**Leila Aired**, Alexander A. Doinikov, Ayache Bouakaz

*INSERM U930 CNRS ERL3106, Université François Rabelais, CHU Bretonneau, 2*

*Boulevard Tonnellé, 37044 Tours Cedex 9, France*



**Abstract**

The purpose of the present simulation study is to reveal how confining surfaces with different mechanical properties affect the acoustic response of a contrast agent microbubble. To this end, numerical simulations are carried out for three types of walls: a plastic (OptiCell) wall, an aluminium wall, and a biological tissue. For each wall, the behavior of contrast microbubbles of three sizes is investigated. The spectral characteristics of the scattered pressure produced by the microbubbles are compared for two cases: the bubble oscillates far away from the wall and the same bubble oscillates in the immediate vicinity of the wall. The results of the simulations allow one to make the following main conclusions. The effect of the OptiCell wall on the acoustic bubble response is stronger than that of the aluminium and tissue walls. Changes in the bubble response near the wall are stronger when bubbles are excited above their resonance frequency. Considering changes in the fundamental and the 2nd harmonic with respect to the peak values of these components at different bubble radii, it is found that the changes are stronger for smaller bubbles and that the changes in the 2nd harmonic are stronger than those in the fundamental. These results allow one to gain an insight into conditions under which the effect of an elastic wall on the acoustic response of a contrast agent microbubble is easier to be detected.

## 1. Introduction

Much work has been done on the investigation of the effect of a confining surface on the dynamics of a free (unencapsulated) bubble, mainly in the context of the problem of cavitation damage. Detailed reviews of these investigations can be found in [126], [135], [138], [148]. In the last few decades, ultrasound medical applications have given impetus to studies on the effect of a boundary on a contrast agent (encapsulated) bubble. Nowadays there are a variety of biomedical ultrasound technologies that use microbubble contrast agents [1–3]. In most of them, the interaction of contrast microbubbles with various boundaries occurs. In clinical applications, such as targeted ultrasound imaging [85], [139], the boundary is the wall of a blood vessel. In experiments, contrast microbubbles interact with the walls of experimental containers which can be made of different materials such as OptiCell (BioCrystal, Ltd., Westerville, OH)[125], [166], [175]. Experimental data show that the proximity of a boundary can produce considerable changes in the oscillation amplitude of a contrast agent microbubble and its scattered echo [89], [125], [166], [175]. Available theoretical studies predict that the resonance frequency of a contrast microbubble near a boundary can either decrease or increase depending on the mechanical properties of the boundary [120], [133], [159], [161], [176]. However, these effects still remain not thoroughly investigated.

The purpose of the present simulation study is to reveal how boundaries with different mechanical properties affect the acoustic response of a contrast agent microbubble. To this end, the following research is carried out. We conduct numerical simulations for three boundaries whose parameters correspond to the mechanical properties of a plastic (OptiCell) wall, an aluminium wall, and a biological tissue. The choice of these types of walls is dictated by the following facts. The plastic wall was chosen because OptiCell is frequently used in experimental studies of targeted microbubbles. The aluminum wall provides a situation that is



far away from biological applications. The biological tissue represents a practical situation where targeted contrast agents are of interest. The simulations are based on a theory that has been developed recently in [120], [176]. In these papers, a modified Rayleigh-Plesset equation was derived that describes the radial oscillation of a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness. We use this equation to model the oscillation of contrast microbubbles of different sizes near the three types of walls mentioned above. Then we use these data to calculate the scattered echoes from the microbubbles when they oscillate near the different walls. Finally, we compare the echoes from the microbubbles near the walls with those produced by the same microbubbles when they are far away from the walls. The ultimate goal of this work is to establish the conditions of excitation that make it possible to distinguish the scattered echoes generated by the microbubbles near and far away from the walls.

## 2. Model

The equation derived in [120], [176] for a contrast microbubble pulsating near an elastic wall of finite thickness is given by

$$\begin{aligned}
 & R\ddot{R} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{R}{2d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{R}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{R}{2h} \right] \\
 & + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{2R}{3d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{2R}{3(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{2R}{3h} \right] \\
 & = \frac{1}{\rho_1} \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right] \tag{5.1}
 \end{aligned}$$

where  $R(t)$  is the instantaneous radius of the bubble, the overdot denotes the time derivative so that  $\dot{R} = dR/dt$  and  $\ddot{R} = d^2R/dt^2$ ,  $\rho_1$  is the density of the liquid surrounding the bubble,  $d$  is the distance between the bubble center and the wall,  $\rho_3$  is the density of the liquid behind

the wall,  $h$  is the thickness of the wall,  $P_0$  is the hydrostatic pressure in the liquid surrounding the bubble,  $\sigma$  is the surface tension,  $R_0$  is the bubble radius at rest,  $\kappa$  is the ratio of specific heats of the gas inside the bubble,  $\eta$  is the shear viscosity of the liquid,  $P_{ac}(t)$  is the driving acoustic pressure, and the term  $S$  describes the effect of encapsulation.

The parameter  $\beta$  in (5.1) characterizes the mechanical properties of the wall and is defined as

$$\beta = \rho_2 \frac{3K - 2\mu}{3K + 4\mu} = \rho_2 \frac{\nu}{1 - \nu} \quad (5.2)$$

where  $\rho_2$ ,  $K$ ,  $\mu$ , and  $\nu$  are the density, the bulk modulus, the shear modulus, and Poisson's ratio of the wall, respectively.

If the term  $S$  in (5.1) is specified by the de Jong shell model [35], [165], (5.1) takes the form:

$$\begin{aligned} & R\ddot{R} \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{R}{2d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{R}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{R}{2h} \right] \\ & + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left[ 1 - \left( \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \right) \frac{2R}{3d} - \left( \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \right) \frac{2R}{3(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{2R}{3h} \right] \\ & = \frac{1}{\rho_1} \left[ \left( P_0 + \frac{2\sigma}{R_0} \right) \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} \left( 1 - \frac{3k}{c} \dot{R} \right) - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} \right. \\ & \quad \left. - 4\chi \left( \frac{1}{R_0} - \frac{1}{R} \right) - \frac{4k_S \dot{R}}{R^2} - P_0 - P_{ac}(t) \right] \end{aligned} \quad (5.3)$$

where  $c$  is the speed of sound in the liquid surrounding the bubble,  $\kappa_S$  is the shell viscosity, and  $\chi$  is the shell elasticity [46].

It is also shown in [120], [176] that the scattered pressure from the bubble in the far-field zone, i.e., at a distance much larger than the bubble size, is calculated as

$$P_{scat} = \frac{\rho_1 (R^2 \ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{L} \frac{4\beta\rho_3}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \quad (5.4)$$

where  $L$  denotes the distance between the center of the bubble and the point of measurement.

It is assumed that  $L$  is large compared to  $d$  and  $h$ .

It is well known that the shell parameters of contrast agents are dependent on the bubble size. To take the shell properties into account, we use experimental data from [165] shown in Figure 5.1.

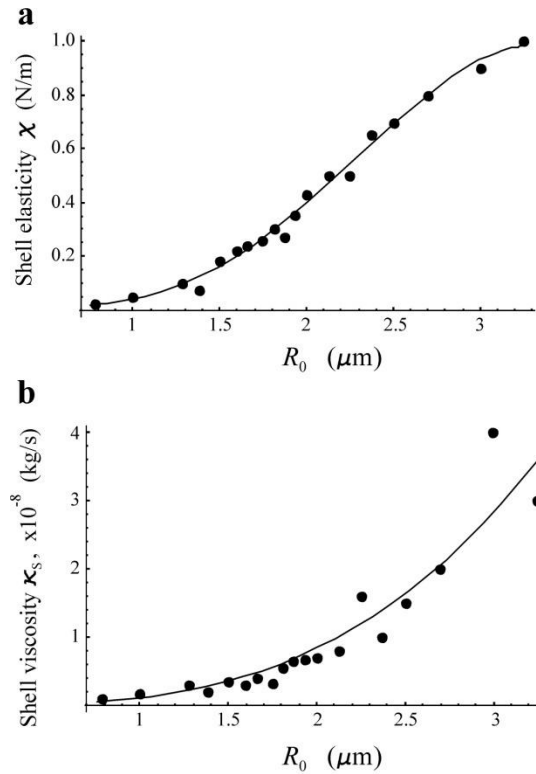


Figure 5.1 *Dependence of the shell elasticity and viscosity on bubble size. The closed circles indicate the experimental values obtained in [165] for the contrast agent SonoVue<sup>®</sup>. The solid lines show a polynomial approximation for the experimental points*

The closed circles indicate the values of the shell elasticity and viscosity obtained in [165] for the contrast agent SonoVue<sup>®</sup> (Bracco Research SA, Geneva, Switzerland). These values were obtained using the de Jong shell model for fitting experimental radius-time curves. The solid lines in Figure 5.1 represent our polynomial approximation for the experimental points. The equations of the approximation curves are given by

$$\chi(R_0) = 0.09091R_0 - 0.23995R_0^2 + 0.23151R_0^3 - 0.04235R_0^4, \quad (5.5)$$

$$\kappa_S(R_0) = 10^{-9} \times 1.0502R_0^3, \quad (5.6)$$

where  $R_0$  is specified in micrometers.

The equations presented in this Section are a theoretical basis for numerical simulations described in Section 3.

### 3. Numerical simulations

The simulations have been carried out by means of the program package MATHEMATICA (Wolfram Research, Inc., Champaign, IL). The values of the physical parameters used in (5.3) and (5.4) were set to be:  $P_0 = 101.3$  kPa,  $\rho_1 = \rho_3 = 1000$  kg/m<sup>3</sup>,  $\eta = 0.001$  Pa·s,  $c = 1480$  m/s,  $\sigma = 0.072$  N/m,  $\kappa = 1.095$ , and  $L = 0.01$  m. The excitation is an 8 cycle, 200 kPa Gaussian pulse with a center frequency in the range 1.0 – 5.0 MHz.

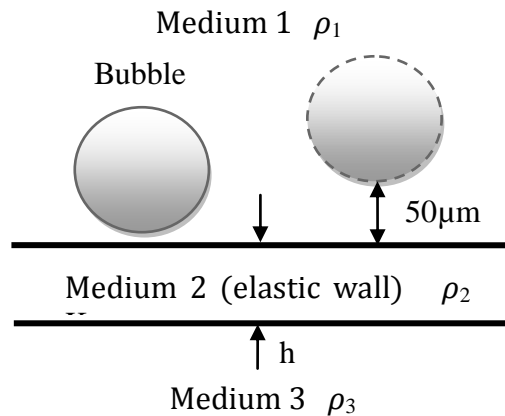


Figure 5.2 Two cases compared in the simulations: the bubble is in the immediate vicinity of the wall and the same bubble is at a distance of  $50\mu\text{m}$  from the wall

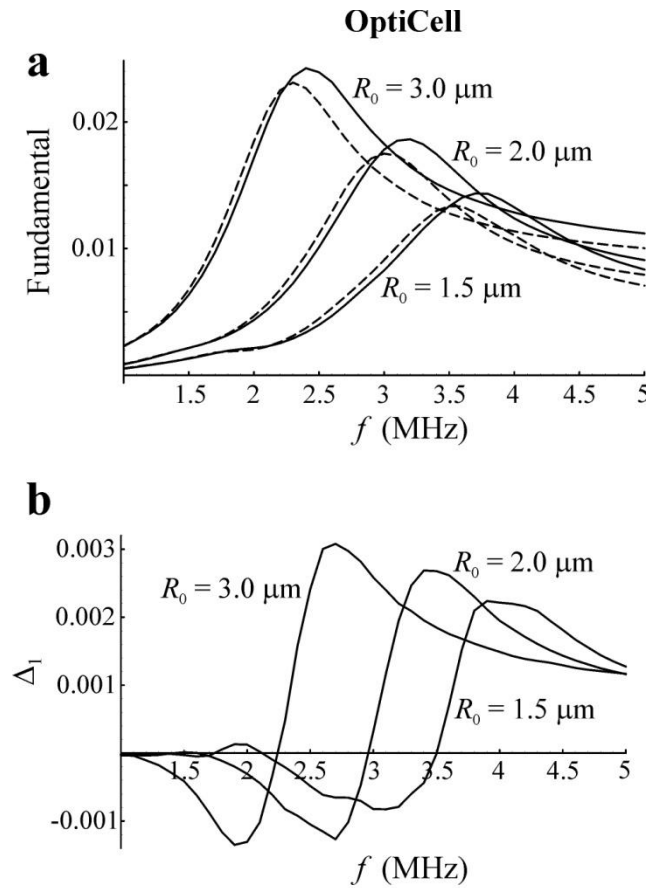


Figure 5.3 (a) The magnitude of the fundamental component in the spectrum of the bubble scattered pressure versus driving frequency for the OptiCell wall. The solid lines correspond to the bubbles at  $d = 1.5R_0$  and the dashed lines to the same bubbles at  $d = 50 \mu\text{m}$ . The curves were normalized by the acoustic pressure amplitude (200kPa). (b) The deviation of the solid curves from the dashed curves

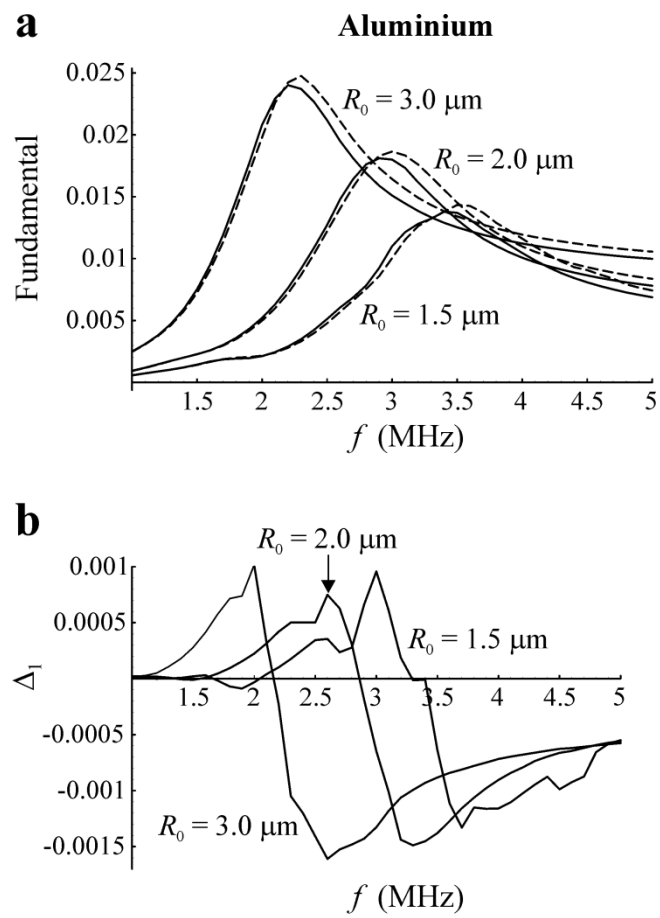


Figure 5.4 The same results as in Figure 5.3 for the aluminium wall

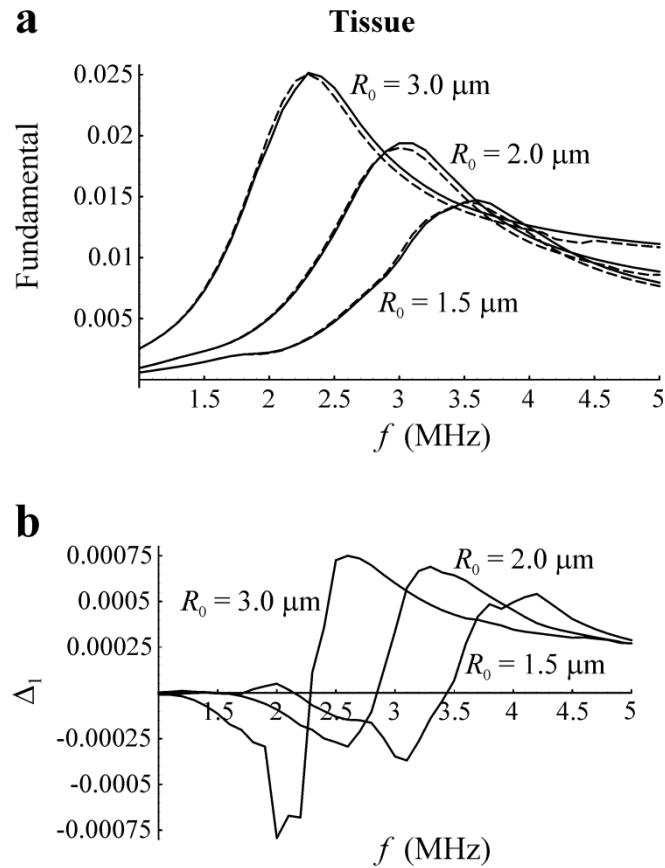


Figure 5.5 The same results as in Figure 5.3 for tissue

The three types of walls are tested in our simulations: a plastic wall, an aluminium wall, and a biological tissue. The mechanical parameters of the walls were set to be: for the plastic wall,  $\rho_2 = 1060 \text{ kg/m}^3$ ,  $K = 3.75 \text{ GPa}$ ,  $\mu = 1.34 \text{ GPa}$ ; for the aluminium wall  $\rho_2 = 2700 \text{ kg/m}^3$ ,  $K = 74 \text{ GPa}$ ,  $\mu = 26.5 \text{ GPa}$ ; for tissue,  $\rho_2 = 960 \text{ kg/m}^3$ ,  $K = 0.124 \text{ GPa}$ ,  $\mu = 0.0062 \text{ GPa}$ . The properties of the plastic wall were chosen to correspond to the walls of OptiCell chambers which are commonly used in experiments [34], [166], [178]. The parameters for tissue were adopted from [179]. The thickness of all the walls was taken to be equal to  $h = 75 \text{ μm}$ . This value corresponds to the wall thickness of OptiCell chambers [178] and is on the same order as the wall thickness of arterial vessels [168], [172].

The behavior of bubbles of three sizes is investigated:  $R_0 = 1.5, 2.0,$  and  $3.0 \mu\text{m}$ . The values of the shell parameters for each bubble size are calculated from (5.5) and (5.6). For each wall and for each bubble, two situations shown in Figure 5.2 are compared: the bubble is in the immediate vicinity of the wall ( $d = 1.5R_0$ ) and the same bubble is far away from the wall ( $d = 50 \mu\text{m}$ ).

Figure 5.3a shows the magnitude of the fundamental component in the spectrum of the scattered pressure as a function of the driving frequency when the bubbles oscillate in the vicinity of and far away from the OptiCell wall. The solid lines correspond to the bubbles at  $d = 1.5R_0$ , and the dashed lines to the same bubbles at  $d = 50 \mu\text{m}$  (far away). Note that all the curves are normalized by the acoustic pressure amplitude (200 kPa). For better visualization, the deviation of the solid curves from the dashed curves is shown in Figure 5.3b. As one can see, the magnitude and the sign of the deviation depend on the value of the driving frequency.



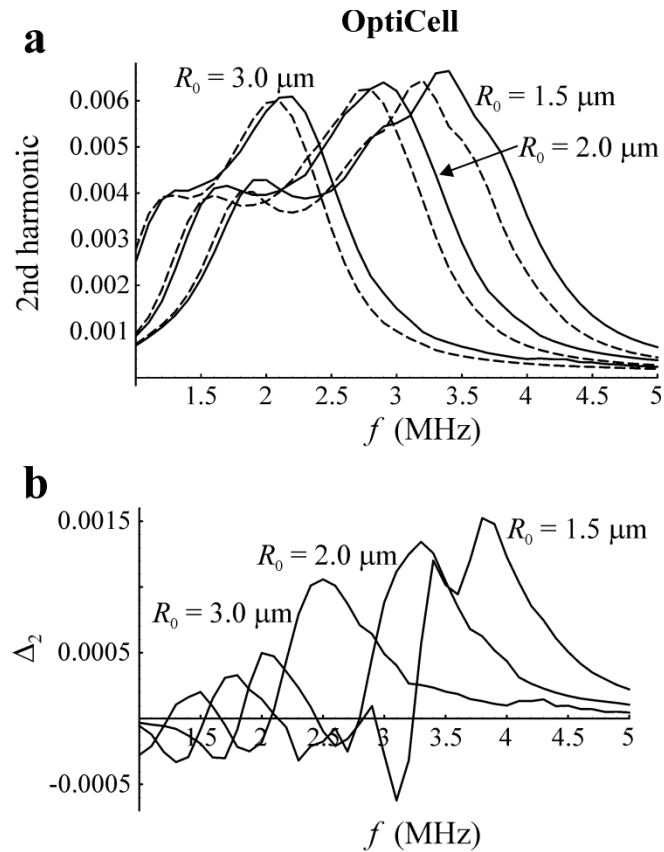


Figure 5.6 The magnitude of the 2nd harmonic in the spectrum of the bubble scattered pressure versus driving frequency for the OptiCell wall. The solid lines correspond to the bubbles at  $d = 1.5R_0$  and the dashed lines to the same bubbles at  $d = 50 \mu\text{m}$ . (b) The deviation of the solid curves from the dashed curves

Figures 5.4 and 5.5 provide similar data for the aluminium and tissue walls. The comparative analysis of Figures 5.3–5.5 reveals that the most considerable changes are observed for the OptiCell wall, and the least ones, for tissue. One can see that the influence of the wall is stronger when the bubbles are excited slightly above resonance, at approximately 111 – 117 % of their resonance frequency, assuming that this latter corresponds to the peaks of the dashed curves. It is also seen that for all the three walls, the difference between the solid (in the vicinity of the wall) and dashed (far away from the wall) curves is greater for the larger bubbles.

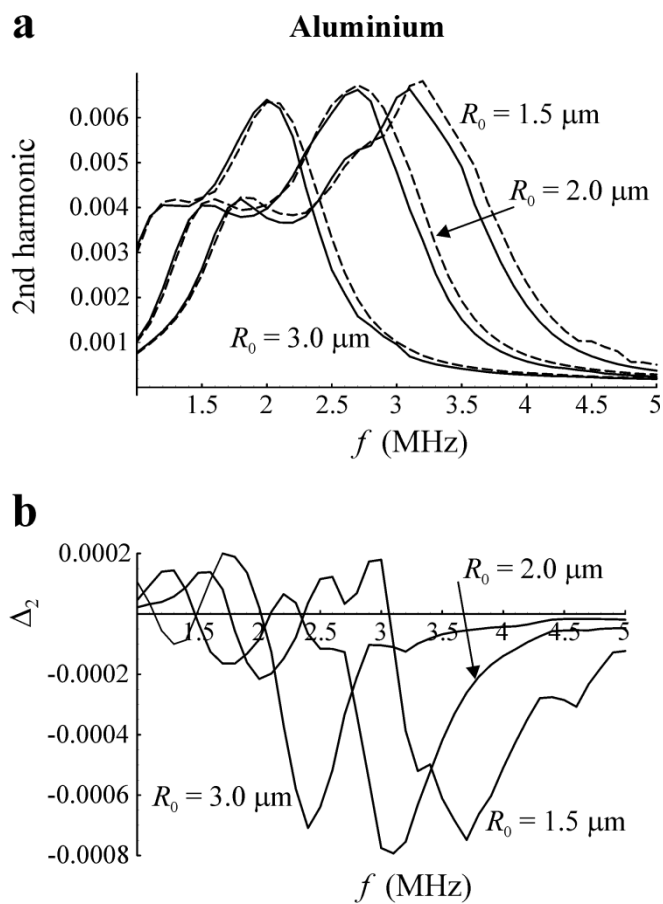


Figure 5.7 The same results as in Figure 5.6 for the aluminium wall

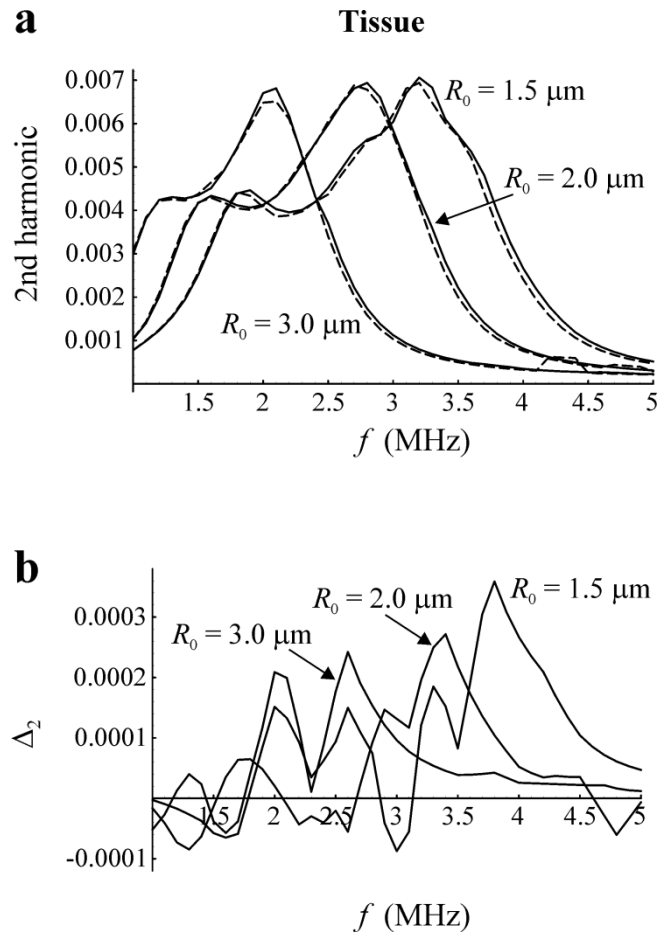


Figure 5.8 The same results as in Figure 5.6 for tissue

Figures 5.6–5.8 show the normalized magnitude of the 2nd harmonic in the spectrum of the scattered pressure as a function of the driving frequency for the same cases as in Figures 5.3–5.5. The OptiCell wall is again in the lead. Notice that, in contrast to the behavior at the fundamental frequency, the 2nd harmonic response is changed more strongly for the smaller bubbles. It is also of interest to note that, unlike the OptiCell and tissue walls, the aluminium wall suppresses both the fundamental and the 2nd harmonic; see Figures 5.4b and 5.7b.

Figure 5.9 gives a deeper insight into the results presented in Figure 5.3b. Figure 5.9a shows the quantity  $\Delta_{1\text{max}}$  as a function of the equilibrium bubble radius  $R_0$ .  $\Delta_{1\text{max}}$  denotes the maximum increase of the fundamental that is reached near the OptiCell wall for each bubble size. Figure 5.9a confirms that the increase of the fundamental is stronger for larger bubbles.

This effect is likely to be explained by the fact that the peak value of the fundamental is increased with increasing bubble size; see Figure 5.9b. Figure 5.9c is a result of dividing the curve in Figure 5.9a by the curve in Figure 5.9b. It gives the relative increase of the fundamental. As one can see, the relative increase is found to be higher for smaller bubbles. This result can be interpreted as follows. Although the absolute increase of the fundamental is higher for larger bubbles as their oscillation amplitude is stronger, smaller bubbles are more sensitive to the proximity of the wall.

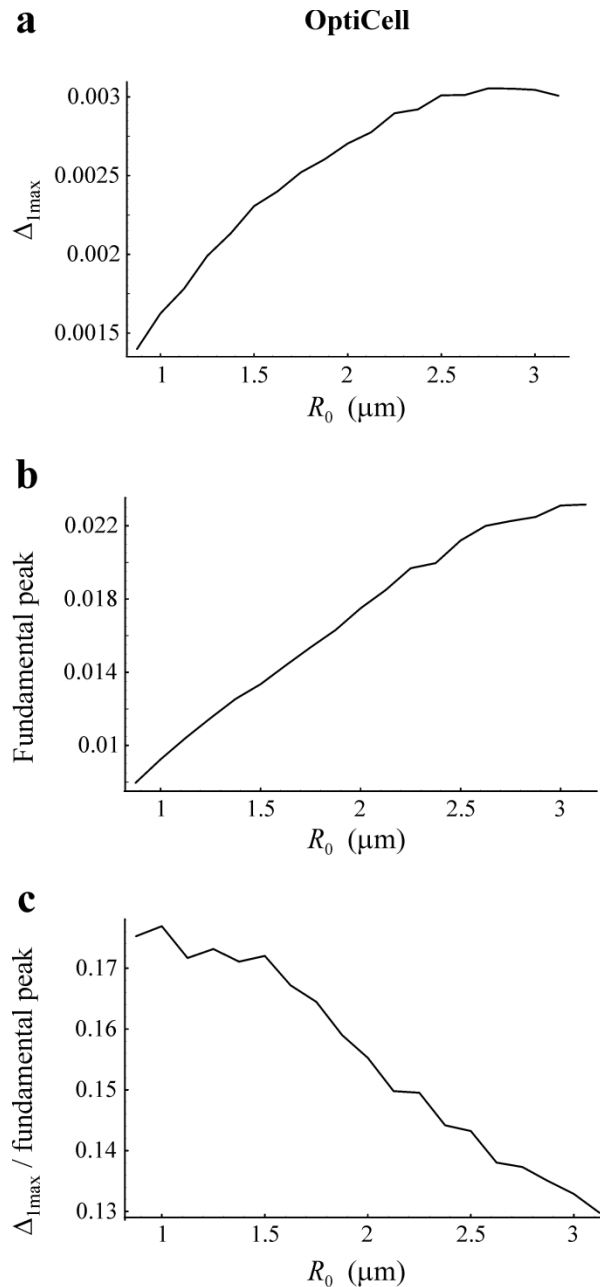


Figure 5.9 (a) The maximum increase of the fundamental near the OptiCell wall as a function of equilibrium bubble radius. (b) The peak value of the fundamental versus bubble radius. (c) The result of the division of the 5.9a curve by the 5.9b curve (the relative increase of the fundamental)

Figure 5.10a shows the maximum increase of the 2nd harmonic that is reached near OptiCell wall for each bubble size. The form of this curve is likely to be related to the nonmonotonic dependence of the peak value of the 2nd harmonic on bubble size; see Figure

5.10b. Dividing the curve in Figure 5.10a by the curve in Figure 5.10b, one obtains the relative increase of the 2nd harmonic shown in Figure 5.10c. One can note that the proximity of the wall affects more strongly smaller bubbles. It is also of interest to note that the relative increase of the 2nd harmonic is higher than that of the fundamental: cf. Figures 5.10c and 5.9c.

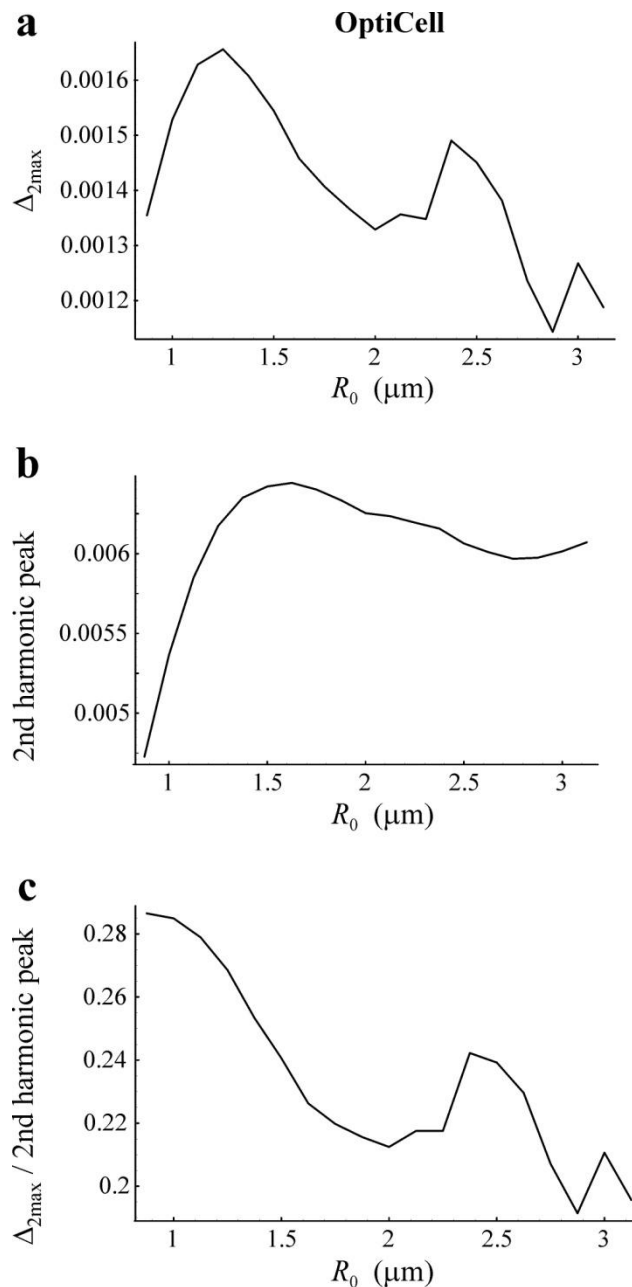


Figure 5.10 (a) The maximum increase of the 2nd harmonic near the OptiCell wall as a function of equilibrium bubble radius. (b) The peak value of the 2nd harmonic versus bubble radius. (c) The result of the division of the 5.10a curve by the 5.10b curve (the relative increase of the 2nd harmonic)

Finally, Figure 5.11 shows the driving frequencies  $f_{1\max}$  and  $f_{2\max}$  at which the maximum increases of, respectively, the fundamental and the 2nd harmonic take place. The dashed line corresponds to the fundamental resonance frequency. It is seen that the maximum increase of both the fundamental and the 2nd harmonic is observed when the bubbles are driven above their corresponding resonance frequencies.

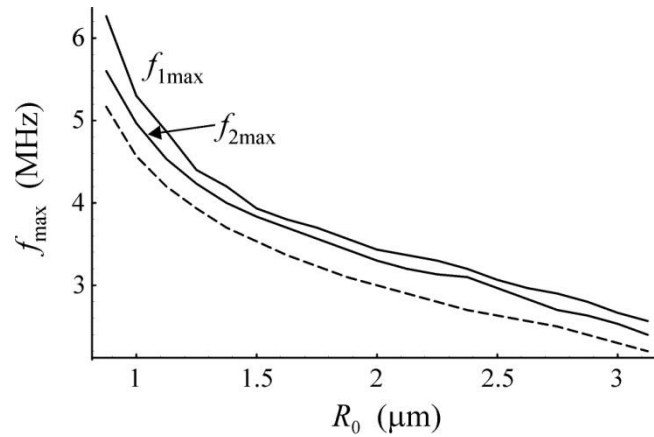


Figure 5.11  $f_{1\max}$  and  $f_{2\max}$  are the driving frequencies at which the maximum increases of, respectively, the fundamental and the 2nd harmonic are reached at different bubble radii. The dashed line shows the fundamental resonance frequency of bubbles

#### 4. Conclusions

In this paper, the effect of confining surfaces with different mechanical properties on the acoustic response of a contrast agent microbubble has been investigated numerically. As a theoretical basis, the equations derived previously by the authors in [120], [176] were used. These equations describe the radial oscillation of a contrast microbubble near an elastic wall of finite thickness and the scattered pressure produced by the microbubble in the far-field zone. The numerical simulations were made for three walls whose parameters corresponded to the mechanical properties of a plastic (OptiCell) wall, an aluminium wall, and a biological tissue. For each of these walls, the behavior of bubbles of three sizes was investigated. The spectral characteristics of the scattered pressure produced by the bubbles were compared for

two cases, namely when the bubble oscillated far away from the wall and when the same bubble oscillated in the immediate vicinity of the wall. The results of our simulations allow one to make the following main conclusions. The most considerable changes in the bubble behavior occur near the OptiCell wall, and the least ones, near the biological tissue. The influence of the OptiCell wall on the acoustic response of a contrast agent microbubble has the following features. Changes in both the fundamental and the 2nd harmonic near the wall are stronger when bubbles are excited above resonance. The absolute difference between the magnitudes of the fundamental near and far away from the wall is increased with increasing bubble size, while the same difference for the 2nd harmonic is greater in the range of bubble radii from about 1.0 to 1.6  $\mu\text{m}$ . However, the relative difference in both cases, i.e., the absolute difference divided by the peak value of the fundamental or the 2nd harmonic respectively, increases with decreasing bubble radius. This shows that smaller bubbles are more sensitive to the proximity of the wall. It was also found that the relative difference for the 2nd harmonic is higher than that for the fundamental. The obtained results provide an insight into conditions under which the effect of an elastic wall on the acoustic response of a contrast agent microbubble is easier to be detected.

In conclusion, we would like to make the following comment. In clinical applications, contrast microbubbles move inside a blood vessel and hence can experience the influence of more than one boundary. This situation is beyond the scope of the theory used in our simulations. It should be noted, however, that the effect of a boundary on a bubble is decreased fairly rapidly as the distance between the bubble and the boundary is increased, and for distances on the order of a few tens of the bubble radii the effect of the boundary becomes negligible [166]. This suggests that the effect of the opposite wall can be important in small capillaries while in arteries the bubble behavior is dominated by the nearest wall.



## 5.4 Conclusions et perspectives

Dans cette étude, nous avons mis en évidence l'effet des propriétés mécaniques de différentes parois (OptiCell, aluminium, et tissu biologique) sur la réponse acoustique de différentes tailles de microbulles en exploitant le modèle théorique présenté dans le chapitre 4. Les changements dans le comportement des bulles se produisent principalement près de la paroi d'OptiCell. La différence relative entre les amplitudes du fondamental et du deuxième harmonique des bulles à proximité et loin de la paroi est plus importante lorsque les bulles sont excitées au-dessus de leurs fréquences de résonance, et pour des tailles de bulles allant de 1,0 à 1,6  $\mu\text{m}$ . Cela démontre que les petites bulles sont plus sensibles à la proximité de la paroi. Cette différence relative est plus importante pour le deuxième harmonique.

Les résultats obtenus démontrent l'influence des conditions d'excitations sur la réponse acoustique des microbulles d'agent de contraste proches d'une paroi élastique. Cependant en imagerie moléculaire, le ciblage des régions pathologiques s'effectue par l'adhérence des microbulles à ces sites. Le développement d'un modèle théorique avec un contact mécanique entre la bulle et la paroi, optimisera les conditions pour différencier une bulle attachée d'une bulle libre et ainsi détecter la région pathologique. Ce modèle sera présenté dans le chapitre suivant.



## **Chapitre 6    Modèle d'une microbulle de contraste attachée à une paroi élastique**

### **6.1 Introduction**

Afin d'optimiser la détection des microbulles ciblées, il est important de déterminer l'effet des parois sur leurs dynamiques. Pour cela plusieurs études ont été menées dans ce sens ces dernières années [127], [137], [159], [180]. Toutefois, la description d'un contact mécanique direct entre une microbulle encapsulée et une paroi est un problème peu étudié. Le cas d'une bulle non encapsulée attachée à une paroi rigide infinie a été étudié théoriquement par Maksimov [114], [181]. Il a déterminé la dépendance de la fréquence de résonance de la bulle sur l'angle de contact avec la paroi. Il a été démontré que lorsque la surface de contact est étroite, la fréquence naturelle de la bulle est inférieure à celle d'une bulle équivalente dans un liquide infini.

Récemment un modèle théorique a été développé décrivant une bulle à proximité d'une paroi élastique d'épaisseur finie [120], [177]. Il a été démontré que la présence de la paroi augmente la fréquence de résonance de la bulle. Cependant le contact mécanique entre la microbulle et la paroi est n'a pas été pris en compte.

Dans ce chapitre, nous proposons d'étudier de quelle façon l'écho rétrodiffusé par des microbulles d'agent de contraste est affecté par un contact mécanique avec une paroi élastique. L'intérêt de cette étude en imagerie ultrasonore ciblée est de pouvoir distinguer les échos produits par des microbulles attachées à une paroi du vaisseau sanguin [97], [140] des échos produits par des microbulles non attachées.

Cette étude a été publiée dans le journal IEEE Transaction On Medical Imaging de Mars 2012 [182].

## 6.2 Résumé de l'article

Une modification de l'équation de Rayleigh-Plesset est obtenue pour modéliser l'oscillation d'une microbulle d'agent de contraste attachée à une paroi élastique. L'équation obtenue montre que le contact avec la paroi affecte l'oscillation de la bulle. En fonction des propriétés mécaniques de la paroi, la densité effective peut être supérieure ou inférieure à la densité réelle du liquide, ainsi la fréquence naturelle de la bulle attachée peut être soit inférieure ou supérieure à la fréquence naturelle de la même bulle dans un liquide infini. Des simulations numériques sont réalisées pour une microbulle de contraste de type BR14. Les cas d'une paroi rigide et d'une paroi en plastique sont étudiés. Les propriétés de la paroi en plastique correspondent à la paroi d'une chambre d'OptiCell. Il est montré que le contact avec la paroi rigide diminue la fréquence de résonance de la bulle, alors que le contact avec la paroi d'OptiCell augmente la fréquence de résonance de la bulle. Les courbes de résonance d'une bulle sont comparées pour trois cas: la bulle dans un liquide infini, la bulle à une distance de la paroi d'OptiCell et la bulle en contact avec la paroi d'OptiCell. Les résultats obtenus indiquent que le contact avec la paroi d'OptiCell conduit aux effets suivants. L'amplitude de l'oscillation radiale de la bulle attachée est diminuée d'environ 70% par rapport à la même bulle dans un liquide infini. La composante fondamentale du spectre de l'écho rétrodiffusé par la bulle attachée se trouve diminuée. Cependant un important second harmonique est généré par la bulle attachée, son amplitude est supérieure à celui généré dans le cas d'un liquide infini.

6.3 Article: Dynamics of a contrast agent microbubble attached to an elastic wall

Publié dans *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 31, no. 3, pp. 654-662, Mar. 2012.

Alexander A. Doinikov, **Leila Aired**, Ayache Bouakaz

*INSERM U930 CNRS ERL3106, Université François Rabelais, CHU Bretonneau, 2*

*Boulevard Tonnellé, 37044 Tours Cedex 9, France*



## **Abstract**

A modified Rayleigh-Plesset equation is derived to model the oscillation of a contrast agent microbubble attached to an elastic wall. The obtained equation shows that contact with the wall affects the bubble oscillation as if the bubble oscillated in a liquid with a changed (effective) density. Depending on the wall properties, the effective density can be either higher or lower than the real liquid density and hence the natural frequency of the attached bubble can be either lower or higher than the natural frequency of the same bubble in an unbounded liquid. Numerical simulations are made for a contrast bubble with shell properties similar to those used in the Marmottant shell model. The cases of a rigid wall and a plastic wall are compared. The properties of the plastic wall are set to correspond to walls of OptiCell chambers commonly used in experiments. It is shown that contact with the rigid wall decreases the natural frequency of the bubble as compared to its natural frequency in an unbounded liquid, whereas contact with the OptiCell wall increases the natural frequency of the bubble. Bubble resonance curves for three cases are compared: the bubble in an unbounded liquid; the bubble at a distance from an OptiCell wall; the bubble in contact with an OptiCell wall. Results obtained for a  $2 \mu\text{m}$  radius bubble insonified with a 10 cycle, 40 kPa, 2.1 MHz Gaussian pulse show that contact with the OptiCell wall leads to the following effects. The amplitude of the radial oscillation of the attached bubble is decreased by about 70% as compared to that of the same bubble in an unbounded liquid. The fundamental component in the spectrum of the scattered pressure of the attached bubble is decreased by 12 dB. A strong second harmonic appears in the spectrum of the scattered pressure of the attached bubble; its magnitude is about 11.5 dB higher than the level corresponding to the case of an unbounded liquid.

## I.Introduction

There are various modifications of the Rayleigh-Plesset equation that are intended to describe the radial oscillation of an encapsulated microbubble in an unbounded liquid [34], [46], [106–109], [119], [177], [183–187]. In actual practice, however, contrast agent microbubbles mainly oscillate in the vicinity of, or in contact with a boundary; *in vitro*, that is the wall of an experimental container, *in vivo*, the wall of a blood vessel. Experimental studies reveal that the contact of a contrast agent microbubble with a boundary can produce considerable changes in the oscillation amplitude of the microbubble and its scattered echo [89], [125], [166], [175]. For example, Lankford *et al.* [89] report that the acoustic signal of contrast microbubbles was reduced by attachment to rigid surfaces while attachment to endothelial cells caused only an insignificant reduction. Garbin *et al* [166] observed that the oscillation amplitude of a BR14 microbubble (Bracco Research SA, Geneva, Switzerland) was suppressed by more than 50% near the wall of an OptiCell chamber (BioCrystal, Ltd., Westerville, OH). Theoretically, however, the description of a direct mechanical contact between an encapsulated microbubble and a boundary is still a little-studied problem.

Shima and Tomita [110] have derived a modified Rayleigh-Plesset equation that describes the effect of a rigid wall on the radial oscillation of an unencapsulated bubble. They used the fact that mathematically, the interaction of a bubble with a rigid wall is equivalent to the interaction between two equal bubbles pulsating in phase. The use of this equivalence goes back to pioneering works by Herring [111], Davies and Taylor [112], and Cole [130] which were concerned with bubbles produced by underwater explosions. Using the same equivalence, Strasberg [113] has shown that the natural frequency of a bubble decreases near a rigid boundary. This effect can be explained as follows [114]. As indicated above, the presence of a rigid boundary is equivalent to the presence of a mirror bubble pulsating in phase with the real bubble. For this reason, it is more difficult for the real bubble to accelerate



the liquid in the direction of the mirror bubble as the latter acts with opposite force. Treating a pulsating bubble as a harmonic oscillator, one can say that the presence of the mirror bubble increases the effective inertial mass of the real bubble and hence decreases its natural frequency. A review of theoretical and numerical studies in which the model of a rigid wall was used for the description of the bubble-boundary interaction can be found in [148]. The theoretical prediction that bubbles next to a rigid wall have lower resonance frequencies than the same bubbles in an unbounded liquid domain has been confirmed experimentally by Howkins [115], Blue [118], Payne *et al* [116], and Puzin *et al* [117]. A detailed review of this work is given by Manasseh and Ooi [188]. A modified Rayleigh-Plesset equation for an encapsulated microbubble near a rigid wall was employed by Doinikov *et al* [122] in an attempt to explain the experimental data obtained in [125]. Recently Rayleigh-Plesset-type equations have also been obtained for a bubble near a fluid layer of finite thickness [133] and for a bubble near an elastic wall of finite thickness [120]. However, all the above-mentioned modifications of the Rayleigh-Plesset equation are based on the assumption that the distance between the boundary and the bubble is much larger than the size of the bubble. Therefore they allow one to estimate only acoustic (remote) influence of a boundary on a bubble. The case of an unencapsulated bubble attached to a rigid infinite plane has been investigated theoretically by Blue [118] and Maksimov [114], [181]. Unfortunately, Blue's expression for the fluid velocity does not satisfy the rigid boundary condition of zero normal velocity and his result is therefore incorrect. Maksimov considered the linear volume oscillation of a tethered bubble whose gas interior has a contact area with a rigid plane boundary. He studied the dependence of the natural frequency of the tethered bubble on the contact angle, i.e., the angle that is formed by the rigid plane and the spherical segment of the bubble surface at the edge of the contact area. It has been shown that if the contact area is small, the natural frequency of the tethered bubble is lower than that of an equivalent bubble with the same volume in an

unbounded liquid. However, as the contact area is increased, the difference between the above frequencies can decrease.

The purpose of the present work is to study how the oscillation and the scattered echo of a contrast agent (encapsulated) microbubble are affected by a direct mechanical contact with a boundary. To this end, a Rayleigh-Plesset-type equation is derived that describes the dynamics of an encapsulated bubble attached to an elastic boundary. The present study is of special interest in the context of targeted ultrasound imaging, where the challenging problem is how to distinguish the scattered echoes produced by contrast agent microbubbles attached to a blood vessel wall from echoes produced by freely circulating non-adherent microbubbles [139], [140]. It should be emphasized that the proposed theory treats the boundary as an elastic solid, which provides a more adequate approximation for the material properties of tissues than the model of a rigid boundary.

## II. Theory

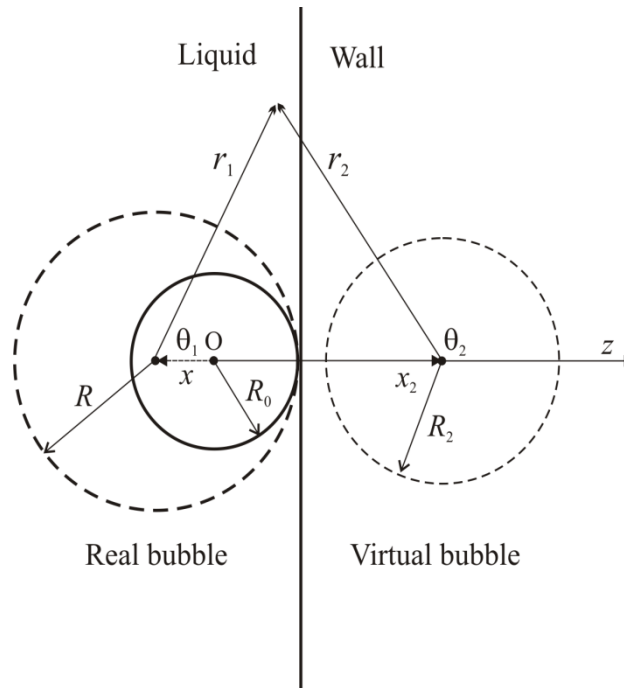


Figure 6.1 An encapsulated bubble oscillating in contact with an elastic wall: geometry of the system. The angles  $\theta_1$  and  $\theta_2$  are measured from the positive direction of the  $z$  axis

Let us consider a spherical encapsulated gas bubble surrounded by an inviscid incompressible liquid and attached to an elastic semi-infinite wall as shown in Figure 6.1. It is assumed that the bubble undergoes radial and translational oscillations in response to an imposed acoustic field, remaining in contact with the wall. To describe the effect of the wall on the bubble, the method of image sources is applied [130], [132]. Namely, it is assumed that the wall is absent and instead, a virtual sound source is introduced in the half-space occupied by the wall, assuming this half-space to be filled with the same liquid that surrounds the real bubble. The moving center of the virtual source is assumed to be at the same distance from the liquid-wall interface as the moving center of the real bubble.

It should be emphasized that in our derivation the bubble shape is assumed to remain spherical all the time. The smallness of the bubble size relative to the sound wavelength and the presence of an encapsulating shell maintain the sphericity of the bubble, but the presence

of a boundary induces distortions of the bubble surface. Therefore the assumption of sphericity is, admittedly, a certain theoretical idealization, recourse to which is necessary because there is no understanding at present as to how allowance for shape distortion could be correctly made in the case of nonlinear bubble oscillation. For the same reason it is difficult to quantify the effect of shape distortion on the bubble oscillation. Some estimates have been made by Strasberg [113]. He showed theoretically that if a bubble is deformed, its natural frequency increases, but only slightly; the frequency of a spheroidal bubble with a ratio of major to minor axes equal to two differs by only 2% from that of a spherical bubble with the same volume. Manasseh and Ooi [188] report that this prediction appears to be confirmed by experiments. These results suggest that the assumption of sphericity would not lead to significant errors, at least as far as effects are considered that are mainly caused by the volume component of the bubble oscillation which remains dominant even if the bubble undergoes shape distortion.

### A. Scattered Field in the Liquid

The motion of the liquid obeys the equation of continuity and Euler's equation [162]

$$\nabla \cdot \mathbf{v}_L = 0, \quad (6.1)$$

$$\frac{\partial \mathbf{v}_L}{\partial t} + (\mathbf{v}_L \cdot \nabla) \mathbf{v}_L + \frac{1}{\rho_L} \nabla p_L = 0 \quad (6.2)$$

where  $\mathbf{v}_L$  is the liquid velocity;  $\rho_L$  is the equilibrium liquid density; and  $p_L$  is the time-varying pressure in the liquid. The liquid pressure at infinity is assumed to be constant. Setting  $\mathbf{v}_L = \nabla \varphi_L$ , where  $\varphi_L$  is the velocity potential, (6.1) and (6.2) can be recast to

$$\Delta \varphi_L = 0, \quad (6.3)$$

$$p_L = -\rho_L \left[ \frac{\partial \varphi_L}{\partial t} + \frac{1}{2} (\nabla \varphi_L)^2 \right], \quad (6.4)$$

where  $\Delta$  denotes the Laplace operator. The velocity potential can be represented as

$$\varphi_L = \varphi_1 + \varphi_2, \quad (6.5)$$

where

$$\varphi_1 = \sum_{n=0}^{\infty} a_{1n}(t) (R/r_1)^{n+1} P_n(\cos \theta_1) \quad (6.6a)$$

$$= \sum_{n=0}^{\infty} b_{1n}(t) (r_2/d)^n P_n(\cos \theta_2), \quad (6.6b)$$

$$\varphi_2 = \sum_{n=0}^{\infty} a_{2n}(t) (R/r_2)^{n+1} P_n(\cos \theta_2) \quad (6.7a)$$

$$= \sum_{n=0}^{\infty} b_{2n}(t) (r_1/d)^n P_n(\cos \theta_1) \quad (6.7b)$$

In these equations,  $R(t)$  is the time-varying radius of the real bubble;  $(r_1, \theta_1)$  and  $(r_2, \theta_2)$  are the spherical coordinates originated at the moving centers of the real bubble and the virtual source, respectively;  $P_n$  is the Legendre polynomial;  $d = 2R(t)$  is the distance between the moving centers of the bubble and the virtual source; and  $a_{1n}$ ,  $b_{1n}$ ,  $a_{2n}$ , and  $b_{2n}$  are unknown time functions to be determined by boundary conditions. Equation (6.6a) gives  $\varphi_1$  in the proper coordinates of the real bubble, and (6.6b) gives the same potential in the coordinates of the virtual source. Equations (6.7a) and (6.7b) do the same for the potential  $\varphi_2$ . All these expressions are necessary for the following calculation.

The next step is to find the unknown functions  $a_{1n}$ ,  $b_{1n}$ ,  $a_{2n}$ , and  $b_{2n}$ . The functions  $b_{1n}$  and  $b_{2n}$  can be expressed in terms of  $a_{1n}$  and  $a_{2n}$  by using the following mathematical identities [123]:

$$\frac{P_n(\cos \theta_1)}{r_1^{n+1}} = \frac{1}{d^{n+1}} \sum_{m=0}^{\infty} (-1)^m C_{nm} \left( \frac{r_2}{d} \right)^m P_m(\cos \theta_2) \quad (6.8)$$

$$\frac{P_n(\cos \theta_2)}{r_2^{n+1}} = \frac{(-1)^n}{d^{n+1}} \sum_{m=0}^{\infty} C_{nm} \left(\frac{r_1}{d}\right)^m P_m(\cos \theta_1) \quad (6.9)$$

where  $C_{nm} = (n+m)!/(n!m!)$ . Equations (6.8) and (6.9) are particular cases of the so-called Clebsch-Gordan expansion derived in the theory of spherical wave functions [189]. Substituting (6.8) into (6.6a) and (6.9) into (6.7a) and comparing the expressions obtained with (6.6b) and (6.7b), respectively, one finds

$$b_{1n} = (-1)^n \sum_{m=0}^{\infty} \frac{C_{nm}}{2^{m+1}} a_{1m} \quad (6.10)$$

$$b_{2n} = \sum_{m=0}^{\infty} \frac{(-1)^m C_{nm}}{2^{m+1}} a_{2m} \quad (6.11)$$

Here it has also been used that  $d = 2R(t)$ .

The boundary condition for the normal component of the liquid velocity at the surface of the real bubble gives

$$\frac{\partial \varphi_L}{\partial r_1} = \dot{R} + \dot{x} \cos \theta_1 \quad \text{at } r_1 = R(t) \quad (6.12)$$

A dot over a variable denotes the time derivative and  $x(t)$  is the position of the moving center of the real bubble on the axis  $z$ . It counts from the bubble center at rest (the point O in Figure 6.1); thus  $x = R_0 - R$ , where  $R_0$  is the bubble radius at rest, and hence  $\dot{x} = -\dot{R}$ . Utilizing (6.6a) and (6.7b), the velocity potential in the vicinity of the bubble can be written as

$$\varphi_L = \sum_{n=0}^{\infty} \left[ a_{1n} \left(\frac{R}{r_1}\right)^{n+1} + b_{2n} \left(\frac{r_1}{d}\right)^n \right] P_n(\cos \theta_1) \quad (6.13)$$

On substitution of (6.13) into (6.12) and utilization of (6.11), one obtains

$$a_{1n} = -R\dot{R}\delta_{n0} + \frac{R\dot{R}\delta_{n1}}{2} + \frac{n}{2^n(n+1)} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{(-1)^m C_{nm}}{2^{m+1}} a_{2m} \quad (6.14)$$

where  $\delta_{nm}$  is the Kronecker delta.

The virtual source can be treated as a virtual bubble with a radius  $R_2(t)$ . This provides the following boundary condition:

$$\frac{\partial \varphi_L}{\partial r_2} = \dot{R}_2 + \dot{x}_2 \cos \theta_2 \quad \text{at } r_2 = R_2(t) \quad (6.15)$$

where  $x_2(t)$  is the position of the moving center of the virtual source on the axis  $z$ . From  $x_2 - x_1 = d$  it follows that  $\dot{x}_2 = \dot{R}$ . Utilizing (6.6b) and (6.7a), the velocity potential in the vicinity of the virtual source is written as

$$\varphi_L = \sum_{n=0}^{\infty} \left[ a_{2n} \left( \frac{R}{r_2} \right)^{n+1} + b_{1n} \left( \frac{r_2}{d} \right)^n \right] P_n(\cos \theta_2) \quad (6.16)$$

Substituting (6.16) into (6.15) and using (6.10), one obtains

$$a_{2n} = -\frac{R_2^2 \dot{R}_2 \delta_{n0}}{R} - \frac{R \dot{R} \delta_{n1}}{2} \left( \frac{R_2}{R} \right)^3 + \frac{(-1)^n n}{2^n (n+1)} \left( \frac{R_2}{R} \right)^{2n+1} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{C_{nm}}{2^{m+1}} a_{1m} \quad (6.17)$$

Let us make the following assumption:

$$R_2(t) = \varepsilon R(t) \quad (6.18)$$

where  $\varepsilon$  is a constant. It should be emphasized that assumption (6.18) is first applied to model the oscillation of a bubble attached to an elastic wall. We will see below that this assumption gives the correct solution for the flow field. It should be noted, however, that  $R_2(t)$  is a characteristic of the capacity of the virtual source rather than a real radius. Therefore  $\varepsilon$  can be both positive and negative depending on the material properties of the wall under consideration. A negative value of  $\varepsilon$  just means that the virtual source works out of phase with respect to the real bubble. Substitution of (6.18) into (6.17) yields

$$a_{2n} = -R \dot{R} \varepsilon^3 \delta_{n0} - \frac{R \dot{R} \varepsilon^3 \delta_{n1}}{2} + \frac{(-1)^n n \varepsilon^{2n+1}}{2^n (n+1)} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{C_{nm}}{2^{m+1}} a_{1m} \quad (6.19)$$

Going on with the calculation, (6.19) is substituted into (6.14) to give

$$a_{1n} - \frac{1}{2^n} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{D_{nk}^{(1)}}{2^{k+1}} a_{1k} = -\frac{R\dot{R}}{2^n} \left( \delta_{n0} - \delta_{n1} + \frac{\varepsilon^3 n(3-n)}{8(n+1)} \right) \quad (6.20)$$

where  $D_{nk}^{(1)}$  is calculated by

$$D_{nk}^{(1)} = \frac{n}{n+1} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{m C_{nm} C_{mk} \varepsilon^{2m+1}}{(m+1) 2^{2m+1}} \quad (6.21)$$

The structure of (6.20) suggests that its solution can be represented as follows:

$$a_{1n} = -R\dot{R} \alpha_{1n} \quad (6.22)$$

where the time-independent quantity  $\alpha_{1n}$  is given by

$$\alpha_{1n} = \frac{1}{2^n} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{\beta_{nm}^{(1)}}{2^m} \quad (6.23)$$

Substituting (6.22) and (6.23) into (6.20) and equating coefficients at the same powers of  $1/2$ , one finds the following recurrence equations for calculating  $\beta_{nm}^{(1)}$ :

$$\beta_{n0}^{(1)} = \delta_{n0} - \delta_{n1} + \frac{\varepsilon^3 n(3-n)}{8(n+1)} \quad (6.24)$$

$$\beta_{nm}^{(1)} = \sum_{k=0}^{[(m-1)/2]} D_{nk}^{(1)} \beta_{k(m-2k-1)}^{(1)} \quad \text{for } m > 0 \quad (6.25)$$

where  $[(m-1)/2]$  means the integer part of  $(m-1)/2$ .

To obtain analogous recurrence equations for  $a_{2n}$ , (6.14) is substituted into (6.19).

The final result is

$$a_{2n} = -R\dot{R}\varepsilon^3 \alpha_{2n} \quad (6.26)$$

$$\alpha_{2n} = \frac{1}{2^n} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{\beta_{nm}^{(2)}}{2^m} \quad (6.27)$$

$$\beta_{n0}^{(2)} = \delta_{n0} + \delta_{n1} + \frac{(-1)^n \varepsilon^{2n-2} n(3-n)}{8(n+1)} \quad (6.28)$$



$$\beta_{nm}^{(2)} = \sum_{k=0}^{\lfloor (m-1)/2 \rfloor} D_{nk}^{(2)} \beta_{k(m-2k-1)}^{(2)} \quad \text{for } m > 0 \quad (6.29)$$

$$D_{nk}^{(2)} = \frac{(-1)^{n+k} n \varepsilon^{2n+1}}{n+1} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{m C_{nm} C_{mk}}{(m+1) 2^{2m+1}} \quad (6.30)$$

## B. Scattered Field Inside the Wall

It is assumed that the material of the wall behaves as an elastic solid with density  $\rho_w$ , bulk modulus  $K$ , and shear modulus  $\mu$ . The equation of motion for an elastic medium is written as [190]

$$\rho_w \frac{\partial^2 \mathbf{u}}{\partial t^2} = \mu \Delta \mathbf{u} + (K + \mu/3) \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) \quad (6.31)$$

where  $\mathbf{u}$  is the displacement vector and the particle velocity inside the wall is calculated as  $\mathbf{v}_w = \partial \mathbf{u} / \partial t$ . We assume  $\mathbf{u} = \nabla \varphi_w$ , which means that we allow for longitudinal (compressive) waves in the wall material and neglect transverse (shear) waves. Substitution of the above expression for  $\mathbf{u}$  into (6.31) yields

$$\Delta \varphi_w - \frac{1}{c_l^2} \frac{\partial^2 \varphi_w}{\partial t^2} = 0 \quad (6.32)$$

where  $c_l$  is the longitudinal velocity of sound [190]. For the problem under consideration, a characteristic spatial dimension is on the order of the resting bubble radius  $R_0$ . For such distances, the correction given by the term  $c_l^{-2} \partial^2 \varphi_w / \partial t^2$  to the solution given by the term  $\Delta \varphi_w$  is on the order of  $(R_0/\lambda)^2$ , where  $\lambda$  is the sound wavelength in the wall material. For MHz frequencies and micron-sized bubbles,  $\lambda \gg R_0$ . Therefore the second term on the left-hand side of (6.32) can be omitted and  $\varphi_w$  can be evaluated from Laplace's equation  $\Delta \varphi_w = 0$ . As a result,  $\varphi_w$  can be represented as

$$\varphi_W = \sum_{n=0}^{\infty} c_n(t) (R/r_1)^{n+1} P_n(\cos \theta_1) \quad (6.33)$$

where  $c_n(t)$  are unknown functions to be determined. To find  $c_n$ , the boundary condition for the normal velocity at the liquid-wall interface can be used,

$$\mathbf{n} \cdot \nabla \varphi_L = \mathbf{n} \cdot \nabla \partial \varphi_W / \partial t \quad (6.34)$$

where  $\mathbf{n}$  is the inward unit normal to the wall. Note that for an arbitrary point on the liquid-wall interface, the following equalities are valid:

$$r_1 = r_2 \quad \text{and} \quad \theta_2 = \pi - \theta_1 \quad (6.35)$$

and  $\mathbf{n}$  for this point is given by

$$\mathbf{n} = \mathbf{e}_{r_1} \cos \theta_1 - \mathbf{e}_{\theta_1} \sin \theta_1 = -\mathbf{e}_{r_2} \cos \theta_1 - \mathbf{e}_{\theta_2} \sin \theta_1 \quad (6.36)$$

where  $(\mathbf{e}_{r_1}, \mathbf{e}_{\theta_1})$  and  $(\mathbf{e}_{r_2}, \mathbf{e}_{\theta_2})$  are the unit vectors of the spherical coordinate systems used in our derivation. Using (6.6a) and (6.7a) for calculating  $\nabla \varphi_L$  and (6.33) for calculating  $\nabla \varphi_W$ , substituting the obtained expressions into (6.34), and then using (6.35), (6.36), and the identity  $P_n(-x) = (-1)^n P_n(x)$  [191], one has

$$\begin{aligned} & \left[ R^{n+1} a_{1n} + (-1)^{n+1} R^{n+1} a_{2n} - d(R^{n+1} c_n) / dt \right] \\ & \times r_1^{-n-2} \left[ (n+1) \cos \theta_1 P_n(\cos \theta_1) - \sin^2 \theta_1 P_n'(\cos \theta_1) \right] = 0 \end{aligned} \quad (6.37)$$

where  $P_n'(x) = dP_n/dx$ . This equation is satisfied when

$$R^{n+1} \left[ a_{1n} + (-1)^{n+1} a_{2n} \right] = d(R^{n+1} c_n) / dt \quad (6.38)$$

On substitution of (22) and (26) into (38), one finally obtains

$$c_n = -\frac{R^2}{n+3} \left[ \alpha_{1n} + (-1)^{n+1} \varepsilon^3 \alpha_{2n} \right] \quad (6.39)$$

### C. Calculation of $\varepsilon$

To find  $\varepsilon$ , we use the normal force balance on the liquid-wall interface,

$$-p_L = \sigma_{zz}^{(W)} \quad \text{at } r_1 = r_2, \quad (6.40)$$

where  $\sigma_{zz}^{(W)}$  is the normal component of the stress tensor of the wall material, given by

$$\sigma_{zz}^{(W)} = K(\nabla \cdot \mathbf{u}) + 2\mu(u_{zz} - \nabla \cdot \mathbf{u}/3) \quad (6.41)$$

with  $u_{zz} = \partial u_z / \partial z = \partial^2 \varphi_W / \partial z^2$ ; see[190]. As (6.40) is valid for any point on the liquid-wall interface, it is convenient to go to the limiting form of (6.40) at  $r_1 = r_2 \rightarrow \infty$ . In this case, using (6.4), (6.6a), and (6.7a) at  $r_1 = r_2 \rightarrow \infty$ , and then (6.22) and (6.26), one obtains the following limiting expression for  $p_L$ :

$$p_L = \frac{\rho_L(1 + \varepsilon^3)}{r_1} \frac{d}{dt} (R^2 \dot{R}) \quad (6.42)$$

Applying (6.32), (6.33), and (6.39), the expression for  $\nabla \cdot \mathbf{u}$  at  $r_1 \rightarrow \infty$  can be written as

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = \frac{\varepsilon^3 - 1}{c_l^2 r_1} \frac{d}{dt} (R^2 \dot{R}) \quad (6.43)$$

The term with  $u_{zz}$  in (6.41) is omitted because it decreases as  $r_1^{-3}$ . As a result, (6.41) at  $r_1 \rightarrow \infty$  becomes

$$\sigma_{zz}^{(W)} = \frac{\beta(\varepsilon^3 - 1)}{r_1} \frac{d}{dt} (R^2 \dot{R}) \quad (6.44)$$

where  $\beta$  is given by

$$\beta = \rho_W \frac{3K - 2\mu}{3K + 4\mu} = \rho_W \frac{\nu}{1 - \nu} \quad (6.45)$$

and  $\nu$  denotes Poisson's ratio. Substitution of (42) and (44) into (40) yields

$$\varepsilon = \sqrt[3]{(\beta - \rho_L)/(\rho_L + \beta)} \quad (6.46)$$

### D. Equation for $R(t)$

To derive the equation for  $R(t)$ , we apply the method of the Lagrangian formalism. Recall that the presence of the elastic wall is replaced with the presence of a virtual bubble. As a result, we get the system of two bubbles surrounded by an infinite liquid identical to the liquid surrounding the real bubble. The kinetic energy of this system is calculated by

$$T = \frac{\rho_L}{2} \int_V (\nabla \varphi_L)^2 dV \quad (6.47)$$

where  $V$  is the volume occupied by the liquid. Using (6.3), (6.12), (6.15), and (6.18), (6.47) can be transformed as follows:

$$\begin{aligned} T &= \frac{\rho_L}{2} \int_V \nabla \cdot (\varphi_L \nabla \varphi_L) dV \\ &= -\pi \rho_L R^2 \left( \int_0^\pi \mathbf{e}_{r_1} \cdot (\varphi_L \nabla \varphi_L)_{r_1=R} \sin \theta_1 d\theta_1 + \varepsilon^2 \int_0^\pi \mathbf{e}_{r_2} \cdot (\varphi_L \nabla \varphi_L)_{r_2=\varepsilon R} \sin \theta_2 d\theta_2 \right) \\ &= -\pi \rho_L R^2 \dot{R} \left( \int_0^\pi \varphi_L|_{r_1=R} (1 - \cos \theta_1) \sin \theta_1 d\theta_1 + \varepsilon^2 \int_0^\pi \varphi_L|_{r_2=\varepsilon R} (\varepsilon + \cos \theta_2) \sin \theta_2 d\theta_2 \right) \end{aligned} \quad (6.48a)$$

Here, transition from integrating over the liquid volume to integrating over the bubble surfaces has been used. Substituting (6.13) into the integral over  $\theta_1$ , (6.16) into the integral over  $\theta_2$  and integrating, one has

$$T = -\frac{\pi}{3} \rho_L R^2 \dot{R} (6a_{10} + 6b_{20} - 2a_{11} - b_{21} + 6\varepsilon^2 a_{20} + 6\varepsilon^3 b_{10} + 2a_{21} + \varepsilon^3 b_{11}) \quad (6.48b)$$

Calculating  $a_{10}$  and  $a_{11}$  from (6.22) and (6.23),  $a_{20}$  and  $a_{21}$  from (6.26) and (6.27),  $b_{10}$  and  $b_{11}$  from (6.10) and (6.22),  $b_{20}$  and  $b_{21}$  from (6.11) and (6.26), and substituting the resulting expressions into (6.48b), one obtains

$$T = \frac{\pi}{3} \rho_L R^3 \dot{R}^2 E(\varepsilon) \quad (6.49)$$

where the function  $E(\varepsilon)$  is given by

$$E(\varepsilon) = 6 + 5\varepsilon^3 + 6\varepsilon^5 + (\varepsilon^3 - 2)\alpha_{11} + \varepsilon^3\alpha_{21} + \varepsilon^3 \sum_{n=2}^{\infty} \frac{5-n}{2^{n+1}} [\alpha_{1n} + (-1)^n \alpha_{2n}] \quad (6.50)$$

The potential energy of the system is determined as follows. According to the technique of the Lagrangian formalism, we must take the potential energy associated with work that is done on the bubble by the scattered pressure. This gives

$$U = -\frac{4\pi}{3} R^3 P(t) - \frac{4\pi}{3} R_2^3 P_2(t) = -\frac{4\pi}{3} R^3 [P(t) + \varepsilon^3 P_2(t)] \quad (6.51)$$

where  $P(t)$  and  $P_2(t)$  are pressures that do work on the real bubble and on the virtual bubble, respectively. Note that the scattered pressure is assumed to decay with distance and not to reach infinity. Therefore the potential energy associated with the liquid motion at infinity is not included in (6.51). The virtual bubble is assumed to experience the same pressure amplitude, i.e.,  $|P_2| = |P|$ , but the pressure sign can be opposite. If the bubbles pulsate in phase,  $\varepsilon > 0$  and  $P_2 = P$ . If they pulsate out of phase,  $\varepsilon < 0$  and  $P_2 = -P$ . As a consequence, (6.51) becomes

$$U = -\frac{4\pi}{3} R^3 P(t) (1 + |\varepsilon|^3) \quad (6.52)$$

Substituting (6.49) and (6.52) into the Lagrangian function  $L = T - U$  and then into the Lagrangian equation

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial L}{\partial \dot{R}} - \frac{\partial L}{\partial R} = 0 \quad (6.53)$$

one obtains

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2} \dot{R}^2 = \frac{P(t)}{\rho_L \tau(\varepsilon)} \quad (6.54)$$

where the function  $\tau(\varepsilon)$  is given by

$$\tau(\varepsilon) = \frac{E(\varepsilon)}{6(1 + |\varepsilon|^3)} \quad (6.55)$$

$P(t)$  can be written as

$$P = P_{G0} \left( \frac{R_0^3 - a^3}{R^3 - a^3} \right)^\kappa - 4\eta_L \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac} - S \quad (6.56)$$

where  $P_{G0}$  is the equilibrium gas pressure inside the real bubble;  $\kappa$  is the ratio of specific heats of the gas;  $a$  is the radius of the bubble's van der Waals hard core ( $a \approx 0.1976R_0$  for the gas  $C_4F_{10}$  utilized in lipid-coated contrast agents[164]);  $\eta_L$  is the shear viscosity of the liquid;  $P_0$  is the hydrostatic pressure in the liquid;  $P_{ac}$  is the driving acoustic pressure; and the term  $S$  describes the effect of encapsulation. Note that in modern encapsulation models, such as [46] and [186], the surface tension term is incorporated into the model formulation. Therefore we do not include it explicitly in (6.56).

Equation (6.54) neglects the radiation damping due to liquid compressibility. To take this effect into account, the following considerations can be used. First, the sound wave propagation between the attached bubble and the wall (or the virtual bubble) occurs on distances of the bubble size which is much smaller than the sound wavelength. Therefore the time delays associated with this propagation are negligibly small. It follows that the only radiation damping that can be significant is that associated with the sound wave propagation from the bubble to infinity. Second, the form of (6.54) is identical to that of the Rayleigh-Plesset equation for a bubble in an unbounded liquid. These two observations suggest that the compressibility corrections may also keep the same form as in an unbounded liquid, namely the form of the compressibility corrections proposed by Keller and Miksis [105]. Based on this assumption, (6.54) can be recast to give

$$\begin{aligned}
 & R\ddot{R}\left(1-\frac{\dot{R}}{c}\right)+\frac{3}{2}\dot{R}^2\left(1-\frac{\dot{R}}{3c}\right) \\
 & =\frac{1}{\rho_L\tau(\varepsilon)}\left(1+\frac{\dot{R}}{c}+\frac{R}{c}\frac{d}{dt}\right)\left[P_{G0}\left(\frac{R_0^3-a^3}{R^3-a^3}\right)^\kappa-4\eta_L\frac{\dot{R}}{R}-P_0-P_{ac}-S\right] \quad (6.57)
 \end{aligned}$$

where  $c$  is the speed of sound in the liquid. It should be emphasized that the approach which was used to obtain (6.57) is based on *ad hoc* assumptions. However it captures the underlying physics and has been used previously in studies on nonlinear bubble dynamics. For example, it was applied by Mettin *et al* [192] to incorporate the compressibility corrections into equations for nonlinear oscillations of two interacting bubbles. The reason why one has to use this *ad hoc* approach is that there are no rigorous theoretical studies on compressibility corrections for such problems as large-amplitude oscillations of two (or more) interacting bubbles and the interaction of a bubble with a boundary.

### E. Scattered Pressure in the Far-Field Zone

To evaluate the scattered pressure produced by the bubble in the far-field zone, i.e., for  $r_1 \gg R$ , (6.42) can be applied, substituting the value of  $\varepsilon$  from (6.46) to get

$$p_L(r_1 \gg R) = \frac{\rho_L(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{r_1} \frac{2\beta}{\rho_L + \beta} \quad (6.58)$$

Closing this Section, we would like to mention once more assumption (6.18). As can be seen, this assumption has made it possible to satisfy all the necessary boundary conditions. This fact confirms that the assumption is justified.

### III. Numerical Simulations and Discussion

As (6.57) shows, when a bubble is in contact with a wall, the liquid density gains a dimensionless factor  $\tau$  that depends on the mechanical properties of the wall. As a consequence, the bubble oscillates as if it were in a liquid with a changed (effective) density. Depending on the wall properties,  $\tau$  can be either larger or smaller than 1 so the effective density can be either higher or lower than the real liquid density. This means that the natural frequency of an attached bubble can be respectively lower or higher than the natural frequency of the same bubble in an unbounded liquid. The physical reason for the decrease of the natural frequency has been considered in the Introduction. The increase of the natural frequency can be explained along similar lines. Namely, if the wall material properties are such that the effective density  $\tau\rho_L$  is smaller than the liquid density, the oscillation of the attached bubble requires a less effort than the oscillation of the same bubble in an unbounded liquid. As a result, the effective inertial mass of the bubble decreases and hence its natural frequency increases. It is interesting to note that theoretically, situations are possible when the presence of a wall does not change the natural frequency of the bubble. Analysis of (6.54) shows that the bubble will oscillate as if it were in an unbounded liquid and its natural frequency will not change if the parameter  $\beta$  given by (6.45) is equal to the liquid density  $\rho_L$ . From (6.45) it follows that the equality  $\beta = \rho_L$  is satisfied if Poisson's ratio  $\nu$  for the wall material is related to the wall and liquid densities by the following equation:

$$\nu = 1 / (1 + \rho_w / \rho_L).$$

In the limiting case of a rigid wall,  $\beta \rightarrow \infty$ ,  $\varepsilon = 1$ , and (6.55) gives  $\tau = 1.48984$ . Blue's theory [118] gives  $\tau = 2$  for this case, thereby overestimating the effect of contact with a rigid wall. For real walls, values of  $\tau$  are smaller than that for a rigid wall. As an example, let us consider the wall of an OptiCell chamber. Such chambers are widely used in



experiments on contrast agent microbubbles [34], [166]. OptiCell chambers have polystyrene walls with the following mechanical parameters:  $\rho_W = 1060 \text{ kg/m}^3$ ,  $K = 3.75 \text{ GPa}$ , and  $\mu = 1.34 \text{ GPa}$ . In the case that the adjacent liquid is water with  $\rho_L = 1000 \text{ kg/m}^3$ , one gets  $\tau = 0.622024$ . Differences in the behavior of a contrast agent bubble attached to a rigid wall and of the same bubble attached to an OptiCell wall are illustrated in Figure 6.2. The simulations have been carried out by means of the program package MATHEMATICA (Wolfram Research, Inc., Champaign, IL). The following values of the physical parameters were used:  $P_0 = 101.3 \text{ kPa}$ ,  $\rho_L = 1000 \text{ kg/m}^3$ ,  $\eta_L = 0.001 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ , the surface tension of water  $\sigma_L = 0.072 \text{ N/m}$ ,  $c = 1500 \text{ m/s}$ , and  $\gamma = 1.07$ . The effect of encapsulation on the dynamics of the bubble was simulated by the shell model developed by Marmottant *et al* [46]. A modification of this model proposed by Overvelde *et al* [34] was used. The values of the shell parameters for the Marmottant model were also adopted from [34]: shell viscosity  $\kappa_s = 0.6 \times 10^{-8} \text{ kg/s}$ , shell elasticity  $\chi = 2.5 \text{ N/m}$ , and initial surface tension  $\sigma(R_0) = 0.02 \text{ N/m}$ . These values were obtained in [34] for the phospholipid-shelled contrast agent BR14. The equilibrium gas pressure in (6.57) was calculated as  $P_{G0} = P_0 + 2\sigma(R_0)/R_0$ . The bubble resting radius was set equal to  $2 \mu\text{m}$ . The bubble was insonified with a 10 cycle, 40 kPa Gaussian pulse with a center frequency in the range 1.0 – 4.5 MHz. The pulse waveform is given by

$$P_{ac}(t) = P_m \sin(2\pi ft) \exp\left[-(2ft/N)^4\right], \quad (6.59)$$

where  $P_m$  is the pressure amplitude (40 kPa),  $f$  is the center frequency (1.0 – 4.5 MHz), and  $N$  is the number of acoustic cycles (6.10). The parameters of the pulse correspond to the conditions under which the values of the shell parameters were evaluated in [34].

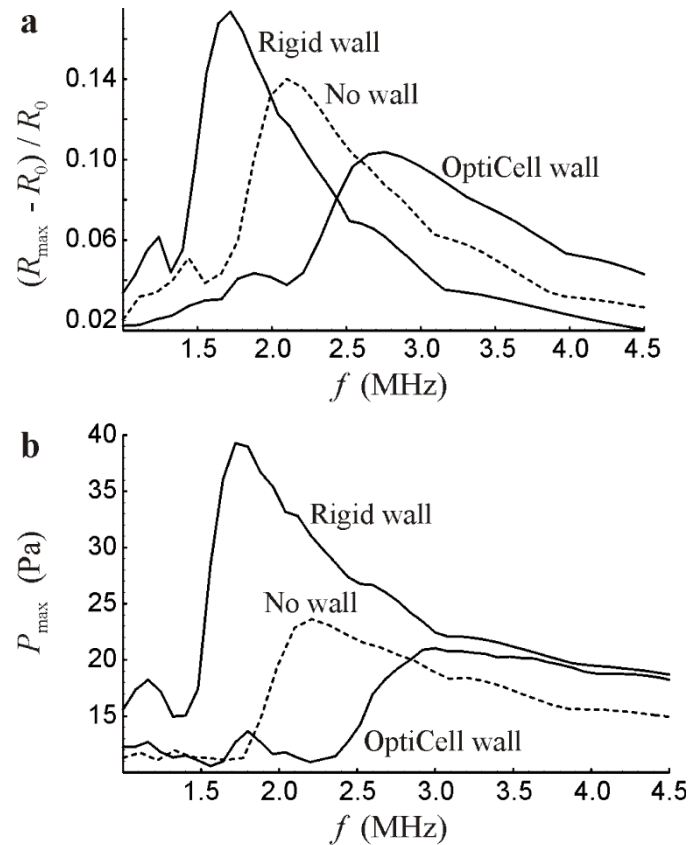


Figure 6.2 Resonance curves for (a) the radial oscillation and (b) the scattered pressure of a  $2 \mu\text{m}$  radius encapsulated bubble oscillating in an unbounded liquid (no wall), in contact with a rigid wall, and in contact with an OptiCell (plastic) wall

Figure 6.2(a) shows resonance curves for the bubble radius.  $R_{\max}$  is the maximum value of the bubble radius  $R(t)$  during the oscillation. The dashed line, labeled “No wall”, corresponds to the bubble in an unbounded liquid. Figure 6.2(b) shows resonance curves for the scattered pressure of the bubble in the far-field zone ( $r_1 = 0.01 \text{ m}$ ).  $P_{\max}$  is the peak amplitude of the scattered pressure calculated by (6.58). As one can see, there is a fundamental difference between the cases of a rigid wall and a plastic wall. Namely, contact with a rigid wall decreases the natural frequency of the bubble as compared to its natural frequency in an unbounded liquid, whereas contact with an OptiCell (plastic) wall increases the natural frequency of the bubble. The bubble oscillation amplitude can either decrease or increase depending on the value of the driving frequency. Figure 6.2 shows that the natural frequency of a  $2 \mu\text{m}$  radius bubble with the Marmottant shell is about 2.1 MHz in an

unbounded liquid. If the bubble is driven at, say, 1.9 MHz, contact with a rigid wall will increase the oscillation amplitude of the bubble, while contact with a plastic wall will decrease it. At 3 MHz, the reverse is true. These results suggest that the model of a rigid wall appears not to be an adequate approximation for walls occurring in most applications associated with contrast agent microbubbles.

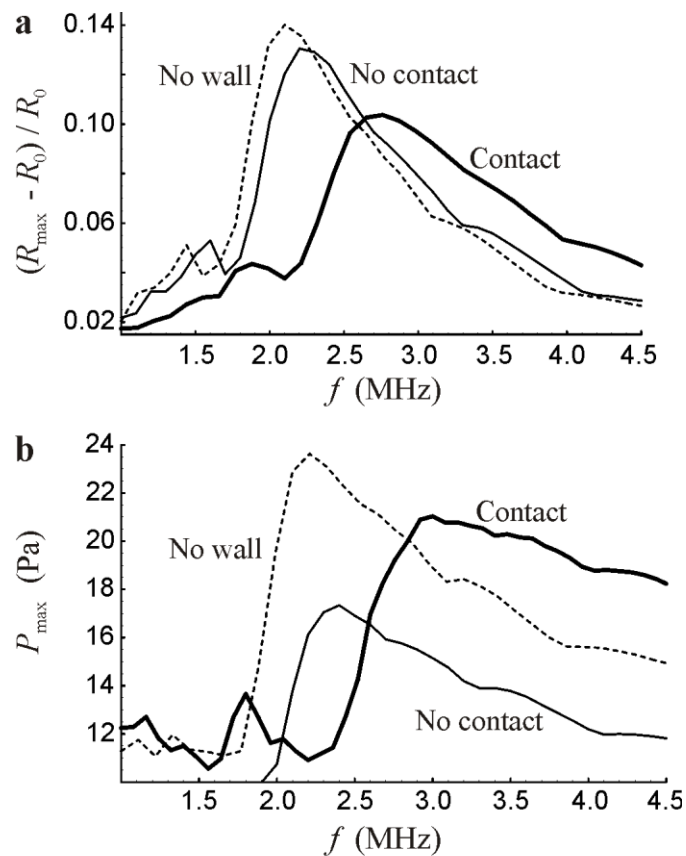


Figure 6.3 Comparison of resonance curves for a 2  $\mu\text{m}$  radius encapsulated bubble oscillating in an unbounded liquid (no wall), near an OptiCell wall (no contact), and in contact with an OptiCell wall (contact)

Figure 6.3 compares resonance curves for three cases: (1) a contrast agent bubble oscillating in an unbounded liquid (dashed line labeled “No wall”); (2) the same bubble oscillating near an OptiCell wall but having no contact with the wall (thin solid line labeled “No contact”); (3) the same bubble oscillating in direct contact with an OptiCell wall (thick solid line labeled “Contact”). The resting radius of the bubble and all the other parameters are as in Figure 6.2. The “No contact” curve has been calculated using our theory developed in

[120]. The distance between the bubble center and the wall was set equal to  $1.5R_0$ . At this distance, the bubble does not touch the wall even at the maximum expansion. Figure 6.3(a) shows that the acoustic (no contact) influence of the wall on the bubble oscillation is much weaker than the effect of direct mechanical contact. For the scattered pressure, however, the situation is more complicated: even if there is no contact, the effect of the wall is quite strong. The reason may be that the wall affects the scattered pressure in a more complicated way. First, the presence of the wall changes the bubble radial oscillation. Second, the presence of the wall changes the equation for the scattered field because a reflected wave arises. The result is that (6.58) contains the factor  $2\beta/(\rho_L + \beta)$ , which equals 0.707 in the case of an OptiCell wall. That is, this factor can noticeably decrease the scattered pressure amplitude even if changes in the bubble radial oscillation are insignificant. Finally, the equation for the scattered pressure is an essentially nonlinear function which depends on  $R$ ,  $\dot{R}$ , and  $\ddot{R}$ . This function is responsive to both amplitude and phase changes in the bubble radial oscillation. The effect which is observed in Figure 6.3(b), namely a considerable difference between the “No wall” and “No contact” curves for  $P_{\max}$ , appears to be a consequence of this complex cause. The response of the scattered pressure to phase changes in bubble oscillations is likely to play a special role in this case. Indeed, it is well known that the phase of bubble radial oscillations changes sharply when passing resonance. The resonance peaks of the “No wall” and “No contact” curves in Figure 6.3(a) are close. Therefore it may be assumed that when the “No contact” curve goes through resonance, the phase of the bubble oscillation changes sharply with respect to the “No wall” curve, and this effect (considering also the other reasons listed above) results in the considerable difference between the “No wall” and “No contact” curves in Figure 6.3(b).

Figure 6.3 demonstrates one more interesting effect. Let us assume that the bubble is driven at, for example, 3 MHz. As the bubble is approaching the wall, its natural frequency shifts towards the driving frequency. This makes the amplitude of the bubble oscillation grow, as displayed in Figure 6.3(a). However, the increase is small and the reducing factor in (6.58) appears to suppress the amplitude of the scattered pressure as compared to that in an unbounded liquid, as follows from the “No contact” curve in Figure 6.3(b). When the bubble reaches the wall, its natural frequency becomes maximally close to the driving frequency, and the bubble oscillation becomes sufficiently strong to overcome the effect of the reducing factor in (6.58). As a result, the scattered pressure becomes stronger than in an unbounded liquid, as the “Contact” curve in Figure 6.3(b) shows.

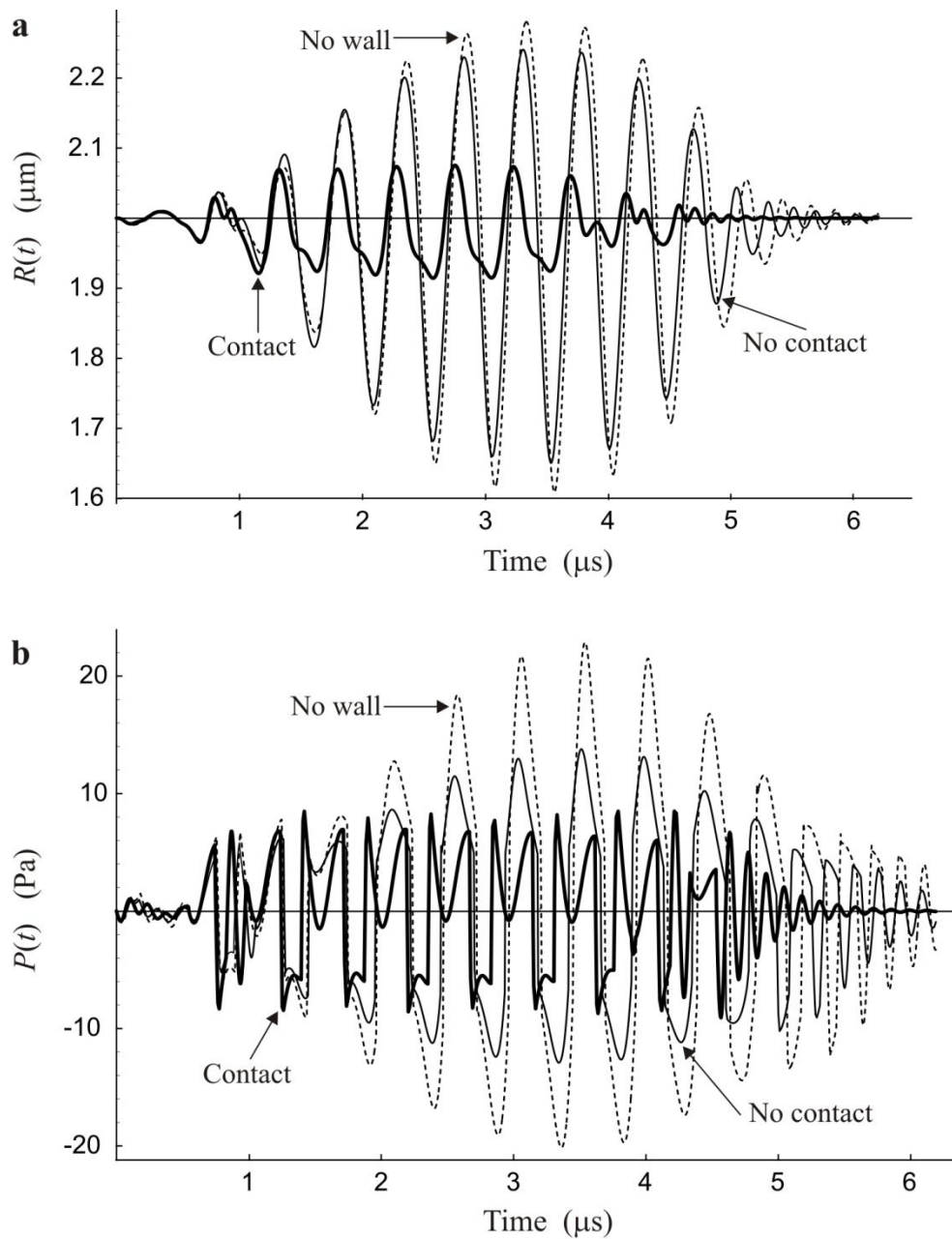


Figure 6.4 Examples of (a) radius-time and (b) pressure-time curves for a  $2 \mu\text{m}$  radius encapsulated bubble oscillating in an unbounded liquid, near an OptiCell wall, and in contact with an OptiCell wall. The bubble is insonified with a 10 cycle, 40 kPa, 2.1 MHz Gaussian pulse

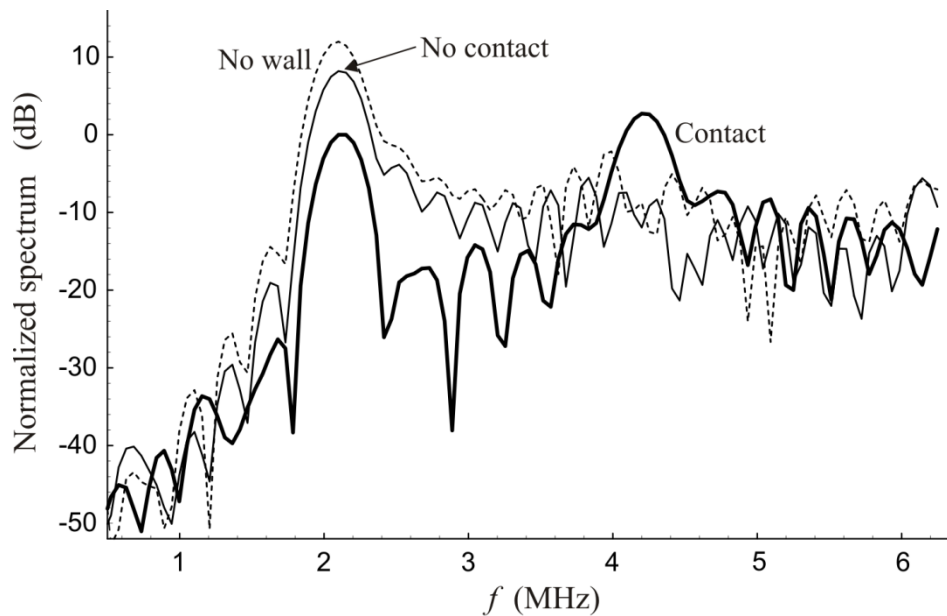


Figure 6.5 *Fourier spectra of the pressure-time curves shown in Figure 6.4(b). Note that contact with the wall gives rise to a strong second harmonic as the bubble resonance frequency becomes closer to twice the driving frequency*

Figure 6.4 provides examples of radius-time and pressure-time curves for the same bubble as in Figure 6.3. The driving frequency is 2.1 MHz. It is interesting to note that the “Contact” curve in Figure 6.4(a) shows the initiation of the second harmonic in the bubble oscillation. The nonlinearity of (6.58) increases this effect in the scattered pressure as is evident from the “Contact” curve in Figure 6.4(b). The Fourier spectra of the pressure-time curves shown in Figure 6.4(b) are presented in Figure 6.5. The spectra were normalized to the magnitude of the fundamental component of the spectrum for the bubble in contact with the wall. Figure 6.5 confirms that in the case being considered, contact with the wall gives rise to a strong second harmonic in the scattered pressure. This effect can be explained as follows. For the reason described in the beginning of this Section, contact with the wall increases the bubble resonance frequency. As a result, it becomes closer to twice the driving frequency and hence more favorable conditions for the development of the second harmonic are created.

#### IV. Conclusion

A modified Rayleigh-Plesset equation has been derived that describes the radial oscillation of an encapsulated bubble attached to an elastic wall. It has been found that the liquid density in the modified Rayleigh-Plesset equation gains a dimensionless factor  $\tau$  that is a function of the mechanical properties of the wall and the density of the adjacent liquid. As a result, contact with the wall affects the bubble oscillation as if the bubble oscillated in a liquid with a changed (effective) density. In the limiting case of a rigid wall,  $\tau = 1.48984$ . For real walls,  $\tau$  is smaller. In particular, for polystyrene walls of OptiCell chambers used in experiments, if the adjacent liquid is water,  $\tau = 0.622024$ . Thus, depending on the wall properties,  $\tau$  can be either larger or smaller than 1. This means that the effective density can be either higher or lower than the real liquid density and hence the natural frequency of an attached bubble can be respectively lower or higher than the natural frequency of the same bubble in an unbounded liquid.

Numerical simulations have been made for a bubble with shell properties similar to those used in the Marmottant shell model. It has been shown that there is a fundamental difference between the cases of a rigid wall and an OptiCell (plastic) wall. Namely, contact with a rigid wall decreases the natural frequency of the bubble as compared to its natural frequency in an unbounded liquid, whereas contact with an OptiCell wall increases the natural frequency of the bubble. This result suggests that the model of a rigid wall appears not to be an adequate approximation for walls occurring in most applications associated with contrast agent microbubbles. It has also been shown that the oscillation amplitude of the bubble attached to the OptiCell wall can either decrease or increase depending on whether the bubble is driven below or above its resonance frequency in an unbounded liquid.

Comparison of simulated bubble resonance curves for three cases has been made: (1) an encapsulated bubble oscillating in an unbounded liquid; (2) the same bubble oscillating



near an OptiCell wall but having no contact with the wall; (3) the same bubble oscillating in direct contact with an OptiCell wall. It has been shown that the acoustic (non-contact) influence of the wall on the bubble oscillation is much weaker than the effect of direct mechanical contact. For the scattered pressure, however, the situation is different: even if there is no contact, the effect of the wall can be quite strong. The reason is that the presence of the wall affects the scattered pressure not only through changes in the bubble oscillation. The presence of the wall changes the equation for the scattered pressure as compared to that in an unbounded liquid because a reflected wave arises. In addition, the scattered pressure is an essentially nonlinear function of the instantaneous bubble radius and its magnitude is responsive to both amplitude and phase changes in the bubble radial oscillation.

## 6.4 Conclusions et perspectives

Dans cette étude, nous avons mis en évidence l'effet du contact bulle-paroi sur l'oscillation de la bulle.

Il a été montré que l'amplitude des oscillations de la bulle attachée à la paroi OptiCell peut soit augmenter ou diminuer selon que la bulle est excitée au-dessous ou au-dessus de sa fréquence de résonance lorsque la bulle est considérée dans un liquide infini.

Il a également été montré que l'influence acoustique de la paroi (sans contact mécanique) sur l'oscillation bulle est beaucoup plus faible que l'effet d'un contact mécanique direct. Cependant en ce qui concerne la pression, l'effet de la paroi est important. La présence de la paroi modifie l'équation de la pression rétrodiffusée par la bulle. La pression rétrodiffusée est essentiellement une fonction non linéaire du rayon instantanée de la bulle. Elle est sensible à la fois aux changements d'amplitude et de phase dans l'oscillation radiale de la bulle.

Cependant les microbulles adhérentes à la paroi d'un vaisseau sanguin peuvent subir l'effet de l'autre paroi. Comme c'est le cas des capillaires, où le diamètre est de l'ordre de dix fois le rayon de la bulle. Cette situation est au-delà de l'hypothèse sur laquelle est basé ce modèle. L'effet de la paroi opposée sur la dynamique de la bulle peut être important. Dans ce cas il est nécessaire de développer un nouveau modèle de microbulle oscillante entre deux parois parallèles [193].

# Chapitre 7 Détection d'agents de contraste ciblés

## 7.1 Introduction

Nous avons proposé dans les chapitres précédents des modèles théoriques qui prennent en compte les effets de la présence d'une paroi élastique sur le comportement de la microbulle à laquelle elle est attachée. Ces modèles ont montré que la fréquence de résonance d'une microbulle attachée est supérieure à celle d'une microbulle dans un milieu infini. Il a également été montré que l'influence acoustique d'une paroi sans contact mécanique sur la pression rétrodiffusée est plus importante que dans le cas d'un contact direct.

De plus, nous avons démontré que pour différencier l'écho d'une microbulle au voisinage direct d'une paroi de celui d'une microbulle éloigné de la paroi il est nécessaire d'exciter la microbulle à une fréquence qui se situe entre 111 à 117% de sa fréquence de résonance. Dans ce cas, une différence importante est constatée pour la composante diffusée au deuxième harmonique. Dans ce chapitre, nous présentons les résultats d'expérimentations avec des microbulles ciblées. Ainsi, des microbulles streptavidinées sont utilisées. Afin de les attacher, une paroi de gélatine contenant de la biotine à sa surface est utilisée. Grâce à la liaison streptavidine-biotine, ces microbulles se retrouvent attachées à la paroi de gélatine. L'adhérence des microbulles à la gélatine a été objectivée par microscopie. Par la suite, un dispositif expérimental a été mis en place pour mesurer les réponses des microbulles attachées et les comparer aux réponses des mêmes microbulles libres.

## 7.2 Matériel et méthodes

### 7.2.1 Ciblage des microbulles sur une paroi élastique

#### Préparation des microbulles

Les microbulles ciblées utilisées sont fournies par Bracco (Bracco, Genève) et sont de type BG7725. Ces microbulles contiennent à leurs surfaces de la streptavidine. La liaison biotine-streptavidine est l'une des liaisons non-covalente de plus fortes interactions, la force d'interaction de la liaison streptavidine-biotine est 257pN [194]. Ainsi pour attacher ces microbulles nous avons utilisé de la gélatine contenant de la biotine à sa surface.

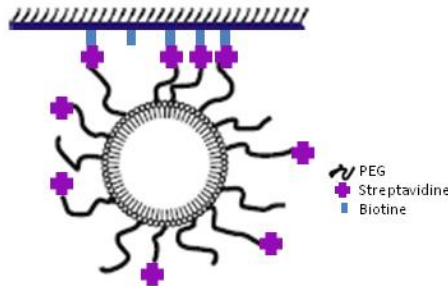


Figure 7.1 Microbulle de BG7725 attachée à une paroi

#### Préparation d'une gélatine biotinylée

La gélatine est préparée avec une concentration de 10% de gélatine de porc (type A 300 Sigma Aldrich). De l'eau bouillante est versée sur cette gélatine. Une fois la gélatine refroidie, 1% de biotine (Sigma Aldrich, France) est incorporée à la mixture [195].

### **Attacher des bulles ciblées sur un film Mélinex**

Des rectangles de film Mélinex (Agar Scientific) de 1cm de largeur sur 5cm de longueur ont été découpés afin de servir de support à la gélatine chargée en biotine. Dans notre cas, pour les besoins de l'expérience, afin d'avoir 500  $\mu\text{m}$  d'épaisseur de gélatine, 150  $\mu\text{l}$  de gélatine est déposée sur 3cm de longueur de film Mélinex (Agar, Scientific), les 2 cm restant du film servent de marge pour fixer le film. Une fois la gélatine fixée 20 $\mu\text{l}$  de BG7725 sont déposés sur la gélatine formant ainsi une goutte de 5mm de diamètre.

Afin que le processus d'adhérence des microbulles opère et crée des liaisons streptavidine-biotine, il est indispensable de respecter un temps d'attente de 15 mn [195].

Le rinçage est une étape importante pour éliminer les microbulles qui n'adhèrent pas à la gélatine. Quatre à cinq rinçages (Fischer Scientific) contenant 10 ml de PBS (Phosphate Buffer Solution, Gibco-Invitrogen, Carlsbad, CA) sont nécessaires. Après les rinçages, les échantillons sont introduits dans des cuvettes de spectrophotométrie contenant du PBS.

## 7.2.2 Dispositifs expérimentaux

### **Mesures d'atténuation**

La résonance d'un agent de contraste dépend de la distribution de la taille des microbulles. La fréquence de résonance d'une solution de microbulles peut être estimée à partir de mesures d'atténuation [196]. Un transducteur mono-élément centré à 3,5 MHz (Sofranel, Sartrouville, France) et focalisé à 55 mm est exploité en émission/réception. Tout d'abord, une plaque en acier utilisée comme réflecteur parfait, est positionnée à la focale du transducteur. Ensuite, une solution de BG7725 avec une dilution de 1/2000 est injectée dans le milieu. Les échos reçus sont amplifiés et visualisés sur un oscilloscope numérique (Tektronix, Beaverton, OR) et transférés par la suite vers un ordinateur pour l'analyse (voir figure 7.2a). Le milieu est agité

à l'aide d'un agitateur magnétique. L'atténuation est estimée grâce au rapport entre l'écho mesuré en la présence des microbulles à celui en l'absence de microbulles.

### **Mesures en rétrodiffusion**

La rétrodiffusion des microbulles est mesurée en mode pulse/écho. Un transducteur mono-élément de fréquence centrale de 10 MHz (Sofranel, Sartrouville, France) a été exploité en émission. Le transducteur est focalisé à 30 mm. Le signal d'excitation est issu d'un générateur de signaux (33220A, Agilent, Palo Alto, CA) et ensuite amplifié par un amplificateur de puissance (Amplifier Research 150A100B, Souderton, PA). Les signaux rétrodiffusés par les microbulles sont reçus par un deuxième transducteur mono-élément avec une fréquence centrale de 5 MHz et une focale de 30 mm (Sofranel, Sartrouville, France). Le transducteur récepteur est placé à un angle de 90 degrés par rapport au transducteur émetteur. Les échos reçus sont amplifiés et visualisés sur un oscilloscope numérique (Tektronix, Beaverton, OR) transférés et par la suite vers un ordinateur pour l'analyse. Le milieu est agité à l'aide d'un agitateur magnétique (voir figure 7.2b). Cette mesure de rétrodiffusion a été réalisée sur un échantillon de bulles avec une dilution de 2/50000.

Concernant la mesure de rétrodiffusion des microbulles attachées, les films Mélinex contenant des microbulles attachées à la surface de la gélatine biotinylée sont posés verticalement dans une cuvette à la focale des transducteurs et orientés à 90° par rapport à ces derniers (voir figure 7.2b).

Les microbulles sont insonifiées avec une impulsion gaussienne contenant 32 cycles, à une pression de 500 kPa, fréquence (5-14 MHz) pour générer du sous-harmonique.

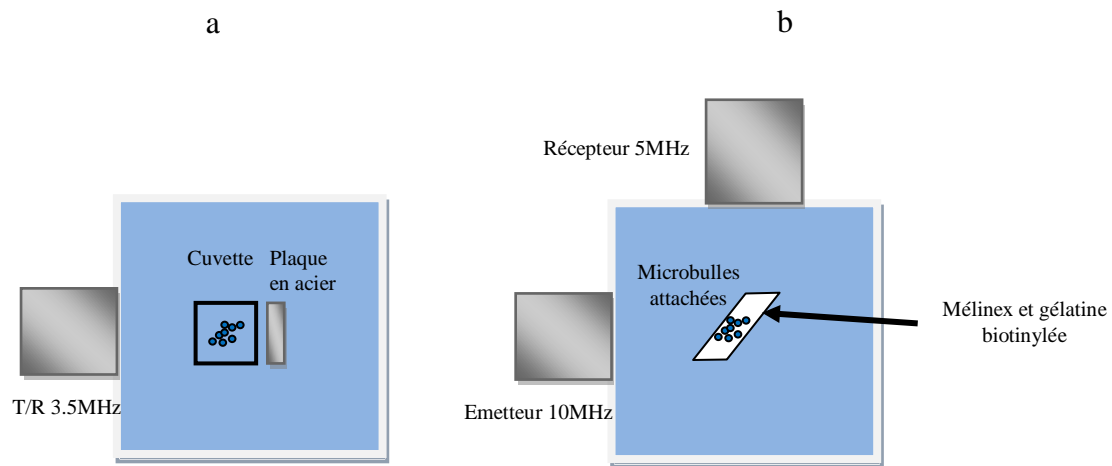


Figure 7.2 Dispositifs expérimentaux (a) mesures d'atténuation (b) mesures de rétrodiffusion

## 7.3 Résultats et discussion

### 7.3.1 Microscopie

Des images des microbulles attachées ou non ont été acquises avec un microscope inversé (EVOS-*fl* AMG, Bothell, WA). La figure 7.3 représente des microbulles attachées sur une surface de gélatine biotinylée et un contrôle de microbulles non attachées sur une surface de gélatine non biotinylée.

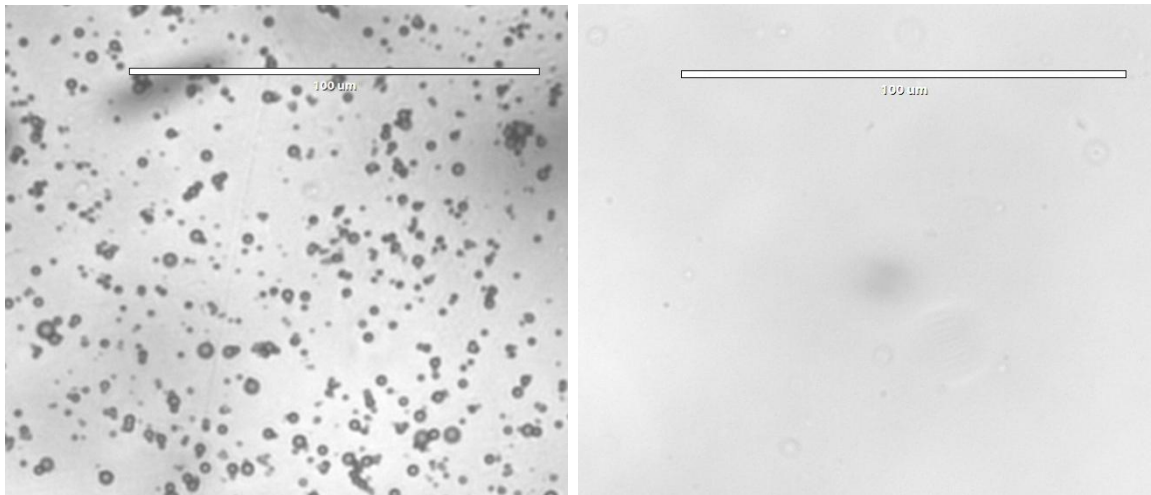


Figure 7.3 Image de microbulles attachées sur une gélatine biotinylée et le contrôle

Pour estimer le taux de bulles adhérentes sur la gélatine, une étude statistique a été réalisée sur trois échantillons de gélatine biotinylée (figure 7.4).

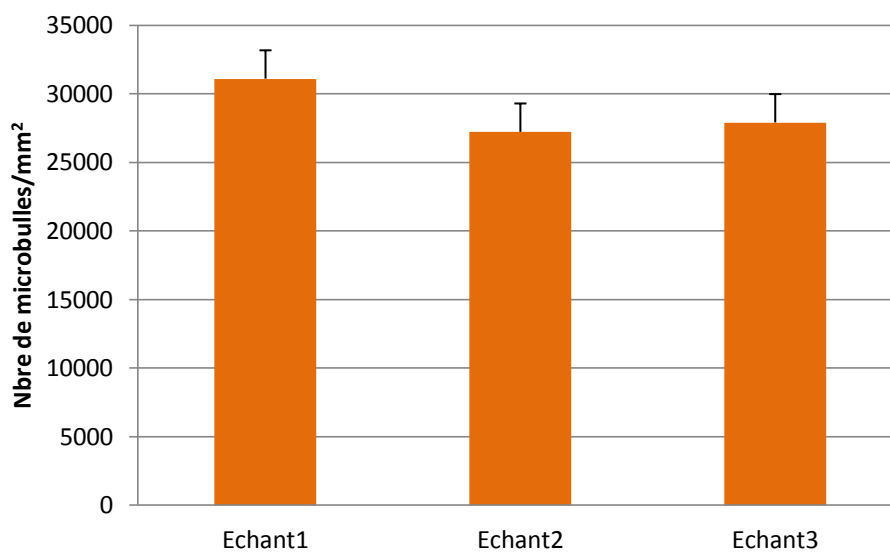


Figure 7.4 Nombre de bulles attachées sur 3 échantillons différents

La figure 7.4 montre qu'en moyenne, 28740 microbulles adhèrent à une surface de 1mm<sup>2</sup> de surface de gélatine biotinylée. Le taux d'adhérence totale est estimé à 2% du volume déposé.



### 7.3.2 Simulation

Pour identifier les fréquences d'excitations qui optimisent la différence de la réponse d'une bulle attachée de celle d'une bulle libre, nous avons exploité le modèle représentant une microbulle attachée présenté dans le chapitre 6.

Les paramètres élastiques de la paroi de la microbulle sont ceux définis par [34],  $\chi=2.5$  N/m,  $\kappa_s=5.10^{-9}$  kg/s,  $\sigma(R_0)=0$  N/m.

Les propriétés des milieux sont  $\rho_l=1000$  kg/m<sup>3</sup>,  $\eta=0.001$  Pa.s,  $c=1480$  m/s,  $\kappa=1.095$ ,  $P_0=101.3$  Pa,  $\rho_2=1060$  kg/m<sup>3</sup>,  $K=3.75$  GPa,  $\mu=1.34$  GPa,  $h=75$   $\mu$ m,  $\rho_3=1000$  kg/m<sup>3</sup>,  $\sigma_w=0.072$  N/m.

Nous avons considéré une microbulle de  $1.4$   $\mu$ m insonifiée à une fréquence de (2-14) MHz, une impulsion gaussien 32 cycles. La réponse acoustique a été obtenue pour une pression incidente de 100 kPa. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux composantes linéaires et non linéaires.

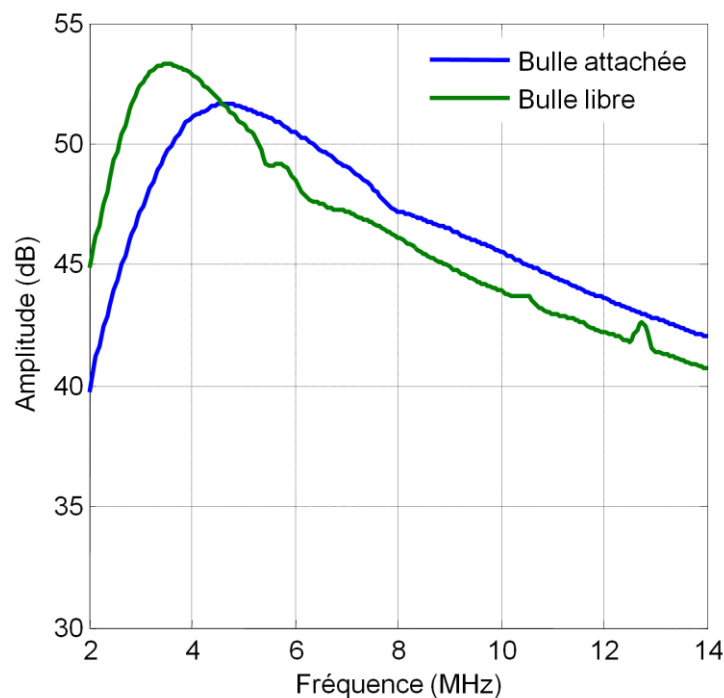


Figure 7.5 La courbe de résonance de la composante fondamentale d'une bulle de  $1.4\mu\text{m}$

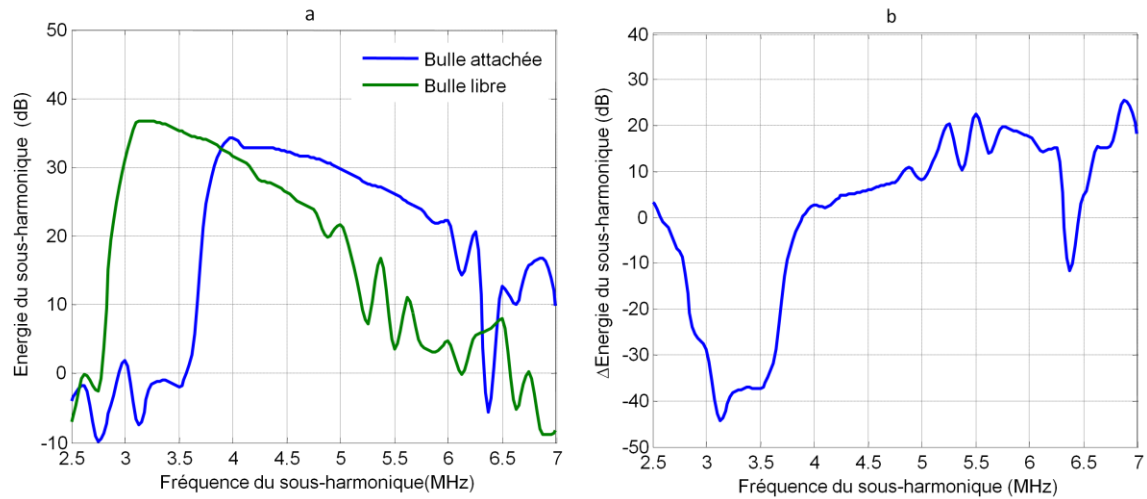


Figure 7.6 (a) La courbe de résonance de la composante sous-harmonique d'une bulle de 1.4µm. (b) Différence d'amplitude du sous-harmonique entre la courbe de résonance de la bulle attachée et libre

La figure 7.5 montre que la fréquence de résonance de la bulle de 1.4 µm est de l'ordre de 3.5 MHz.

La fréquence de résonance d'une bulle attachée est 135% plus élevée que la fréquence de résonance de la bulle libre. Cette observation est en accord avec le résultat obtenu dans notre étude du chapitre 6 [121].

La fréquence de résonance de la composante sous-harmonique généré par la microbulle libre est obtenue à 179% de la fréquence de résonance de la composante fondamentale. La fréquence de résonance de la composante sous-harmonique généré par la microbulle attachée est obtenue à 229% de la fréquence de résonance de la composante fondamentale de la microbulle libre.

La figure 7.6 montre que la fréquence d'excitation pour obtenir une différence optimale du sous-harmonique permettant de différencier la bulle attachée de la bulle libre est autour de 6 MHz. Cependant à cette fréquence la microbulle attachée ne génère pas de sous-harmonique. En expérimentation, une confusion entre le signal en provenances des bulles attachées et celui de la paroi est envisageable. On observe aussi qu'il est possible de différencier les bulles

attachées des bulles libres à 11 MHz, cette fréquence correspond à 314% de la fréquence de résonance de la bulle libre. Cependant cette différence d'amplitude est moins importante que celle obtenue à 6 MHz.

### 7.3.3 Mesures Acoustiques

Pour déterminer la fréquence de résonance de bulles de BG7725, une mesure d'atténuation a été réalisée sur un échantillon de bulles (section 7.2.2). Cette mesure est illustrée dans la figure 7.7. La fréquence de résonance de notre échantillon de bulles est autour de 3.5MHz. Ce résultat concorde avec notre résultat de simulation (voir figure 7.6).

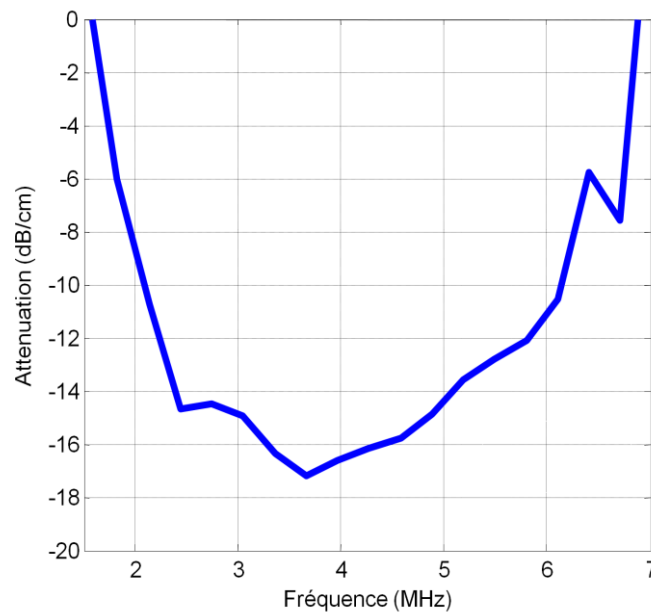


Figure 7.7 Estimation de la fréquence de résonance d'un échantillon de bulles BG7725 par mesure d'atténuation

Pour différencier le signal des bulles attachées, des bulles libres et de la paroi en gélatine, notre intérêt s'est porté sur la composante sous-harmonique générée par les bulles attachées et libres. Des mesures en rétrodiffusion ont été réalisées sur les bulles BG7725 attachées à une gélatine biotinylée et des bulles libres.

Le spectre fréquentiel de la réponse acoustique des microbulles correspondant à chaque fréquence d'excitation est analysé pour relever l'amplitude du sous-harmonique généré par les bulles libres et attachées.

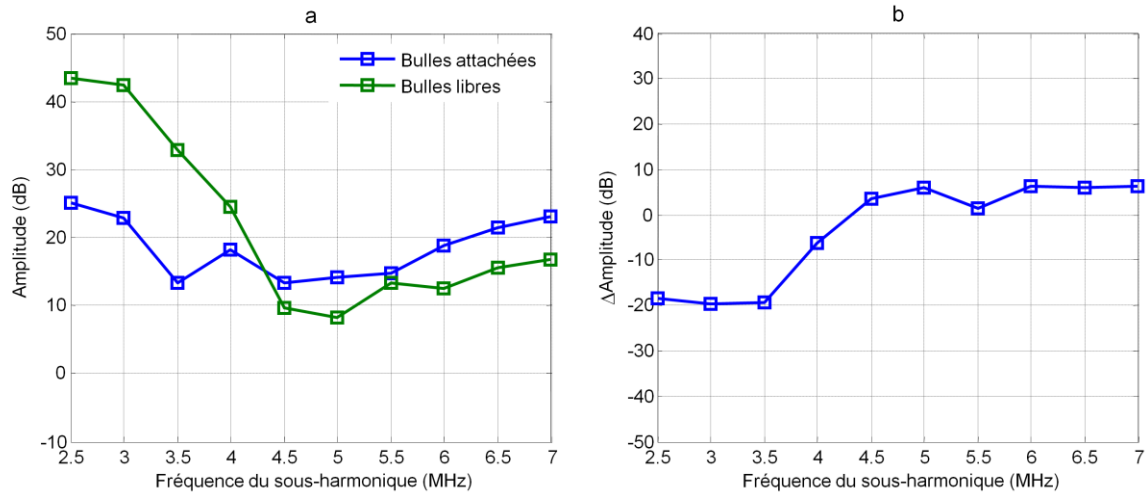


Figure 7.8 Amplitude du sous-harmonique en fonction de la fréquence d'une population de bulles BG7725. (b) Différence d'amplitude du sous-harmonique entre les bulles attachées et libres

La figure 7.8a montre que l'amplitude de la composante sous-harmonique générée par les microbulles libres est plus importante que celle générée par les microbulles attachées aux fréquences 5-8MHz. Cela s'explique par le faible taux d'adhérence des microbulles. Par contre, l'inverse est observé aux fréquences d'excitations 9-14MHz (figure 7.8a). Cette observation s'explique par un changement dynamique dans le comportement des microbulles attachées.

Concernant la courbe de résonance du sous-harmonique généré par les microbulles libres, on s'attend à obtenir une résonance du sous-harmonique à deux fois leurs fréquence de résonance à 3.5MHz. Cependant l'étude de Faez et al [197] a montré que la résonance du sous-harmonique pour les microbulles d'un diamètre entre 2 et 2.65 $\mu$ m est entre 2.8 et 3.2 MHz.

La figure 7.8 b montre une différence optimale du sous-harmonique de 20dB entre les bulles libres et adhérentes obtenue pour les fréquences d'excitation 5-7 MHz qui correspondent à

143-200% de la fréquence de résonance des bulles libres. Une différence moins importante (6dB) est constatée aux fréquences d'excitations 9-14 MHz.

En conclusion, pour différencier les microbulles adhérentes des microbulles libres, il est nécessaire que les signaux d'excitations soient centrés aux fréquences 143-200% de la fréquence de résonance des bulles libres.

### 7.4 Conclusions et perspectives

Dans ce chapitre nous avons mis en évidence qu'exploiter la liaison streptavidine-biotine est une technique efficace pour adhérer les microbulles ciblées à une paroi. Nous avons aussi mis en évidence le faible taux d'adhérence des microbulles à la gélatine biotinylée. On a montré que le modèle représentant une microbulle attachée est un moyen efficace pour identifier les conditions acoustiques à appliquer en expérimentation pour différencier les microbulles attachées des microbulles libres. Pour différencier les microbulles libres des microbulles attachées il est préférable d'exciter avec un signal dont la fréquence centrale oscille entre 143-200% de la fréquence de résonance des bulles libres.

Il est certain que la paroi modifie le comportement des microbulles adhérentes. Cependant, d'autres investigations sont nécessaires pour avoir plus d'informations sur l'effet de la paroi sur le comportement des microbulles adhérentes. Notamment, améliorer notre technique d'adhérence des microbulles en réduisant l'épaisseur de la paroi et ainsi procéder à des mesures optiques et acoustiques à l'aide d'une caméra ultra rapide.



## **Conclusion générale**





L'objectif principal de cette thèse a été d'étudier l'effet des différentes parois sur le comportement dynamique des microbulles de contraste.

Nous avons montré dans cette étude qu'il est possible d'identifier des microbulles proches d'une paroi et de les différencier des microbulles libres en exploitant le modèle d'une paroi rigide. Cependant, ce modèle n'est pas suffisant pour étudier le comportement d'une microbulle encapsulée, il est basé sur l'hypothèse que l'épaisseur de la paroi d'un vaisseau sanguin est infinie. Néanmoins, cette épaisseur est importante par rapport à la taille d'une microbulle, mais elle est plus petite que la distance entre le centre de la microbulle et le point de mesure. Pour résoudre ce problème, un modèle a été développé représentant une paroi avec une épaisseur finie. Les résultats obtenus montrent que l'amplitude de l'écho rétrodiffusé par une microbulle proche d'une paroi avec une épaisseur finie est inférieure à celui d'une microbulle se trouvant dans un fluide infini. Ce modèle révèle également que plus la densité de la paroi est importante plus la différence d'amplitude entre la paroi infinie et finie est importante. Ces résultats peuvent apporter des informations importantes pour la détection de microbulles de contraste proches d'une paroi d'un vaisseau sanguin. Cependant la paroi d'un vaisseau sanguin ne peut pas être considérée comme un fluide, mais comme un solide élastique. En intégrant ses propriétés mécaniques, il est possible de représenter la paroi d'un vaisseau sanguin.

L'effet d'une paroi élastique sur le comportement d'une microbulle dépend du rapport entre ses paramètres mécaniques, sa masse volumique et celle du milieu. En tenant compte de ces paramètres, nous avons démontré que la fréquence de résonance d'une microbulle proche d'une paroi est supérieure à celle dans un fluide infini.

L'effet de différentes parois sur le comportement d'une microbulle a été l'objet d'études non approfondies où un seul type de paroi est étudié. Pour cela, nous avons considéré trois types de parois : Aluminium, OptiCell, et tissu biologique. Le choix de ces différentes parois se

justifie par la différence entre leurs masses volumiques qui est supérieure ou inférieure à celle du milieu dans lequel est plongée la microbulle (eau). Le changement dans le comportement des microbulles se produit près de la paroi d'OptiCell. Ainsi nous avons montré que la microbulle diffuse un écho différent de celui du cas où la microbulle est éloignée de la paroi lorsque la fréquence d'excitation est au-dessus de la fréquence de résonance. Cette différence est importante pour la composante au deuxième harmonique. D'autres parts, nous avons constaté que les petites bulles (1-1.6 $\mu\text{m}$ ) sont plus sensibles à la proximité de la paroi. Ainsi, une plus grande différence est observée entre les échos de la microbulle en contact avec la paroi et éloignée de la paroi. Cependant en imagerie ciblée, l'identification des régions pathologiques se fait par l'adhérence des microbulles. Nous avons développé pour ce besoin un modèle décrivant une microbulle attachée à une paroi élastique. Nous avons montré que le contact direct de la bulle avec la paroi induit une diminution de l'écho par rapport à la même bulle dans un liquide infini. Le contact direct de la bulle avec la paroi engendre une augmentation de la fréquence de résonance par rapport à une bulle sans contact direct.

Afin de valider ces prédictions théoriques, nous avons mis en place un dispositif expérimental. Notre étude expérimentale a montré que l'exploitation de l'affinité streptavidine-biotine est une technique efficace pour adhérer les microbulles ciblées à une paroi. Cependant un faible taux d'adhérence des microbulles à la gélatine a été constaté. Il a aussi été démontré dans cette étude l'intérêt de l'imagerie sous-harmonique pour différencier les microbulles attachées des microbulles libres et de la paroi en gélatine.

Une première perspective de ce travail serait de réaliser des mesures optiques et acoustiques à l'aide d'une caméra ultras rapide, celles-ci viendront appuyer expérimentalement nos résultats théoriques. Une deuxième perspective du travail serait de réduire l'épaisseur de la paroi en remplaçant la gélatine biotinylée par de la NeutrAvidin.

Une troisième perspective de ce travail serait d'utiliser des microbulles avec un plus grand diamètre, par exemple les BR55, pour augmenter le taux d'adhérence des microbulles (la force de liaison entre les microbulles et la surface d'adhérence accroît avec la taille des microbulles [198]). Une quatrième perspective de ce travail serait d'exploiter la technique de compression de chirps pour augmenter le signal rétrodiffusé en provenance des microbulles adhérentes.

## Bibliographie

- [1] H. Becher and P. Burns, *Handbook of Contrast Echocardiography: Left Ventricular Function and Myocardial Perfusion*. New York: Springer Verlag, 2000, pp. 1–44, (Chapter1).
- [2] B. B. Goldberg, J. S. Raichlen, and F. Forsberg, *Ultrasound Contrast Agents: Basic Principles and Clinical Applications*. London: Martin Dunitz, 2001.
- [3] T. Szabo, *Diagnostic Ultrasound Imaging: Inside Out*. New York: Academic Press, 2004.
- [4] F. Tranquart, J. M. Correas, and A. Bouakaz, *Échographie de contraste: méthodologie et applications cliniques*. Springer, 2007.
- [5] P. A. Schumann, J. P. Christiansen, R. M. Quigley, T. P. McCreery, R. H. Sweitzer, E. C. Unger, J. R. Lindner, and T. O. Matsunaga, “Targeted-microbubble binding selectively to GPIIb IIIa receptors of platelet thrombi.,” *Investigative radiology*, vol. 37, no. 11, pp. 587–93, Nov. 2002.
- [6] H. Leong-Poi, “Noninvasive Assessment of Angiogenesis by Ultrasound and Microbubbles Targeted to  $\alpha$ v $\beta$ 3 Integrins,” *Circulation*, vol. 107, no. 3, pp. 455–460, Dec. 2002.
- [7] D. Lloyd-Jones, R. J. Adams, T. M. Brown, M. Carnethon, S. Dai, G. De Simone, T. B. Ferguson, E. Ford, K. Furie, C. Gillespie, A. Go, K. Greenlund, N. Haase, S. Hailpern, P. M. Ho, V. Howard, B. Kissela, S. Kittner, D. Lackland, L. Lisabeth, A. Marelli, M. M. McDermott, J. Meigs, D. Mozaffarian, M. Mussolino, G. Nichol, V. L. Roger, W. Rosamond, R. Sacco, P. Sorlie, R. Stafford, T. Thom, S. Wasserthiel-Smoller, N. D. Wong, and J. Wylie-Rosett, “Heart disease and stroke statistics-2010 update: a report from the American Heart Association.,” *Circulation*, vol. 121, no. 7, pp. e46–e215, Feb. 2010.
- [8] J. Leal, R. Luengo-Fernández, A. Gray, S. Petersen, and M. Rayner, “Economic burden of cardiovascular diseases in the enlarged European Union.,” *European heart journal*, vol. 27, no. 13, pp. 1610–9, Jul. 2006.
- [9] J. Ferlay, D. M. Parkin, and E. Steliarova-Foucher, “Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008.,” *European journal of cancer*, vol. 46, no. 4, pp. 765–81, Mar. 2010.
- [10] K. Holmes, O. L. Roberts, A. M. Thomas, and M. J. Cross, “Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition.,” *Cellular signalling*, vol. 19, no. 10, pp. 2003–12, Oct. 2007.
- [11] P. Libby, “Inflammation in atherosclerosis.,” *Nature*, vol. 420, no. 6917, pp. 868–74, 2002.

- [12] H. D. Liang and M. J. K. Blomley, "The role of ultrasound in molecular imaging.," *The British journal of radiology*, vol. 76, pp. S140–50, Jan. 2003.
- [13] P. C. Brooks, R. A. F. Clark, and D. A. Cheresh, "Requirement of Vascular Integrin alpha v beta 3 for Angiogenesis," *Science*, vol. 353, no. 1990, pp. 22–24, 1994.
- [14] W. Cai and X. Chen, "Multimodality molecular imaging of tumor angiogenesis.," *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, vol. 49 Suppl 2, no. 11, p. 113S–28S, Jun. 2008.
- [15] R. P. Choudhury, V. Fuster, and Z. A. Fayad, "Molecular, cellular and functional imaging of atherothrombosis.," *Nature reviews. Drug discovery*, vol. 3, no. 11, pp. 913–25, Nov. 2004.
- [16] F. A. Jaffer, P. Libby, and R. Weissleder, "Molecular and cellular imaging of atherosclerosis: emerging applications.," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 47, no. 7, pp. 1328–38, Apr. 2006.
- [17] H. Wijkstra, M. Smeenge, J. de la Rosette, S. Pochon, I. Tardy-Cantalupi, and F. Tranquart, "Targeted Microbubble Prostate Cancer Imaging with BR55," in *Symposium on Ultrasound Contrast Imaging, Rotterdams, The Netherland, 17–18 January, 2012*, pp. 6–7.
- [18] Y. Negishi, D. Omata, H. Iijima, Y. Takabayashi, K. Suzuki, Y. Endo, R. Suzuki, K. Maruyama, M. Nomizu, and Y. Aramaki, "Enhanced laminin-derived peptide AG73-mediated liposomal gene transfer by bubble liposomes and ultrasound.," *Molecular pharmaceutics*, vol. 7, no. 1, pp. 217–26, Feb. 2010.
- [19] K. Kaddur, L. Lebegue, F. Tranquart, P. Midoux, C. Pichon, and A. Bouakaz, "Transient transmembrane release of green fluorescent proteins with sonoporation.," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 57, no. 7, pp. 1558–67, Jul. 2010.
- [20] K. K. Shung, D. Y. Fei, and J. O. Ballard, "Further studies on ultrasonic properties of blood clots.," *Journal of clinical ultrasound : JCU*, vol. 14, no. 4, pp. 269–75, May 1986.
- [21] O. Couture, E. Cherin, and F. S. Foster, "Model for the ultrasound reflection from micro-beads and cells distributed in layers on a uniform surface.," *Physics in medicine and biology*, vol. 52, no. 14, pp. 4189–204, Jul. 2007.
- [22] P. A. Dayton and J. J. Rychak, "Molecular ultrasound imaging using microbubble contrast agents.," *Frontiers in bioscience*, vol. 12, pp. 5124–42, Jan. 2007.
- [23] J. N. Marsh, K. C. Partlow, D. R. Abendschein, M. J. Scott, M. Gregory, and S. A. Wickline, "Molecular imaging with targeted perfluorocarbon nanoparticles: Quantification of the concentration dependence of contrast enhancement for binding to sparse cellular epitopes," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 33, no. 6, pp. 950–958, 2007.

- [24] R. Gramiak and P. M. Shah, "Echocardiography of the aortic root.," *Investigative radiology*, vol. 3, no. 5, pp. 356–66, 1968.
- [25] H. Feigenbaum, J. M. Stone, D. A. Lee, and W. K. Nasser, "Identification of Ultrasound Echoes from the Left Ventricle by Use of Intracardiac Injections of Indocyanine Green," *Circulation*, pp. 615–621, 1970.
- [26] J. Ophir and K. J. Parker, "Contrast agents in diagnostic ultrasound.," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 15, no. 4, pp. 319–33, Jan. 1989.
- [27] R. S. Meltzer, P. W. Serruys, J. McGhie, N. Verbaan, and J. Roelandt, "Pulmonary wedge injections yielding left-sided echocardiographic contrast.," *Br Heart J*, vol. 44, pp. 390–4, 1980.
- [28] C. Christiansen, H. Kryvi, P. C. Sontum, and T. Skotland, "Physical and biochemical characterization of Alburnex, a new ultrasound contrast agent consisting of air-filled albumin microspheres suspended in a solution of human albumin.," *Biotechnology and applied biochemistry*, vol. 19 ( Pt 3), pp. 307–20, Jun. 1994.
- [29] J. L. Cohen, J. Cheirif, D. S. Segar, L. D. Gillam, J. S. Gottdiener, E. Hausnerova, and D. E. Bruns, "Improved left ventricular endocardial border delineation and opacification with OPTISON (FS069), a new echocardiographic contrast agent. Results of a phase III Multicenter Trial.," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 32, no. 3, pp. 746–52, Sep. 1998.
- [30] P. Narayan, D. Marchant, and M. A. Wheatley, "Optimization of spray drying by factorial design for production of hollow microspheres for ultrasound imaging.," *Journal of biomedical materials research*, vol. 56, no. 3, pp. 333–41, Sep. 2001.
- [31] N. de Jong, A. Bouakaz, and P. Frinking, "Basic acoustic properties of microbubbles.," *Echocardiography*, vol. 19, no. 3, pp. 229–40, Apr. 2002.
- [32] S. Barnard, E. Leen, T. Cooke, and W. Angerson, "A contrast-enhanced ultrasound study of benign and malignant breast tissue.," *South African medical journal*, vol. 98, no. 5, pp. 386–91, May 2008.
- [33] D. Rovai, M. A. Morales, R. Amyot, and A. L'Abbate, "Clinical experience with SonoVue in myocardial perfusion imaging.," *Echocardiography (Mount Kisco, N.Y.)*, vol. 17, no. 6 Pt 2, pp. S17–23, Aug. 2000.
- [34] M. Overvelde, V. Garbin, J. Sijl, B. Dollet, N. de Jong, D. Lohse, and M. Versluis, "Nonlinear shell behavior of phospholipid-coated microbubbles.," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 36, no. 12, pp. 2080–92, Dec. 2010.
- [35] S. M. van der Meer, B. Dollet, M. M. Voormolen, C. T. Chin, A. Bouakaz, N. De Jong, M. Versluis, and D. Lohse, "Microbubble spectroscopy of ultrasound contrast agents.," *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 121, no. 1, pp. 648–656, 2007.

- [36] G. ter Haar, "Ultrasound bioeffects and safety.," *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of engineering in medicine*, vol. 224, no. 2, pp. 363–73, Jan. 2010.
- [37] N. de jong, "Mechanical Index.," *European Journal of Echocardiography*, vol. 3, no. 1, pp. 73–74, Mar. 2002.
- [38] J. Sijl, B. Dollet, M. Overvelde, V. Garbin, T. Rozendal, N. de Jong, D. Lohse, and M. Versluis, "Subharmonic behavior of phospholipid-coated ultrasound contrast agent microbubbles.," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 128, no. 5, pp. 3239–52, Nov. 2010.
- [39] N. de jong, P. J. Frinking, A. Bouakaz, and F. J. Ten Cate, "Detection procedures of ultrasound contrast agents.," *Ultrasonics*, vol. 38, no. 1–8, pp. 87–92, Mar. 2000.
- [40] S. B. Feinstein, "Contrast ultrasound imaging of the carotid artery vasa vasorum and atherosclerotic plaque neovascularization.," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 48, no. 2, pp. 236–43, Jul. 2006.
- [41] B. A. Schrope and V. L. Newhouse, "Second harmonic ultrasonic blood perfusion measurement.," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 19, no. 7, pp. 567–79, Jan. 1993.
- [42] M. F. Hamilton and D. T. Blackstock, *nonlinear acoustics*. Academic Press, 1998.
- [43] A. Eller and H. G. Flynn, "Generation of Subharmonics of Order One-Half by Bubbles in a Sound Field," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 44, no. 1, pp. 368–69, Jul. 1968.
- [44] W. T. Shi, F. Forsberg, J. S. Raichlen, L. Needleman, and B. Goldberg, "Pressure Dependence Of Subharmonic Signals From Contrast Microbubbles," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 25, no. 2, pp. 275–283, 1999.
- [45] P. M. Shankar, P. D. Krishna, and V. L. Newhouse, "Subharmonic backscattering from ultrasound contrast agents.," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 106, no. 4 Pt 1, pp. 2104–10, Oct. 1999.
- [46] P. Marmottant, S. van der Meer, M. Emmer, M. Versluis, N. de Jong, S. Hilgenfeldt, and D. Lohse, "A model for large amplitude oscillations of coated bubbles accounting for buckling and rupture," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 118, no. 6, p. 3499, 2005.
- [47] P. J. A. Frinking, J. Brochot, and M. Arditi, "Subharmonic scattering of phospholipid-shell microbubbles at low acoustic pressure amplitudes.," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 57, no. 8, pp. 1762–71, Aug. 2010.
- [48] N. de Jong, M. Emmer, A. Van wamel, and M. Versluis, "Ultrasonic characterization of ultrasound contrast agents.," *Medical & biological engineering & computing*, vol. 47, no. 8, pp. 861–73, Aug. 2009.

- [49] T. Faez, M. Emmer, M. Docter, J. Sijl, M. Versluis, and N. de Jong, "Characterizing the Subharmonic Response of Phospholipid-Coated Microbubbles for Carotid Imaging," *Ultrasound in medicine & biology*, pp. 1–13, Apr. 2011.
- [50] P. D. Krishna, P. M. Shankar, and V. L. Newhouse, "Advantages of Subharmonic Over Second Harmonic Backscatter for Contrast-To-Tissue Echo Enhancement," *Physics in Medicine and Biology*, vol. 24, no. 3, pp. 395–99, Mar. 1999.
- [51] F. Forsberg, W. T. Shi, and B. B. Goldberg, "Subharmonic imaging of contrast agents," *Ultrasonics*, vol. 38, no. 1–8, pp. 93–8, Mar. 2000.
- [52] A. L. Klibanov, J. J. Rychak, W. C. Yang, S. Alikhani, B. Li, S. Acton, J. R. Lindner, K. Ley, and S. Kaul, "Targeted ultrasound contrast agent for molecular imaging of inflammation in high-shear flow," *Molecular Imaging*, vol. 266, no. November, pp. 259–266, 2006.
- [53] G. M. Lanza, K. D. Wallace, M. J. Scott, W. P. Cacheris, D. R. Abendschein, D. H. Christy, A. M. Sharkey, J. G. Miller, P. J. Gaffney, and S. A. Wickline, "A Novel Site-Targeted Ultrasonic Contrast Agent With Broad Biomedical Application," *Circulation*, vol. 94, no. 12, pp. 3334–3340, Dec. 1996.
- [54] J. R. Lindner, J. Song, J. Christiansen, A. L. Klibanov, F. Xu, and K. Ley, "Ultrasound Assessment of Inflammation and Renal Tissue Injury With Microbubbles Targeted to P-Selectin," *Circulation*, vol. 104, no. 17, pp. 2107–2112, Oct. 2001.
- [55] S. Pochon, I. Tardy, P. Bussat, T. Bettinger, J. Brochot, M. von Wronski, L. Passantino, and M. Schneider, "BR55: a lipopeptide-based VEGFR2-targeted ultrasound contrast agent for molecular imaging of angiogenesis," *Investigative radiology*, vol. 45, no. 2, pp. 89–95, Feb. 2010.
- [56] P. J. A. Frinking, I. Tardy, M. Théraulaz, M. Arditi, J. Powers, S. Pochon, and F. Tranquart, "Effects of Acoustic Radiation Force on the Binding Efficiency of Br55, a Vegfr2-Specific Ultrasound Contrast Agent," *Ultrasound in medicine & biology*, pp. 1–10, May 2012.
- [57] B. Davidson, S. Chadderdon, T. Belcik, T. Gupta, T. Bettinger, M. Schneider, and J. Lindner, "Ischemic Memory Imaging with a Selectin-targeted Microbubble Contrast Agent: Efficacy and Safety Testing in a Non-human Primate Model of Myocardial Ischemia -- Davidson et al. 122 (10021): A12763 -- *Circulation*," *Circulation*, p. suppl.21:A12763, 2010.
- [58] B. Davidson, J. Lindner, B. Kaufmann, T. Belcik, and Q. Yue, "Molecular Imaging Using Recombinant PSGL-1 as a Pan-selectin Targeting Moiety Provides Prolonged and Selective Tissue Enhancement for Detecting Recent Ischemia -- Davidson et al. 122 (10021): A12649 -- *Circulation*," *Circulation*, p. suppl.21:A12649, 2010.
- [59] J. R. Lindner, P. A. Dayton, M. P. Coggins, K. Ley, J. Song, K. Ferrara, and S. Kaul, "Noninvasive imaging of inflammation by ultrasound detection of phagocytosed microbubbles," *Circulation*, vol. 102, no. 5, pp. 531–8, Aug. 2000.



- [60] F. A. Jaffer, P. Libby, and R. Weissleder, "Molecular imaging of cardiovascular disease.," *Circulation*, vol. 116, no. 9, pp. 1052–61, Aug. 2007.
- [61] F. S. Villanueva, R. J. Jankowski, S. Klibanov, M. L. Pina, S. M. Alber, S. C. Watkins, G. H. Brandenburger, and W. R. Wagner, "Microbubbles targeted to intercellular adhesion molecule-1 bind to activated coronary artery endothelial cells.," *Circulation*, vol. 98, no. 1, pp. 1–5, Jul. 1998.
- [62] A. L. Klibanov, M. S. Hughes, F. S. Villanueva, R. J. Jankowski, W. R. Wagner, J. K. Wojdyla, J. H. Wible, and G. H. Brandenburger, "Targeting and ultrasound imaging of microbubble-based contrast agents.," *Magma*, vol. 8, no. 3, pp. 177–84, Aug. 1999.
- [63] B. A. Kaufmann, J. M. Sanders, C. Davis, A. Xie, P. Aldred, I. J. Sarembock, and J. R. Lindner, "Molecular imaging of inflammation in atherosclerosis with targeted ultrasound detection of vascular cell adhesion molecule-1.," *Circulation*, vol. 116, no. 3, pp. 276–84, Jul. 2007.
- [64] J. J. Rychak, J. R. Lindner, K. I. Ley, and A. L. Klibanov, "Deformable gas-filled microbubbles targeted to P-selectin.," *Journal of controlled release*, vol. 114, no. 3, pp. 288–99, Sep. 2006.
- [65] A. M. Takalkar, A. L. Klibanov, J. J. Rychak, J. R. Lindner, and K. Ley, "Binding and detachment dynamics of microbubbles targeted to P-selectin under controlled shear flow.," *Journal of controlled release*, vol. 96, no. 3, pp. 473–82, May 2004.
- [66] G. E. R. Weller, M. K. K. Wong, R. A. Modzelewski, E. Lu, A. L. Klibanov, W. R. Wagner, and F. S. Villanueva, "Ultrasonic Imaging of Tumor Angiogenesis Using Contrast Microbubbles Targeted via the Tumor-Binding Peptide," *cancer research*, pp. 533–539, 2005.
- [67] G. E. R. Weller, F. S. Villanueva, E. M. Tom, and W. R. Wagner, "Targeted ultrasound contrast agents: in vitro assessment of endothelial dysfunction and multi-targeting to ICAM-1 and sialyl Lewisx.," *Biotechnology and bioengineering*, vol. 92, no. 6, pp. 780–8, Dec. 2005.
- [68] L. M. Kornmann, K. D. Reesink, R. S. Reneman, and A. P. G. Hoeks, "Critical appraisal of targeted ultrasound contrast agents for molecular imaging in large arteries.," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 36, no. 2, pp. 181–91, Feb. 2010.
- [69] B. P. Davidson, B. A. Kaufmann, J. T. Belcik, A. Xie, Y. Qi, and J. R. Lindner, "Detection of antecedent myocardial ischemia with multiselectin molecular imaging.," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 60, no. 17, pp. 1690–7, Oct. 2012.
- [70] F. Yan, X. Li, Q. Jin, J. Chen, R. Shandas, J. Wu, L. Li, T. Ling, W. Yang, Y. Chen, X. Liu, and H. Zheng, "Ultrasonic imaging of endothelial CD81 expression using CD81-targeted contrast agents in in vitro and in vivo studies.," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 38, no. 4, pp. 670–80, Apr. 2012.
- [71] J. Rohlena, O. L. Volger, J. D. Van Buul, L. H. P. Hekking, J. M. Van Gils, P. I. Bonta, R. D. Fontijn, J. Andies Post, P. L. Hordijk, and A. J. G. Horrevoets, "Endothelial

- CD81 is a marker of early human atherosclerotic plaques and facilitates monocyte adhesion,” *Cardiovascular research*, vol. 81, no. 1, pp. 187–196, 2009.
- [72] J. Folkman, “The role of angiogenesis in tumor growth.,” *Seminars in cancer biology*, vol. 3, no. 2, pp. 65–71, Apr. 1992.
- [73] J. K. Willmann, R. Paulmurugan, K. Chen, O. Gheysens, M. Rodriguez-Porcel, A. M. Lutz, I. Y. Chen, X. Chen, and S. S. Gambhir, “US Imaging of Tumor Angiogenesis with Microbubbles Targeted to Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Type 2 in Mice1,” *Radiology*, vol. 246, no. 2, 2008.
- [74] M. V Backer, Z. Levashova, V. Patel, B. T. Jehning, K. Claffey, F. G. Blankenberg, and J. M. Backer, “Molecular imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature with single-chain VEGF-based probes.,” *Nature medicine*, vol. 13, no. 4, pp. 504–9, Apr. 2007.
- [75] N. Deshpande, M. A. Pysz, and J. K. Willmann, “Molecular Ultrasound Assessment of Tumor Angiogenesis,” *Angiogenesis*, vol. 13, no. 2, pp. 175–188, 2011.
- [76] I. Tardy, S. Pochon, M. Theraulaz, P. Emmel, L. Passantino, F. Tranquart, and M. Schneider, “Ultrasound molecular imaging of VEGFR2 in a rat prostate tumor model using BR55.,” *Investigative radiology*, vol. 45, no. 10, pp. 573–8, Oct. 2010.
- [77] M. A. Pysz, K. Foygel, J. Rosenberg, S. S. Gambhir, M. Schneider, and K. J. Willmann, “Antiangiogenic Cancer Therapy : Monitoring with Molecular US and a Clinically Translatable Contrast Agent (BR55),” *Radiology*, vol. 256, no. 2, 2010.
- [78] J. Bzyl, W. Lederle, A. Rix, C. Grouls, I. Tardy, S. Pochon, M. Siepmann, T. Penzkofer, M. Schneider, F. Kiessling, and M. Palmowski, “Molecular and functional ultrasound imaging in differently aggressive breast cancer xenografts using two novel ultrasound contrast agents (BR55 and BR38).,” *European radiology*, vol. 21, no. 9, pp. 1988–95, Sep. 2011.
- [79] D. B. Ellegala, H. Leong-Poi, J. E. Carpenter, A. L. Klibanov, S. Kaul, M. E. Shaffrey, J. Sklenar, and J. R. Lindner, “Imaging tumor angiogenesis with contrast ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v)beta3.,” *Circulation*, vol. 108, no. 3, pp. 336–41, Jul. 2003.
- [80] H. Kobayashi, K. C. Boelte, and P. C. Lin, “Endothelial cell adhesion molecules and cancer progression.,” *Current medicinal chemistry*, vol. 14, no. 4, pp. 377–86, Jan. 2007.
- [81] M. Palmowski, P. Peschke, J. Huppert, P. Hauff, M. Reinhardt, M. Maurer, C. P. Karger, P. E. Huber, and F. M. Kiessling, “Molecular Ultrasound Imaging of Early Vascular Response in Prostate Tumors Irradiated with Carbon Ions,” *Neoplasia*, vol. 11, no. 9, pp. 856–863, 2009.
- [82] J. M. Warram, A. G. Sorace, R. Saini, H. R. Umphrey, K. R. Zinn, and K. Hoyt, “A Triple-Targeted Ultrasound Contrast Agent Provides Improved Localization to Tumor Vasculature,” *J Ultrasound Med*, vol. 30, no. 7, pp. 921–931, 2011.

- [83] S. M. Demos, S. Dagar, M. Klegerman, A. Nagaraj, D. D. McPherson, and H. Onyuksel, "In vitro targeting of acoustically reflective immunoliposomes to fibrin under various flow conditions.," *Journal of drug targeting*, vol. 5, no. 6, pp. 507–18, Jan. 1998.
- [84] A. Hamilton, M. Rabbat, P. Jain, N. Belkind, S. L. Huang, A. Nagaraj, M. Klegerman, R. Macdonald, and D. D. McPherson, "A physiologic flow chamber model to define intravascular ultrasound enhancement of fibrin using echogenic liposomes.," *Investigative radiology*, vol. 37, no. 4, pp. 215–21, Apr. 2002.
- [85] A. L. Klibanov, "Microbubble contrast agents: targeted ultrasound imaging and ultrasound-assisted drug-delivery applications.," *Investigative Radiology*, vol. 41, no. 3, pp. 354–362, 2006.
- [86] J. J. Rychak, B. Li, S. T. Acton, A. Leppänen, R. D. Cummings, K. Ley, and A. L. Klibanov, "Selectin ligands promote ultrasound contrast agent adhesion under shear flow.," *Molecular pharmaceutics*, vol. 3, no. 5, pp. 516–24, 2006.
- [87] J. J. Rychak, A. L. Klibanov, K. F. Ley, and J. A. Hossack, "Enhanced targeting of ultrasound contrast agents using acoustic radiation force.," *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 33, no. 7, pp. 1132–9, Jul. 2007.
- [88] C. S. Hall, J. N. Marsh, M. J. Scott, P. J. Gaffney, S. a Wickline, and G. M. Lanza, "Time evolution of enhanced ultrasonic reflection using a fibrin-targeted nanoparticulate contrast agent.," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 108, no. 6, pp. 3049–57, Dec. 2000.
- [89] M. Lankford, C. Z. Behm, J. Yeh, A. L. Klibanov, P. Robinson, and J. R. Lindner, "Effect of microbubble ligation to cells on ultrasound signal enhancement: implications for targeted imaging.," *Investigative radiology*, vol. 41, no. 10, pp. 721–8, Oct. 2006.
- [90] A. L. Klibanov, M. S. Hughes, J. K. Wojdyla, J. N. Marsh, C. S. Hall, J. G. Miller, J. H. Wible, and G. H. Brandenburger, "Targeting of ultrasound contrast material: selective imaging of microbubbles in vitro.," *Academic radiology*, vol. 5 Suppl 1, pp. S243–6, Apr. 1998.
- [91] J. N. Marsh, C. S. Hall, M. J. Scott, R. W. Fuhrhop, P. J. Gaffney, S. A. Wickline, and G. M. Lanza, "Improvements in the ultrasonic contrast of targeted perfluorocarbon nanoparticles using an acoustic transmission line model.," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 49, no. 1, pp. 29–38, Jan. 2002.
- [92] J. J. Rychak, A. L. Klibanov, and J. A. Hossack, "Acoustic radiation force enhances targeted delivery of ultrasound contrast microbubbles: in vitro verification.," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 52, no. 3, pp. 421–33, Mar. 2005.
- [93] F. S. Villanueva, R. J. Jankowski, C. Manaugh, and W. R. Wagner, "Albumin microbubble adherence to human coronary endothelium: implications for assessment of endothelial function using myocardial contrast echocardiography.," *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 30, no. 3, pp. 689–93, Sep. 1997.

- [94] G. E. R. Weller, F. S. Villanueva, A. L. Klibanov, and W. R. Wagner, "Modulating Targeted Adhesion of an Ultrasound Contrast Agent to Dysfunctional Endothelium," *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 30, no. 8, pp. 1012–1019, Sep. 2002.
- [95] R. S. Reneman, T. Arts, and A. P. G. Hoeks, "Wall shear stress-an important determinant of endothelial cell function and structure in the arterial system in vivo. Discrepancies with theory.," *Journal of vascular research*, vol. 43, no. 3, pp. 251–69, Jan. 2006.
- [96] S. K. Samijo, J. M. Willigers, R. Barkhuysen, P. J. Kitslaar, R. S. Reneman, P. J. Brands, and A. P. Hoeks, "Wall shear stress in the human common carotid artery as function of age and gender.," *Cardiovascular research*, vol. 39, no. 2, pp. 515–22, Aug. 1998.
- [97] S. Zhao, M. Borden, S. H. Bloch, D. Kruse, K. W. Ferrara, and P. A. Dayton, "Radiation-Force Assisted Targeting Facilitates Ultrasonic Molecular Imaging," *Molecular Imaging*, vol. 3, no. 3, pp. 135–148, 2004.
- [98] D. E. Kruse, R. H. Silverman, R. J. Fornaris, D. J. Coleman, and K. W. Ferrara, "A swept-scanning mode for estimation of blood velocity in the microvasculature.," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 45, no. 6, pp. 1437–40, Jan. 1998.
- [99] S. Zhao, D. E. Kruse, K. W. Ferrara, and P. A. Dayton, "Selective imaging of adherent targeted ultrasound contrast agents.," *Physics in medicine and biology*, vol. 52, no. 8, pp. 2055–72, Apr. 2007.
- [100] X. Hu, H. Zheng, D. E. Kruse, P. Sutcliffe, D. N. Stephens, and K. W. Ferrara, "A sensitive TLRH targeted imaging technique for ultrasonic molecular imaging.," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 57, no. 2, pp. 305–16, Jan. 2010.
- [101] J. P. Christiansen and J. R. Lindner, "Molecular and Cellular Imaging with Targeted Contrast Ultrasound," in *proceeding IEEE*, 2005, pp. 809–18.
- [102] L. Rayleigh, "On the pressure developed in a liquid during the collapse of a spherical cavity," *Phil Mag*, vol. 34, no. 200, pp. 94–98, 1917.
- [103] M. S. Plesset, "The dynamics of cavitation bubbles," *Journal of Applied Mechanics*, vol. 16, pp. 277–282, 1949.
- [104] W. Lauterborn, "Numerical investigation of nonlinear oscillations of gas bubbles in liquids," *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 59, no. 2, pp. 283–293, 1976.
- [105] J. B. Keller and M. Miksis, "Bubble oscillations of large amplitude," *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 68, no. 2, p. 628, 1980.
- [106] N. de Jong, R. Cornet, and C. T. Lancée, "Higher harmonics of vibrating gas-filled microspheres. Part one: simulations," *Ultrasonics*, vol. 32, no. 6, pp. 447–453, 1994.

- [107] C. C. Church, “The effects of an elastic solid surface layer on the radial pulsations of gas bubbles,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 97, no. 3, p. 1510, 1995.
- [108] L. Hoff, P. C. Sontum, and J. M. Hovem, “Oscillations of polymeric microbubbles: effect of the encapsulating shell,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 107, no. 4, pp. 2272–80, Apr. 2000.
- [109] K. E. Morgan, J. S. Allen, P. A. Dayton, J. E. Chomas, A. L. Klibanov, and K. W. Ferrara, “Experimental and theoretical evaluation of microbubble behavior: effect of transmitted phase and bubble size.,” *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 47, no. 6, pp. 1494–509, Jan. 2000.
- [110] A. Shima and Y. Tomina, “The behavior of a spherical bubble near a solid wall in a compressible liquid,” *Ing.-Arch.*, vol. 51, pp. 243–55, 1981.
- [111] C. Herring, *Theory of the pulsations of the gas bubble produced by an underwater explosion*. NDRC Division 6 Report C4-sr20, 1941.
- [112] R. M. Davies and G. I. Taylor, *The motion and shape of the hollow produced by an explosion in a liquid The Scientific Papers of G I Taylor III*. Scientific Papers of G I Taylor III (Cambridge: Cambridge University Press), 1943, pp. 337–53.
- [113] M. Strasberg, “The Pulsation Frequency of Nonspherical Gas Bubbles in Liquids,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 25, no. 3, p. 536, May 1953.
- [114] A. O. Maksimov, “On the volume oscillations of a tethered bubble,” *Journal of Sound and Vibration*, vol. 283, no. 3–5, pp. 915–926, May 2005.
- [115] S. D. Howkins, “Measurements of the Resonant Frequency of a Bubble near a Rigid Boundary,” *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 537, no. 1953, pp. 536–537, 1964.
- [116] E. M. B. Payne, S. J. Illesinghe, A. Ooi, and R. Manasseh, “Symmetric mode resonance of bubbles attached to a rigid boundary,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 118, no. 5, p. 2841, Nov. 2005.
- [117] M. C. Pauzin, S. Mensah, and J. P. Lefebvre, “Influence of a rigid boundary on the resonance of an ultrasound contrast agent,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 123, no. 5, pp. 3219–19, May 2008.
- [118] J. E. Blue, “Resonance of a Bubble on an Infinite Rigid Boundary,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 41, no. 2, p. 369, Feb. 1967.
- [119] A. A. Doinikov, J. F. Haac, and P. A. Dayton, “Modeling of nonlinear viscous stress in encapsulating shells of lipid-coated contrast agent microbubbles.,” *Ultrasonics*, vol. 49, no. 2, pp. 269–75, Feb. 2009.

- [120] A. A. Doinikov, L. Aired, and A. Bouakaz, "Acoustic scattering from a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness.," *Physics in medicine and biology*, vol. 56, no. 21, pp. 6951–6967, Oct. 2011.
- [121] A. A. Doinikov, L. Aired, and A. Bouakaz, "Dynamics of a Contrast Agent Microbubble Attached to an Elastic Wall.," *IEEE transactions on medical imaging*, Nov. 2011.
- [122] A. A. Doinikov, S. Zhao, and P. A. Dayton, "Modeling of the acoustic response from contrast agent microbubbles near a rigid wall.," *Ultrasonics*, vol. 49, no. 2, pp. 195–201, Mar. 2009.
- [123] A. A. Doinikov, "Translational motion of two interacting bubbles in a strong acoustic field," *Physical Review*, vol. 64, 2001.
- [124] A. Harkin, T. J. Kaper, and A. Nadim, "Coupled pulsation and translation of two gas bubbles in a liquid," *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 445, pp. 377–411, Oct. 2001.
- [125] S. Zhao, D. E. Kruse, K. W. Ferrara, and P. A. Dayton, "Acoustic response from adherent targeted contrast agents," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 120, no. 6, pp. EL63–EL69, 2006.
- [126] J. R. Blake and D. C. Gibson, "Cavitation Bubbles Near Boundaries," *Annual Review of Fluid Mechanics*, vol. 19, no. 1, pp. 99–123, Jan. 1987.
- [127] E. A. Brujan, "Dynamics of laser-induced cavitation bubbles near elastic boundaries: influence of the elastic modulus," *J.Fluid Mech*, vol. 433, pp. 283–314, 2001.
- [128] A. Pearson, J. R. Blake, and S. R. Otto, "Jets in bubbles," *Journal of Engineering Mathematics*, vol. 48, no. 3/4, pp. 391–412, Apr. 2004.
- [129] A. Pearson, E. Cox, J. R. Blake, and S. R. Otto, "Bubble interactions near a free surface," *Engineering Analysis with Boundary Elements*, vol. 28, no. 4, pp. 295–313, Apr. 2004.
- [130] R. H. Cole, *Underwater explosions*. Princeton, NJ: Princeton University Press, 1948, pp. 312–52.
- [131] S. T. Zavtrak, "Influence of boundaries on the collapse of a bubble," *Soviet physics. Acoustics*, vol. 38, no. 2, pp. 155–157, 1992.
- [132] L. M. Milne-Thomson, *Theoretical hydrodynamics*. London,UK.:Macmillan, 1962, pp. 452–92.
- [133] A. A. Doinikov, L. Aired, and A. Bouakaz, "Acoustic response from a bubble pulsating near a fluid layer of finite density and thickness," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 129, no. 2, p. 616, 2011.
- [134] J. R. Blake and D. C. Gibson, "Cavitation Bubbles Near Boundaries," *Annual Review of Fluid Mechanics*, vol. 19, no. 1, pp. 99–123, Jan. 1987.

- [135] C. E. Brennen, *Cavitation and Bubble Dynamics*. Oxford University Press, 1995, pp. 79–111.
- [136] J. R. Blake, G. S. Keen, R. P. Tong, and M. Wilson, “Acoustic cavitation: the fluid dynamics of non-spherical bubbles,” *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 357, no. 1751, pp. 251–267, Feb. 1999.
- [137] E. A. Brujan, “Dynamics of laser-induced cavitation bubbles near an elastic boundary,” *J.Fluid Mech*, vol. 433, pp. 381–384, 2001.
- [138] T. G. Leighton, *The Acoustic Bubble*. London: Academic, 1994.
- [139] S. H. Bloch, P. A. Dayton, and K. W. Ferrara, “Targeted imaging using ultrasound contrast agents. Progress and opportunities for clinical and research applications.,” *IEEE engineering in medicine and biology magazine: the quarterly magazine of the Engineering in Medicine & Biology Society*, vol. 23, no. 5, pp. 18–29, 2004.
- [140] A. L. Klibanov, “Microbubble contrast agents: targeted ultrasound imaging and ultrasound-assisted drug-delivery applications.,” *Investigative radiology*, vol. 41, no. 3, pp. 354–62, Mar. 2006.
- [141] S. J. Shaw, Y. H. Jin, T. P. Gentry, and D. C. Emmony, “Experimental observations of the interaction of a laser generated cavitation bubble with a flexible membrane,” *Physics of Fluids*, vol. 11, no. 8, p. 2437, 1999.
- [142] T. Kodama and Y. Tomita, “Cavitation bubble behavior and bubble – shock wave interaction near a gelatin surface as a study of in vivo bubble dynamics,” *Applied Physics*, vol. 70, pp. 139–149, 2000.
- [143] J. P. Best and A. Kucera, “A numerical investigation of non-spherical rebounding bubbles,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 245, no. -1, pp. 137–154, Dec. 1992.
- [144] S. Zhang, J. H. Duncan, and G. L. Chahine, “The final stage of the collapse of a cavitation bubble near a rigid wall,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 257, no. -1, pp. 147–181, Dec. 1993.
- [145] G. L. Chahine, “Cavitation dynamics at microscale level.,” *The Journal of heart valve disease*, vol. 3 Suppl 1, pp. S102–16, Apr. 1994.
- [146] K. Sato, “Numerical analysis of a gas bubble near a rigid boundary in an oscillatory pressure field,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 95, no. 5, p. 2416, May 1994.
- [147] J. H. Duncan, C. D. Milligan, and S. Zhang, “On the interaction between a bubble and a submerged compliant structure,” *Journal of Sound and Vibration*, vol. 197, pp. 17–44, 1996.
- [148] A. Shima, “Studies on bubble dynamics,” *Shock Waves*, vol. 7, no. 1, pp. 33–42, Feb. 1997.

- [149] B. Krasovitski and E. Kimmel, “Gas bubble pulsation in a semiconfined space subjected to ultrasound.,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 109, no. 3, pp. 891–8, Mar. 2001.
- [150] P. J. Harris, “An investigation into the use of the boundary integral method to model the motion of a single gas or vapour bubble in a liquid,” *Engineering Analysis with Boundary Elements*, vol. 28, no. 4, pp. 325–332, Apr. 2004.
- [151] E. A. Brujan, A. Pearson, and J. R. Blake, “Pulsating, buoyant bubbles close to a rigid boundary and near the null final Kelvin impulse state,” *International Journal of Multiphase Flow*, vol. 31, no. 3, pp. 302–317, Mar. 2005.
- [152] S. W. Fong, E. Klaseboer, C. K. Turangan, B. C. Khoo, and K. C. Hung, “Numerical analysis of a gas bubble near bio-materials in an ultrasound field.,” *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 32, no. 6, pp. 925–42, Jun. 2006.
- [153] A. M. Zhang, X. L. Yao, and L. H. Feng, “The dynamic behavior of a gas bubble near a wall,” *Ocean Engineering*, vol. 36, no. 3–4, pp. 295–305, Mar. 2009.
- [154] S. Zhang and J. H. Duncan, “On the nonspherical collapse and rebound of a cavitation bubble,” *Physics of Fluids*, vol. 6, no. 7, p. 2352, Jul. 1994.
- [155] S. Illesinghe, A. Ooi, and R. Manasseh, “Eigenmodal resonances of polydisperse bubble systems on a rigid boundary.,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 126, no. 6, pp. 2929–38, Dec. 2009.
- [156] L. Trilling, “The Collapse and Rebound of a Gas Bubble,” *Journal of Applied Physics*, vol. 23, no. 1, p. 14, 1952.
- [157] E. A. Brujan and A. Vogel, “Stress wave emission and cavitation bubble dynamics by nanosecond optical breakdown in a tissue phantom,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 558, p. 281, Jul. 2006.
- [158] S. Qin and K. W. Ferrara, “Acoustic response of compliant microvessels containing ultrasound contrast agents.,” *Physics in medicine and biology*, vol. 51, no. 20, pp. 5065–88, Oct. 2006.
- [159] S. Qin and K. W. Ferrara, “The natural frequency of nonlinear oscillation of ultrasound contrast agents in microvessels.,” *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 33, no. 7, pp. 1140–8, Jul. 2007.
- [160] S. Qin, C. F. Caskey, and K. W. Ferrara, “Ultrasound contrast microbubbles in imaging and therapy: physical principles and engineering,” *Physics in medicine and biology*, vol. 54, no. 6, pp. 1–42, 2009.
- [161] S. Martynov, E. Stride, and N. Saffari, “The natural frequencies of microbubble oscillation in elastic vessels.,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 126, no. 6, pp. 2963–72, Dec. 2009.



- [162] L. D. Landau and E. M. Lifshitz, *Fluid mechanics*. Oxford:Pergamon Press, 1987, pp. 1–43.
- [163] L. D. Landau and E. M. Lifshitz, *Theory of Elasticity (Course of Theoretical Physics, Volume 7)*. Oxford:Pergamon Press, 1986.
- [164] J. E. Chomas, P. A. Dayton, D. May, J. Allen, A. Klivanov, and K. Ferrara, “Optical observation of contrast agent destruction,” *Applied Physics Letters*, vol. 77, no. 7, pp. 1056–58, Aug. 2000.
- [165] J. Tu, J. Guan, Y. Qiu, and T. J. Matula, “Estimating the shell parameters of SonoVue microbubbles using light scattering,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 126, no. 6, pp. 2954–62, Dec. 2009.
- [166] V. Garbin, D. Cojoc, E. Ferrari, E. Di Fabrizio, M. L. J. Overvelde, S. M. van der Meer, N. de Jong, D. Lohse, and M. Versluis, “Changes in microbubble dynamics near a boundary revealed by combined optical micromanipulation and high-speed imaging,” *Applied Physics Letters*, vol. 90, no. 11, p. 114103, 2007.
- [167] J. M. Gorce, M. Arditi, and M. Schneider, “Influence of bubble size distribution on the echogenicity of ultrasound contrast agents: a study of SonoVue.,” *Investigative radiology*, vol. 35, no. 11, pp. 661–71, Nov. 2000.
- [168] D. H. Bergel, “The static elastic properties of the arterial wall.,” *The Journal of physiology*, vol. 156, no. 3, pp. 445–57, May 1961.
- [169] W. R. Milnor and C. D. Bertram, “The relation between arterial viscoelasticity and wave propagation in the canine femoral artery in vivo.,” *Circulation research*, vol. 43, no. 6, pp. 870–9, Dec. 1978.
- [170] T. E. Carew, R. N. Vaishnav, and D. J. Patel, “Compressibility of the arterial wall.,” *Circulation research*, vol. 23, no. 1, pp. 61–8, Jul. 1968.
- [171] V. Pattabhi and N. Gautham, “Biophysics,” New York:: Kluwer Academic Publishers, 2002, p. 205.
- [172] D. H. Bergel, “The dynamic elastic properties of the arterial wall.,” *The Journal of physiology*, vol. 156, no. 3, pp. 458–69, May 1961.
- [173] E. Hrnčíř and J. Rosina, “Surface tension of blood.,” *Physiological research*, vol. 46, no. 4, pp. 319–21, Jan. 1997.
- [174] T. D. Mast, “Empirical relationships between acoustic parameters in human soft tissues,” *Acoustics Research Letters Online*, vol. 1, no. 2, p. 37, Nov. 2000.
- [175] S. Zhao, K. W. Ferrara, and P. A. Dayton, “Asymmetric oscillation of adherent targeted ultrasound contrast agents.,” *Applied Physics Letters*, vol. 87, no. August, p. nihms8459, Sep. 2005.

- [176] A. A. Doinikov, L. Aired, and A. Bouakaz, "Modeling and experiments on the far-field scattering of a bubble pulsating near a wall with finite density and thickness," in *IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings*, 2010, no. medium 1, pp. 1133–1136.
- [177] L. Aired, A. A. Doinikov, and A. Bouakaz, "Effect of an elastic wall on the dynamics of an encapsulated microbubble: A simulation study.," *Ultrasonics*, Mar. 2012.
- [178] V. Garbin, E. Ferrari, D. Cojoc, E. D. Fabrizio, M. Overvelde, S. M. van der Meer, M. Versluis, N. de Jong, and D. Lohse, "Optical trapping of ultrasound contrast agent microbubbles: study of the bubble-wall and bubble-bubble interaction in ultrasound," in *IEEE International Ultrasonics Symposium*, 2006, pp. 513–516.
- [179] M. Bechel, G. Noble, R. Ratliff, and R. T. Hart, "Fluid-Structure Interaction in a Network of blood Vessels," 2009. [Online]. Available: <http://www.comsol.com/showroom/gallery/660/>.
- [180] P. A. Dayton, K. E. Morgan, A. L. Klibanov, G. H. Brandenburger, and K. W. Ferrara, "Optical and acoustical observations of the effects of ultrasound on contrast agents.," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 46, no. 1, pp. 220–32, Jan. 1999.
- [181] A. O. Maksimov, "Symmetry in bubble dynamics," *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, vol. 9, no. 1, pp. 83–92, Feb. 2004.
- [182] A. A. Doinikov, L. Aired, and A. Bouakaz, "Dynamics of a contrast agent microbubble attached to an elastic wall," *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 32, pp. 654–62, 2012.
- [183] K. Sarkar, W. T. Shi, D. Chatterjee, and F. Forsberg, "Characterization of ultrasound contrast microbubbles using in vitro experiments and viscous and viscoelastic interface models for encapsulation," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 118, no. 1, p. 539, 2005.
- [184] K. Tsiglifis and N. A. Pelekasis, "Nonlinear radial oscillations of encapsulated microbubbles subject to ultrasound: the effect of membrane constitutive law.," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 123, no. 6, pp. 4059–70, Jun. 2008.
- [185] A. A. Doinikov and P. A. Dayton, "Maxwell rheological model for lipid-shelled ultrasound microbubble contrast agents.," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 121, no. 6, pp. 3331–40, Jun. 2007.
- [186] S. Paul, A. Katiyar, K. Sarkar, D. Chatterjee, W. T. Shi, and F. Forsberg, "Material characterization of the encapsulation of an ultrasound contrast microbubble and its subharmonic response: strain-softening interfacial elasticity model.," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 127, no. 6, pp. 3846–57, Jun. 2010.
- [187] S. Qin and K. W. Ferrara, "A model for the dynamics of ultrasound contrast agents in vivo.," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 128, no. 3, pp. 1511–21, Sep. 2010.

- [188] R. Manasseh and A. Ooi, “Frequencies of acoustically interacting bubbles,” *bubble Sci.Eng and Technol*, vol. 1, no. 1–2, pp. 58–74, 2009.
- [189] D. A. Varshalovich, A. N. Moskalev, and V. K. Khersonskii, *Quantum theory of angular momentum*. Teaneck,NJ:World Scientific, 1988.
- [190] L. D. Landau and E. M. Lifshitz, *Theory of elasticity*. London: Oxford U.K:Pergamon Press, 1970, pp. 101–104.
- [191] M. Abramowitz and I. A. Stegun, *Handbook of Mathematical Functions*, vol. 55, no. June 1964. New York: Dover, 1972, p. 1046.
- [192] R. Mettin, I. Akhatov, U. Parlitz, C. Ohl, and W. Lauterborn, “Bjerknes forces between small cavitation bubbles in a strong acoustic field,” *Physical Review E*, vol. 56, no. 3, pp. 2924–2931, Sep. 1997.
- [193] A. A. Doinikov and A. Bouakaz, “Dynamics of a contrast agent microbubble between two elastic walls,” in *IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings*, 2012.
- [194] V. T. Moy, E. L. Florin, and H. E. Gaub, “Intermolecular Forces and Energies Between Ligands and Receptors,” *science*, vol. 266, no. 8, pp. 257–59, 1994.
- [195] O. Couture, S. Bannouf, G. Montaldo, J. F. Aubry, M. Fink, and M. Tanter, “Ultrafast imaging of ultrasound contrast agents.,” *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 35, no. 11, pp. 1908–16, Nov. 2009.
- [196] W. T. Shi and F. Forsberg, “Ultrasonic characterization of the nonlinear properties of contrast microbubbles,” *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 26, no. 1, pp. 93–104, 1999.
- [197] T. Faez, I. Skachkov, M. Versluis, K. Kooiman, and N. de Jong, “In vivo characterization of ultrasound contrast agents: microbubble spectroscopy in a chicken embryo.,” *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 38, no. 9, pp. 1608–17, Sep. 2012.
- [198] T. Sugiura, K. Kooiman, M. Emmer, H. J. Vos, A. van Wamel, and N. de Jong, “Evaluation of the Binding Force between a Biotinylated Microbubble and a Streptavidin-coated Surface by Ultrasound Radiation,” *IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings*, pp. 1266–1269, 2009.
- [199] K. Chetty, E. Stride, C. A. Sennoga, J. V Hajnal, and R. J. Eckersley, “High-speed optical observations and simulation results of SonoVue microbubbles at low-pressure insonation.,” *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 55, no. 6, pp. 1333–42, Jan. 2008.
- [200] C. T. Chin, C. Lancée, J. Borsboom, F. Mastik, M. E. Frijlink, N. de Jong, M. Versluis, and D. Lohse, “Brandaris 128: A digital 25 million frames per second camera with 128 highly sensitive frames,” *Review of Scientific Instruments*, vol. 74, no. 12, pp. 5026–34, 2003.

## Annexes



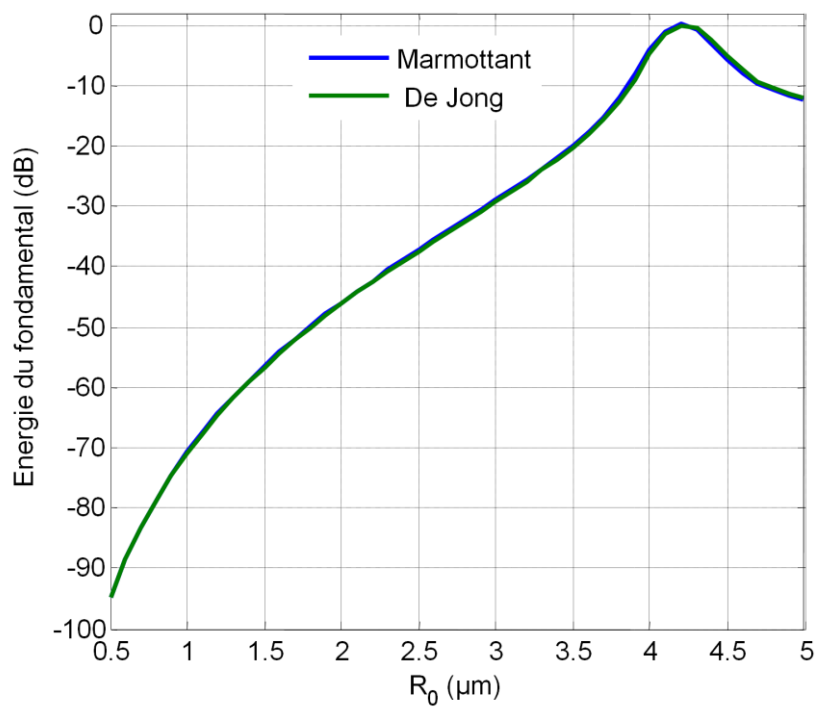


Figure 1: Energie de l'écho rétrodiffusé en fonction de la taille des bulles, pression 1 kPa (-) Modèle de Marmottant (-) Modèle de de Jong

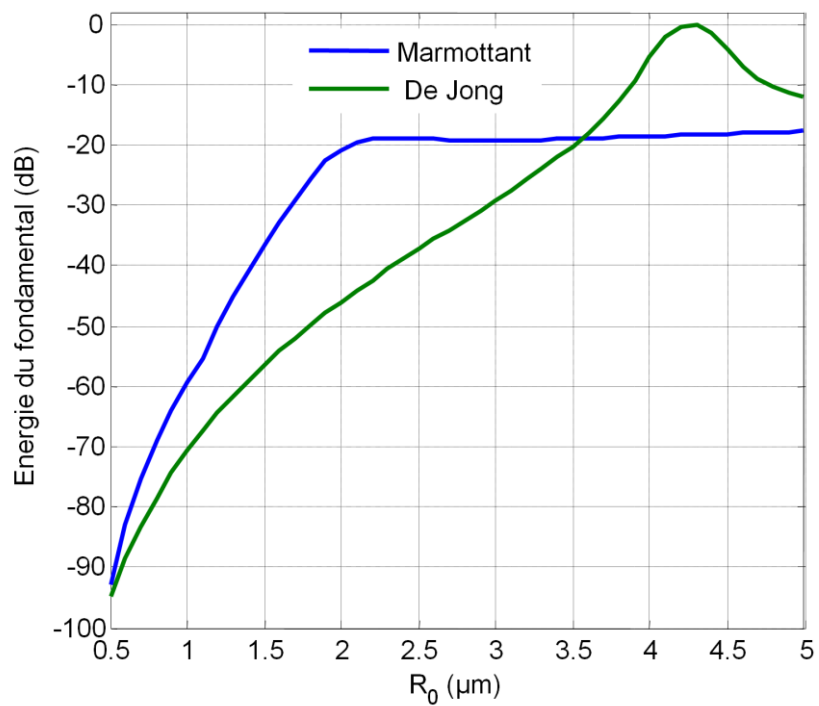


Figure 2: Energie de l'écho rétrodiffusé en fonction de la taille des bulles, pression 100 kPa (-) Modèle de Marmottant (-) Modèle de de Jong



# Les propriétés rhéologiques des microbulles d'agents de contraste à parois lipidiques

## 1.Introduction

Les paramètres physiques décrivant les propriétés élastiques et visqueuses de la paroi lipidique des microbulles de contraste sont intégrés aux modèles théoriques représentant ces microbulles. Pour évaluer ces paramètres, des courbes théoriques de variation du rayon sont comparées aux courbes de rayons obtenues expérimentalement. Les résultats de cette comparaison montrent que l'élasticité et la viscosité de la paroi dépendent du rayon initial de la bulle, elles augmentent avec l'augmentation du rayon [35], [109], [119], [165], [199].

Il est connu que l'épaisseur de la paroi est indépendante du rayon, elle est identique pour toutes les tailles de bulles. Cela signifie que l'observation sur la dépendance des propriétés de la paroi du rayon initial de la bulle ne peut être causée par une épaisseur variable de la paroi. L'hypothèse posée par Van der Meer et al [35] sur la dépendance de la viscosité de la paroi du rayon initial de la bulle était une conséquence de la dépendance de la viscosité de la paroi de la contrainte de cisaillement. Les auteurs ont constaté que la viscosité de la coque diminue avec l'augmentation de la contrainte de cisaillement. Ce résultat suggère que la paroi lipidique peut posséder des propriétés d'un matériau rhéofluidifiant «shear-thinning». Doinikov et al [119] a mené une étude semblable, où l'élasticité de la paroi en fonction de la déformation de la bulle a été tracée. Les auteurs ont montré que l'élasticité de la paroi diminue lorsque la déformation augmente. Cette constatation suggère qu'en plus des propriétés de fluidification, la paroi lipidique peut aussi avoir des propriétés d'un matériau à ramollissement de déformation «train-softening». Toutefois, d'autres explications de la dépendance de la viscosité et de l'élasticité de la paroi du rayon initial de la bulle sont également envisageables. Par exemple, bien que l'épaisseur de la paroi est considérée être identique pour toutes les



tailles de bulles, d'autres caractéristiques de la composition de la paroi, tels que la densité de surface peut encore être dépendante du rayon de la bulle.

La description théorique des caractéristiques rhéologiques du matériau de la paroi est d'une grande importance, c'est la paroi qui détermine en majorité les propriétés fonctionnelles des microbulles d'agents de contraste. Par conséquent, il est très important d'identifier l'origine du comportement observé sur les propriétés du matériau de la paroi lipidique : si elles dépendent de la résistance à la déformation et du taux de cisaillement de la paroi, ou une conséquence des effets liés à la composition de la paroi, tels que les défauts de surface. Dans cette étude, une tentative est réalisée pour éclaircir ces points.

## 2. Résultats

La résistance à la déformation et le taux de cisaillement d'une paroi est connue pour sa variation avec le rayon initial d'une bulle encapsulée. Ils varient aussi avec l'amplitude de la pression d'excitation. Ce fait peut être exploité afin d'éliminer les effets liés au matériau de la paroi. Notamment, nous avons excité la même bulle avec différentes pressions, tracer les courbes de rayon et les ajuster aux courbes expérimentales, afin d'évaluer les propriétés de la paroi à différentes pressions et donc à différentes valeurs de déformation et de taux de cisaillement. Les courbes expérimentales de rayons ont été acquises pour un agent de contraste phospholipidique (SonoVue ®). Les microbulles ont été insonifiées avec une onde acoustique de 6 cycles, une fréquence centrale de 1,7 MHz, à différentes amplitudes de pressions acoustiques: 25, 40, 55, 70, et 80 kPa. Les courbes temporelles de rayons ont été enregistrées à l'aide d'un système de caméra ultra rapide [200]. Les courbes théoriques de rayons ont été simulées à l'aide du modèle développé par Marmottant [46]. La variation du rayon de la bulle est calculée par :

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{1}{\rho_L} \left[ P_0 \left( \frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} \left( 1 - \frac{3\kappa\dot{R}}{c} \right) - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - 4\kappa_S \frac{\dot{R}}{R^2} - \frac{2\sigma(R)}{R} - P_0 - P_{ac}(t) \right] \quad (1)$$

Où  $R$  est le rayon instantané de la bulle,  $\dot{R}$  est la dérivée temporelle,  $\rho_L$  est la densité du liquide ambiant,  $R_0$  est le rayon de la bulle au repos,  $\kappa$  est le coefficient polytropique du gaz,  $c$  est la vitesse du son dans le liquide,  $\eta$  est la viscosité du liquide,  $P_0$  est la pression hydrostatique dans le liquide,  $P_{ac}(t)$  est la pression de l'onde acoustique transmise,  $\kappa_S$  est la viscosité de la paroi,  $\sigma(R)$  est la tension de surface définie par :

$$\sigma(R) = \begin{cases} 0 & \text{si } R \leq R_{flambage} \\ \chi \left( R^2 / R_{flambage}^2 - 1 \right) & \text{si } R_{flambage} \leq R \leq R_{cassure} \\ \sigma_w & \text{si rupture et } R \geq R_{rupture} \end{cases} \quad (2)$$

$R_{flambage}$  est la limite du rayon de la bulle au-dessous du quel la paroi est soumise à un

flambage,  $\chi$  est le module d'élasticité de la paroi,  $R_{cassure}$  est la limite du rayon avant la rupture de la paroi,  $R_{rupture}$  est la limite du rayon après la rupture de la paroi, et  $\sigma_w$  est la tension de surface du liquide environnant. Les rayons limites sont calculés par :

$$R_{cassure} = R_{flambage} (1 + \sigma_{cassure} / \chi)^{1/2} \quad (3)$$

$$R_{rupture} = R_{flambage} (1 + \sigma_w / \chi)^{1/2} \quad (4)$$

Où  $\sigma_{cassure}$  décrit le moment de rupture de la paroi et appelée la tension critique de rupture.

Les propriétés du milieu utilisés dans ces simulations sont les suivants:  $\rho_l=1000$  kg/m<sup>3</sup>,  $P_0=101.3$  kPa,  $\kappa =1.095$  ;  $c=1480$  m/s,  $\eta=0.001$ Pa.s,  $\sigma_w = 0.072$  N/m. Les paramètres élastiques de la paroi sont ceux définis par [46]  $R_{flambage} = R_0$  et  $\sigma_{cassure} = 1$  N/m.

Le but de nos simulations est d'obtenir par ajustement de courbes théoriques de rayons aux courbes expérimentales des valeurs d'élasticités et de viscosités de la paroi à différentes pressions d'excitations.

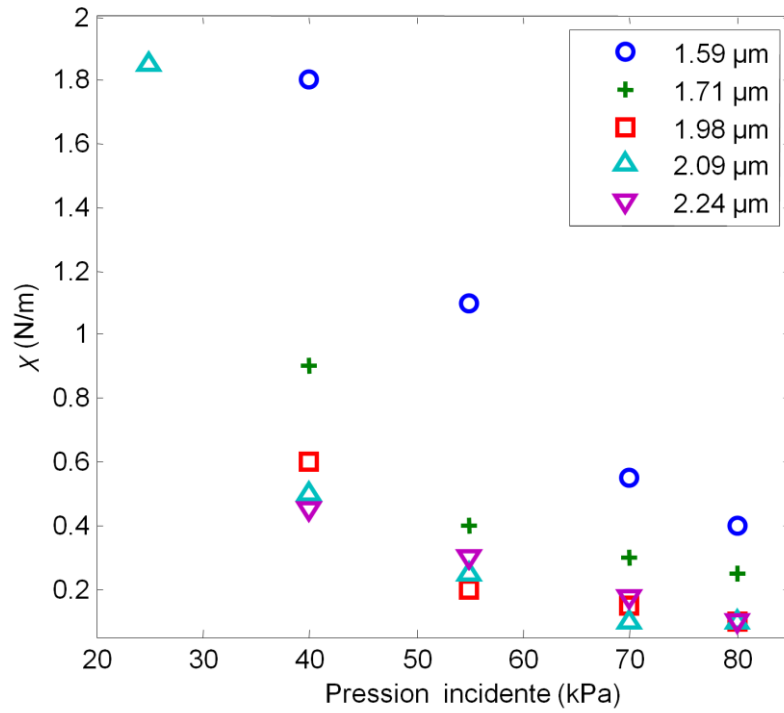


Figure 1 *Le meilleur ajustement des valeurs du module d'élasticité en fonction de l'amplitude de la pression d'excitation pour différents tailles de microbulles de SonoVue<sup>®</sup>. Les bulles ont été insonifiées avec 6 cycles, 1,7 MHz. Chaque point représente la meilleure solution pour la courbe expérimentale du rayon*

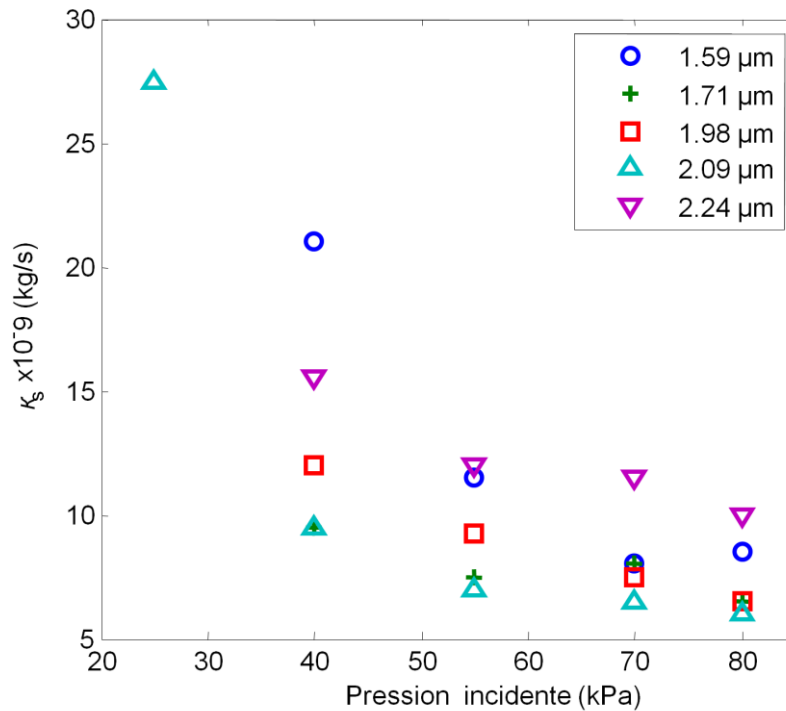


Figure 2 Le meilleur ajustement des valeurs du module de viscosité en fonction de l'amplitude de la pression d'excitation pour différents tailles de microbulles de SonoVue®. Les bulles ont été insonifiées avec 6 cycles, 1,7 MHz. Chaque point représente la meilleure solution pour la courbe expérimentale du rayon

Les courbes expérimentales de rayons de cinq bulles ont été choisies. Les rayons initiaux des bulles sont 1,59, 1,71, 1,98, 2,09, et 2,24  $\mu\text{m}$ . Les valeurs du meilleur ajustement de  $\chi$  et  $\kappa_s$  en fonction de la pression acoustique pour chacune des bulles sont représentées respectivement dans les figures 1 et 2. Les valeurs de  $\chi$  ont ensuite été tracées en fonction de la déformation des bulles. Le résultat est illustré dans la figure 3. Pour la mesure de la déformation  $(R_{\max} - R_0)/R_0$ ,  $R_{\max}$  a été estimé directement à partir des courbes expérimentales de rayons. Les valeurs de  $\kappa_s$  ont été tracées en fonction du taux de cisaillement maximal. Le résultat est représenté dans la figure 4.

Par définition, le taux de cisaillement est le gradient de vitesse, et dans le cas d'une bulle sphérique encapsulée, il est proportionnel à  $\dot{R}/R$  [35]. Le taux de cisaillement maximal a été estimé directement à partir des courbes expérimentales en calculant la valeur maximale de la quantité  $\left| \dot{R}/R \right|$ .

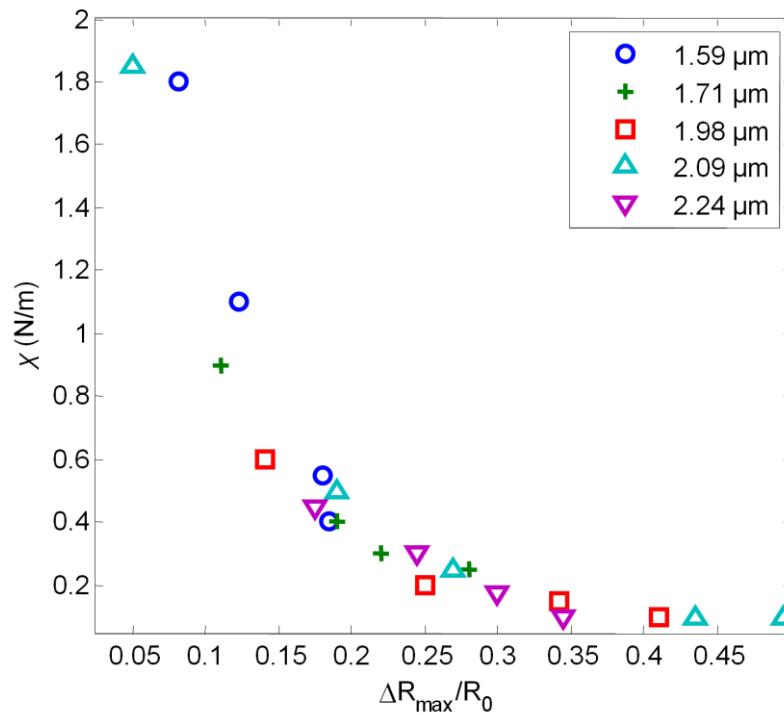


Figure 3 Le module d'élasticité en fonction de la déformation de microbulles de différents rayons

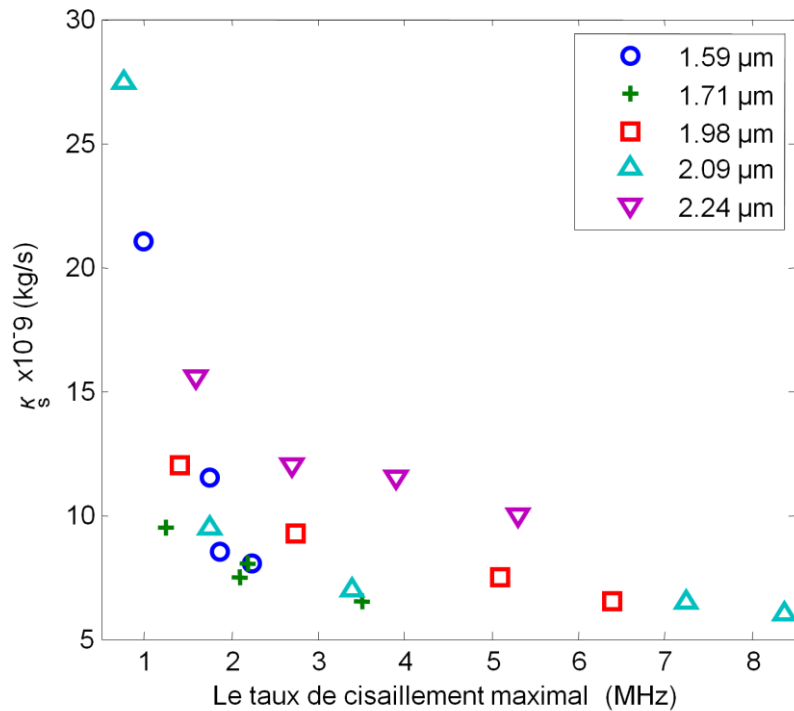


Figure 4 *Le module de viscosité en fonction du taux de cisaillement maximal de différents rayons de microbulles*

On constate dans la figure 3, une nette diminution de l'élasticité de la paroi en fonction de la déformation pour toutes les tailles de bulles. Cela signifie que la paroi lipidique possède des propriétés d'un matériau à ramollissement de déformation. Cependant, cette conclusion n'écarte pas que le matériau de la paroi lipidique puisse être dépendant de la taille des bulles. Ce résultat suggère indirectement que l'effet de la composition de la paroi, si il existe, n'est pas significatif, au moins dans notre cas. Une conclusion similaire peut également être faite sur le comportement de la viscosité de la paroi. La figure 4 montre que la viscosité de paroi pour l'ensemble des bulles diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement. La paroi lipidique présente clairement les propriétés d'un matériau rhéofluidifiant, indépendamment si oui ou non il existe des différences dans la composition de la paroi des microbulles de différentes tailles.

### **3. Conclusion**

L'ajustement des courbes théoriques de rayon aux données expérimentales pour des microbulles de contraste à paroi lipidique, montre la dépendance des paramètres élastiques et visqueux de la paroi du rayon initial de la bulle.

Dans la présente étude, une tentative a été réalisée pour élucider la raison de cette dépendance. Déterminer si cette dépendance est une conséquence des propriétés rhéologiques non linéaires des lipides de la paroi, tels que le ramollissement et la fluidification, ou se produit en raison des différences dans la composition de la paroi des microbulles de différentes tailles. Pour écarter ce dernier facteur, l'ajustement a été effectué avec des courbes expérimentales de rayons acquises pour les mêmes tailles de bulles avec différentes amplitudes de pressions d'excitations. L'exposition de la même bulle à différentes pressions, peut déterminer le comportement des propriétés de la paroi lipidique aux variations de déformation et aux taux de cisaillement, ce qui permet d'éliminer un éventuel effet de la composition de la paroi. Il a été démontré par ces résultats pour les bulles de différentes tailles que l'élasticité de la paroi diminue avec la déformation et que la viscosité diminue avec le taux de cisaillement. Ces résultats suggèrent que la paroi lipidique possède en effet des propriétés d'un matériau à la fois de ramollissement et rhéofluidifiant, indépendamment de si oui ou non il existe des différences dans la composition de la paroi lipidique des microbulles de différentes tailles. Ainsi, il existe une bonne raison de croire que les modèles décrivant des microbulles d'agent de contraste à paroi lipide pourrait être améliorés en introduisant les effets de ramollissements et de rhéofluidifiants.





## Phantôme d'agents de contraste ciblés

### 1. Préparation d'une gélatine biotinylée

La gélatine est préparée avec une concentration de 10% de gélatine de porc (type A 300 Sigma Aldrich), en faisant bouillir de l'eau pendant 1 min, celle-ci est versée sur la gélatine. Une fois la gélatine refroidie, 1% de biotine (Sigma Aldrich, France) est incorporée à la mixture [195].

### 2. Attacher des bulles ciblées sur une chambre d'OptiCell

Des chambres d'OptiCell (Fisher Scientific ) ont été choisies pour représenter un vaisseau sanguin avec un flux. Chaque membrane fait une surface de  $50 \text{ cm}^2$ , 2 mm distance les deux membranes de l'OptiCell. Ainsi, une des deux membranes sert de support à la gélatine chargée en biotine.

Dans notre cas, pour les besoins de l'expérience, afin d'avoir  $500 \mu\text{m}$  d'épaisseur de gélatine, un volume de 2.5 ml de gélatine est injecté dans la chambre sur une des deux parois. Une fois la gélatine fixée, un volume de  $50 \mu\text{l}$  de BG7725 est déposé sur la gélatine formant une goutte de 12 mm de diamètre.

Afin que le processus d'adhérence des microbulles opère et crée des liaisons streptavidine-biotine, il est indispensable de respecter un temps d'attente de 15 mn [195].

### 3. Rinçage des microbulles

Le rinçage est une étape importante pour éliminer les microbulles qui n'adhèrent pas à la gélatine. On injecte 10 ml de PBS (Phosphate Buffer Solution, Gibco-Invitrogen, Carlsbad, CA) dans la chambre, ce rinçage est répété quatre à cinq fois. Après les rinçages, 20ml de PBS est injecté dans la chambre.

#### 4. Microscopie

Des images des microbulles attachées ou non ont été acquises avec un microscope inversé (EVOS-*fl* AMG, Bothell, WA). La figure 1 représente des microbulles attachées sur une surface de gélatine biotinyllée et un contrôle de microbulles non attachées sur une surface de gélatine non biotinyllée.

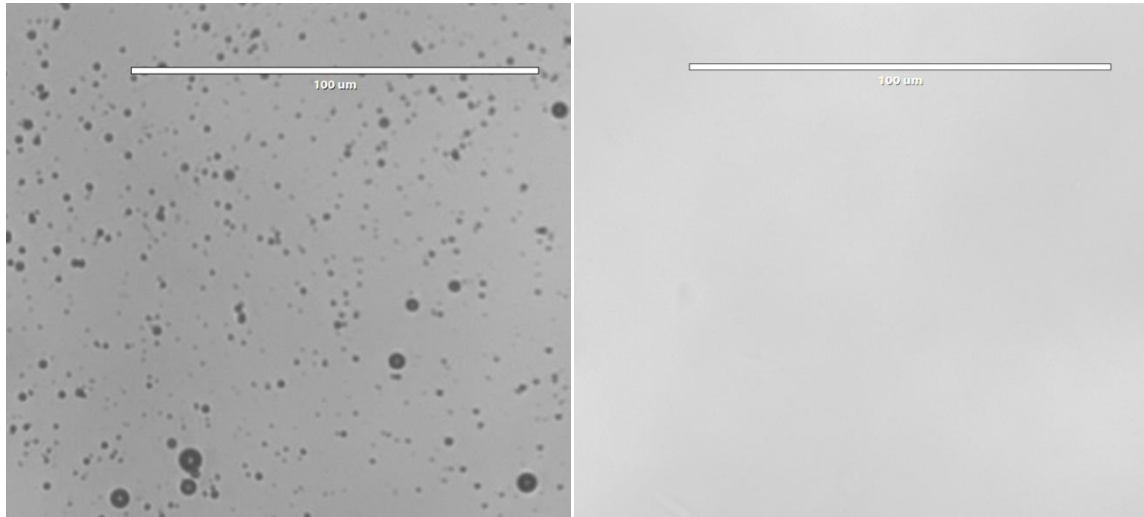


Figure 1 *Image de microbulles attachées sur une gélatine biotinyllée et le contrôle (gélatine non biotinyllée)*

#### 5. Dispositif expérimental

La chambre d'OptiCell est immergée dans une cuve contenant de l'eau, la chambre est inclinée de façon à réduire les réflexions en provenance des parois et de la gélatine. Des images sont réalisées à l'aide d'une sonde linéaire PZT (128 éléments), centrée à 4,5 MHz, connectée sur la plateforme ouverte Multi X (M2M, Les Ulis, France). Le dispositif expérimental est présenté dans la figure 2. Un signal d'excitation d'une fréquence 5MHz, 5 cycles est transmis. La tension d'excitation est de 20 V<sub>pp</sub> correspondant à une pression acoustique de 450 kPa (IM = 0,2).

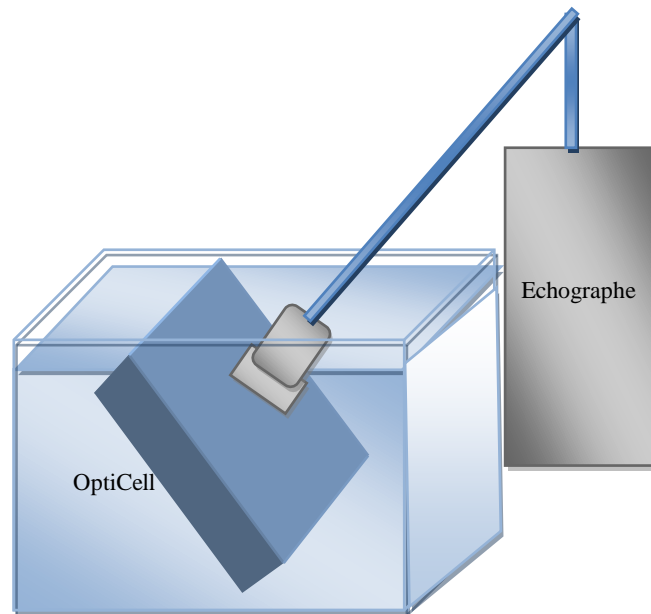


Figure 2 *Dispositif expérimental d'un fantôme*

## 6. Images échographiques

La figure 3 représente l'image échographique réalisée sur les microbulles attachées à la paroi de la chambre d'OptiCell. Le carré rouge délimite la surface sur laquelle les microbulles sont attachées.

Les difficultés que nous avons rencontrées dans cette expérience est le détachement des bulles de la gélatine dès que le signal d'excitation est transmis.

En perspectives notre technique pour attacher les microbulles peut être améliorée en remplaçant la gélatine biotinylée par de la NeutrAvidin et utiliser d'autres microbulles ciblées de plus grandes tailles, les BR55, pour augmenter le taux d'adhérence des microbulles (la force de liaison entre les microbulles et la surface d'adhérence s'accroît avec la taille des microbulles [198]).

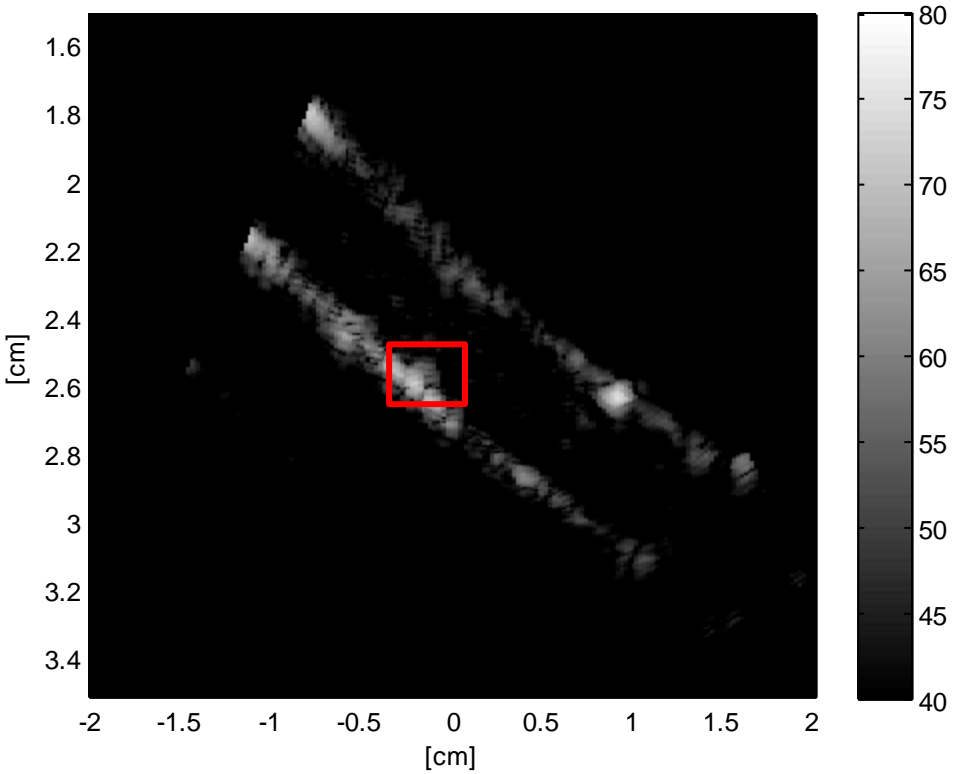


Figure 3 *Image de microbulles BG7725 attachées à la gélatine dans un fantôme*









# **Caractérisations théoriques et expérimentales d'agents de contraste ultrasonore ciblés**



**Résumé :** Depuis leur introduction, les agents de contraste ont révolutionné l'imagerie échographique. Ils sont composés de microbulles gazeuses, qui injectés par voie intraveineuse dans le sang, ils améliorent l'image échographique. Une autre application pour laquelle les caractéristiques physiques des agents de contraste sont exploitées est l'imagerie ciblée. Une approche basée sur l'utilisation de ligands intégrés à la paroi des microbulles, ces microbulles adhèrent aux facteurs de surfaces cellulaires surexprimés par les cellules endothéliales qui tapissent la paroi interne des vaisseaux sanguins. Pour pouvoir distinguer ces microbulles de celles qui circulent librement, elles doivent réfléchir un signal acoustique suffisamment intense. Cependant, le faible taux d'adhérence des microbulles engendre une réduction du signal acoustique. Pour résoudre ce problème, il est important de déterminer l'effet des parois sur leurs dynamiques acoustiques. Dans cette thèse, nous avons étudié l'effet des parois élastiques sur le comportement dynamique des microbulles constituant les agents de contraste. Dans un premier temps, un modèle théorique représentant une paroi avec une épaisseur finie a été développé. Il a été démontré que l'amplitude de l'écho rétrodiffusé par une microbulle proche d'une paroi avec une épaisseur finie est inférieure à celui d'une microbulle se trouvant dans un fluide infini. D'autres parts, pour représenter la paroi d'un vaisseau sanguin, les propriétés mécaniques de la paroi élastique ont été intégrées au modèle. Il a été observé que la fréquence de résonance d'une microbulle proche d'une paroi est supérieure à celle dans un fluide infini. Par la suite, nous avons étudié l'effet de trois types de parois sur le comportement d'une microbulle parmi lesquelles la paroi d'OptiCell communément utilisée en expérimentations ultrasonores. Les résultats ont montré que la microbulle proche de la paroi d'OptiCell diffuse un écho supérieur à celui de la microbulle éloignée de la paroi, lorsque la fréquence d'excitation est au-dessus de sa fréquence de résonance. Nous avons constaté aussi que les petites bulles sont plus sensibles à la proximité de la paroi. Par la suite, nous avons développé un modèle décrivant une microbulle attachée à une paroi élastique. Nous avons montré que le contact direct de la bulle avec la paroi induit une diminution de l'écho par rapport à la même bulle dans un liquide infini. Le contact direct de la bulle avec la paroi engendre une augmentation de la fréquence de résonance par rapport à une bulle sans contact direct. Enfin, une étude expérimentale a montré l'avantage de l'imagerie sous-harmonique pour différencier les microbulles attachées des microbulles libres.

Mots clés: Agent de contraste ; Ultrasons; Microbulle; Imagerie ciblée; Paroi élastique; Sous-harmonique.

**Abstract:** Since they were introduced, contrast agents have revolutionized the ultrasound imaging. They are composed of tiny gaseous microbubbles and when injected intravenously into the blood, they improve the ultrasound image. Targeted imaging is another application based on the physical characteristics of contrast agents. This approach is based on the ligands incorporation into the microbubbles shell. The microbubble attach to the molecular factors overexpressed by endothelial cells, covering the inner wall of blood vessels. To distinguish these microbubbles from those freely circulating, attached microbubble have to produce an acoustic signal that is sufficiently strong. However, the low microbubbles adhesion induces a decrease of the acoustic signal. To make it possible, it is important to determine the effect of the elastic wall on their acoustic response. This thesis aimed to study the effect of elastic walls on the ultrasonic behavior of targeted microbubbles. First, a theoretical model describing a wall with finite thickness was developed. It has been shown that the scattered echo amplitude by a microbubble near a wall with finite thickness is small in comparison to the echo from a microbubble located in an infinite fluid. Furthermore, and in order to account for the effect of blood vessel wall, the mechanical properties of the wall have been incorporated into the model. The results showed that the resonane frequency of a microbubble near the wall is higher than the resonanace of the same microbubble in an infinite medium. Subsequently, we studied the effect of three types of walls on the microbubble behavior including the wall of OptiCell chamber which is commonly used in ultrasonic experiments. We have shown that microbubbles near the OptiCell wall diffuses a higher echo than those far from the wall when the excitation frequency is above the microbubble resonance frequency. On the other side, we observed that small microbubbles to the presence of the wall. Afterward, we developed a model describing a microbubble attached to the wall. We have shown that the microbubble in direct contact with the wall induces a decrease of the echo amplitude compared to the same bubble in infinite liquid. Moreover, the direct contact of the bubble with the wall generates an increase of the resonance frequency relative to a bubble without direct contact. Finally, an experimental study has shown the advantage of the subharmonic imaging to differentiate attached microbubbles from the free ones.

Keywords: Contrast agent; Ultrasound; Microbubble; Targeted imaging; Elastic wall; Subharmonic.