

Université de Montréal

**CARACTÉRISATION DES AGRÉGATS
ÉRYTHROCYTAIRES PAR ULTRASONS : ÉTUDE
STATISTIQUE DU SIGNAL RÉTRODIFFUSÉ.**

Par

Michel Daronat

Institut de Génie Biomédical

Faculté de médecine

**Mémoire présenté à la faculté des études supérieures en vue de
l'obtention du grade de Maître en Génie Biomédical**

Décembre 2001

© Daronat Michel, 2001



W

4

U58

2002

v.037

5/10

Faculté de Médecine

Ce mémoire intitulé :

**CARACTÉRISATION DES AGRÉGATS
ÉRYTHROCYTAIRES PAR ULTRASONS : ÉTUDE
STATISTIQUE DU SIGNAL RÉTRODIFFUSÉ.**

Présenté par :

Michel DARONAT

A été évalué par le Jury composé des personnes suivantes :

M. Louis Gilles Durand, Ing., Ph.D., président.

M. Guy Cloutier, Ing., Ph.D., membre et directeur de recherche.

M. Gilles Beaudoin , Ph.D., membre.

Résumé

Ce mémoire de maîtrise présente une étude qui vise à caractériser l'agrégation érythrocytaire par l'analyse statistique du signal rétrodiffusé. Les méthodologies utilisées font appel à des modèles de simulation et des expérimentations sur une structure d'essai. Les paramètres statistiques évalués sont le coefficient d'aplatissement et le paramètre de Nakagami. La puissance ultrasonore rétrodiffusée a également été mesurée. Les résultats statistiques provenant des simulations nous indiquent une bonne sensibilité au phénomène d'agrégation. Les expériences in vitro confirment cette analyse et démontrent que le coefficient d'aplatissement et le paramètre de Nakagami sont des indicateurs statistiques très sensibles aux variations de taille des diffuseurs dans le milieu étudié. Cette sensibilité est d'autant plus grande que la fréquence d'insonification est importante. L'analyse statistique semble donc être une alternative intéressante au manque de sensibilité de la puissance rétrodiffusée à hautes fréquences. Ces paramètres pourraient donc être considérés lors de la réalisation de dispositifs de mesure de l'agrégation érythrocytaire chez les patients, de manière non invasive, par la technique ultrasonore.

Mots clés : ultrasons, agrégation érythrocytaire, statistique, rétrodiffusion.

Abstract

This dissertation presents a study aiming at evaluating the phenomenon of red blood cell aggregation by the statistical analysis of the ultrasound backscattered signal. The methodologies used rely on simulation models and experiments on test bench. The statistical parameters that were evaluated are the kurtosis coefficient and the Nakagami parameter. The ultrasound backscattered power was also measured. The statistical results of simulation indicated a good sensitivity to the phenomenon of aggregation. The in vitro experiments confirmed this analysis and showed that the kurtosis coefficient and the Nakagami parameter are statistical indicators with good sensitivity to the variations of the size of the diffusers in the medium studied. This sensitivity is larger when the frequency of insonification is raised. The statistical analysis thus seems to be an interesting alternative to the lack of sensitivity of the backscattered power at high frequencies. These statistical parameters could thus be considered to realize noninvasive measuring devices of erythrocyte aggregation in patients by ultrasonic means.

Key words: ultrasound, red blood cell aggregation, statistics, backscattering.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xvi
Liste des symboles	xvii
Remerciements	xxiii
Introduction	1
Chapitre I. Les techniques ultrasonores et le sang	3
1. <i>Ultrasons : généralités</i>	3
1.1. Les ultrasons	4
1.2. Génération des ultrasons	5
1.3. Caractéristique de l'onde ultrasonore provenant d'un cristal piézo-électrique	6
1.4. Transmission, réflexion et diffusion des ultrasons	10
1.5. La résolution spatiale	16
2. <i>Le sang : caractéristiques mécaniques et agrégation érythrocytaire</i>	22
2.1. Le sang et l'agrégation érythrocytaire : définitions	22
2.2. Principe d'agrégation érythrocytaire	24
2.3. Caractéristiques mécaniques du sang et agrégation érythrocytaire	28

2.4.	Facteurs physiologiques et pathologiques influençant l'agrégation érythrocytaire	32
2.5.	Autres paramètres influençant l'agrégation érythrocytaire	33
3.	<i>Applications des ultrasons aux mesures sanguines</i>	35
3.1.	Mesure des flux sanguins	35
3.2.	Caractérisation du sang	38
	a. Théorie de propagation de l'onde acoustique	38
	b. Puissance du signal rétrodiffusé par le sang	40
	c. Études statistiques du signal rétrodiffusé par le sang	43
4.	<i>Objectif et hypothèses</i>	52
	Chapitre II. Simulations numériques	54
1.	<i>Méthode</i>	54
1.1.	Principe de construction du signal rétrodiffusé	54
1.2.	Principe de construction de la PSF	58
1.3.	Principe de construction du milieu insonifié	61
	a. Méthode générale de construction des tissus	62
	b. Choix de la représentation numérique des diffuseurs	64
1.4.	Tissus simulés	68
	a. Distribution de diffuseurs unitaires à hémocrite variable	68
	b. Distribution ordonnée de diffuseurs unitaires	69
	c. Distribution de diffuseurs de différentes tailles à hémocrite de 40 %	70
1.5.	Paramètres statistiques et contexte de l'étude	72
2.	<i>Résultats</i>	74
2.1.	Tissus à hémocrite variable	74
2.2.	Tissus avec distribution ordonnée de diffuseurs de taille unitaire	77
2.3.	Tissus à diffuseurs de taille variable	80
3.	<i>Discussion</i>	87

3.1.	Tissus à hématoците variable	87
3.2.	Tissus avec distributions ordonnées de diffuseurs de taille unitaire	88
3.3.	Tissus à diffuseurs de taille variable à un hématoците de 40 %	91
3.4.	Relation mathématique entre les histogrammes et le coefficient d'aplatissement	94
3.5.	Synthèse	98
Chapitre III. Expérimentations in vitro		100
1.	<i>Matériel</i>	100
1.1.	Structure d'essai	101
1.2.	Transducteurs ultrasonores	103
1.3.	Acquisition et traitement	106
	a. Systèmes d'excitation : Avtech et Panametrics	106
	b. Système d'acquisition: carte Gage 8500 CS	110
	c. Système de traitement des données	111
2.	<i>Méthodes</i>	112
2.1.	Préparation du volume de mesure	112
2.2.	Préparation du sang	114
	a. Préparation du sang total.	115
	b. Préparation du sang non agrégant.	115
	c. Qualité du sang	116
2.3.	Protocole d'acquisition	116
2.4.	Profil de vitesse dans l'écoulement.	119
3.	<i>Résultats</i>	123
3.1.	Expérimentations sur du sang lavé	123
3.2.	Expérimentations sur du sang total	130
4.	<i>Discussion</i>	138
4.1.	Sang lavé	138

4.2. Sang total	140
4.3. Synthèse des résultats expérimentaux	141
Chapitre IV. Discussion générale	143
Conclusion	149
Bibliographie	151

Liste des figures

Figure I-1 : Distribution en fréquence de l'onde ultrasonore émise par un cristal piézo- électrique montrant la fréquence centrale f et la largeur de bande à mi-hauteur Δf	7
Figure I-2 : Répartition spatiale latérale de la puissance de l'onde ultrasonore à proximité du transducteur.	8
Figure I-3 : Illustration de la relation entre le diamètre (D_1 ou D_2) du transducteur et la zone de champ proche considérée pour un transducteur non focalisé.	9
Figure I-4 : Illustration de différentes interfaces réfléchives : une interface plane, une interface irrégulière et une interface composée de petites particules.	11
Figure I-5 : Réfraction et transmission d'une onde incidente à l'interface entre deux milieux.	13
Figure I-6 : Illustration de la largeur du faisceau ultrasonore par rapport au diamètre du transducteur (D) ainsi que de la distance focale (l_f).	14
Figure I-7 : Illustration de la profondeur de champ pour divers diamètres de transducteur.	16
Figure I-8: Orientation des axes de résolution latérale et axiale d'un transducteur.	16
Figure I-9 : Impulsion d'excitation (a) et forme de l'onde générée par le transducteur (b).	17
Figure I-10 : Illustration du délai et de l'atténuation des échos par rapport à la distance réelle entre deux interfaces.	19

Figure I-11 : Illustration de la résolution latérale en fonction de la largeur du faisceau dans le plan focal (représenté ici par le lobe principal) et de la distance entre deux réflecteurs (d).....	21
Figure I-12 : a) Les différents constituants du sang vus au microscope électronique b) Composition du sang total après centrifugation.....	23
Figure I-13 : Exemples de différentes formes d'agrégats, [Fatkin, 1997].	25
Figure I-14 : Principe de la théorie de l'adsorption (adapté de Bäumlér, 1999).	26
Figure I-15 : Principe de la théorie de la déplétion (adapté de Bäumlér et al. , 1999).	26
Figure I-16 : a) Forces de cisaillement τ_s dans un vaisseau sanguin avec un profil de vitesse parabolique (loi de Poiseuille). b) Echelle de forces de cisaillement dans le corps humain, [Malek, 1999].	28
Figure I-17 : Courbes exprimant la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour des hématies en suspension dans du plasma (NP), des hématies rigidifiées (HA) et des hématies dans une solution non agrégante (NA) d'albumine 11%, [Chien, 1970].	29
Figure I-18 : Illustration de la relation entre le taux d'agrégation (repos, A, B et C), la viscosité ($\eta(t)$) et le taux de cisaillement moyen (γ) [Lacombe et Lelièvre, 1981].	31
Figure I-19 : Variation de la viscosité en fonction de l'hématocrite, [Brooks, 1970].	35
Figure I-20 : Illustration de l'effet Doppler.	36
Figure I-21 : Puissance rétrodiffusée par des hématies en suspension dans une solution saline dans deux conditions de flux, [Shung et al., 1992].	41

Figure I-22 : Coefficient d'aplatissement K pour différentes formes de distributions de densité.....	45
Figure I-23 : Exemples de distributions de Rayleigh, Rice, K et K homodyne (HK), [Cramblitt, 1999].....	51
Figure II-1 : Diagramme des opérations pour la constitution d'un signal RF_{2d}	57
Figure II-2 : Détermination de l'enveloppe de la PSF d'un transducteur 10 MHz à partir d'une mesure expérimentale réalisée au point focal à l'aide d'un miroir acoustique. Les points sont ceux utilisés pour le calcul des coefficients des exponentielles par la méthode des moindres au carré.....	59
Figure II-3 : Exemple d'une PSF utilisée pour les simulations.	60
Figure II-4 : Exemple de matrice de dilatation. On retrouve en blanc les diffuseurs existants, en gris la dilatation des diffuseurs et en noir l'espace libre pour un nouvel élément.	63
Figure II-5 : Modèle de diffuseur de type Gaussien, a) représentation graphique et b) spectre du diffuseur.....	65
Figure II-6 : Modèle de diffuseur de type unitaire, a) représentation graphique et b) spectre du diffuseur.....	65
Figure II-7 : Illustration de la taille relative des différents diffuseurs simulés.....	67
Figure II-8 : Exemples de tissus à 1 (a), 5 (b), 10 (c), 20 (d), 30 (e) et 40 (f) % d'hématocrite, composés de diffuseurs unitaires non superposables.....	69
Figure II-9 : Exemples de tissus avec distribution ordonnée de diffuseurs espacés de 50 (a), 25 (b) et 10 (c) μm	70

Figure II-10 : Exemples de tissus composés de diffuseurs de tailles variables en proportion variable et aléatoirement distribués (a : type 0, b : type 3, c : type 5, d : type 7, e : type 9 et f : type 11). Un hémocrite constant de 40% à été simulé.	72
Figure II-11 : Illustration de la construction d'une cinétique pour une fenêtre temporelle de 2 unités. t_n représente le nième type de tissus, c_n la cinétique résultante. Pour une fenêtre temporelle de 3 unités, C_0 correspond à la juxtaposition des tissus t_0 , t_1 , t_2	73
Figure II-12 : Évolution de la puissance ultrasonore en fonction de l'hémocrite selon la fréquence d'insonification.	75
Figure II-13 : Évolution du coefficient d'aplatissement en fonction de l'hémocrite selon la fréquence d'insonification.	76
Figure II-14 : Évolution du paramètre de Nakagami en fonction de l'hémocrite selon la fréquence d'insonification.	76
Figure II-15 : Évolution de la puissance ultrasonore en fonction de l'espace entre les diffuseurs, à différentes fréquences d'insonification.	78
Figure II-16 : Évolution du coefficient d'aplatissement en fonction de l'espace entre les diffuseurs, à différentes fréquences d'insonification.	79
Figure II-17 : Évolution du paramètre de Nakagami en fonction de l'espace entre les diffuseurs, à différentes fréquences d'insonification.	80
Figure II-18 : Évolution de la puissance rétrodiffusée en fonction du type de tissu pour les transducteurs de 10, 20 et 35 MHz.	81

Figure II-19 : Évolution de la puissance rétrodiffusée en fonction du volume moyen des agrégats dans les tissus pour les transducteurs de 10, 20 et 35 MHz.....	81
Figure II-20 : Coefficient d'aplatissement à 10 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.....	83
Figure II-21 : Coefficient d'aplatissement à 20 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.....	83
Figure II-22 : Coefficient d'aplatissement à 35 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.....	84
Figure II-23 : Paramètre de Nakagami à 10 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.	85
Figure II-24 : Paramètre de Nakagami à 20 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.	85
Figure II-25 : Paramètre de Nakagami à 35 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.	86
Figure II-26 : Exemple d'histogrammes obtenus à partir de différents tissus.	92
Figure III-1 : Schéma du montage expérimental.	102
Figure III-2 : Volume de mesure comprenant le capillaire.....	103
Figure III-3 : Puissance de la réponse en fréquence des trois transducteurs utilisés.	104
Figure III-4 : Faisceaux ultrasonores pour les transducteurs à 20 (a) et à 35 (b) MHz.	105
Figure III-5 : Forme de l'onde d'excitation (a) et des spectres (b) en fonction de la période d'excitation (T) réglée sur l'appareil.	107

Figure III-6 : Forme de l'onde d'excitation (a) et des spectres (b) en fonction de la période d'excitation (T) réglée sur l'appareil.	109
Figure III-7 : Exemple d'acquisition montrant les différentes interfaces observées ainsi que la zone de signal utile.	112
Figure III-8 : Agrandissement de la zone de mesure lors du moulage du capillaire.	113
Figure III-9 : Exemple de profils de vitesse rencontrés dans le capillaire de 1.57 mm avec le sang total et le sang lavé établies à partir de l'équation 3.7.	121
Figure III-10 : Puissance rétrodiffusée par le sang lavé au cours d'une cinétique d'agrégation pour les trois transducteurs.	123
Figure III-11 : Coefficient d'aplatissement calculé instantanément pour du sang lavé au cours d'une cinétique d'agrégation avec les trois transducteurs.....	125
Figure III-12 : Coefficient d'aplatissement calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 10 MHz.....	125
Figure III-13 : Coefficient d'aplatissement calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 20 MHz.....	126
Figure III-14 : Coefficient d'aplatissement calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 35 MHz.....	126
Figure III-15 : Paramètre de Nakagami calculé instantanément pour du sang lavé au cours d'une cinétique d'agrégation avec les trois transducteurs.....	128
Figure III-16 : Paramètre de Nakagami calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 10 MHz.....	128

Figure III-17 : Paramètre de Nakagami calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 20 MHz.....	129
Figure III-18 : Paramètre de Nakagami calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 35 MHz.....	129
Figure III-19 : Puissance rétrodiffusée par le sang total, calculée au cours d'une cinétique d'agrégation pour les trois transducteurs.	131
Figure III-20 : : Coefficient d'aplatissement pour du sang total, calculé instantanément au cours d'une cinétique d'agrégation en utilisant les trois transducteurs.....	132
Figure III-21 : Coefficient d'aplatissement calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 10 MHz.	133
Figure III-22 : Coefficient d'aplatissement calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur 20 MHz.	133
Figure III-23 : Coefficient d'aplatissement calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 35 MHz.	134
Figure III-24 : Paramètre de Nakagami pour du sang total, calculé instantanément au cours d'une cinétique d'agrégation en utilisant les trois transducteurs.	135
Figure III-25 : Paramètre de Nakagami calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 10 MHz.....	136
Figure III-26 : Paramètre de Nakagami calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 20 MHz.....	136
Figure III-27 : Paramètre de Nakagami calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 35 MHz.....	137

Liste des tableaux

Tableau I-1 : Indices d'agrégation moyenne (\pm écart-type) pour différentes espèces de mammifères à 37° C (adapté de Weng et al, 1996).....	34
Tableau II-1 : Caractéristiques des PSF simulées.....	61
Tableau II-2 : Dimension des différents diffuseurs utilisés pour les simulations.....	67
Tableau II-3 : Proportion des différents types de diffuseurs pour chaque tissu simulé. La taille de chaque type de diffuseur est décrite à la Figure II-7 et au Tableau II-2.	71
Tableau III-1 : Caractéristiques expérimentales des transducteurs utilisés.	104
Tableau III-2 : Paramètres d'excitation et d'acquisition des transducteurs avec le système Avtech.	110
Tableau III-3 : Paramètre d'agrégation du sang utilisé (Cf. section I-2.5). La colonne de droite sont les données du sang humain (total) extrait de Weng et al [1996].....	116
Tableau III-4 : Vitesses et taux de cisaillement dans le dispositif expérimental pour le sang total et le sang lavé.	122

Liste des symboles

a : Amplitude maximale de la PSF.

$A(t)$: Enveloppe du signal rétrodiffusé.

A_0 : Amplitude de l'onde incidente initiale.

A_r : Amplitude de l'onde réfléchie.

AR : Résolution axiale.

b : Paramètre d'échelle relatif à la moyenne du carré des sections des réflecteurs.

BSC : Coefficient de rétrodiffusion.

c , c_1 et c_2 : Vitesses de propagation des ondes acoustiques.

c_t : Vitesse de compression du matériau piézo-électrique.

$C_{3d}(x, y, z)$: Forme d'un seul prototype de diffuseur.

d : Distance entre deux réflecteurs.

dB : Décibel.

div : Opérateur divergence.

d_t : Diamètre du lobe principal à -3 dB.

D , D_1 et D_2 : Diamètres des transducteurs.

e_1 : Coefficient de l'exponentielle croissante.

e_2 : Coefficient de l'exponentielle décroissante.

E_0 : Énergie incidente.

EDTA : Anticoagulant.

E_r : Énergie réfléchie.

f : Fréquence de l'onde acoustique.

f_d : Décalage fréquentiel.

f_i : Fréquence de l'onde incidente.

f_r : Fréquence de l'onde réfléchie.

$G(\mu_i, \sigma_i)$: Distribution Gaussienne de moyenne μ_i et de variance σ_i .

$H_{\text{désiré}}$: Hématocrite désiré.

H_{initial} : Hématocrite initial.

H_t : Hématocrite naturel.

I_o : Intensité du signal incident.

IS : Index de structure.

J : Énergie emmagasinée dans le cristal.

$J_{M-1}()$: Fonction de Bessel modifiée d'ordre $M-1$

k : Coefficient de compressibilité.

k_0, k_1, k_2 , et k_e : Compressibilité moyenne du milieu.

K : Coefficient d'aplatissement.

l_f : Distance focale.

LR : Résolution latérale.

m : Paramètre de Nakagami.

m_r : r ième moment statistique.

M : Nombre effectif de diffuseurs.

n : Nombre d'onde.

$N_{3d}(x, y, z)$: Distribution de densité microscopique.

N_p : Nombre d'éléments d'une distribution.

p : Onde de pression.

p_0 : Puissance émise.

p_s : Pression statique.

P : Onde de pression.

PF : Profondeur focale.

PRF : Fréquence de répétition de l'excitation ('pulse repetition frequency').

PSF : Réponse impulsionnelle.

Q : Facteur de qualité.

r : Puissance du moment statistique.

r_i : Longueur relative de la i ème distribution.

R : Distance entre le point d'observation et la sphère.

Re : Nombre de Reynolds

$s(t)$: Signal reçu.

$s_c(t)$: Signal corrigé.

sb : Largeur de bande du transducteur.

sx : Largeur à mi-hauteur du faisceau ultrasonore (à -3 dB).

S : Coefficient d'asymétrie.

SDS : Sodium Dodecyl Sulfate.

S_1, S_2, S_3, S_4 et S_5 : Surface des diffuseurs simulés.

$S10$: Index de cinétique moyen à 10 secondes.

t : Temps.

t_0 : Temps de début de décroissance.

tA : Temps d'agrégation primaire.

tF : Temps d'agrégation final.

T : Période d'oscillation de l'onde acoustique.

$T_{3d}(x, y, z)$: Réponse impulsionnelle du transducteur dans l'espace.

u : Coordonnée radiale.

v : Vitesse du réflecteur.

$V_{\text{plasma à rajouter}}$: Volume de plasma à rajouter.

$V_{\text{plasma initial}}$: Volume de plasma initial.

V_s : Volume du diffuseur.

$x(t)$: Parties réelles de l'écho.

x_j : j ième élément d'une distribution.

$y(t)$: Partie imaginaire de l'écho.

$z(t)$: Expression du signal rétrodiffusé.

Z, Z_1 et Z_2 : Impédances acoustiques.

$Z_{3d}(x, y, z)$: Distribution d'impédance acoustique.

Z_i : Points d'une distribution.

α : Rayon de la sphère.

β : Coefficient fréquentiel.

$\dot{\gamma}$: Taux de cisaillement.

γ_D : Seuil de dissociation partielle.

γ_S : Seuil de dissociation totale.

δ : Angle d'ouverture du cône d'ultrasons.

ζ : Paramètre de variabilité de la section de rétrodiffusion des réflecteurs

ε : Petite variation.

Δf : Largeur de bande à mi-hauteur (-3 dB).

θ : Angle d'insonification.

θ_i : Angle d'incidence.

θ_t : Angle de transmission.

θ_r : Angle de réflexion.

λ : Longueur d'onde.

η : Viscosité.

$\eta(t)$: Viscosité en fonction du temps.

Ω_e : Volume de sang considéré.

ρ_0, ρ_1, ρ_2 et ρ_e : Densités moyennes des milieux.

μ : Moyenne d'une distribution.

σ_i : Variance de la distribution de points Z_i .

τ_1 et τ_2 : Durées de deux acquisitions consécutives.

ω_0 : Période centrale du transducteur.

$\overline{\text{var}(n)}$: Opérateur variance de n .

$\Gamma()$: Fonction Gamma.

$\langle \rangle$: Opérateur moment.

∇ : Opérateur gradient.

\bar{V} : Vecteur vitesse.

$\bar{\sigma}$: Tenseur des contraintes.

\bar{f} : Vecteur des forces volumiques extérieures.

\bar{I} : Matrice identité.

Δ : Opérateur Laplacien.

$\partial_z p$: Gradient de pression longitudinal.

$\partial_r V$: Taux de cisaillement.

Remerciements

Cette maîtrise, effectuée en partie au Laboratoire de génie biomédical de l'Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM) et au Laboratoire de biorhéologie et d'ultrasonographie médicale du Centre de recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Montréal (Hôpital Notre-Dame), est plus qu'un simple travail de recherche, c'est aussi une école de la vie par le cadre et le contexte exceptionnel de travail rencontré dans ces deux laboratoires. Sans l'encadrement du Dr Guy Cloutier, le soutien de Mme Isabelle Fontaine et les discussions nombreuses et fructueuses avec les autres membres de l'équipe, ce travail ne serait pas ce qu'il est devenu.

Chacune des parties de ce travail a fait appel à des connaissances dans des domaines assez variés, et je tiens à remercier les personnes qui m'ont apporté leur aide à mener à bien certaines sections. Je veux remercier Mr David Savéry pour son aide appréciable en tant que théoricien à la section II-3.4, Mr Damien Garcia pour son aide dans la modélisation des écoulements (section III-2.4), Mr Fermin Lupotti pour ses indications concernant la mesure des faisceaux ultrasonores et enfin Mr Richard Simon et Mr Frédéric Gagnon, techniciens du Service des équipements spécialisés de l'IRCM, pour leurs conseils et disponibilité pour la réalisation de la structure expérimentale. La qualité du travail manuscrit ne serait pas ce qu'il est si Mme Isabelle Fontaine, Dr Roch Maurice et Dr Guy Cloutier n'avaient pas révisé ce mémoire avec autant de minutie.

Ces remerciements seraient incomplets si ils ne faisaient pas aussi référence à toutes les personnes extérieures qui font parties de mon entourage et qui ont partagé avec

moi tant de voyages et de découvertes. Je pense dans ce cas particulier aux 'expates', comme ils se nomment eux-mêmes, et à ma famille.

Introduction

L'agrégation érythrocytaire est un phénomène encore assez mal connu, mais son implication dans diverses pathologies telles que les maladies cardio-vasculaires, les thromboses ou le diabète nous pousse à évaluer son importance in-vivo. À l'heure actuelle, toutes les techniques utilisées pour mesurer le taux d'agrégation chez un patient nécessitent une prise de sang et l'utilisation de systèmes complexes de mesure en laboratoire. D'autres techniques non intrusives pourraient, de nos jours, être développées pour s'affranchir des approches de mesure indirecte. Les ultrasons pourraient être une de ces alternatives fiables et non traumatisantes.

Parmi les domaines d'application des ultrasons, l'étude du signal rétrodiffusé dans le but d'effectuer de la caractérisation tissulaire est un domaine encore en pleine effervescence. Plusieurs techniques de traitement du signal peuvent être exploitées pour extraire les informations disponibles. L'analyse statistique des signaux de radio fréquence rétrodiffusés par le milieu est un domaine qui foisonne de modèles, parfois complexes, qui pourraient permettre de caractériser le milieu étudié. Ce mémoire de maîtrise traite donc de l'étude statistique du signal rétrodiffusé par le sang afin de caractériser les agrégats érythrocytaires.

Ce travail présente tout d'abord, dans le premier chapitre, les notions générales à connaître pour une compréhension de la suite des travaux théoriques et expérimentaux. Pour cela, seront exposées les notions physiques des ultrasons, leur production et les limitations intrinsèques associées à cette technique. Ensuite, une revue portant sur la

physiologie et les caractéristiques du sang dans différentes conditions d'écoulement sera faite. Enfin, les concepts mathématiques permettant de décrire les statistiques associées au signal rétrodiffusé seront exposés. Le travail de recherche sera présenté en deux chapitres suivit d'une discussion générale comparant les études théoriques et expérimentales effectuées. Le deuxième chapitre porte donc sur l'étude théorique du signal rétrodiffusé par un milieu simulant les caractéristiques acoustiques du sang. Cette première vise à élaborer les concepts utiles pour interpréter les résultats expérimentaux présentés au chapitre III. Le dispositif choisi a permis d'étudier les variations du signal ultrasonore lors de la progression de l'agrégation érythrocytaire dans un capillaire de 1.57 mm de diamètre après arrêt de l'écoulement. Le quatrième chapitre porte sur l'analyse comparative des résultats obtenus théoriquement et expérimentalement. Il apporte des explications et des commentaires sur les différences et similitudes ainsi que des recommandations pour une amélioration des résultats. Une conclusion générale termine ce mémoire.

Chapitre I. Les techniques ultrasonores et le sang

Depuis plusieurs années déjà, des techniques ultrasonores sont utilisées pour caractériser in vitro et in vivo les tissus humains. Le sang est l'un de ces champs d'applications étudiés dans ce travail.

Le signal échographique, obtenu de la réflexion par les tissus de l'onde transmise, peut être étudié de différentes manières selon les informations recherchées. Dans ce premier chapitre, les principes de base des systèmes à ultrasons, les caractéristiques du sang pertinentes pour notre étude et l'utilisation actuelle de ces systèmes acoustiques pour étudier le sang seront détaillés. Ces notions serviront de connaissance de base pour la compréhension du travail effectué lors de ce projet.

1. Ultrasons : généralités

Les ultrasons sont des ondes mécaniques couramment utilisées dans le milieu médical. Afin de s'affranchir de problèmes potentiels pouvant survenir lors de l'utilisation d'appareil d'échographie, il est important de connaître les caractéristiques des ondes générées par une source ultrasonore. Nous allons donc voir les principes de mécanique acoustique pertinents pour notre étude, ainsi que les limitations physique de cette technique. Cette partie est inspirée des livres de Christensen [1988], Macovski [1983] et Mc Dicken [1991]

1.1. Les ultrasons

Les ondes ultrasonores sont des ondes acoustiques se trouvant dans des plages de fréquences inaudibles par l'homme. On définit les ultrasons comme des sons d'une fréquence allant de 16 kHz à quelques dizaines de MHz. Au-delà de ces fréquences, les phénomènes mis en jeu et les techniques de génération deviennent différentes, on entre alors dans le domaine des hypersons.

L'onde acoustique se propageant dans un milieu est une onde mécanique qui peut être représentée comme une succession de zones de surpressions et de dépressions provoquées par l'expansion et la contraction du transducteur. La fréquence de cette onde f est définie comme $f=1/T$ où T est la période d'oscillation de l'onde acoustique. La vitesse de propagation (c) de l'onde est quant à elle dépendante du milieu de propagation. Plus le milieu est dense et incompressible, plus la vitesse de propagation du son est rapide. En conséquence, à une même fréquence, les longueurs d'onde (λ) observées dans deux matériaux différents peuvent fortement varier.

$$\lambda = c T = \frac{c}{f} \quad (1.1)$$

Ainsi, dans l'air, un son à une fréquence de 10 MHz aura une longueur d'onde de 33.15 μm , alors que dans l'eau elle sera de 148 μm , dans le sang de 154 μm et dans l'acier de 500 μm .

La vitesse de déplacement de l'onde acoustique dans le milieu est une caractéristique intrinsèque de celui-ci. Elle ne dépend pas de la fréquence de l'onde, mais

est fonction uniquement de la densité moyenne du milieu (ρ_0) et de sa compressibilité moyenne (k_0).

$$c = \frac{1}{\sqrt{\rho_0 k_0}} \quad (1.2)$$

1.2. Génération des ultrasons

Les méthodes de production des ultrasons ont évolué avec les progrès technologiques. Les premiers ultrasons produits furent obtenus par Galton en 1883, à l'aide d'un sifflet à air comprimé. Il fut possible à l'époque de produire des sons de 25 kHz. Des améliorations apportées à ce système par A. Edelman en 1900, permirent d'obtenir des sons de 170 kHz.

D'autres possibilités de production d'ultrasons sont apparues avec l'utilisation de phénomènes électriques. Lorsqu'une étincelle électrique unique éclate entre deux électrodes, on entend un bref claquement. Localement, on peut constater une augmentation de la température qui produit une dilatation à l'origine d'une onde élastique. Si on renouvelle cette expérience un grand nombre de fois par seconde, on peut obtenir un générateur à ultrasons. C'est ainsi qu'en 1907, Alterberg développa un générateur en utilisant la décharge oscillante d'un condensateur à travers une inductance. En fonction des valeurs de l'inductance et du condensateur, on a pu alors obtenir des fréquences allant jusqu'à 340 kHz.

Ces méthodes sont cependant limitées au niveau du contrôle de la fréquence et de la puissance du signal émis. C'est le phénomène de piézo-électricité qui donna de nouvelles solutions aux problèmes posés. Les matériaux piézo-électriques ont la

particularité de se déformer lorsqu'on leur applique une différence de potentiel entre leurs deux principales faces. De même, si on applique une pression sur ses deux faces, on constate que le cristal se polarise (c'est-à-dire qu'il y a apparition de charges à la surface du cristal). Ce phénomène est largement utilisé de nos jours pour la production et la réception d'ultrasons. Les matériaux piézo-électriques à notre disposition sont le quartz naturel ou des céramiques à base de titanates alcalino-terreux. Le procédé de fabrication consiste alors à préparer la céramique et à la faire cuire en présence d'un champ électrique élevé qui leur laisse une polarisation permanente.

La magnétostriction est un autre phénomène utilisé pour produire des transformateurs électro-acoustiques. Ce procédé est obtenu par la modification des dimensions d'un échantillon d'une substance isolante sous l'effet d'un champ électrique. Les différences entre le phénomène de la piézo-électricité et celui de la magnétostriction sont d'une part l'échelle des déformations mises en jeu (beaucoup plus petites pour les éléments piézo-électriques) et d'autre part, l'indépendance du sens de déformation du matériau à l'orientation du champ électrique appliqué pour le phénomène de magnétostriction.

1.3. Caractéristique de l'onde ultrasonore provenant d'un cristal piézo-électrique

L'onde ultrasonore générée est caractéristique du cristal et de son épaisseur. La fréquence de résonance (f) du cristal peut être décrite sous la forme suivante :

$$f = \frac{c_t}{2l} \quad (1.3)$$

où c_t est la vitesse de compression du matériau piézo-électrique et l l'épaisseur du cristal. Autour de la fréquence de résonance (Figure I-1), on retrouve une répartition décroissante de l'intensité du signal (I_0) émis. Cette distribution peut être décrite par le facteur de qualité (Q) qui relie la largeur de bande à mi-hauteur de courbe (Δf) et la fréquence de

résonance (f) :

$$Q = \frac{f}{\Delta f} \quad (1.4)$$

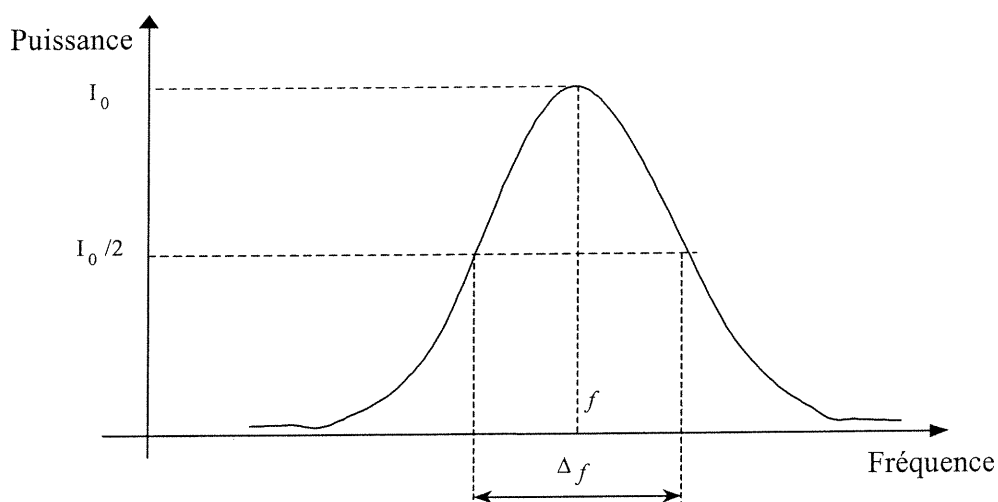


Figure I-1 : Distribution en fréquence de l'onde ultrasonore émise par un cristal piézo-électrique montrant la fréquence centrale f et la largeur de bande à mi-hauteur Δf .

Plus le facteur de qualité d'un transducteur est grand, plus la réponse fréquentielle du transducteur est étroite.

La distribution spatiale d'énergie de l'onde ultrasonore dans un plan perpendiculaire à un élément piézo-électrique circulaire a la forme d'une fonction de Bessel (Figure I-2). La largeur du lobe principal (résolution latérale) de l'onde a tendance à diverger lors de sa propagation, comme le montre le graphique de la Figure I-3.

On constate que 90% de l'énergie sonore se retrouve dans un cône dont le sommet est le centre de l'émetteur. L'angle d'ouverture du cône (δ) contient la majorité de l'énergie acoustique et est fonction de la longueur d'onde (λ) et du diamètre du transducteur (D) :

$$\sin \delta = 1.22 \frac{\lambda}{D} \quad . \quad (1.5)$$

Il est possible de modifier l'angle δ en donnant à l'élément piézo-électrique une forme concave qui focalise les ondes au foyer avant que celles-ci ne divergent à nouveau.

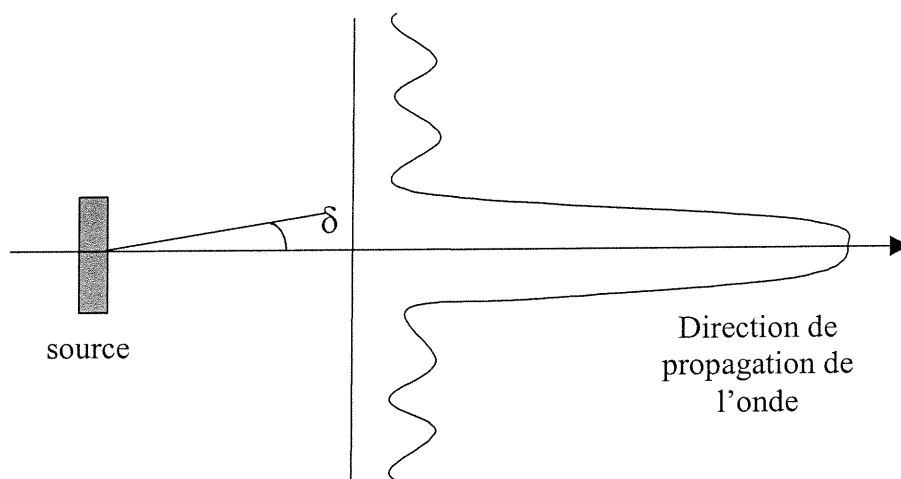


Figure I-2 : Répartition spatiale latérale de la puissance de l'onde ultrasonore à proximité du transducteur.

D'autres procédés, empruntés à l'optique, peuvent être utilisés, de même que des techniques de focalisation électronique par déphasage des impulsions transmises à une barrette d'éléments piézo-électriques.

La géométrie du faisceau d'ultrasons dépend en grande partie de la taille de l'élément émetteur et de la longueur d'onde utilisée. Ainsi, au lieu d'un cône de propagation, on observe une zone à proximité de l'émetteur où le faisceau est presque

cylindrique (ou plus précisément de la forme de l'émetteur). Cette zone est appelée champ proche. Ce n'est qu'à partir d'une certaine distance que le faisceau va diverger et que la forme de l'émetteur n'est plus détectable. La Figure I-3 montre bien l'influence du diamètre (D_1 ou D_2) de l'émetteur et de la longueur d'onde (λ) utilisée. Cette figure illustre le fait que la longueur du champ proche est directement proportionnelle au carré du diamètre et à la longueur d'onde du transducteur. Ainsi un transducteur de grande taille permet une insonification plus profonde, car la divergence de son faisceau se fait plus tardivement que pour un émetteur de plus petite taille (Cf. paragraphe I.4).

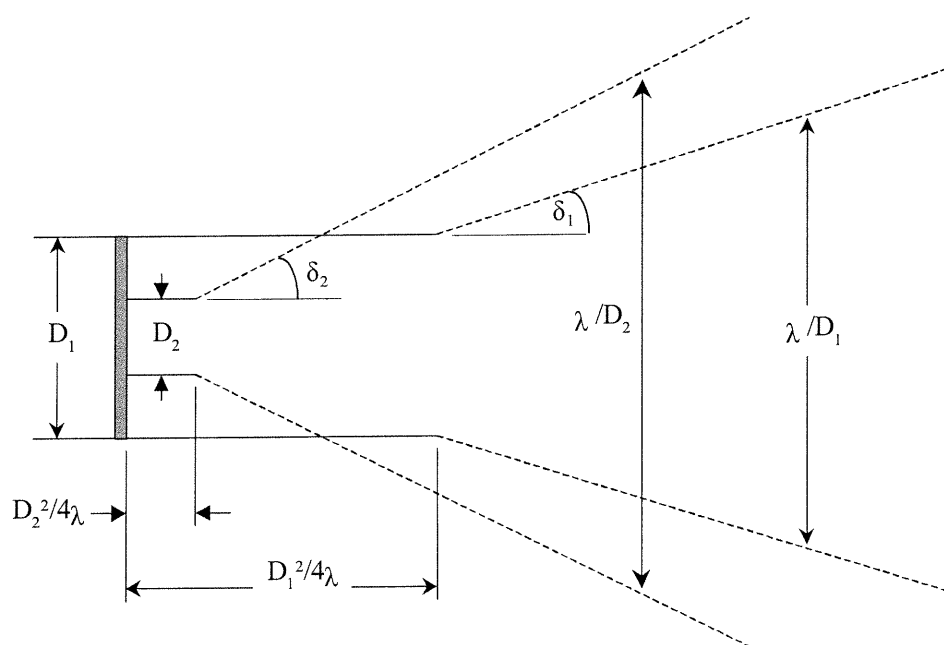


Figure I-3 : Illustration de la relation entre le diamètre (D_1 ou D_2) du transducteur et la zone de champ proche considérée pour un transducteur non focalisé.

1.4. Transmission, réflexion et diffusion des ultrasons

À partir du transducteur ultrasonore, l'onde se propage dans le milieu environnant et rencontre des obstacles. En fonction de la nature des obstacles rencontrés, l'onde est en partie réfléchi, en partie transmise au milieu, en partie diffusée et pour une petite part absorbée sous forme de chaleur. La réflexion de l'onde sonore existe uniquement dans le cas où deux milieux adjacents ont des impédances acoustiques différentes. On nomme impédance acoustique (Z) la résistance d'un milieu au passage d'une onde acoustique.

$$Z = \rho_0 c = \rho_0 \frac{1}{\sqrt{\rho_0 k_0}} = \sqrt{\frac{\rho_0}{k_0}} \quad (1.6)$$

où ρ_0 est la densité moyenne du tissu, c la vitesse de propagation des ultrasons dans le milieu et k_0 la compressibilité moyenne du tissu. On remarque que l'impédance acoustique augmente proportionnellement à la densité du milieu tout comme la vitesse de propagation des ondes ultrasonores. Plus les deux milieux formant l'interface ont une différence d'impédance acoustique élevée, plus la réflexion de l'onde ultrasonore est importante. On peut alors estimer l'amplitude de l'onde réfléchi par la relation suivante :

$$A_r = A_0 \frac{Z_1 - Z_2}{Z_1 + Z_2} \quad (1.7)$$

où A_r est l'amplitude de l'onde réfléchi, A_0 est l'amplitude de l'onde incidente initiale, et Z_1 et Z_2 sont les impédances acoustiques des deux milieux formant l'interface. De même, l'énergie réfléchi peut être estimée par la relation :

$$E_r = E_0 \left(\frac{Z_1 - Z_2}{Z_1 + Z_2} \right)^2 = E_0 \left(\frac{\rho_1 c_1 - \rho_2 c_2}{\rho_1 c_1 + \rho_2 c_2} \right)^2 \quad (1.8)$$

où E_r est l'énergie réfléchiée et E_0 est l'énergie incidente. Ces approximations d'énergie réfléchiée ne tiennent pas en compte l'atténuation du son durant son passage au travers du tissu.

Selon la nature des éléments réflecteurs rencontrés, l'écho va se comporter de diverses manières. La Figure I-4 illustre les différents modes de propagation/réflexion rencontrés lors de la progression de l'ultrason à travers un milieu. La nature et l'orientation des obstacles influencent fortement la puissance du signal réfléchi. Dans le cas d'une interface plane perpendiculaire à la propagation de l'onde acoustique, le son va

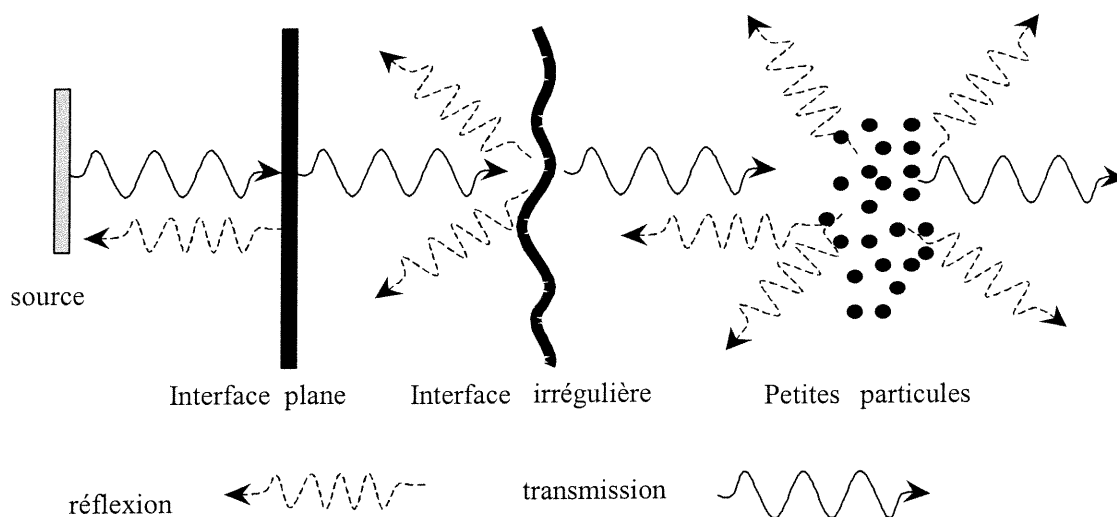


Figure I-4 : Illustration de différentes interfaces réfléchissantes : une interface plane, une interface irrégulière et une interface composée de petites particules.

être fortement réfléchi. Dans le cas d'une interface irrégulière, les sons réfléchis vont être propagés dans différentes directions, ce qui a pour conséquence de diminuer l'intensité du signal retournant au transducteur. Dans le cas de petites particules, le phénomène d'écho varie selon la taille des réflecteurs. Si les particules sont plus grosses que la résolution spatiale du transducteur (Cf. section I-1.5), il est possible de distinguer chacune d'elles

individuellement même si le signal de retour est assez faible. Par contre, si les particules sont plus petites que la longueur d'onde incidente (nommée conditions de Rayleigh du nom de l'initiateur de cette théorie en 1945 et rencontrées dans le cas de l'étude sur le sang), la détection individuelle de chaque particule n'est pas possible. C'est donc l'ensemble des diffusions rétrogrades de chaque réflecteur et leur patron d'interférence, alors appelée rétrodiffusion, que l'on doit considérer. Il n'est alors plus possible d'identifier clairement l'interface entre deux milieux. Néanmoins, l'information rétrodiffusée par le milieu reste riche en information sur sa densité, sa distribution spatiale et sa composition. Dans le milieu médical, les interfaces entre organes sont disposées d'une manière quelconque, et les interfaces sont rarement perpendiculaires à l'onde incidente, ce qui rend difficile la détection de leurs contours. Par contre, le phénomène de rétrodiffusion que l'on observe dans les tissus et qui leur donnent une texture granuleuse propre, rend plus facile la distinction de différentes composantes anatomiques.

La partie d'énergie acoustique que l'interface n'a pas réfléchi ou rétrodiffusée, poursuit son chemin dans le milieu suivant, c'est la transmission. Comme tout phénomène mécanique, l'onde ultrasonore perd de l'énergie durant son déplacement. L'atténuation est liée aux phénomènes de réflexion et de diffusion de l'onde, ainsi qu'aux pertes de chaleur associées aux vibrations des particules du tissu. On peut définir un coefficient d'atténuation (α) qui décrit quantitativement ce phénomène.

$$\alpha = k f^\beta \tag{1.9}$$

où k est le coefficient d'absorption du milieu, f la fréquence de l'onde transmise et β le coefficient spectral ($\simeq 1$ pour les tissus humains). On constate alors que l'atténuation augmente non seulement avec l'épaisseur du matériau à traverser, mais aussi avec la fréquence de l'onde ultrasonore utilisée. Il est possible de corriger le signal capté par le transducteur de manière à compenser l'effet de l'atténuation. Les systèmes d'imagerie introduisent depuis longtemps cette compensation par un système de variation de gain en fonction du temps ou de la profondeur de l'écho. Le signal de sortie compensé devient alors :

$$s_c(t) = c t e^{\alpha c t} s(t) \quad (1.10)$$

où $s(t)$ est le signal reçu, $s_c(t)$ est le signal corrigé et c la vitesse de l'onde dans le milieu étudié.

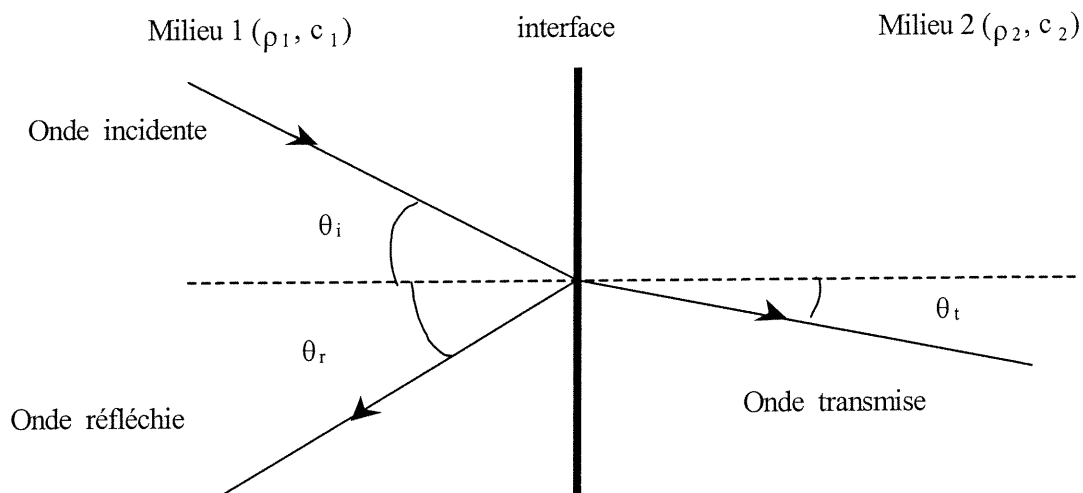


Figure I-5 : Réfraction et transmission d'une onde incidente à l'interface entre deux milieux.

Le phénomène de réfraction de l'onde ultrasonore entre en jeu si l'onde incidente entre dans le milieu avec un certain angle.

Cette réfraction se décrit par la loi suivante :

$$\frac{\sin \theta_i}{\sin \theta_t} = \frac{c_1}{c_2} \quad (1.11)$$

où θ_i et θ_t sont respectivement l'angle d'incidence et l'angle de transmission, et c_1 et c_2 les célérités dans les milieux 1 et 2 respectivement. L'angle de réflexion (θ_r) est quant à lui égal à l'angle d'incidence (θ_i). Pour un indice θ_i supérieur à 15° , il peut arriver qu'aucune énergie ne soit transmise selon les caractéristiques des milieux 1 et 2. De ces observations, il est possible d'en tirer la conception de lentilles pour focaliser les ondes ultrasonores, la matière constituant les lentilles pouvant être aussi bien du métal que du plastique ou un liquide.

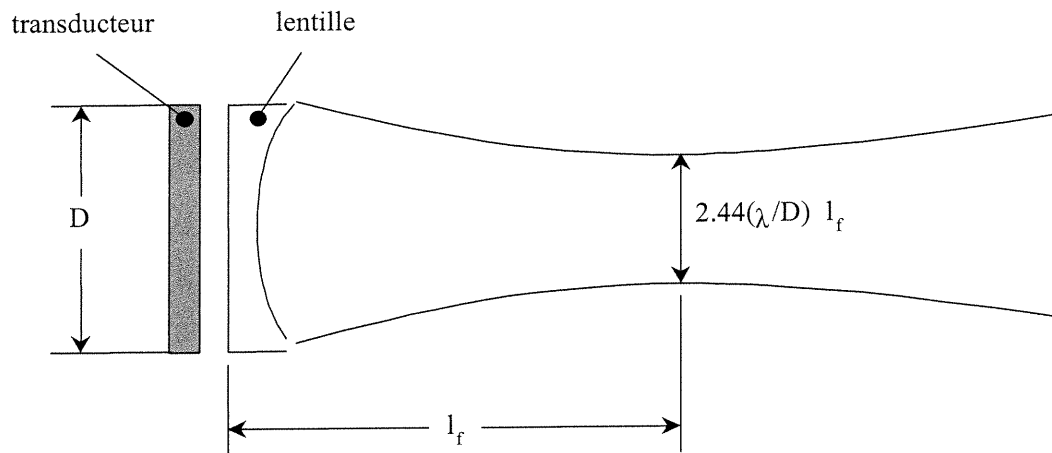


Figure I-6 : Illustration de la largeur du faisceau ultrasonore par rapport au diamètre du transducteur (D) ainsi que de la distance focale (l_f).

La largeur du faisceau ultrasonore dans le plan focal est fonction à la fois du diamètre du transducteur (D), de la distance focale de la lentille (l_f) et de la longueur d'onde (λ). La focalisation (Figure I-6) du faisceau d'ultrasons permet de mesurer des éléments beaucoup plus petits que la taille du transducteur et d'avoir ainsi une meilleure résolution spatiale dans le plan focal. La focalisation du faisceau est effectuée en plaçant une lentille concave devant l'élément piézo-électrique. Pour tous les transducteurs, la distribution spatiale latérale de l'amplitude de l'onde dans le plan focal se présente sous la forme d'une courbe dont le lobe central est le plus important (Figure I-2), mais l'intérêt de la focalisation est d'en diminuer la largeur. Le diamètre (d_t) de ce lobe principal focalisé, mesuré à -3 dB, est donné par l'équation suivante :

$$d_t = 2.44 \left(\frac{l_f}{D} \right) \lambda \quad (1.12)$$

On appelle profondeur focale (PF) la zone où la largeur du faisceau devient égale à $d_t \sqrt{2}$ (Figure I-7), ce qui nous donne :

$$PF \approx \frac{d_t^2}{2\lambda} \approx 3 \left(\frac{l_f}{D} \right)^2 \lambda \quad (1.13)$$

L'amélioration de la résolution latérale par la focalisation du faisceau d'ultrasons a pour conséquence d'amener une détérioration de la résolution spatiale en dehors de la zone focale. En effet, le faisceau, après avoir convergé, diverge d'autant plus rapidement que la focalisation est forte. Comme le montre l'équation (1.13), la profondeur focale diminue avec la distance focale (l_f) ainsi qu'avec la longueur d'onde (λ), mais augmente avec le diamètre du transducteur.

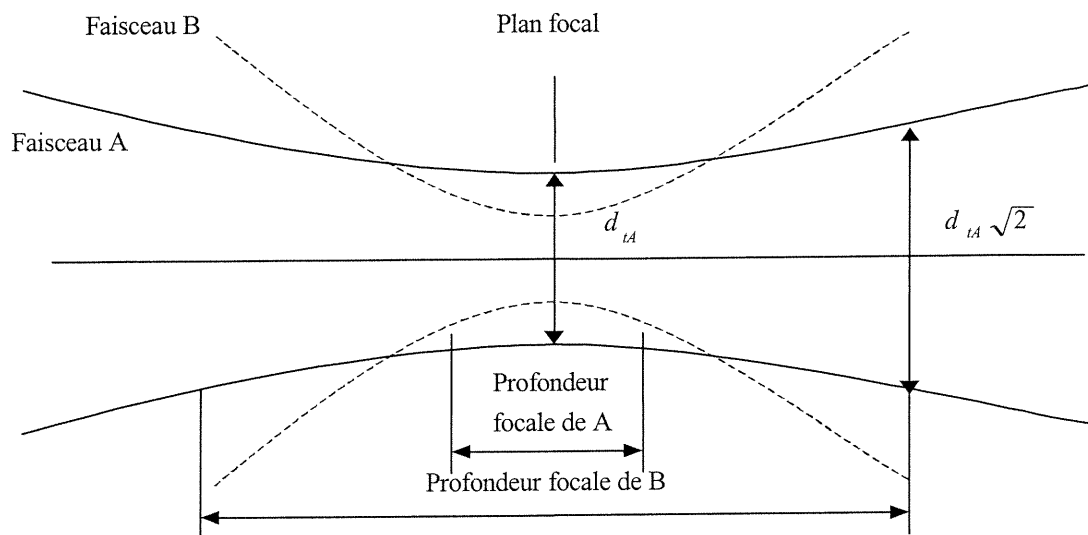


Figure I-7 : Illustration de la profondeur de champ pour divers diamètres de transducteur.

1.5. La résolution spatiale

La résolution spatiale des transducteurs ultrasonores est associée aux résolutions

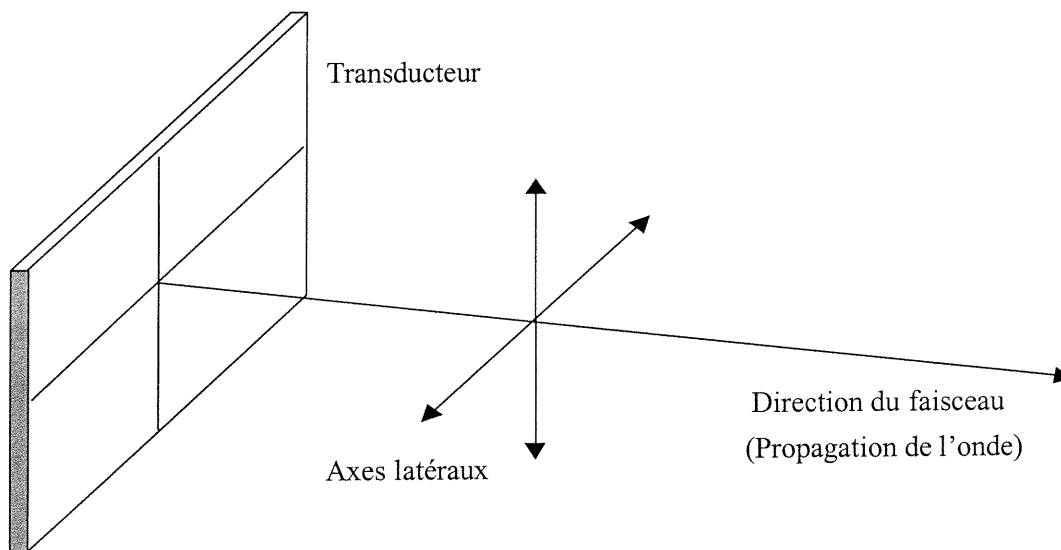


Figure I-8: Orientation des axes de résolution latérale et axiale d'un transducteur.

latérale et axiale. La résolution latérale est définie dans les directions perpendiculaires à la propagation de l'onde et la résolution axiale dans le sens de la propagation de l'onde (Figure I-8).

Pour une bonne compréhension de l'expression de la résolution axiale, il faut tout d'abord s'arrêter sur la forme de l'onde ultrasonore lors de sa propagation dans le milieu. L'onde générée oscille à une fréquence propre, nommée fréquence de résonance, dont l'enveloppe décroît exponentiellement (Figure I-9). La décroissance de l'oscillation du cristal est due aux pertes d'énergie dans le transducteur, qui peuvent être reliées au

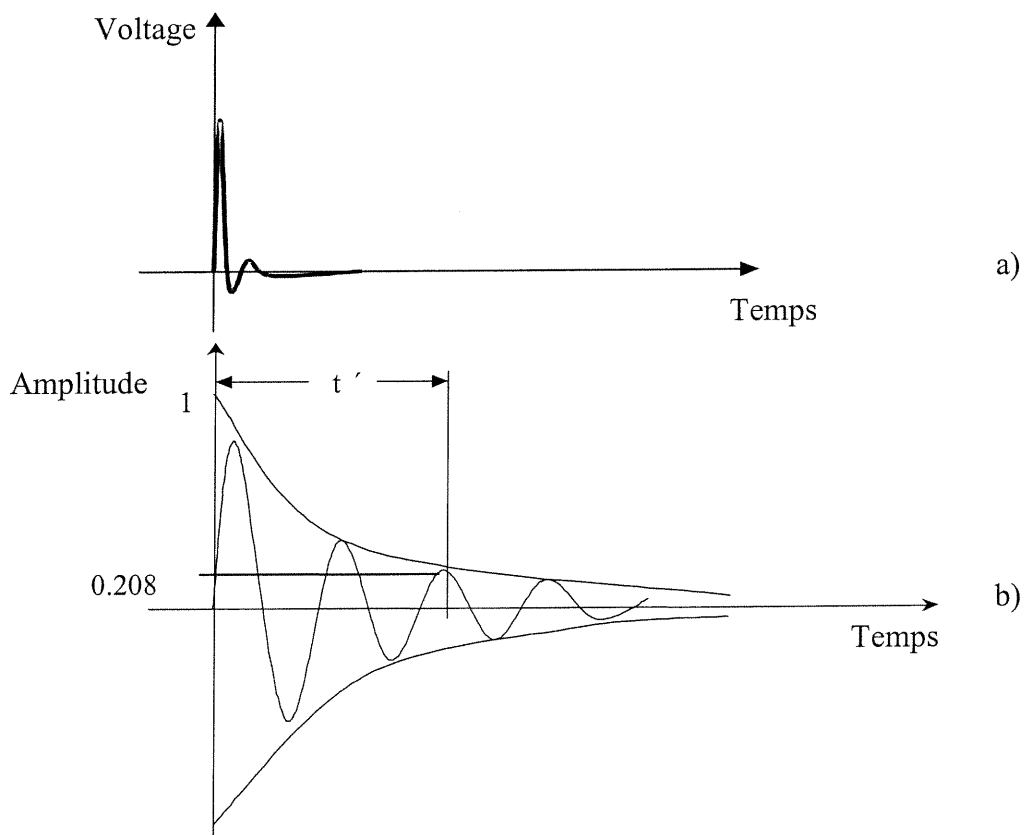


Figure I-9 : Impulsion d'excitation (a) et forme de l'onde générée par le transducteur (b).

facteur de qualité Q vu précédemment (équation 1.4). Ainsi, nous pouvons associer le facteur Q au rapport de l'énergie emmagasinée sur l'énergie perdue par cycle :

$$\frac{dJ}{dt} \frac{1}{f} = -\frac{2\pi J}{Q} \quad (1.14)$$

où J est l'énergie emmagasinée dans le cristal et f est la fréquence de résonance du transducteur. La solution de cette équation est une exponentielle qui est fonction du temps :

$$E = E' e^{-\gamma t} \quad (1.15)$$

où E' est une constante et $\gamma = \frac{2\pi f}{Q} = \frac{\omega}{Q}$. (1.16)

Comme la puissance émise (p_0) par le transducteur est proportionnelle à l'énergie emmagasinée par celui-ci et comme l'amplitude de l'onde de pression est proportionnelle à la racine carrée de la puissance, il est possible de déterminer l'enveloppe décroissante de l'onde de pression (p) :

$$p = p_0 e^{-\left(\frac{\gamma}{2}\right)t} = p_0 e^{-\left(\frac{\omega}{2Q}\right)t} \quad (1.17)$$

D'une manière générale on peut estimer que le nombre d'oscillations du transducteur lors de son excitation est numériquement égal au facteur Q . On estime que l'onde générée, telle que décrite à la Figure I-9, est terminée au temps t' quand il ne reste plus que $e^{-\pi}$ de la valeur originale de la puissance, ce qui veut dire une diminution de $1 - e^{-\pi/2} = 0.792$ en pression. Ce temps t' peut être exprimé à partir de l'équation 1.16 sous la forme :

$$\frac{\omega}{2Q} t' = \frac{\pi}{2} \quad \text{donc} \quad t' = \frac{Q}{2f} \quad . \quad (1.18)$$

Il est donc clair que la résolution spatiale axiale (AR) augmente pour une impulsion courte donc pour un transducteur à grande bande passante (Q petit). Si deux interfaces sont assez proches pour que les ondes réfléchies soient en partie superposées, la distinction de chacune d'entre elles sera difficile. Cette limitation axiale est toutefois

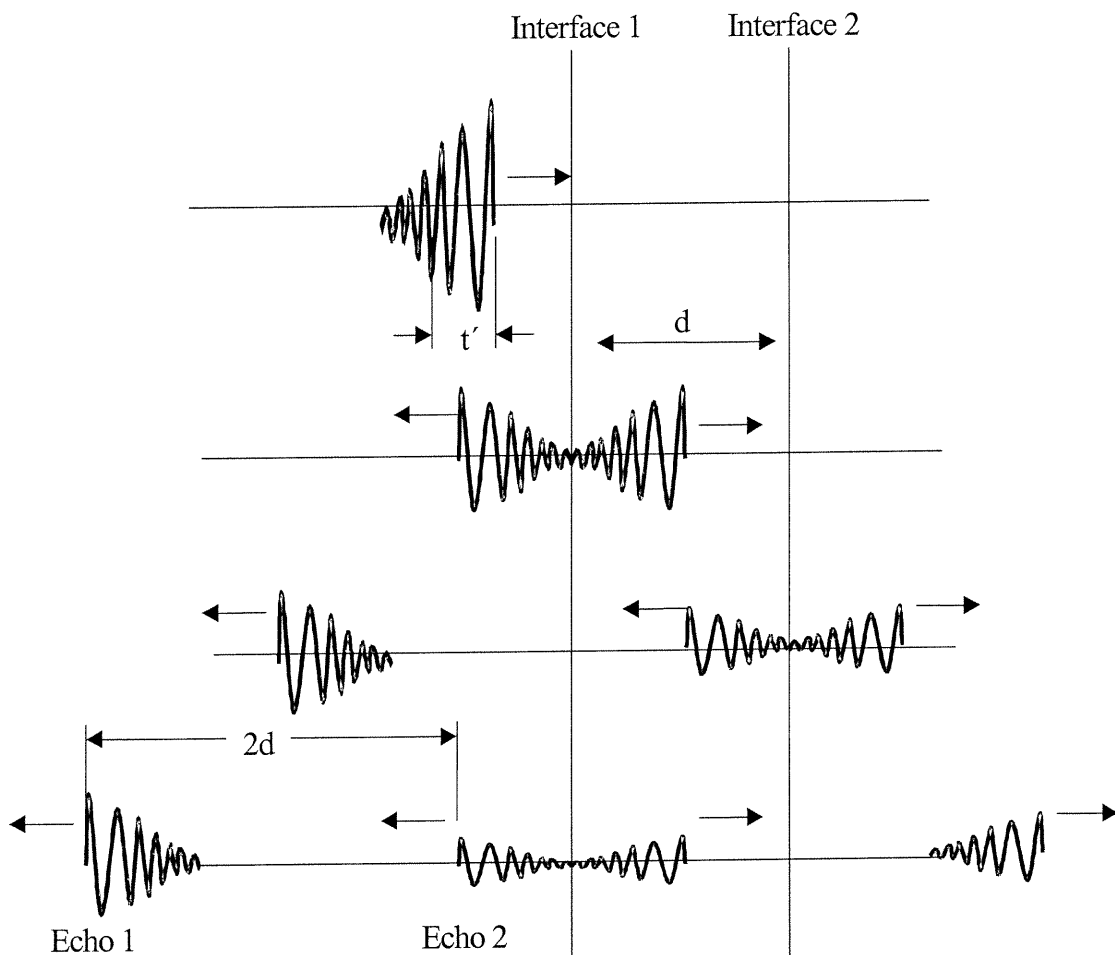


Figure I-10 : Illustration du délai et de l'atténuation des échos par rapport à la distance réelle entre deux interfaces.

moins importante que ce que l'on peut croire. Lors de la propagation de l'onde, le son réfléchi parcourt deux fois la distance entre l'élément réfléchissant et le transducteur avant d'être reçu à nouveau par le transducteur. Les échos provenant de deux objets distants de d sont donc vus comme étant distants de $2d$. La Figure I-10 illustre les phénomènes de réflexion, transmission et atténuation des ondes durant leur propagation à travers un milieu constitué de deux interfaces, ainsi que le délai de réception de l'écho en fonction de la profondeur et de la distance entre la première et la seconde interface. On peut donc en déduire que pour arriver à distinguer deux échos, il faut que les deux interfaces soient assez distantes en profondeur l'une de l'autre pour ne pas être confondues. On a alors :

$$AR \approx \frac{t' c}{2} \quad . \quad (1.19)$$

En reprenant l'équation 1.19 on obtient :

$$AR \approx \frac{Q c}{4 f} \quad . \quad (1.20)$$

ce qui donne en terme de longueur d'onde :

$$AR \approx \frac{Q \lambda}{4} \quad . \quad (1.21)$$

Pour optimiser la résolution axiale, il faut choisir un transducteur avec une réponse à l'impulsion la plus courte possible, donc avec une bande passante large. D'autre part, pour avoir une bonne résolution fréquentielle, comme dans l'utilisation du phénomène Doppler (Cf. paragraphe I-3.1), on va préférer une largeur de bande étroite, donc une onde plus longue et en conséquence une perte de résolution axiale.

La résolution latérale (LR) est, quant à elle, reliée à la taille du faisceau (d_f) au plan focal (Figure I.11). Elle intervient lors de la construction d'une image et exprime la

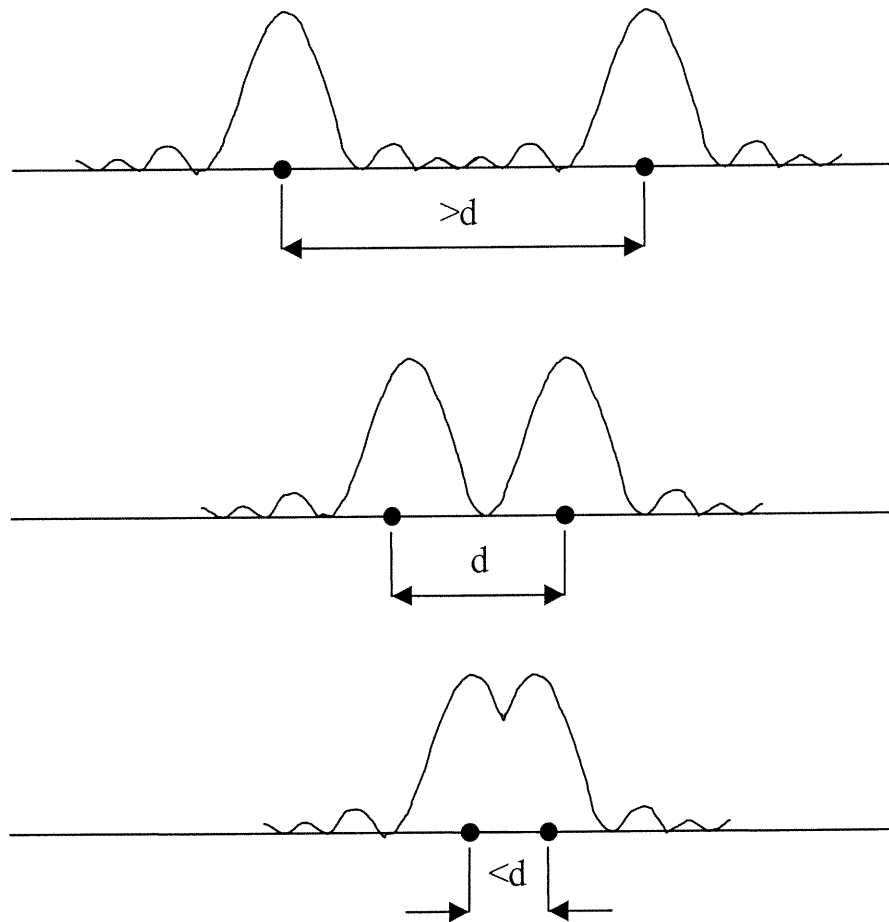


Figure I-11 : Illustration de la résolution latérale en fonction de la largeur du faisceau dans le plan focal (représenté ici par le lobe principal) et de la distance entre deux réflecteurs (d).

distance minimale que de deux points réflecteurs doivent avoir latéralement pour que lors du balayage de la zone par le transducteur ceux-ci soient discernables. Ainsi, pour des points espacés de plus de d , on a une parfaite distinction entre les deux échos; pour deux points distants de d , les lobes principaux sont encore distincts mais les lobes secondaires

ont disparus; pour une distance entre les deux points inférieure à d , on a recouvrement des deux échos qui rend difficile voire impossible la distinction entre les deux sources. Par conséquent, on peut estimer la résolution latérale à partir de la largeur du lobe principal dans le plan focal :

$$LR \approx d \approx 2.44 \left(\frac{l_f}{D} \right) \lambda \quad . \quad (1.22)$$

Le sang étant constitué de particules plus petites que les résolutions disponibles, il n'est pas envisageable de faire de l'imagerie proprement dite des hématies. Ceci donne un aperçu de la nécessité d'analyse du signal rétrodiffusé par le sang par une autre approche que celle de l'imagerie conventionnelle. L'une des façons d'obtenir l'information recherchée est de faire une analyse du signal de radio fréquence (RF) rétrodiffusé par le milieu.

2. Le sang : caractéristiques mécaniques et agrégation érythrocytaire

D'un point de vu physiologique, le sang permet tous les échanges nutritifs, gazeux et hormonaux entre les organes. Ce tissu liquide occupe un volume de 4 à 5 litres chez l'adulte et se répartit à 40% dans le système artériel et 60% dans le système veineux. Sa composition et ses caractéristiques mécaniques non linéaires influencent beaucoup les écoulements et sont à la base de nombreux problèmes cardio-vasculaires.

2.1. Le sang et l'agrégation érythrocytaire : définitions

On peut distinguer trois types de cellules en suspension dans le plasma : les hématies, les leucocytes et les plaquettes (Figure I-12 a) [Vander et al., 1994]. Chacune de ces

composantes a un rôle bien défini : les hématies (en rouge) sont chargées du transport de l'oxygène vers les tissus et de l'élimination du dioxyde de carbone; les leucocytes (en jaune) sont les cellules actives du système immunitaire; enfin les plaquettes (en vert) sont les acteurs principaux dans la chaîne de coagulation du sang. Les proportions volumiques de ces différents composants du sang sont de l'ordre de 1 à 2% de leucocytes et de plaquettes, 40 à 45% d'hématies et le reste en plasma (Figure I-12 b). Le pourcentage d'hématies est nommé hématocrite (H). Les hématies, qui nous intéressent plus

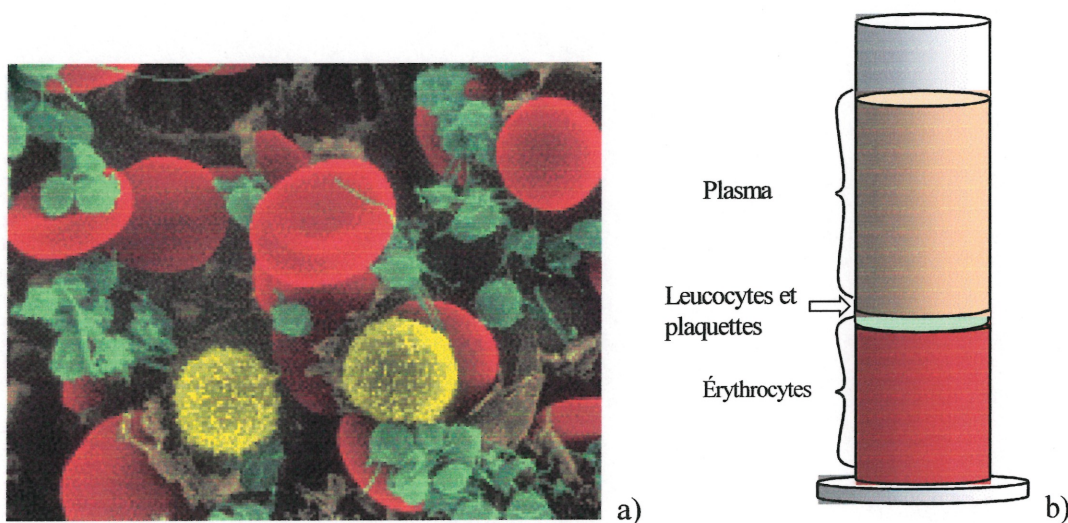


Figure I-12 : a) Les différents constituants du sang vus au microscope électronique

b) Composition du sang total après centrifugation.

particulièrement dans ce travail, sont de petites particules de forme biconcaves et déformables. On les appelle aussi érythrocytes ou globules rouges. Elles mesurent entre 5 et 7 μm de diamètre et environ 2 μm dans leur partie la plus épaisse. L'agrégation des hématies en suspension dans le plasma est un phénomène connu depuis plus de 300 ans.

La première description fut rapportée par Anthony Van Leeuwenhoek dans une lettre au Royal Society en 1699. Il décrivait alors une coagulation puis une décoagulation des hématies chez le têtard, au niveau de la queue. C'est avec Fahraeus en 1929 que le phénomène de l'agrégation érythrocytaire fut décrit comme un accolement des hématies les unes aux autres pour former des rouleaux. On distingue deux types d'amas de globules rouges, les agglutinations et les agrégats. L'agglutination est la formation d'amas d'hématies non réversibles ayant pour conséquence une obstruction du système sanguin au niveau des artérioles ou capillaires. Les agrégats sont au contraire des amas érythrocytaires réversibles, résultat de la coexistence de forces agrégeantes et désagrégeantes (définitions proposées au troisième Congrès International de Rhéologie à Bad Oeynhausen, Allemagne, 1958).

Depuis, l'agrégation érythrocytaire a fait l'objet de beaucoup d'études, souvent regroupées dans le domaine de l'hémorhéologie. Il peut être surprenant de constater que les mécanismes exacts à la base de ce phénomène restent encore mal connus.

2.2. Principe d'agrégation érythrocytaire

La formation des rouleaux d'hématies (Figure I-13) est régie par des interactions répulsives et attractives de type mécanique, chimique et électrostatique. Chaque type de liaison peut avoir des effets agrégeants ou désagrégeant en fonction des interactions

physico-chimiques avec le milieu. Ainsi, les forces de cisaillement élevées sont

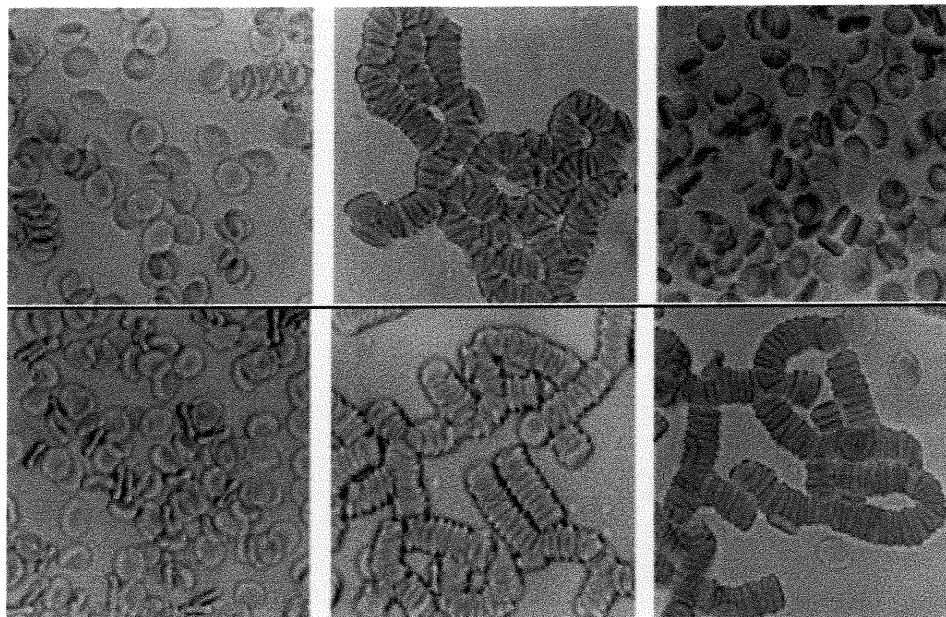


Figure I-13 : Exemples de différentes formes d'agrégats, [Fatkin, 1997].

habituellement associées à la désagrégation (effets développés dans la section 2.3), tout comme les forces stériques et électrostatiques associées aux charges négatives à la surface du globule rouge [Casas-Vásquez, 1990]. Les forces physico-chimiques font référence aux propriétés chimiques et physiques des composantes du plasma. Les macromolécules plasmatiques, comme le fibrinogène, jouent un rôle primordial dans l'agrégation érythrocytaire. Cependant, deux théories s'affrontent pour expliquer les mécanismes impliqués dans ce phénomène.

La première théorie, prédominante depuis plus de trente ans, est l'adsorption [Merill et al., 1966] (Figure I-14). Selon cette théorie, les macromolécules adsorbées à la surface des hématies se combineraient pour former des liens solides entre ces derniers

[Chien and Jam, 1973 ; Brooks, 1973a, 1973b]. Les macromolécules libres en surface seraient, quant à elles, expulsées de cette zone de contact.

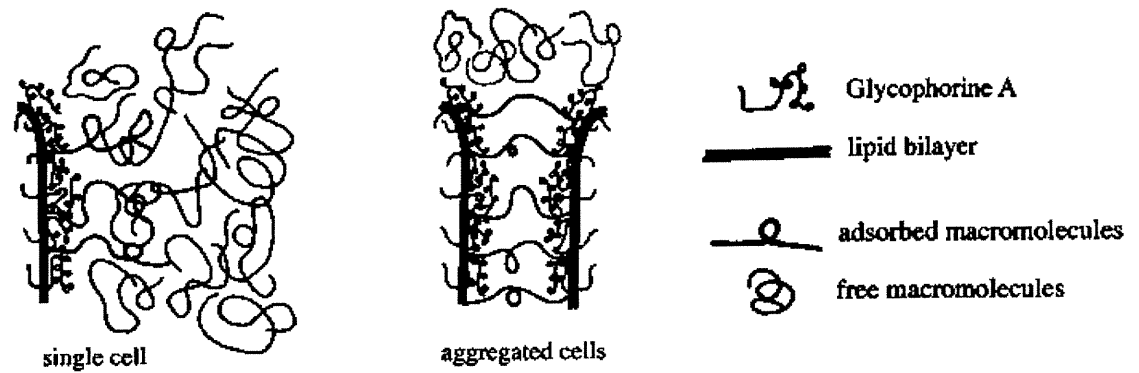


Figure I-14 : Principe de la théorie de l'adsorption (adapté de Bäumlér, 1999).

La deuxième théorie, qui refait surface après plus de trente ans d'oubli, est la déplétion [Asakura et Osawa, 1954] (Figure I-15). Selon cette théorie, ce serait l'expulsion des macromolécules de la zone inter-hématie qui créerait une dépression osmotique suffisamment forte pour maintenir les érythrocytes liés entre eux [Bäumlér et al., 1991; Brooks, 1973a].

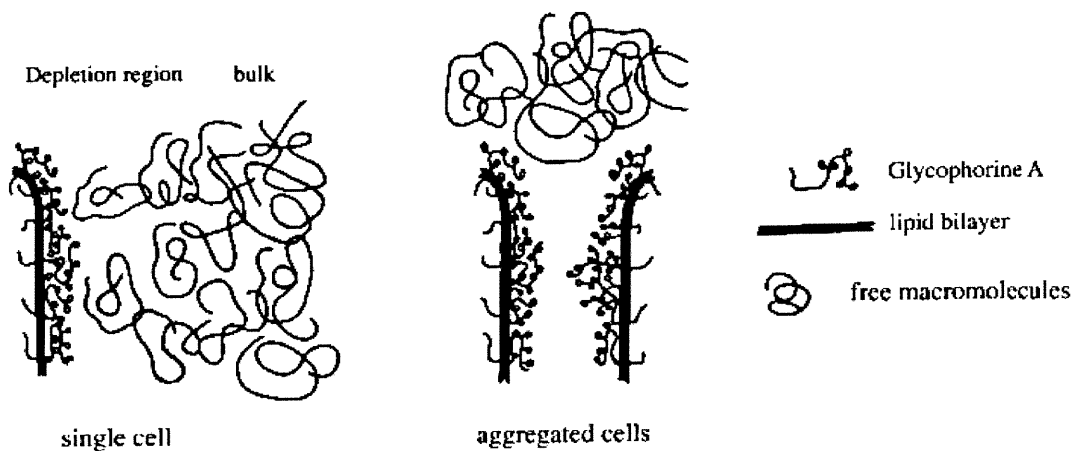


Figure I-15 : Principe de la théorie de la déplétion (adapté de Bäumlér et al. , 1999).

Depuis des années, l'agrégation érythrocytaire est un phénomène que l'on cherche à mesurer cliniquement à cause de ses conséquences physiologiques. On peut constater que l'agrégation érythrocytaire est fortement présente chez les mammifères actifs comme le chien ou le cheval alors qu'il est presque inexistant chez les mammifères sédentaires comme la vache [Popel et al., 1994]. Cette remarque peut suggérer une contribution positive de l'agrégation érythrocytaire aux fonctions homéostatiques et aux variations de la résistance veineuse dans les muscles squelettiques en concordance avec le flux sanguin présent [Bishop et al., 2001]. Toutefois, il semble que la capacité du sang à former des agrégats trop facilement (hyperagrégation) soit en relation avec les maladies cardiovasculaires [Junker et al., 1998; Kesmarky et al., 1998, Lee et al., 1998] et les problèmes d'hypertension [Letcher et al., 1981,1983].

Dans le but de quantifier ce phénomène, l'étude de l'agrégation érythrocytaire a comme objectif général de mesurer, par un ou plusieurs paramètres, la taille des agrégats et l'agrégabilité du sang dans le système sanguin chez un patient donné. Les méthodes proposées utilisent soit des approches d'étude statique, soit des approches d'étude dynamique. Parmi elles, on trouve des méthodes de mesure directe, par observation microscopique, des méthodes de mesure basées sur le temps de sédimentation, des méthodes par mesure relative de viscosité et des techniques optiques basées sur des phénomènes d'atténuation ou de diffraction de lumière par les hématies. Mais rares sont les dispositifs développés pour faire des mesures in-vivo de ce phénomène, toutes ou presque sont des mesures in-vitro nécessitant une prise de sang et l'utilisation d'anticoagulant.

2.3. Caractéristiques mécaniques du sang et agrégation érythrocytaire

L'analyse et la mesure des caractéristiques mécaniques du sang est un domaine d'étude nommé biorhéologie. Le sang est un tissu liquide composé d'un fluide (le plasma) et de particules en suspension (hématies, leucocytes, plaquettes...). Ses caractéristiques rhéologiques dépendent donc à la fois des caractéristiques du plasma, des caractéristiques des éléments suspendus, de leurs interactions et de leurs proportions relatives.

Les différences de vitesses en fonction de la position radiale que l'on observe dans un écoulement cylindrique (nommée gradient de vitesse), exercent des forces de cisaillement entre les différentes couches du fluide (Figure I-16). Ces forces de

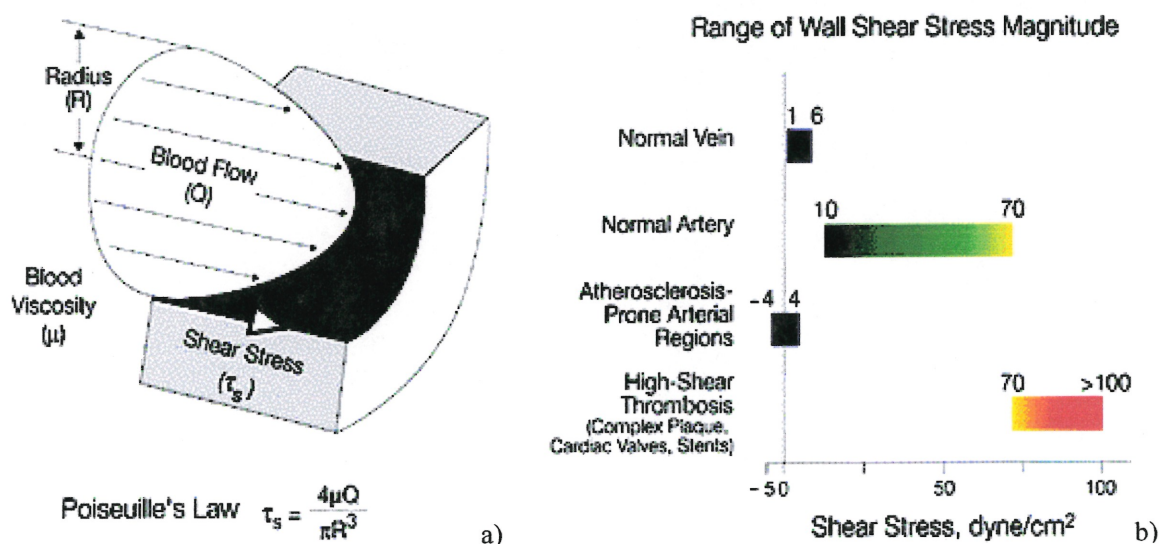


Figure I-16 : a) Forces de cisaillement τ_s , dans un vaisseau sanguin avec un profil de vitesse parabolique (loi de Poiseuille). b) Echelle de forces de cisaillement dans le corps humain, [Malek, 1999].

cisaillement sont les principales causes de désagrégation érythrocytaire. L'agrégation érythrocytaire est donc souvent étudiée dans des conditions variables de taux de cisaillement.

Chien et al. montrèrent [1970, 1973 et 1978] aussi que les caractéristiques rhéologiques non-Newtoniennes du sang étaient fortement liées à la capacité des hématies à se déformer et à s'agréger. Ainsi, dans un milieu non agrégeant, si l'enveloppe des hématies est plus rigide [Stoltz et Donner, 1987; Suzuki et al., 1996], on constate une invariance de la viscosité en fonction du taux de cisaillement (Figure I-17, HA), alors

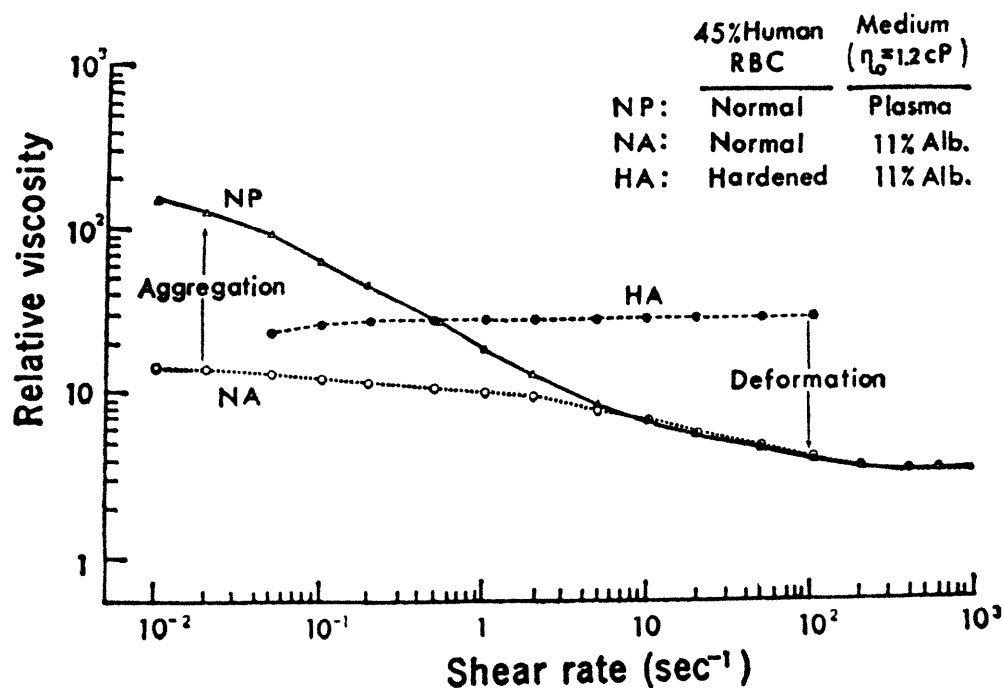


Figure I-17 : Courbes exprimant la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour des hématies en suspension dans du plasma (NP), des hématies rigidifiées (HA) et des hématies dans une solution non agrégeante (NA) d'albumine 11%,

[Chien, 1970].

que pour des hématies normales, la viscosité baisse avec l'augmentation des forces de cisaillement (Figure I-17 , NA). Toutefois la rigidité des hématies n'est pas le seul facteur de variation des caractéristiques rhéologique du sang. Le phénomène de l'agrégation érythrocytaire a aussi un grand rôle dans la viscosité apparente du sang. Dans des conditions de faibles taux de cisaillements, on constate une augmentation de l'agrégation érythrocytaire dans le sang total, qui a pour conséquence une augmentation de la viscosité sanguine (Figure I-17, NP).

On peut aussi illustrer les relations entre la viscosité et les forces de cisaillement en tenant compte spécifiquement du niveau d'agrégation érythrocytaire. Lacombe et Lelièvre [1981] montrèrent ces relations dans un graphe représentant la viscosité en fonction du taux de cisaillement (Figure I-18). Dans cette figure, η est la viscosité, $\eta(t)$ est la viscosité en fonction du temps suite à l'application d'un cisaillement sur du sang au repos et $\dot{\gamma}$ est le taux de cisaillement. On remarque que pour des taux de cisaillements forts (supérieur à 10 s^{-1}), le sang tend à être désagrégé et à donner un fluide peu visqueux, alors que si on diminue le taux de cisaillement, les hématies s'arrangent peu à peu en agrégats, souvent sous forme de rouleaux dans un premier temps, ce qui entraîne une viscosité augmentée du fluide. De même, on peut remarquer qu'à un cisaillement donné, la viscosité du sang n'est pas constante en fonction du temps. Les petits graphiques de la figure I-18 montrent la présence d'une phase de transition entre le sang au repos et le sang mis en mouvement à un taux de cisaillement donné sauf pour les hauts taux de cisaillement. En fonction de l'amplitude de l'échelon de cisaillement appliqué au sang, celui-ci va réagir de différentes manières illustrant une de ses trois caractéristiques

rhéologiques propres : viscoélastique dominant, élastothixotrope dominant et newtonien.

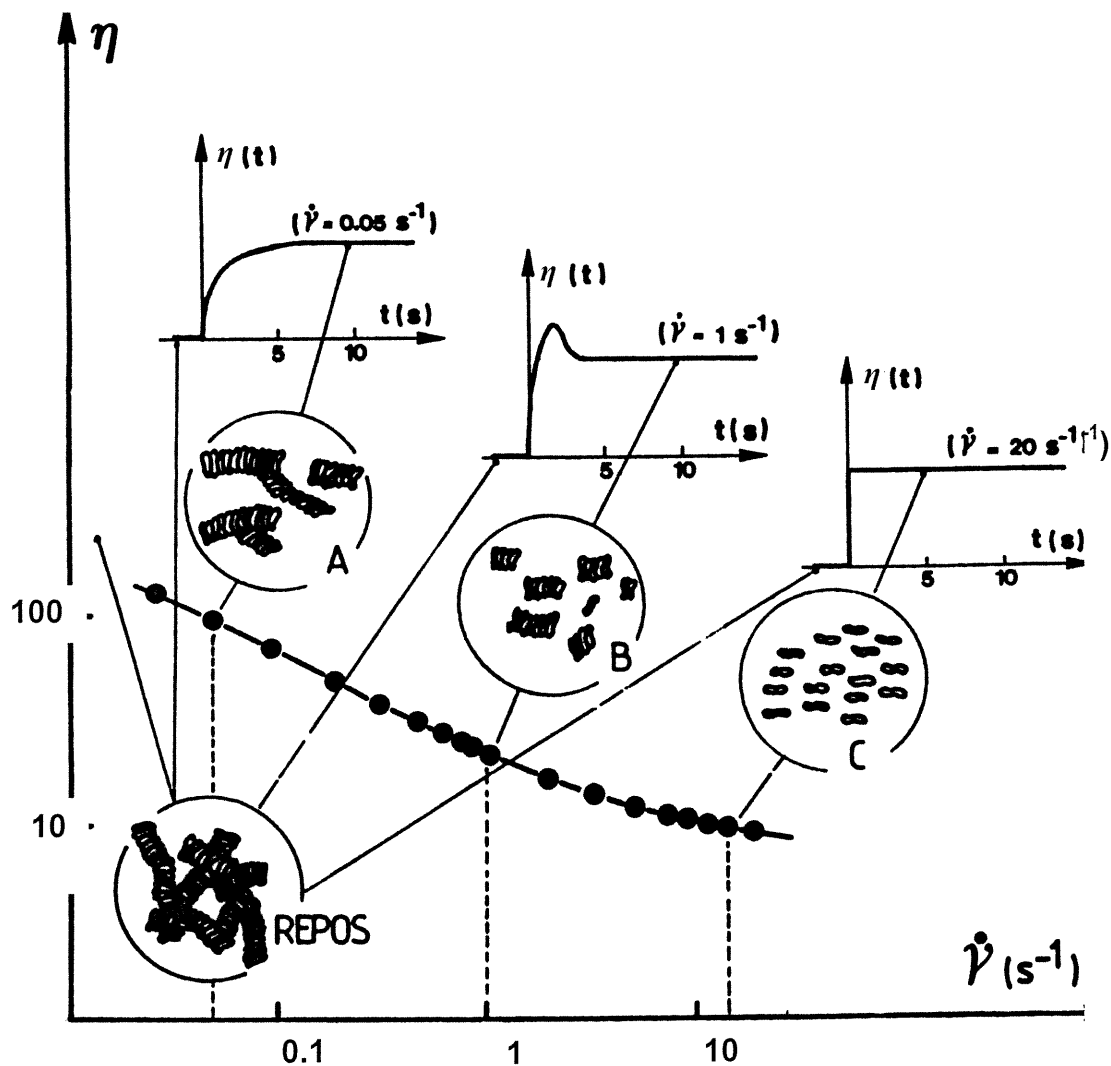


Figure I-18 : Illustration de la relation entre le taux d'agrégation (repos, A, B et C),

la viscosité ($\eta(t)$) et le taux de cisaillement moyen ($\dot{\gamma}$) [Lacombe et Lelièvre, 1981].

Quand l'échelon de cisaillement est faible ($\dot{\gamma} = 0.05$ s⁻¹), c'est le comportement viscoélastique du sang qui domine. On constate alors qu'après un temps de transition, la viscosité se stabilise lentement à une valeur donnée ($\eta \approx 100$ centipoises, cP). Ceci s'explique par les trop faibles forces de cisaillement en jeu, insuffisantes pour dissocier le

réseau de rouleaux d'hématies. Si l'échelon de cisaillement est plus important ($\gamma = 1 \text{ s}^{-1}$), on observe le comportement élastothixotrope dominant du sang. Il s'agit alors d'une transition montrant une augmentation de la viscosité au début du processus de désagrégation suivit d'un palier de viscosité stable plus faible ($\eta \approx 15 \text{ cP}$) que pour $\gamma = 0.05 \text{ s}^{-1}$. Ce comportement correspond à la cinétique de désagrégation des hématies en de plus petits rouleaux. Enfin pour un échelon de cisaillement plus fort ($\gamma = 20 \text{ s}^{-1}$), les forces de cisaillement sont assez fortes pour dissocier presque instantanément les agrégats, ce qui a pour conséquence une absence de période transitoire et une viscosité de l'ordre de $\eta \approx 10 \text{ cP}$. Il s'agit alors de la zone de réponse newtonienne du sang. Ces variations de viscosités expriment bien le temps nécessaire aux hématies pour former les agrégats stables à un taux de cisaillement imposé et confirme aussi le rôle de la taille et de la forme des agrégats dans les caractéristiques rhéologiques du sang.

2.4. Facteurs physiologiques et pathologiques influençant l'agrégation érythrocytaire

Outre les forces de cisaillement et la dureté des hématies, la littérature scientifique fait état de nombreux autres facteurs modifiant le phénomène d'agrégation. Ainsi, on peut définir deux catégories, l'une concernant les caractéristiques intrinsèques des hématies et une autre concernant les facteurs physiologiques et pathologiques. Les facteurs intrinsèques aux hématies affectant l'agrégation comprennent : la forme des hématies, leur charge électrique de surface, la constitution de leur membrane [Irimajiri et al., 1996; Meiselman et al., 1999; Sabolovic et al., 2000] et, comme vu précédemment, leur rigidité. Au titre des facteurs physiologiques on retrouve : l'âge [Demiroglu et al., 1997a;

Hadengue et al., 1998], le sexe [Pignon et al. , 1994], le niveau hormonal [Pignon et al., 1994; Peyreigne et al. , 1999], les concentrations de macromolécules plasmatiques [Armstrong et al., 1997], et autres molécules comme l'alcool [Mesquita et al., 1999; Nagda et More, 1998] ou certains produits pharmaceutiques comme l'aspirine [Bilto, 1999; Bozzo et al., 1996] dans le plasma. Enfin, des corrélations ont été démontrées entre l'hyper-agrégation érythrocytaire et des pathologies comme l'hyperlipidémie [Martinez et al., 1998a; Vaya et al., 1998], le diabète [Caimi et al., 2000; Kolosova et al., 1997; Martinez et al., 1998b], l'hypertension [Cicco et Pirrelli, 1999; London ,1997], l'obésité [Le Devehat et al., 1992; Poggi et al., 1994; Valensi et al., 1996], certains cancers [Khan et al., 1995; Miller et Heilmann, 1989; Novitskii et al., 1999], l'athérosclérose [Caimi et al., 2000], la thrombose [Demiroglu, 1997b] et les maladies coronariennes [Demiroglu et al., 1996].

2.5. Autres paramètres influençant l'agrégation érythrocytaire

À cette énumération non exhaustive des causes possibles de variation de la viscosité du sang humain et de l'agrégation érythrocytaire, il faut rajouter une remarque concernant d'autres types de sang. En effet, de nombreuses recherches ont montré des écarts prononcés entre les caractéristiques rhéologique de différents mammifères tels que le cheval, le rat, le lapin, le cochon d'Inde et celui de l'homme [Baskurt et al., 1997 & 2000]. Weng et al. [1996] effectuèrent une étude comparative du sang de cochon, de cheval, de mouton et de veau à l'aide d'un agrégamètre laser basé sur les caractéristiques de diffusion de la lumière dans un écoulement de type Couette (Cf. Tableau I-1). Les paramètres d'agrégation donnés sont le temps d'agrégation primaire (t_A), le temps

d'agrégation final (tF), l'index de cinétique moyen à 10 secondes (SIO), le seuil de dissociation partiel (γD), le seuil de dissociation totale (γS), l'index de structure (IS) et

	Cheval (n=12)	Porc (n=22)	Humain (n=19)	Mouton (n=10)	Veau (n=10)
tA (s)	1.5 ± 0.1	1.8 ± 0.2	2.9 ± 0.8	N/A	N/A
tF (s)	7 ± 1	13 ± 3	25 ± 5	58 ± 15	64 ± 10
SIO	39 ± 1	29 ± 3	23 ± 3	N/A	N/A
γD (s-1)	N/A	46 ± 14	49 ± 4	18 ± 6	23 ± 13
γS (s-1)	N/A	135 ± 30	119 ± 18	30 ± 24	27 ± 16
IS	0.52 ± 0.01	0.58 ± 0.02	0.58 ± 0.02	0.93 ± 0.06	0.95 ± 0.01
Ht (1/1)	0.35 ± 0.05	0.41 ± 0.02	0.44 ± 0.05	0.37 ± 0.04	0.34 ± 0.02

Tableau I-1 : Indices d'agrégation moyenne (\pm écart-type) pour différentes espèces de mammifères à 37° C (adapté de Weng et al, 1996).

l'hématocrite (Ht). Cet article donne notamment une bonne idée des valeurs normales d'agrégation et permet de situer l'être humain parmi les autres espèces. La définition des paramètres du tableau I-1 se trouvent dans l'article de Weng et al. [1996].

L'hématocrite est aussi un paramètre influençant fortement les caractéristiques rhéologiques du sang. Brooks et al. [1970] montre ces variations dans une succession de mesures à des hématocrites allant de 8.25 à 67.4 %. Il apparaît que plus l'hématocrite du sang est élevé, plus le sang est visqueux (Figure I-19) pour un taux de cisaillement identique et quel que soit le milieu, agréant ou non.

D'autres paramètres externes comme la température peuvent avoir une influence sur la viscosité sanguine et l'agrégation érythrocytaire [Urbanova, 1996]. Il apparaît que la viscosité du sang diminue avec la température du fluide.

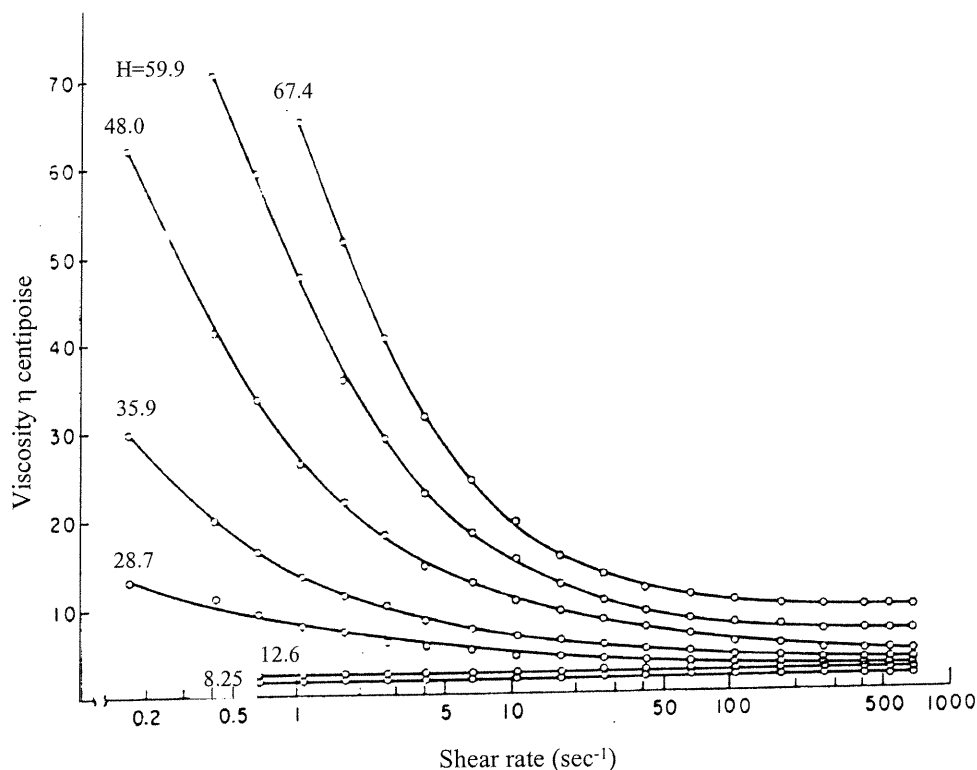


Figure I-19 : Variation de la viscosité en fonction de l'hématocrite, [Brooks, 1970].

3. Applications des ultrasons aux mesures sanguines

3.1. Mesure des flux sanguins

Une des techniques les plus utilisées pour mesurer des vitesses de flux sanguin, de manière non-invasive, est l'utilisation des ultrasons en mode Doppler. L'effet Doppler, décrit pour la première fois en 1842 par J.C. Doppler (Figure I-20), consiste en une dilatation ou une compression de l'onde réfléchiée par un objet en mouvement [White, 1982]. Si l'objet réflecteur s'approche de la source émettrice, les ondes réfléchies sont compressées et parviennent au récepteur avec une fréquence plus élevée. En revanche, si

l'objet réflecteur s'éloigne de la source émettrice, les ondes réfléchies sont dilatées et reviennent à l'émetteur avec une fréquence plus basse.

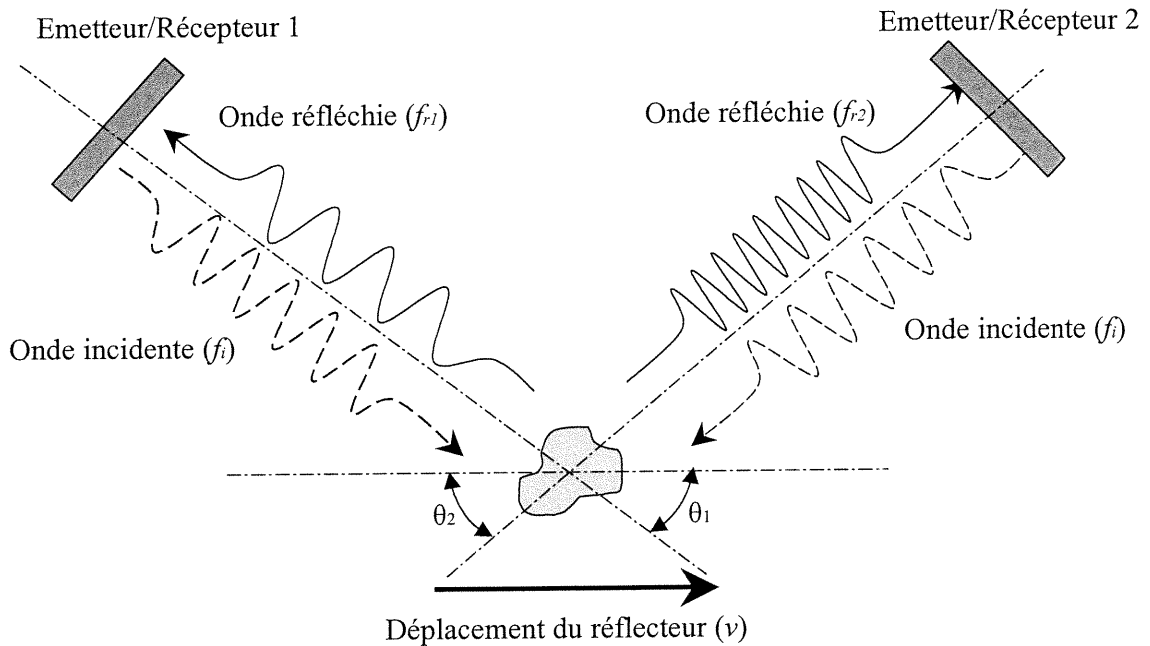


Figure I-20 : Illustration de l'effet Doppler.

Ce n'est qu'en 1959 que Satomura introduisit cette technique dans le domaine médical. Le décalage fréquentiel (f_d) est fonction de la vitesse du réflecteur (v) ainsi que de l'angle d'insonification (θ) entre la trajectoire du réflecteur et la trajectoire de l'onde incidente:

$$f_d = f_r - f_i = 2 f_i \frac{v \cos \theta}{c} \quad (1.23)$$

où f_i est la fréquence de l'onde incidente, f_r la fréquence de l'onde réfléchie et c la vitesse du son dans le milieu. Les paramètres f_i , f_r , c et θ peuvent être mesurés ou estimés, ce qui

permet de transformer l'équation (1.23) pour obtenir directement la vitesse du réflecteur.

$$\text{Ainsi, } v = c \frac{f_i - f_t}{2 f_i \cos \theta} = K \frac{f_d}{\cos \theta} \quad . \quad (1.24)$$

Il est possible d'utiliser deux techniques de mesure : le Doppler pulsé et le Doppler continu. Chacun de ces deux modes offre des avantages et des inconvénients. Le Doppler pulsé utilise le même transducteur comme émetteur et récepteur, il faut donc une pause d'écoute entre chaque émission d'onde. L'intérêt de ce système est de pouvoir mesurer des vitesses dans un petit volume placé n'importe où le long du faisceau d'onde, mais il présente le désavantage d'être limité dans l'échelle des vitesses mesurables. Le Doppler continu, quant à lui, utilise deux transducteurs, l'un et l'autre respectivement émetteur et récepteur en continu. Cette technique a comme atout de ne pas être limité dans l'échelle des vitesses mesurées, mais ne permet pas de localiser le volume de mesure dans l'espace. L'effet Doppler décrit ci-dessus est un outil fort utile pour effectuer des mesures de vitesse sanguine, néanmoins il existe une erreur d'estimation de la vitesse des réflecteurs en fonction de l'angle θ [Gill, 1985] dû à l'effet de la réfraction de l'interface des milieux [Kremkau, 1990 ; Christopher et al., 1995].

L'effet Doppler n'est pas la seule technique de mesure des flux accessibles par les ultrasons. Une autre technique basée sur la décorrélation du signal rétrodiffusé permet aussi d'accéder à ces données [Harrington et al., 1996]. Durant leur mouvement dans le flux sanguin, les hématies vont se déplacer plus ou moins vite selon la vitesse d'écoulement. C'est donc la rapidité de décorrélation temporelle qui peut alors être relié mathématiquement à la vitesse des particules.

3.2. Caractérisation du sang

Les caractéristiques du sang sont étudiées depuis plusieurs années par des techniques in-vitro assez variées, mais les études in-vivo restent le domaine presque exclusif de l'imagerie ultrasonore.

a. Théorie de propagation de l'onde acoustique

Comme vu dans la section I-1.4 la propagation de l'onde ultrasonore et sa réflexion sont fonctions de la densité (ρ) et de la compressibilité (k) du milieu (Cf. équation 1.6). La théorie de la propagation des ondes acoustiques est fondée sur trois équations fondamentales : l'équation de continuité, l'équation d'Euler et l'équation d'état. De ces trois équations découle l'équation d'onde acoustique linéarisée :

$$\operatorname{div}\left(\frac{1}{\rho}\nabla P\right) - k\frac{\partial^2 P}{\partial t^2} = 0 \quad (1.25)$$

où div est l'opérateur divergence, P est l'onde de pression et t le temps. La constitution de cette équation est détaillée dans la littérature [Shung et Thieme, 1993].

Dans un milieu composé de particules réfléchives de petites tailles comparées à la longueur d'onde, l'onde réfléchie possède des propriétés particulières. Le phénomène est alors appelé rétrodiffusion de type Rayleigh. Quand le faisceau ultrasonore rencontre une particule de petite taille, celle-ci diffuse l'onde incidente dans toutes les directions. On nomme alors section de rétrodiffusion différentielle, la puissance rétrodiffusée par un seul diffuseur par angle solide par unité d'intensité de l'onde incidente. Dans le cas de la rétrodiffusion de type Rayleigh, ce coefficient est proportionnel au carré du volume du diffuseur ainsi qu'à la quatrième puissance de la fréquence de l'onde incidente. La section

de rétrodiffusion d'un diffuseur peut être calculée à partir de l'équation d'onde acoustique par deux méthodes.

La première repose sur les séries de Bessel. L'hypothèse de simplification considère l'obstacle comme une sphère de rayon α . Soit la distance entre le point d'observation et la sphère R , et soit le nombre d'onde $n=2\pi/\lambda$, pour $nR \gg 1$ et $n\alpha \ll 1$, la section de rétrodiffusion différentielle σ_d peut alors s'écrire sous la forme [Shung et Thieme, 1993] :

$$\sigma_d(\theta_d) = \frac{V_s^2 \pi^2}{\lambda^4} \left[\frac{k_e - k_0}{k_0} + \frac{3(\rho_e - \rho_0)}{2\rho_e + \rho_0} \cos \theta_d \right]^2 \quad (1.26)$$

où θ_d est l'angle entre l'onde incidente et l'onde réfléchie, V_s est le volume du diffuseur (soit $V_s = 4\pi\alpha^3/3$), λ est la longueur d'onde, k_e et k_0 sont respectivement la compressibilité de la particule et de son milieu environnant et ρ_e et ρ_0 sont leurs densités respectives.

La seconde méthode utilise les fonctions de Green pour décrire l'onde de pression diffusée par un milieu acoustique continu et faiblement inhomogène. Cette méthode présente l'intérêt d'être applicable à des diffuseurs de formes arbitraires. Plusieurs hypothèses sont utilisées dans ce cas : les inhomogénéités ne modifient pas l'onde incidente; l'onde est la même dans tout le milieu; le signal rétrodiffusé n'interagit pas avec le milieu. Ces conditions forment la première approximation de Born et permettent de simplifier le calcul. On obtient donc l'expression suivante de la section de rétrodiffusion différentielle [Shung et Thieme, 1993] :

$$\sigma_d(\theta_d) = \frac{V_s^2 \pi^2}{\lambda^4} \left[\frac{k_e - k_0}{k_0} + \frac{\rho_e - \rho_0}{\rho_e} \cos \theta_d \right]^2 \quad (1.27)$$

Étant donné la taille des hématies (7 μm de diamètre) par rapport à la longueur d'onde des ultrasons (154 μm dans le sang à 10 MHz), cette dernière formulation est tout à fait appropriée pour la modélisation des signaux rétrodiffusés par le sang. Il s'agit d'ailleurs de la forme la plus utilisée dans la littérature pour modéliser le comportement des ultrasons rétrodiffusés par le sang.

b. Puissance du signal rétrodiffusé par le sang

À partir du signal rétrodiffusé par le sang, plusieurs possibilités nous sont offertes en traitement du signal pour accéder aux informations sur la structure et la composition du milieu. De nombreux travaux montrent l'intérêt de la puissance du signal rétrodiffusé ainsi que des facteurs la modifiant tels que le volume des réflecteurs, l'hématocrite, le type de flux, l'orientation des réflecteurs ou la fréquence d'insonification.

Borders et al. [1978] montrèrent l'influence de la taille des réflecteurs sur la puissance rétrodiffusée. Cette expérience, utilisant du sang non agrégeant de diverses espèces, montra une relation avec le carré du volume des hématies pour un faible hématocrite. Ces résultats concordent avec les formulations du coefficient de rétrodiffusion (*BSC*) décrit par Mo et Cobbold. [1992]

$$BSC = \frac{\pi^2}{\lambda^4} \left[\frac{k_e - k_0}{k_0} + \frac{\rho_e - \rho_0}{\rho_e} \right]^2 V_s^2 (1/\Omega_e) \overline{\text{var}(n)} \quad (1.28)$$

où Ω_e est le volume de sang considéré et $\overline{\text{var}(n)}$ est la variance du nombre de diffuseur dans des sous volumes formant Ω_e .

L'hématocrite est aussi un facteur influençant fortement la puissance rétrodiffusée. Les premières études faites à ce sujet suggéraient injustement une relation linéaire entre

les deux paramètres [Shung et al., 1976, Borders et al., 1978], valide pour un écoulement laminaire stationnaire. Les études qui suivirent montrèrent une augmentation de la puissance rétrodiffusée suivi d'une décroissance avec un maximum à 13 % hématoците pour des flux laminaires et 20% pour des flux turbulents [Yuan et Shung, 1988a, Shung et al., 1984, 1992] dans le cas de sangs peu ou pas agrégeants. Le maximum de puissance en fonction de l'hématoците est donc aussi fonction des conditions d'écoulement et d'agrégation. De récents résultats in vivo confirment ces valeurs [Wang et Shung, 2001]. Comme nous pouvons le constater (Figure I-21), le type d'écoulement influence la puissance rétrodiffusée dans le cas de solution non agrégeante. En comparant

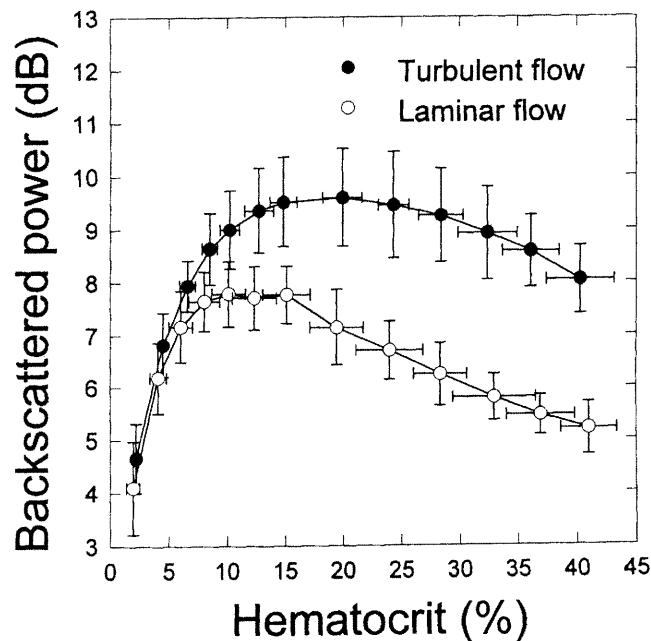


Figure I-21 : Puissance rétrodiffusée par des hématies en suspension dans une solution saline dans deux conditions de flux, [Shung et al., 1992].

un flux laminaire et un flux turbulent, on constate que la puissance réfléchie augmente pour le second cas [Bascom et Cobbold, 1995 ; Mo et Cobbold, 1992 ; Twersky, 1987].

Chacun tente d'expliquer ce phénomène encore mal compris par diverses approches, mais tous s'accordent sur le fait que les turbulences favorisent une non-corrélation spatiale et temporelle des hématies ou des agrégats, ce qui entraînerait l'augmentation de la puissance rétrodiffusée.

Dans certaines conditions de flux laminaire, l'angle de mesure du signal rétrodiffusé par rapport à l'axe d'écoulement peut avoir aussi un effet notable. Allard et al. [1996] et Qin et al. [1998] remarquèrent ce phénomène dans deux expériences distinctes. Ils montrèrent que les maximums de puissance reçue étaient atteints pour des angles de 45° et 60° par rapport à l'axe d'écoulement. Une des hypothèses proposées pour expliquer ces résultats est l'orientation privilégiée des agrégats et hématies au centre de l'écoulement, qui présentent alors une section de rétrodiffusion plus importante. Il faut toutefois noter que ce phénomène n'apparaît que pour un certain intervalle de force de cisaillement et de débit.

Enfin, la puissance rétrodiffusée peut être aussi influencée par la fréquence ultrasonore utilisée. Yuan et Shung [1988b] montrèrent, pour du sang de bovin non agrégeant dans des conditions d'écoulement laminaires, que la dépendance en fréquence de la puissance rétrodiffusée suit une loi proche de la quatrième puissance de la fréquence, telle que décrite pour des réflecteurs de type Rayleigh. Cette relation fut confirmée par Kuo et Shung [1994] pour des fréquences allant jusqu'à 30 MHz. Il apparaît néanmoins, pour du sang porcin total à bas taux de cisaillement, que la dépendance en fréquence ne suit plus une loi selon la quatrième puissance, mais selon une puissance légèrement inférieure [Yuan et Shung, 1988b]. Cette dernière remarque

montre une des limites des modèles lorsque la taille des particules, ou agrégats, devient assez grande devant la longueur d'onde incidente. Cette remarque est d'autant plus vraie que la fréquence ultrasonore est grande, donc que la longueur d'onde est courte.

c. Études statistiques du signal rétrodiffusé par le sang

L'étude des propriétés statistiques du signal rétrodiffusé est une voie qui fut développée pour l'étude comparative de tissus humains sains et pathologiques, notamment pour déterminer la présence de tumeurs. En posant des hypothèses telles qu'une longueur d'onde plus grande que la taille des particules et une absence de réflexions multiples (conditions de Born), un certain nombre de distributions statistiques peuvent être utilisées comme description du signal rétrodiffusé ou de son enveloppe.

Dans un premier temps, on peut décrire le signal RF provenant d'un milieu composé d'une distribution de petites particules par l'équation [Dutt et Greenleaf, 1994] :

$$z(t) = x(t)\cos(\omega_0 t) + y(t)\sin(\omega_0 t) \quad (1.29)$$

où ω_0 est la fréquence centrale du transducteur utilisé, et $x(t)$ et $y(t)$ les parties réelles et imaginaires de la somme des échos provenant de chaque réflecteur. Il est généralement accepté que les signaux ultrasonores provenant d'un milieu comportant des réflecteurs uniformément et aléatoirement répartis, donnent des histogrammes de type Gaussien de moyenne nulle pour l'amplitude du signal RF ($z(t)$) et Rayleigh pour l'amplitude de l'enveloppe de ce signal ($A(t)$). De manière explicite on a comme fonction de probabilité

de distribution Gaussienne (P_G) :

$$P_G(x, y) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{\left(-\frac{x^2(t)+y^2(t)}{2\sigma^2}\right)} \quad (1.30)$$

où σ^2 est la variance des distributions Gaussiennes de $x(t)$ et $y(t)$. Si on considère l'enveloppe du signal tel que $A(t) = \sqrt{x^2(t) + y^2(t)}$,

$$(1.31)$$

on obtient une fonction de probabilité de distribution de $A(t)$ de type Rayleigh (P_R) (voir

Figure I-23)

$$P_R(A) = \frac{A e^{-A^2/2\sigma^2}}{\sigma^2} . \quad (1.32)$$

Kuc introduisit en 1986, comme paramètre de caractérisation de tissus sains ou pathologiques, l'utilisation des coefficients statistiques, tel que le coefficient d'aplatissement (K) qui est le quatrième moment statistique normalisé par le carré du second moment :

$$K = \frac{m_4}{(m_2)^2} \quad (1.33)$$

avec

$$m_r = \frac{\sum_{j=0}^{N_p} (x_j - \mu)^r}{N_p} \quad (1.34)$$

où μ est la moyenne des N_p éléments de x_j qui composent la distribution étudiée et r est la puissance du moment choisi (la variance statistique d'une distribution correspond à $r=2$).

Le coefficient d'aplatissement est une description de la forme générale de la distribution (Figure I-22). Pour une distribution Gaussienne, le coefficient d'aplatissement est égal à 3.

Si la distribution étudiée est plus aplatie K va être inférieur à 3, alors que pour une distribution plus pointue K est supérieur à 3. Le coefficient d'aplatissement peut aussi être exprimé à partir du nombre effectif de réflecteurs M exprimé lui-même à partir du nombre réel d'éléments N et du paramètre ζ (équation 1.36). Le paramètre ζ décrit la variabilité de la section de rétrodiffusion des réflecteurs du milieu. On a alors :

$$K = 3 \left(1 + \frac{1}{M} \right) \quad (1.35)$$

où $M = N(\zeta + 1) \quad (1.36)$

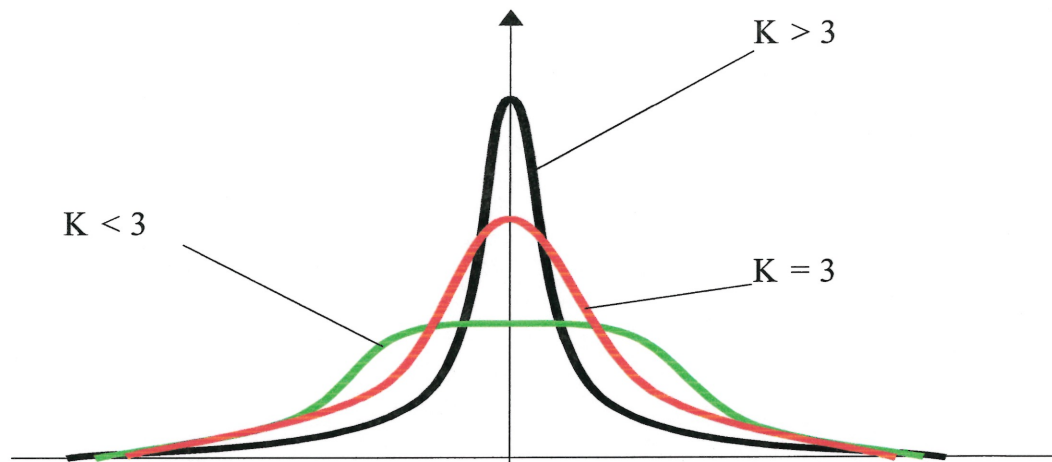


Figure I-22 : Coefficient d'aplatissement K pour différentes formes de distributions de densité.

Un autre paramètre statistique couramment utilisé est le coefficient d'asymétrie (S) décrit par troisième moment statistique (m_3) normalisé par la puissance $3/2$ du deuxième moment (m_2) :

$$S = \frac{m_3}{(m_2)^{3/2}} \quad (1.37)$$

Ce paramètre décrit l'asymétrie d'une distribution par rapport à sa moyenne. Ainsi, dans le cas d'une distribution Gaussienne, S sera nul, alors qu'il sera négatif pour une distribution dont la position du maximum de l'histogramme est inférieure à la moyenne de la distribution, et positif si la position du maximum de l'histogramme est supérieure à la moyenne.

En appliquant la définition de K , Kuc [1986] firent remarquer que les échos provenant de foies sains et pathologiques donnent des histogrammes différents d'une Gaussienne. Les calculs de K sur le signal rétrodiffusé par des foies sains donnèrent une valeur moyenne de 3.01 alors que les foies malades donnèrent une valeur moyenne de 2.67. Cette étude montra aussi la nécessité d'un nombre minimum de points du signal RF pour que l'estimation du coefficient soit significative, ainsi que sa sensibilité aux variations de la forme générale de l'onde incidente (PSF). Une autre étude, plus récente, montra aussi des variations significatives de K en fonction de la position de mesure ultrasonore dans le jet en sortie d'une sténose pour un écoulement stationnaire dans un tube circulaire [Fontaine et al. ,1997]. En amont et à 6 fois le diamètre après la sténose, K est de l'ordre de 3, alors que juste après la réduction de diamètre K augmente jusqu'à 3.5. L'explication avancée pour cette variation fut un effet de regroupement des hématies dans le jet qui modifierait temporairement la section de rétrodiffusion locale. De nombreuses études relatent aussi l'effet de la composition du milieu sur les valeurs du coefficient d'aplatissement calculé sur l'enveloppe du signal rétrodiffusé. Pour une distribution de type Rayleigh (Cf. Figure I-23), telle que rencontrée habituellement pour l'enveloppe du signal, K a une valeur de 2. Dans ce cas, le coefficient d'aplatissement peut être aussi exprimé à partir du nombre effectif de réflecteurs sous la forme :

$$K = 2 \left(1 + \frac{1}{M} \right) \quad . \quad (1.38)$$

Ainsi Narayanan et al. [1994] montrèrent l'influence de la disparité de la taille des réflecteurs et de leur densité. K étant sensible aux variations de forme des distributions, il apparaît qu'avec la diminution de la densité des réflecteurs, on rejoint des conditions pré-

Rayleigh caractérisées par un K grandement supérieur à 2 (parfois même supérieur à 10). De même, Shankar et al. [1993] montrèrent de fortes variations de K entre le signal provenant d'une partie de poumons sains ($K \leq 3.5$) et le signal provenant d'une zone pathologique ($K > 3.5$).

Chen et al. [1994] montrèrent aussi l'influence de la fréquence du transducteur par rapport à la concentration de particules ainsi que l'influence de la zone de mesure par rapport au plan focal. Dans le premier cas, la conclusion fut que l'augmentation de la fréquence rend K plus sensible aux variations de concentration des particules. Pour de faibles concentrations de particules, K est plus élevé à 5 MHz qu'à 3.5 MHz, que ce soit pour un calcul sur l'enveloppe du signal RF que sur le signal lui-même. Si on augmente la concentration des particules, K va alors diminuer jusqu'à des valeurs correspondantes aux distributions Gaussienne ou Rayleigh (se référer aux équations 1.35 et 1.38). Chen et al. montrèrent aussi que plus le calcul de K est fait dans une zone éloignée du plan focal, plus il va diverger des distributions idéales mesurées au foyer. Enfin, il montra que le calcul de K sur le signal RF donnait les mêmes informations que le calcul fait sur l'enveloppe de ce signal.

Les propriétés non-Gaussienne et non-Rayleigh des échos provenant de tissus humains présentant diverses pathologies [Tuthill et al., 1988] indiquèrent que le modèle statistique de type Rayleigh n'est peut-être pas suffisant pour modéliser le signal rétrodiffusé dans son ensemble. Pour combler le manque de précision, un modèle plus général que les distributions Rayleigh, soit la distribution K , fut utilisée pour décrire

l'enveloppe du signal [Molthen et al., 1995 et 1998 ; Narayanan et al., 1994]. La distribution en K est donnée par (Figure I-23) :

$$P_K(A) = \frac{2b}{\Gamma(M)} \left(\frac{bA}{2} \right)^M J_{M-1}(bA) \quad (1.39)$$

où

$$b = \left[\frac{\Gamma(M + 1/2)}{\Gamma(M)} \right] \frac{2\Gamma\left(\frac{3}{2}\right)}{\langle A \rangle} \quad (1.40)$$

$\Gamma(\cdot)$ est la fonction Gamma, M le nombre effectif de réflecteur, b le paramètre d'échelle relatif à la moyenne du carré des sections des réflecteurs, $J_{M-1}(\cdot)$ la fonction de Bessel modifiée à l'ordre M et $\langle \cdot \rangle$ est l'opérateur moment. La distribution K offre l'avantage de regrouper sous une même forme les distributions Rayleigh, lognormale et Gamma seulement par modifications des paramètres. Cette distribution comporte deux paramètres, le nombre effectif de réflecteur (M) et le paramètre d'échelle (b). Ces deux paramètres donnent des informations sur les réflecteurs tels que leur densité, leur variation de taille dans l'échelle considérée, ainsi que leur taille moyenne. La distribution K, bien que plus complète que les précédentes, reste encore insuffisante pour décrire tous les phénomènes rencontrés. L'un de ses gros désavantages est que cette distribution n'est pas assez générale pour permettre de décrire les statistiques d'un signal provenant d'un milieu composé d'éléments inférieurs à la résolution spatiale de l'onde incidente ou périodiquement distribués.

Pour pallier à ce problème, Dutt et Greenleaf [1994] proposèrent l'utilisation d'une distribution K homodyne introduite préalablement par Jakeman [1980]. Cette nouvelle distribution fait à la fois appel à la distribution K mais aussi à la distribution de Rice. Le

modèle de distribution de Rice est une extension du modèle de distribution de Rayleigh auquel est ajouté un élément de cohérence provenant de l'arrangement structuré ou périodique de réflecteurs (Figure I-23). Pour cette distribution, exposée par Rice [1945], le signal RF est décrit sous la forme suivante :

$$z(t) = x(t)\cos(\omega_0 t) + y(t)\sin(\omega_0 t) + s(t)\cos(\omega_0 t + \phi(t)) \quad (1.41)$$

où les deux premiers termes sont similaires à ceux rencontrés dans le modèle de distribution de type Rayleigh (équation 1.29), et le dernier terme ($s(t)$) exprime la partie cohérente du signal. De cette description, on peut tirer l'enveloppe du signal :

$$A(t) = \sqrt{[x(t) + s(t)]^2 + y^2(t)} \quad (1.42)$$

La fonction de probabilité s'écrit alors sous la forme :

$$P_R(A) = \frac{A}{\sigma^2} e^{-[A^2 + s^2]/\sigma^2} J_0\left(\frac{As}{\sigma^2}\right) \quad (1.43)$$

où σ^2 est la variance des deux composantes quadratiques, s est le paramètre de cohérence et $J_0(x)$ est la fonction de Bessel modifiée de premier ordre. Cette distribution fut notamment utilisée par Wagner et al. [1986] et Insana et al. [1986] dans l'étude de taches échographiques ("speckle").

La combinaison de la distribution K et de la distribution de Rice permet d'obtenir une distribution, dite distribution K homodyne (Figure I-23), susceptible de décrire les phénomènes d'échos rencontrés dans un milieu composé de petites particules dispersées aléatoirement. Cette distribution est décrite par :

$$P_{KH}(A) = A \int_{l=0}^{\infty} u \frac{J_0(us) J_0(uA)}{\left(1 + \frac{u^2 \sigma^2}{2M}\right)^M} du \quad (1.44)$$

$$\approx \frac{1}{\Gamma(M)} \left(\frac{A}{s}\right)^{1/2} \sqrt{\frac{2M}{\pi \sigma^2}} \sum_{n=0}^{\infty} \left\{ (-1)^n \frac{\Gamma(n+1/2)}{n! \Gamma(1/2-n)} \left(\frac{\sigma^2}{sAM}\right)^n \left(\frac{M}{2\sigma^2}\right)^{\frac{M+n-1/2}{2}} |s-A|^{M+n-1/2} K_{M+n-1/2} \left(\sqrt{\frac{2M}{\sigma^2}} |s-A|\right) \right\}$$

Cette distribution présente de bons résultats quant à la prédiction de l'uniformité de la distribution spatiale et de la densité, mais son implémentation informatique reste fastidieuse et les paramètres deviennent de moins en moins précis avec l'augmentation de la densité des réflecteurs.

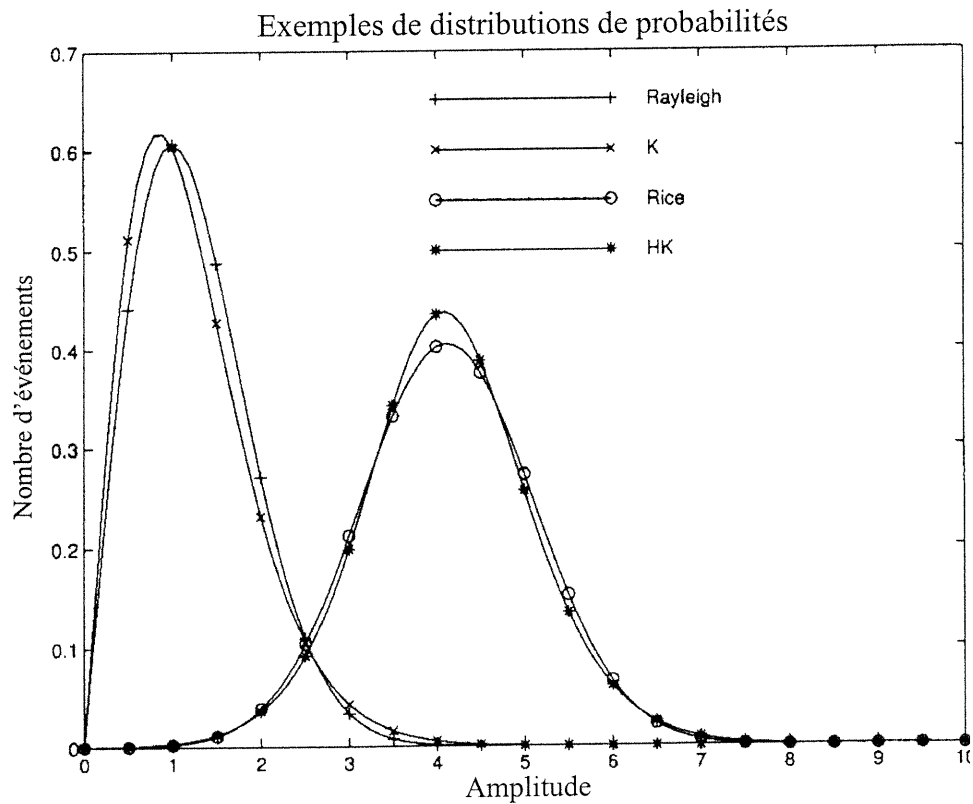


Figure I-23 : Exemples de distributions de Rayleigh, Rice, K et K homodyne (HK), [Cramblitt, 1999].

Une des dernières modélisations de l'enveloppe du signal RF proposée par Shankar et al. [2000] et Dumane et Shankar [2001] utilise la distribution de type Nakagami. Ce type de distribution fut développé pour les systèmes radar [Nakagami 1960], mais peut être étendu à une utilisation dans le domaine des ultrasons. Elle présente l'avantage de regrouper les cas précédemment exposés et d'être facilement programmable. La fonction de probabilité de densité de l'enveloppe du signal est obtenue à partir de la description de l'enveloppe du signal (équation 1.31) :

$$f(r) = \frac{2m^m r^{2m-1}}{\Gamma(m)\Omega^m} e^{(-mr^2/\Omega)} \quad (1.45)$$

où $\Omega = E(A^2)$, (1.46)

$$m = \frac{[E(A^2)]^2}{E[A^2 - E(A^2)]^2} \quad (1.47)$$

et $E(\)$ est l'opérateur d'espérance mathématique. Le paramètre de Nakagami, m , devrait être en théorie toujours supérieur à 1/2, mais il fut montré que dans certaines conditions cette limite inférieure peut être dépassée. Dans son étude, Shankar et al. montrent que le paramètre m , associé à une analyse de phase, semble être sensible à l'homogénéité des réflecteurs constituant le milieu, tout comme à leur densité et à leur répartition relative. Ainsi, pour un milieu composé de petites particules aléatoirement distribuées, m est supérieur à 1 alors que pour un milieu présentant des éléments de cohérence m sera compris entre 0.5 et 1. Pour un milieu composé de grosses particules m sera inférieur à

0.5. De plus, Dumane et Shankar montrent que l'utilisation de plusieurs fréquences sur un même échantillon, suivie d'une étude simultanée des signaux permet une estimation assez précise de la densité des réflecteurs. Il montre aussi que le modèle de simulation donne des résultats moins précis que le calcul direct sur le signal (notés dans l'article m_{eff} et Ω_{eff}).

4. Objectif et hypothèses

L'objectif de ce travail de maîtrise est d'étudier la sensibilité et l'intérêt de certains coefficients statistiques aux variations du degré d'agrégation érythrocytaire. Les coefficients statistiques peuvent être calculés à la fois sur les histogrammes d'amplitude du signal ultrasonore rétrodiffusé mais aussi sur l'enveloppe de ce signal. Dans le présent travail, les deux options seront préconisées pour identifier les différences ou similitudes dans les résultats obtenus.

Comme l'agrégation érythrocytaire modifie l'organisation spatiale des diffuseurs ainsi que leur taille et leur section de rétrodiffusion, ces variations devraient pouvoir être évaluées à partir de paramètres statistiques tels que le coefficient d'aplatissement calculé à partir du signal RF et le paramètre de Nakagami calculé à partir de l'enveloppe de ce signal. La sensibilité de ces paramètres à des modifications de la forme de distribution des signaux provenant de tissus sains et pathologiques, exposés précédemment, motivent cet axe de recherche.

Pour valider cette hypothèse, des simulations numériques de milieu plus ou moins agrégés furent réalisées pour servir de base à la reconstruction du signal ultrasonore rétrodiffusé. De ces signaux simulés, des histogrammes d'amplitude sont construits et

soumis aux divers calculs de caractérisations statistiques mentionnés ci-dessus. Afin de valider les résultats des simulations, des expérimentations furent effectuées sur du sang humain agrégeant et non agrégeant à différentes fréquences d'insonification et dans des conditions d'écoulement spécifiques. L'utilisation de plusieurs fréquences d'insonification a pour but d'évaluer si l'onde incidente est un élément d'optimisation de la réponse des paramètres aux variations de l'agrégation érythrocytaire.

Chapitre II. Simulations numériques

Cette première partie du travail de recherche, effectuée à partir de simulations numériques, a pour objectif de donner les bases et les orientations des travaux expérimentaux qui visaient à caractériser l'agrégation érythrocytaire par ultrasons (Cf. Chapitre III). De nombreux milieux (appelés ici tissus) furent simulés dans le but de reconstruire le signal RF et d'étudier ses propriétés statistiques. La construction numérique du signal rétrodiffusé par des milieux de différentes natures nécessite la modélisation des éléments réflecteurs, des milieux insonifiés et de la réponse impulsionnelle du transducteur.

Les paramètres choisis pour la simulation des différents tissus sont : 1) des diffuseurs non agrégeants à hémocrite croissant, allant de 1 à 45 %, distribués aléatoirement dans le tissu ; 2) une distribution régulière de diffuseurs (simulant une structure cristalline) à hémocrite allant de 0.33 à 65 % ; et 3) des diffuseurs de tailles variables aléatoirement distribués simulant des milieux plus ou moins agrégeants à hémocrite constant de 40 %. Les calculs statistiques ont été effectués pour chaque tissu et quelques exemples types sont montrés dans ce travail.

1. Méthode

1.1. Principe de construction du signal rétrodiffusé

Les simulations réalisées sont basées sur des méthodes adaptées de la littérature et appliquées depuis quelques années au Laboratoire de Génie Biomédical de l'Institut de

Recherches Cliniques de Montréal et au Laboratoire de Biorhéologie et d'Ultrasonographie Médicale du CHUM (Centre Hospitalier de l'Université de Montréal). Plusieurs publications font déjà état de la validité et de la pertinence de ces modèles [Fontaine et al., 1999a, 1999b, 2000, Teh et al., 2000 ; Savéry et al., 2001].

Dans les conditions d'approximation de Born pour un volume de petites particules aléatoirement distribuées, on peut assumer que le signal rétrodiffusé est la somme de la contribution de chaque diffuseur, que l'onde incidente est spatialement invariante dans une petite région et que le phénomène de réflexions multiples est négligeable. En considérant ces hypothèses, on peut modéliser le signal de radio fréquence (RF) reçu par le transducteur ultrasonore suite à la propagation d'une onde selon l'axe y comme [Fontaine et al., 1999a, 1999b] :

$$RF_{3d}(x, y, z) = \frac{\partial^2}{\partial y^2} T_{3d}(x, y, z) \otimes Z_{3d}(x, y, z) \quad (2.1)$$

où $T_{3d}(x, y, z)$ représente la réponse impulsionnelle du transducteur dans l'espace et $Z_{3d}(x, y, z)$ décrit la distribution d'impédance acoustique du système. Le signal RF est donc la dérivée seconde de la PSF convoluée par la distribution des impédances acoustique du milieu. Tel que décrit dans le premier chapitre, l'interface qui est la source de la rétrodiffusion est la frontière entre deux milieux d'impédances acoustiques différentes. La dérivée seconde de l'équation 2.1 permet de considérer l'enveloppe du diffuseur plutôt que sa globalité. L'onde se propageant selon l'axe y rencontre deux interfaces, plasma-cellule et cellule-plasma, d'où l'utilisation d'une dérivée seconde pour décrire cette double diffusion.

Si on considère une propagation de l'onde selon le plan (x,y) , on peut réécrire l'équation 2.1 sous la forme :

$$RF_{2d} = RF_{3d}(x, y, 0) = \frac{\partial^2}{\partial y^2} \iiint Z_{3d}(u, v, w) T_{3d}(x-u, y-v, -w) du dv dw . \quad (2.2)$$

Si, de plus, on considère que la PSF est séparable (la fonction utilisée dans ce travail pour décrire la PSF respecte cette propriété mathématique), alors on peut écrire que :

$$T_{3d}(x, y, z) = T_x(x)T_y(y)T_z(z) ; \quad (2.3)$$

$$\text{donc on obtient : } RF_{2d} = \frac{\partial^2}{\partial y^2} T_{2d}(x, y) \otimes Z_{2d}(x, y) . \quad (2.4)$$

Soit $Z_{2d}(x,y)$ la projection de l'impédance acoustique le long de la trajectoire de l'onde, pondérée par la PSF, on retrouve alors : $Z_{2d}(x, y) = \int \int Z_{3d}(x, y, z) T_z(z) dz . \quad (2.5)$

La fonction d'impédance acoustique Z_{3d} est déterminée par les fluctuations en densité et en compressibilité du milieu. La fonction d'impédance acoustique peut être simplifiée en considérant que tous les diffuseurs sont identiques en forme et en échogénicité. Il est alors possible de représenter les globules rouges sous la forme d'un seul prototype de diffuseur ($C_{3d}(x, y, z)$) et de le répéter à chaque position de cellule (x_n, y_n, z_n) . La fonction d'impédance 3D peut alors s'écrire sous la forme :

$$Z_{3d}(x, y, z) = \sum_{n=1}^M Z_{3d n}(x_n, y_n, z_n) = \sum_{n=1}^M C_{3d}(x - x_n, y - y_n, z - z_n), \quad (2.6)$$

où M est le nombre effectif de diffuseurs dans le milieu considéré (équation 1.35).

On peut aussi écrire l'équation 2.6 sous la forme :

$$\begin{aligned}
 Z_{3d}(x, y, z) &= C_{3d}(x, y, z) \otimes \sum_{n=1}^M \delta(x - x_n, y - y_n, z - z_n) \\
 &= C_{3d}(x, y, z) \otimes N_{3d}(x, y, z) ,
 \end{aligned} \tag{2.7}$$

où $N_{3d}(x, y, z)$ est appelée la distribution de densité microscopique. La fonction d'impédance est alors définie par la convolution entre la distribution de densité microscopique $N_{3d}(x, y, z)$ et le prototype des globules rouges ($C_{3d}(x, y, z)$). Si on considère

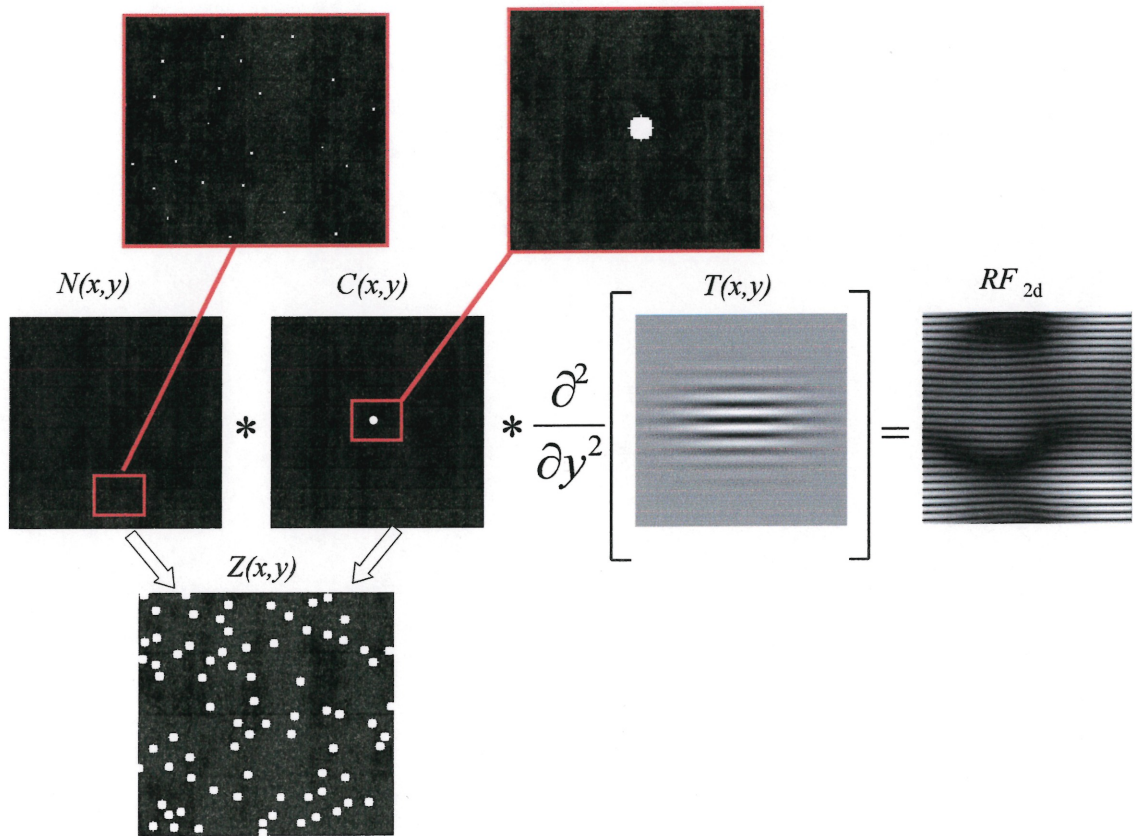


Figure II-1 : Diagramme des opérations pour la constitution d'un signal RF_{2d} .

de nouveau la propagation de l'onde ultrasonore selon l'axe y , on peut réécrire l'équation 2.5 sous la forme simplifiée :

$$Z_{2d}(x, y) = C_{2d}(x, y) \otimes N_{2d}(x, y) \tag{2.8}$$

$$\text{où } C_{2d}(x, y) = \int C_{3d}(x, y, z) dz \quad (2.9)$$

$$\text{et } N_{2d}(x, y) = \sum_{n=1}^M T_z(-z_n) \delta(x - x_n, y - y_n). \quad (2.10)$$

En combinant les équations exposées ci-dessus (2.4 et 2.8) on obtient :

$$RF_{2d} = \frac{\partial^2}{\partial y^2} T_{2d}(x, y) \otimes C_{2d}(x, y) \otimes N_{2d}(x, y). \quad (2.11)$$

La figure II-1 illustre le principe de construction du signal RF décrit à l'équation 2.11.

1.2. Principe de construction de la PSF

La modélisation de la PSF doit correspondre le plus fidèlement possible à ses caractéristiques expérimentales. Si on se réfère à la Figure I-9, on peut considérer l'enveloppe de l'onde ultrasonore comme une fonction exponentielle. En fait, cette enveloppe peut être plus précisément décrite par une double exponentielle, la première croissante et la seconde décroissante (Figure II-2). Les paramètres empiriques décrivant la PSF sont, dans ce cas ci, les coefficients des exponentielles suivantes :

$$\text{Pour } 0 < t < t_0 \quad y = \cos(at) \left(1 - e^{-t+t_0/e_2}\right) \quad (2.12)$$

$$\text{et pour } t > t_0 \quad y = \cos(at) e^{-t/e_1} \quad (2.13)$$

où a est l'amplitude maximale de la PSF, t_0 est le temps pour lequel l'impulsion commence à décroître et e_1 et e_2 sont les coefficients respectifs des exponentielles croissantes et décroissantes. Pour les besoins des simulations numériques, il est nécessaire de calculer la dérivée seconde des ses deux équations. Une discontinuité apparaît au point de jonction entre les deux exponentielles. Cette discontinuité est problématique lors du calcul des convolutions et introduit des artefacts lors de la

construction des signaux RF. Il est donc nécessaire de trouver une autre approche pour décrire l'enveloppe du signal.

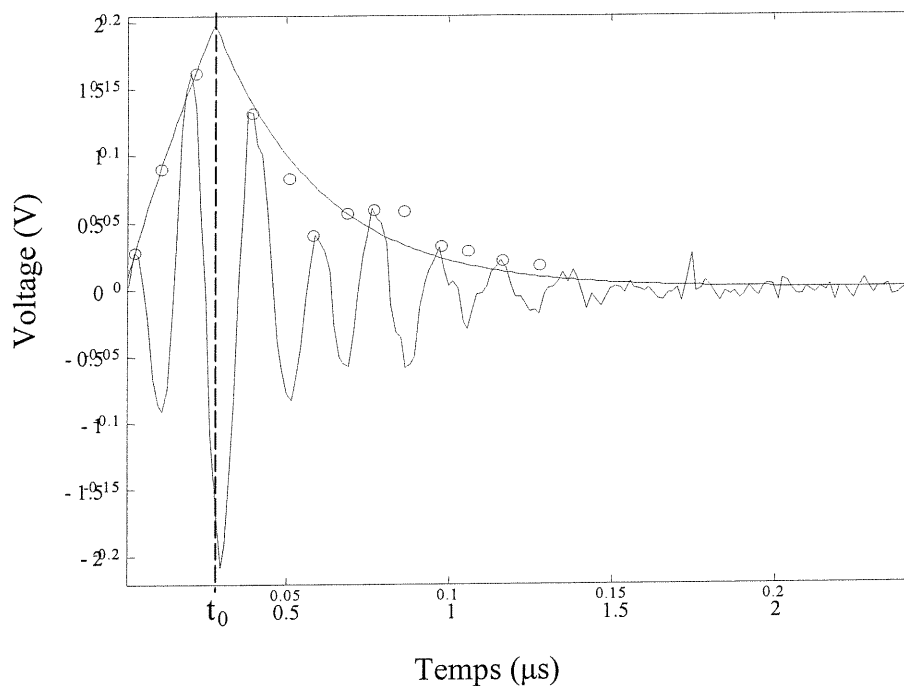


Figure II-2 : Détermination de l'enveloppe de la PSF d'un transducteur 10 MHz à partir d'une mesure expérimentale réalisée au point focal à l'aide d'un miroir acoustique. Les points sont ceux utilisés pour le calcul des coefficients des exponentielles par la méthode des moindres au carré.

Fontaine et al. [1997] ont utilisé pour leurs simulations une fonction sinusoïdale dont l'enveloppe est décrite par une double Gaussienne. Dans cette formulation on considère alors que le front d'onde ultrasonore est plat dans la zone focale. L'enveloppe ainsi décrite, a l'avantage d'être facilement dérivable séparable et continue. Les dimensions dans le sens de propagation de l'onde (selon l'axe y) correspondent à la longueur de l'impulsion, et dans le sens perpendiculaire à la propagation du son, à la

largeur du faisceau dans le plan focal. La fonction obtenue est alors décrite par [Meunier

et Bertrand, 1995] :

$$T_{2d}(x, y) = e^{-\frac{x^2}{2\sigma_x^2} - \frac{y^2}{2\sigma_y^2}} \cos(2\pi fy) \quad (2.14)$$

où σ_x et σ_y sont les écarts types des Gaussiennes tels que :

$$\sigma_x = \frac{sx}{2.35} \quad (2.15) \quad \text{et} \quad \sigma_y = \frac{1}{2\pi \frac{sb}{2.35 \frac{c}{2}}} \quad (2.16)$$

Dans ces deux dernières équations, sx est la largeur à mi-hauteur de l'enveloppe (à -3 dB) correspondant à la largeur du faisceau ultrasonore, sb est la largeur de bande à -3 dB

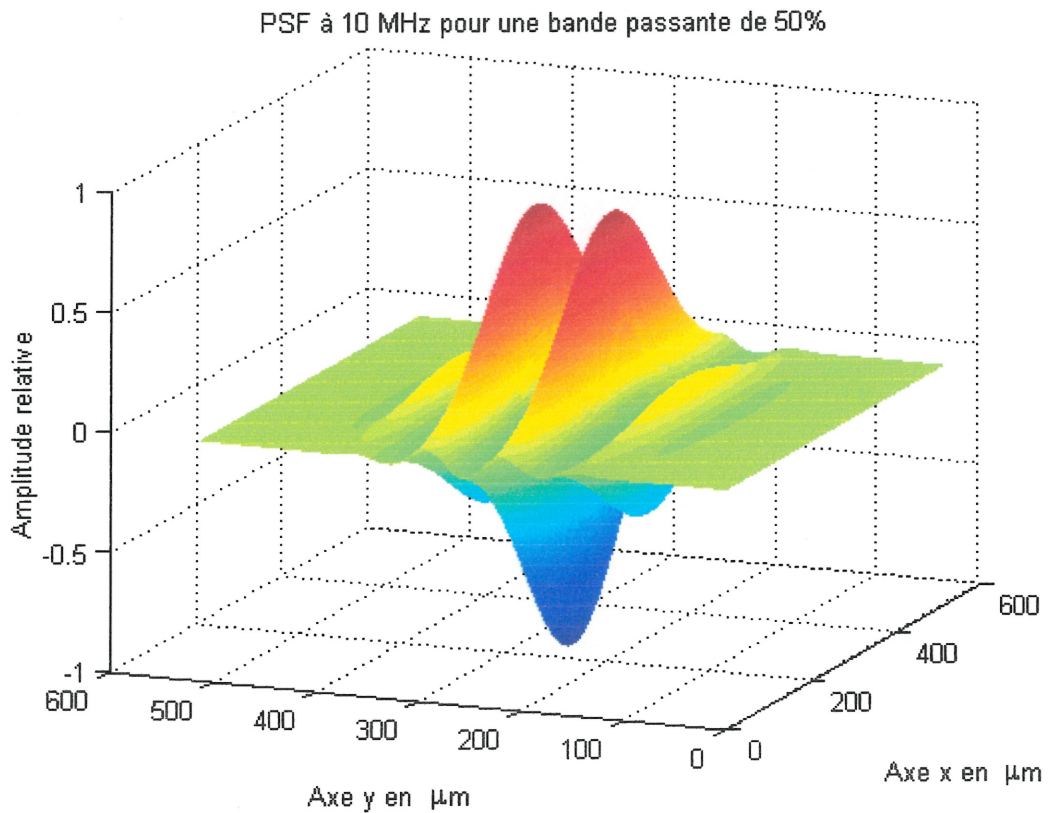


Figure II-3 : Exemple d'une PSF utilisée pour les simulations.

du transducteur et c la vitesse du son dans le milieu considéré. Le type de PSF obtenu par cette modélisation est représenté à la Figure II-3.

Trois PSF ont été modélisées en utilisant les fonctions présentées précédemment. Elles correspondent aux caractéristiques des transducteurs utilisés expérimentalement (voir la section III-1.2). Les bandes passantes au Tableau II-1 correspondent à la largeur du spectre de puissance de chaque PSF mesurée expérimentalement à -3 dB. La largeur de bande est mesurée expérimentalement par un dispositif donnant la puissance rétrodiffusée en fonction de la position d'un élément réflecteur dans le faisceau ultrasonore (voir la section III-1.2). On estime alors la largeur de bande à la zone de puissance rétrodiffusé à -3 dB.

Fréquence centrale (MHz)	Bande passante à -3 dB (%)	Bande passante (MHz)	σ_y à -3 dB (μm)	Largeur de faisceau à -3 dB (μm)	σ_x à -3 dB (μm)
10	20	2	144	500	212.76
20	33	7	41.14	200	85.1
35	45	16	18	100	42.55

Tableau II-1 : Caractéristiques des PSF simulées.

1.3. Principe de construction du milieu insonifié

Les tissus sont des matrices Z_{2d} (équation 2.8) constituées des diffuseurs disposés dans le domaine étudié. Pour la constitution de ces tissus, plusieurs choix furent faits : dans un premier temps, la taille des tissus choisie fut de 1024×1024 pixels ce qui représente une zone de mesure de $512 \times 512 \mu\text{m}$. La fréquence spatiale alors considérée fut

de 1.54 GHz. Cette taille permet d'avoir une zone d'étude assez grande par rapport au diamètre de 5 μm des diffuseurs simulés (environ 100 fois plus grand) tout en limitant les temps de calcul. La contrainte de non-superposition des diffuseurs a été adoptée. L'implantation d'algorithmes répondant à cet impératif fut donc la partie du travail de simulation la plus complexe pour l'optimisation du temps de calcul machine.

a. Méthode générale de construction des tissus

Deux méthodes de construction de tissus ont été implantées. Chacune optimise les temps de calculs en fonction de l'avancement de la constitution du domaine.

La première méthode consiste en un tirage aléatoire de coordonnées x et y correspondant au centre d'un nouvel élément à placer dans le tissu. Connaissant les coordonnées de tous les éléments déjà existants dans le tissu, il est possible de calculer la distance entre chaque centre de diffuseur et la nouvelle position. Si la plus petite distance calculée est inférieure au diamètre de l'élément à placer, les coordonnées sont rejetées et un autre couple de coordonnées est tiré aléatoirement. Si la plus petite distance calculée est supérieure à la taille de l'élément à placer, celui-ci est accepté et enregistré comme nouvel élément. Cette méthode a l'avantage d'être très rapide quand le nombre d'éléments déjà placés dans le tissu est petit, mais le temps de placement d'un élément est une fonction de type exponentiel du nombre d'éléments, ce qui motive le choix d'une autre approche pour la constitution du tissu à partir d'un certain nombre d'itérations.

La deuxième approche consiste en l'utilisation d'une matrice de dilatation pour définir les zones susceptibles d'accueillir un nouvel élément (Figure II-4). À partir d'un tissu présentant déjà un certain nombre de diffuseurs, on fait subir aux éléments déjà

existants une dilatation correspondant à la taille de l'élément à placer. On peut alors séparer les tissus en deux types de zones : une zone interdite correspondant aux dilatations et à l'emplacement des diffuseurs, et une zone disponible pour placer un nouveau centre de diffuseur. Un tirage aléatoire des coordonnées d'un nouveau point peut être effectué dans la zone autorisée. On ajoute ensuite au tissu le nouvel élément, puis on lui fait de nouveau subir une dilatation et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de l'hématocrite voulu. Cette méthode a pour avantage d'avoir un temps d'exécution constant quel que soit l'espace restant.

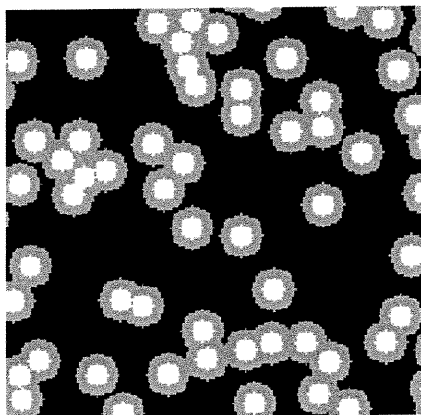


Figure II-4 : Exemple de matrice de dilatation. On retrouve en blanc les diffuseurs existants, en gris la dilatation des diffuseurs et en noir l'espace libre pour un nouvel élément.

L'implantation des deux méthodes se fait dans un même programme où le temps d'exécution pour la détermination de la position d'un élément est le critère déterminant le passage de la première méthode à la seconde. Le temps de calcul nécessaire à la constitution d'un tissu à 45 % d'hématocrite (soit 6185 diffuseurs unitaires) est alors de 4 à 5 heures avec un Pentium III, 600 MHz, et 128 Mb de mémoire vive.

Puisque les diffuseurs déjà positionnés ne peuvent être déplacés, l'hématocrite limite de chaque tissu généré est variable d'une simulation à l'autre. Un calcul rapide et intuitif indique que dans le cas le plus favorable de positionnement des diffuseurs l'hématocrite maximal est de 90% alors que dans le cas le plus défavorable il est de 25%. Dans ces deux cas extrêmes, les diffuseurs ont une distribution régulière de type cristalline avec des espaces inter éléments fixes. En pratique, le programme fut utilisé pour tenter d'obtenir des tissus de plus de 45% d'hématocrite. La plupart des réalisations donnèrent des résultats dépassant rarement les 45%.

b. Choix de la représentation numérique des diffuseurs

Le choix du type de diffuseur fut effectué après une série de simulation comparant deux modèles de diffuseurs.

Le premier modèle est un élément de type Gaussien (Figure II-5 a). Dans cette modélisation, l'élément diffuseur n'a pas d'interface nette avec l'environnement. Ce modèle tente de simuler la faible variation d'impédance acoustique que l'on retrouve entre le plasma et les membranes cellulaires des érythrocytes. L'élément consiste en une double Gaussienne dont la variance est égale à la moitié du diamètre de l'élément simulé.

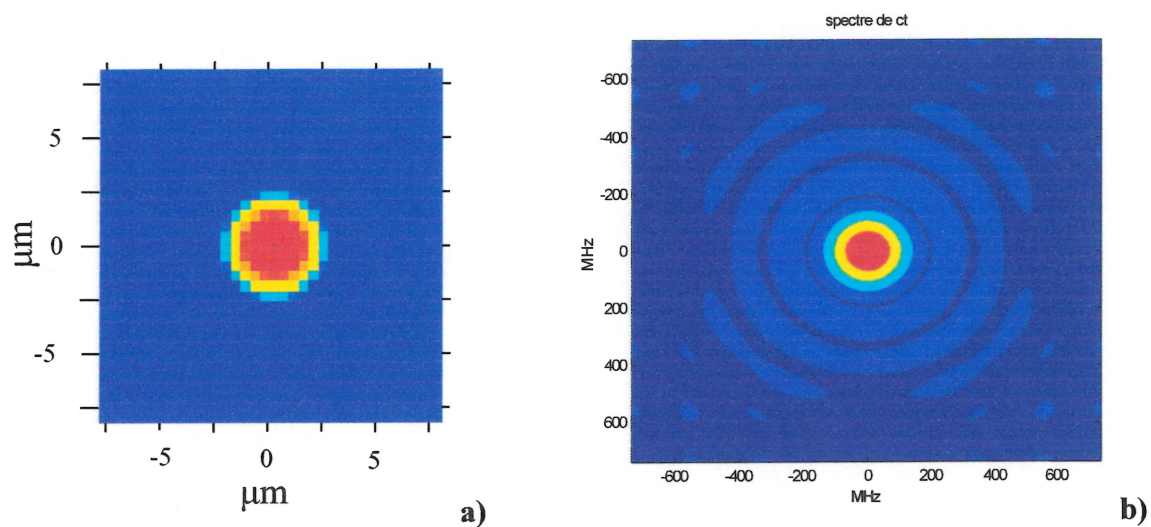


Figure II-5 : Modèle de diffuseur de type Gaussien, a) représentation graphique et b) spectre du diffuseur.

Le deuxième modèle d'élément est un cylindre de hauteur unitaire (Figure II-6 a). Ce modèle considère uniquement le contour du diffuseur, donc uniquement l'interface

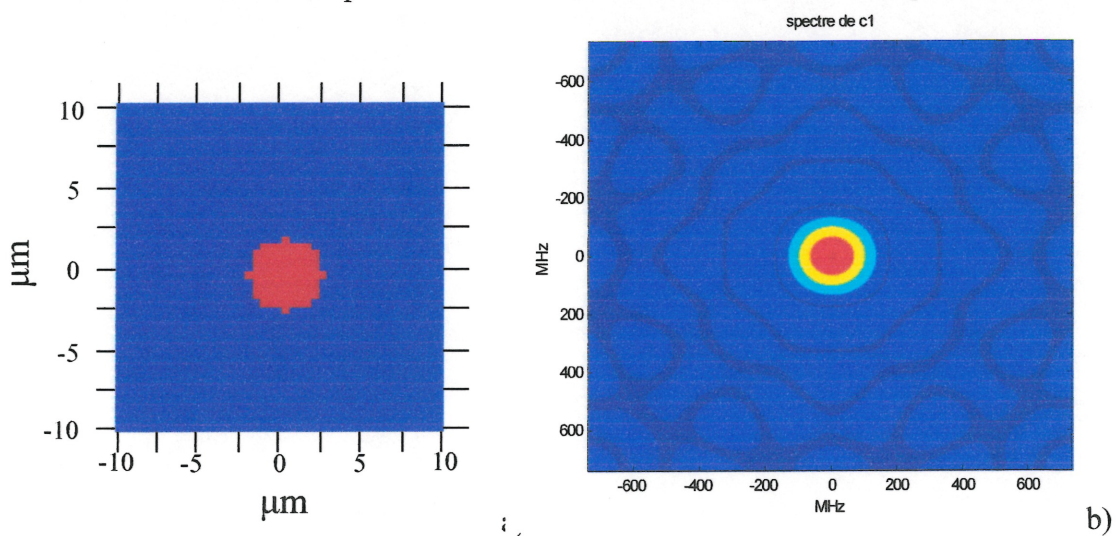


Figure II-6 : Modèle de diffuseur de type unitaire, a) représentation graphique et b) spectre du diffuseur.

réflective érythrocyte/plasma. Il permet aussi de mieux gérer le problème des interfaces entre éléments juxtaposés.

Tel que défini dans le premier modèle, deux éléments accolés présentent une interface réfléchive à cause de la variation de densité entre le centre et la périphérie du diffuseur. Dans le deuxième modèle, l'égalité d'amplitude de deux éléments accolés intervient dans le modèle comme une continuité de milieu et donc une absence d'interface distincte. L'aspect du spectre des deux modèles est aussi intéressant à regarder. Il apparaît que les deux modèles présentent des spectres de révolution circulaire assez différents de ce que l'on trouve théoriquement si on s'attarde sur les formes d'interférence autour du centre. Dans le cas du premier modèle, le spectre devrait se présenter sous la forme d'une double Gaussienne alors que les résultats obtenus montrent une fonction de type Bessel (Figure II-5 b). Dans le cas du deuxième modèle, le spectre théorique est une fonction de Bessel, mais les résultats numériques montrent des distorsions dans les anneaux (Figure II-6 b). Dans les deux cas, le calcul numérique des spectres associés à chaque élément est détérioré par la taille de l'élément et sa représentation numérique qui n'est qu'une approximation de la forme réelle circulaire. Néanmoins ces patrons non conformes aux spectres parfaits se trouvent à de très hautes fréquences qui ne sont pas étudiées dans ce travail, donc qui ne devraient pas poser de problème dans la modélisation considérée.

Un dernier élément est à considérer lors de l'implantation des programmes de construction des tissus décrits dans le paragraphe précédent. La partie du programme utilisant les matrices de dilatation nécessite une définition précise des bords des éléments. Dans le cas du premier modèle, il faudrait alors introduire une notion de seuil pour estimer la frontière entre l'hématie et le milieu, alors que pour le deuxième modèle les

bords des éléments sont clairement définis. C'est donc le deuxième modèle d'élément qui fut choisi pour représenter les diffuseurs.

Pour les besoins des simulations, il fut nécessaire de faire varier la taille des diffuseurs pour représenter des éléments agrégés. Un agrégat de n globules rouges fut représenté par un élément n fois plus grand. Des diffuseurs de tailles croissantes simulant des agrégats de 2, 5, 10, 15 éléments unitaires ont été simulés. Pour conserver un hémocrite constant par rapport au nombre d'éléments unitaires constituant le diffuseur, le choix d'une équivalence en surface des différents agrégats fut fait. Ainsi, par exemple, un agrégat de deux éléments est représenté par un cylindre de hauteur unitaire mais de surface équivalente (S_2) égale à deux fois la surface d'un élément unitaire (S_1) (Tableau II-2 et Figure II-7).

Nombre de globule	1	2	5	10	15
Rayon du diffuseur en μm	5	6.9	10.9	15.4	18.9

Tableau II-2 : Dimension des différents diffuseurs utilisés pour les simulations.



Figure II-7 : Illustration de la taille relative des différents diffuseurs simulés.

La composition relative du tissu pour chaque type de diffuseur peut représenter des milieux plus ou moins agrégés en fonction de la proportion de petits et de gros diffuseurs isotropes. Il nous est donc possible de modéliser des tissus de différentes natures selon les besoins des simulations.

1.4. Tissus simulés

Les tissus présentés dans cette section ont été réalisés pour rencontrer trois objectifs. Dans un premier temps, les tissus constitués uniquement d'éléments unitaires avaient pour but de valider le modèle par rapport à un milieu non agrégeant. Dans un deuxième temps, les tissus avec diffuseurs espacés régulièrement avaient pour but de donner une connaissance à priori de patrons tissulaires représentant une situation extrême. Dans un troisième temps, les tissus avec diffuseurs de tailles variables ont été utilisés pour simuler une cinétique d'agrégation où l'on pouvait rencontrer des agrégats de tailles non uniformes dans le tissu.

a. Distribution de diffuseurs unitaires à hémocrite variable

Ce type de tissu décrit à la Figure II-8, peut être vu comme un milieu non agrégeant, tel qu'obtenu avec du sang lavé en suspension dans une solution saline. Lors de la constitution de ces tissus, il ne fut pas possible d'obtenir des hémocrites supérieurs à 45 %. Pour obtenir un hémocrite supérieur, il faudrait introduire un critère déterministique qui permettrait le déplacement de particules déjà positionnées. Comme le choix d'un tirage aléatoire de positions est fait, cette option n'est pas retenue.

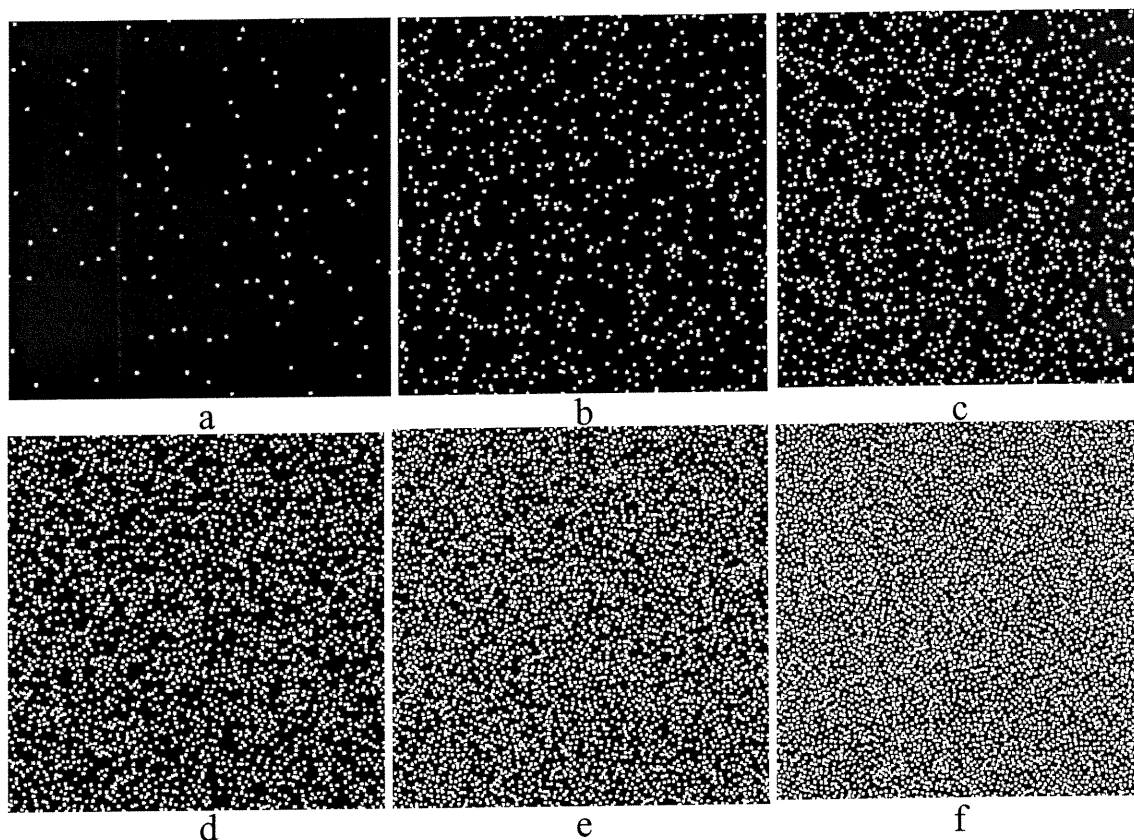


Figure II-8 : Exemples de tissus à 1 (a), 5 (b), 10 (c), 20 (d), 30 (e) et 40 (f) % d'hématocrite, composés de diffuseurs unitaires non superposables.

b. Distribution ordonnée de diffuseurs unitaires

Des tissus composés de diffuseurs régulièrement espacés ont été créés pour étudier les patrons d'interférences résultant d'une structure géométrique comme celles rencontrées en cristallographie (Figure II-9). Les espaces considérés entre diffuseurs sont compris entre 0 (diffuseurs jointifs) et $77 \mu\text{m}$ par pas de $0.5 \mu\text{m}$. La limite de $77 \mu\text{m}$ fut choisie pour garder un domaine ayant au moins 9 diffuseurs présents dans le tissu. La taille des tissus fut modulée pour pouvoir avoir une matrice périodique. La taille maximale des tissus reste de $512 \times 512 \mu\text{m}$. Si le tissu n'avait pas été choisi avec des

caractéristiques périodiques, on aurait obtenu des artefacts de construction lors des convolutions avec la PSF en vue d'obtenir le signal RF reconstitué. Le temps de construction de ces tissus est beaucoup plus rapide que pour les tissus à distribution aléatoire, car la position des diffuseurs est prédéterminée.

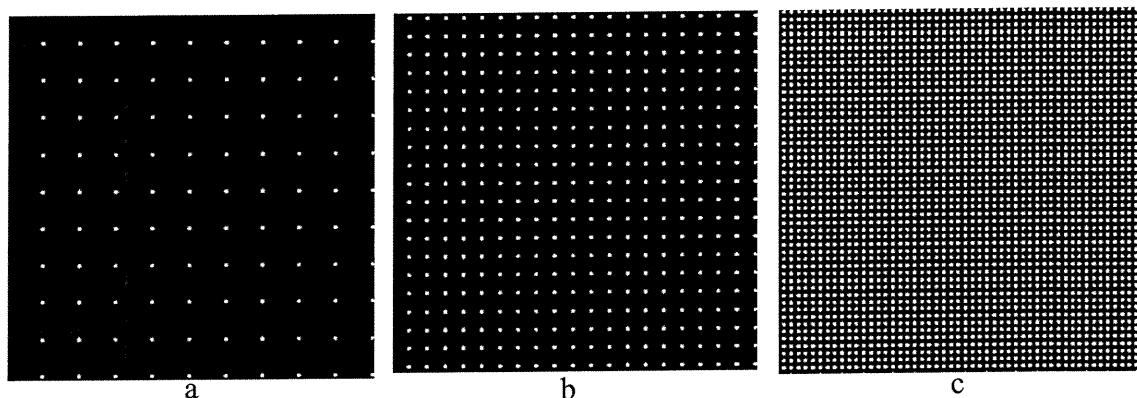


Figure II-9 : Exemples de tissus avec distribution ordonnée de diffuseurs espacés de 50 (a), 25 (b) et 10 (c) μm .

- c. Distribution de diffuseurs de différentes tailles à hématoците de 40 %

Pour simuler l'évolution de l'agrégation à partir d'un milieu non agrégé, des tissus de milieux plus ou moins agrégés ont été obtenus à partir de diffuseurs de tailles variables, tel qu'expliqué à la section II-1.3 b. La Figure II-10 montre des exemples de tissus obtenus. La progression du nombre de diffuseurs de chaque taille fut choisie de manière à avoir une évolution graduelle des diffuseurs de chaque taille (Tableau II-3).

Les premiers essais de construction de ce type de tissu consistaient en deux processus aléatoires, à la fois pour la détermination de la taille des diffuseurs et de leurs positions. Les premiers résultats montrèrent un problème de convergence de la

construction, les petits éléments étant placés avant les gros. Dans ce cas, on pouvait obtenir des zones occupées par peu de petits éléments mais disposés assez proche pour ne pas permettre la mise en place de gros diffuseurs. Le choix a donc été fait de procéder au placement aléatoire des diffuseurs par ordre décroissant en taille. De cette manière, la constitution des tissus ne pose plus de problème de convergence.

Numéro de tissus	Diffuseur 1 En %	Diffuseur 2 En %	Diffuseur 3 En %	Diffuseur 4 En %	Diffuseur 5 En %	Volume moyen (μm^3)
0	100	0	0	0	0	260
1	90	5	3	1.75	0.25	290
2	80	10	7.5	2	0.5	320
3	70	15	9	5	1	350
4	50	25	15	7.5	2.5	430
5	30	35	20	10	5	590
6	20	20	30	20	10	850
7	10	15	25	30	20	1420
8	5	10	15	30	40	2420
9	2.5	7.5	10	20	60	3760
10	1	2	7	10	80	7560
11	0.5	1.5	3	5	90	10090

Tableau II-3 : Proportion des différents types de diffuseurs pour chaque tissu simulé.

La taille de chaque type de diffuseur est décrite à la Figure II-7 et au Tableau II-2.

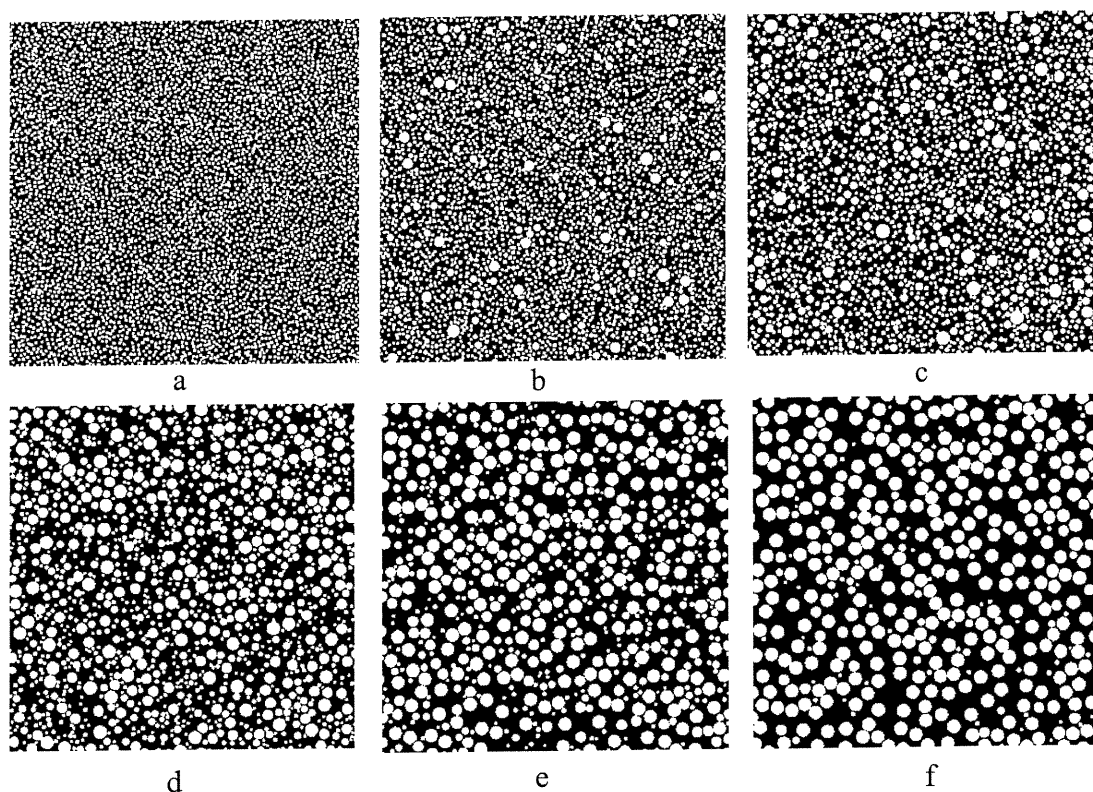


Figure II-10 : Exemples de tissus composés de diffuseurs de tailles variables en proportion variable et aléatoirement distribués (a : type 0, b : type 3, c : type 5, d : type 7, e : type 9 et f : type 11). Un hémocrite constant de 40% à été simulé.

1.5. Paramètres statistiques et contexte de l'étude

Deux paramètres statistiques furent évalués sur les signaux RF reconstruits à partir des tissus exposés ci-dessus. Il s'agit du coefficient d'aplatissement et du paramètre de Nakagami, décrits à la section I-3.2.c. L'évaluation de ces deux coefficients va permettre de voir leurs évolutions en fonction des milieux rencontrés, et de déterminer leurs sensibilités et variances. En plus des coefficients mentionnés ci-dessus, la puissance rétrodiffusée a été calculée de manière à pouvoir être comparée aux résultats expérimentaux et ainsi valider en partie le modèle numérique.

L'étude des propriétés statistiques selon les caractéristiques des milieux a été effectuée de deux manières différentes. Tout d'abord le signal rétrodiffusé par chaque milieu type a été investigué. Dans un deuxième temps les milieux ont été combinés pour simuler une cinétique d'agrégation érythrocytaire. La cinétique a été simulée en augmentant dans le temps la taille des diffuseurs. Plus la fenêtre temporelle simulée fut grande, plus le nombre de tissus de types différents, servant de base aux calculs statistiques, fut grand. En d'autres termes, si on veut étudier une cinétique sur une fenêtre temporelle de 2 unités de temps, les tissus impliqués dans le calcul statistique

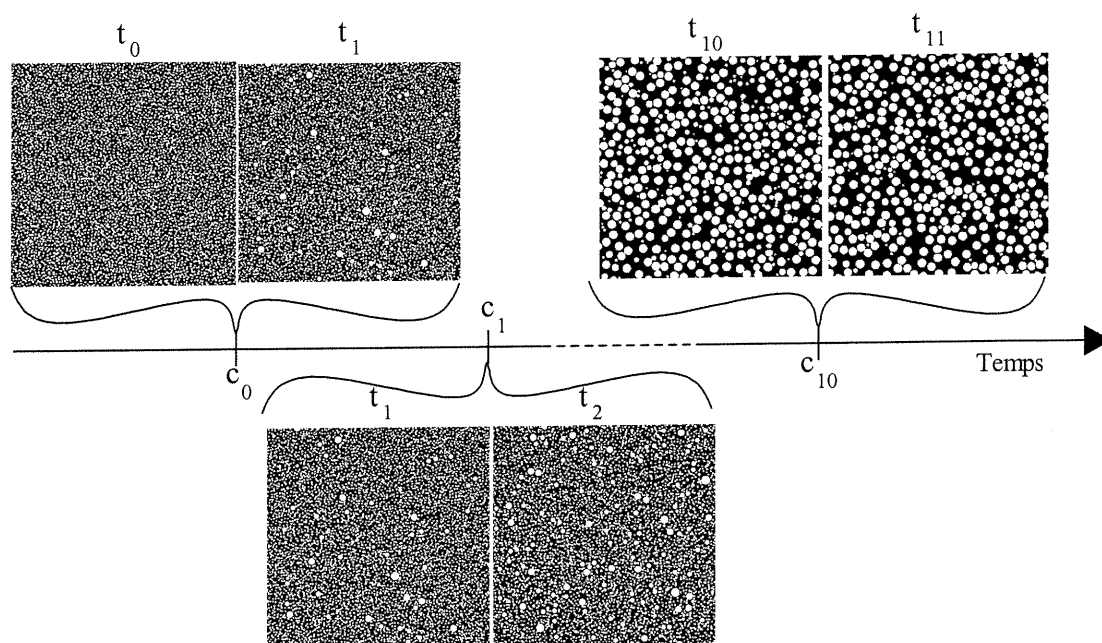


Figure II-11 : Illustration de la construction d'une cinétique pour une fenêtre temporelle de 2 unités. t_n représente le nième type de tissus, c_n la cinétique résultante. Pour une fenêtre temporelle de 3 unités, c_0 correspond à la juxtaposition des tissus t_0 , t_1 et t_2 .

proviendront de deux types de tissus successifs. Par exemple, pour la première valeur de cinétique 1, les tissus 0 et 1 seront utilisés en même temps pour servir de base aux calculs des paramètres (Figure II-11). Le nombre de tissus juxtaposé fut choisi en fonction de la fenêtre temporelle considérée.

2. Résultats

Les graphiques présentés dans cette section sont basés sur le calcul des paramètres et coefficient de 40 tissus simulés pour chaque cas. Les valeurs présentées sont les valeurs moyennes et l'écart-type des résultats. Seuls les tissus avec distribution cristalline de diffuseurs de taille unitaire consistent en une réalisation unique, car le positionnement des diffuseurs a dans ce cas une solution unique si on considère un tissu avec une structure périodique.

2.1. Tissus à hématoците variable

Ce type de tissu fut généré pour valider le principe de reconstruction du signal RF. L'un des paramètres que l'on peut facilement calculer et comparer avec les résultats de la littérature est la puissance rétrodiffusée en fonction de l'hématocrite du milieu. Les résultats obtenus à chaque fréquence sont présentés à la Figure II-12. Dans cette figure, la puissance rétrodiffusée par les milieux est normalisée par la puissance spectrale de la PSF incidente. Le graphe montre une tendance générale qui consiste en une croissance suivit d'une décroissance de la puissance ultrasonore rétrodiffusée en fonction de l'hématocrite. On peut noter que ce maximum n'est pas dépendant des caractéristiques des transducteurs et se situe autour de 20 % d'hématocrite. De plus, la puissance ultrasonore rétrodiffusée

est plus importante pour les transducteurs à hautes fréquences que pour ceux de plus basses fréquences. Les résultats de simulations donnent des maximums de puissance relative de 42.5, 78 et 240 respectivement pour les fréquences centrales de 10, 20 et 35 MHz.

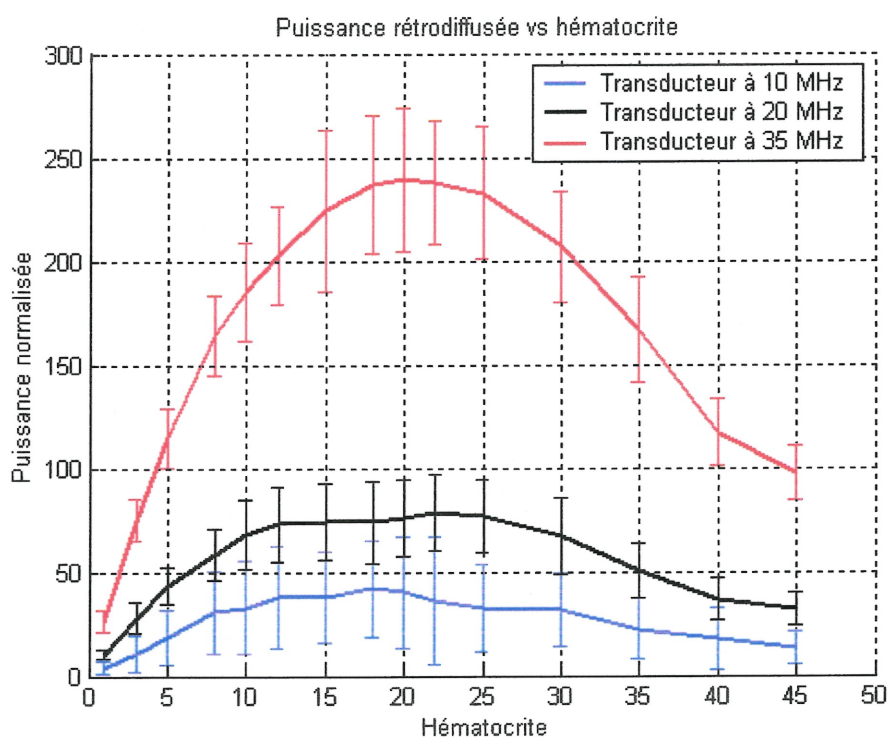


Figure II-12 : Évolution de la puissance ultrasonore en fonction de l'hématocrite selon la fréquence d'insonification.

Le coefficient d'aplatissement est montré dans la Figure II-13 pour différents transducteurs (10, 20 et 35 MHz) à des hématocrites variant de 1 à 45 %. On peut constater que la valeur de K est quasi constante à une fréquence donnée. Les valeurs moyennes que l'on trouve sont de 2.25, 2.8 et 3 respectivement pour les fréquences à 10, 20 et 35 MHz. On peut aussi constater qu'à de très faibles hématocrites et à hautes

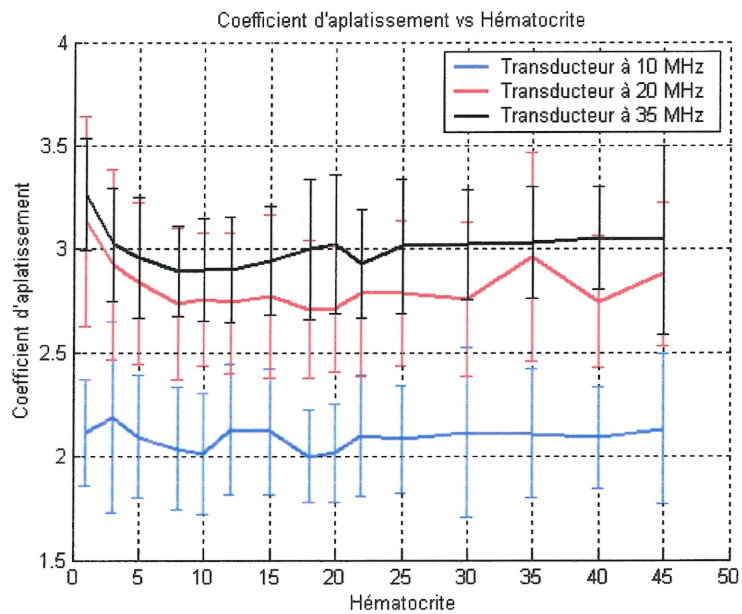


Figure II-13 : Évolution du coefficient d'aplatissement en fonction de l'hématocrite selon la fréquence d'insonification.

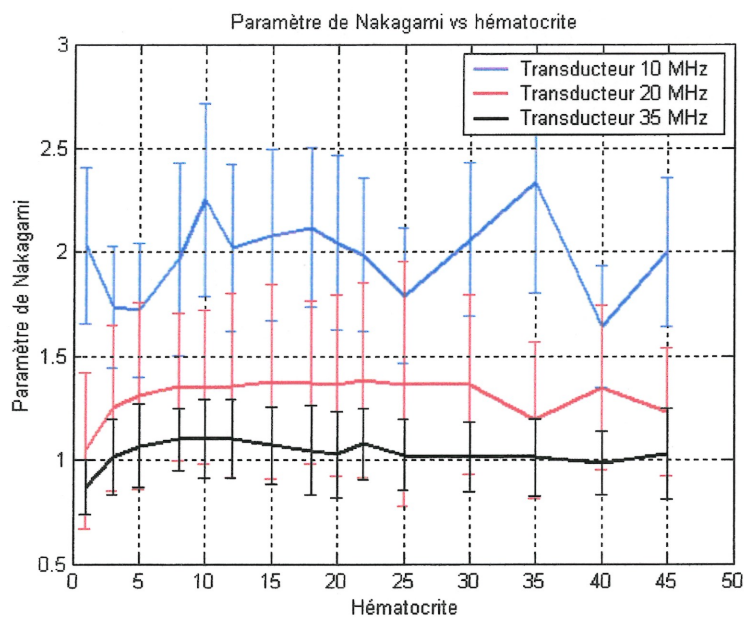


Figure II-14 : Évolution du paramètre de Nakagami en fonction de l'hématocrite selon la fréquence d'insonification.

fréquences, le coefficient d'aplatissement semble augmenter avec des valeurs de 3.13 et 3.27 aux fréquences de 20 et 35 MHz respectivement.

Le paramètre de Nakagami est montré dans la Figure II-14 pour différentes fréquences d'insonification (10, 20 et 35 MHz) à des hémocrites variant de 1 à 45 %. On peut constater que la valeur de m est quasi constante à une fréquence donnée. On trouve des valeurs moyennes de 2, 1.4 et 1 respectivement pour les fréquences à 10, 20 et 35 MHz. On peut aussi constater, contrairement au coefficient d'aplatissement, qu'à de très faibles hémocrites et à hautes fréquences, le coefficient d'aplatissement semble diminuer avec des valeurs de 1.05 et 0.87 aux fréquences de 20 et 35 MHz respectivement.

2.2. Tissus avec distribution ordonnée de diffuseurs de taille unitaire

Cette étude utilise les tissus de type cristallin exposés à la section II-1.4 b. Elle permet de vérifier si le modèle reproduit bien les phénomènes de construction/destruction des rétrodiffusions par de telles structures ordonnées. Ce qui est défini par fréquence spatiale (sur l'abscisse du bas) est l'inverse de l'espace entre les diffuseurs. De cette manière il est plus simple de voir les effets de l'espace entre diffuseurs sur les valeurs calculées par rapport à la fréquence d'insonification. Sur l'abscisse du haut, l'hémocrite des tissus selon l'espace inter-diffuseurs est noté à titre d'indicatif. Les résultats obtenus pour la puissance, le coefficient d'aplatissement et le paramètre de Nakagami sont décrits dans les paragraphes suivants.

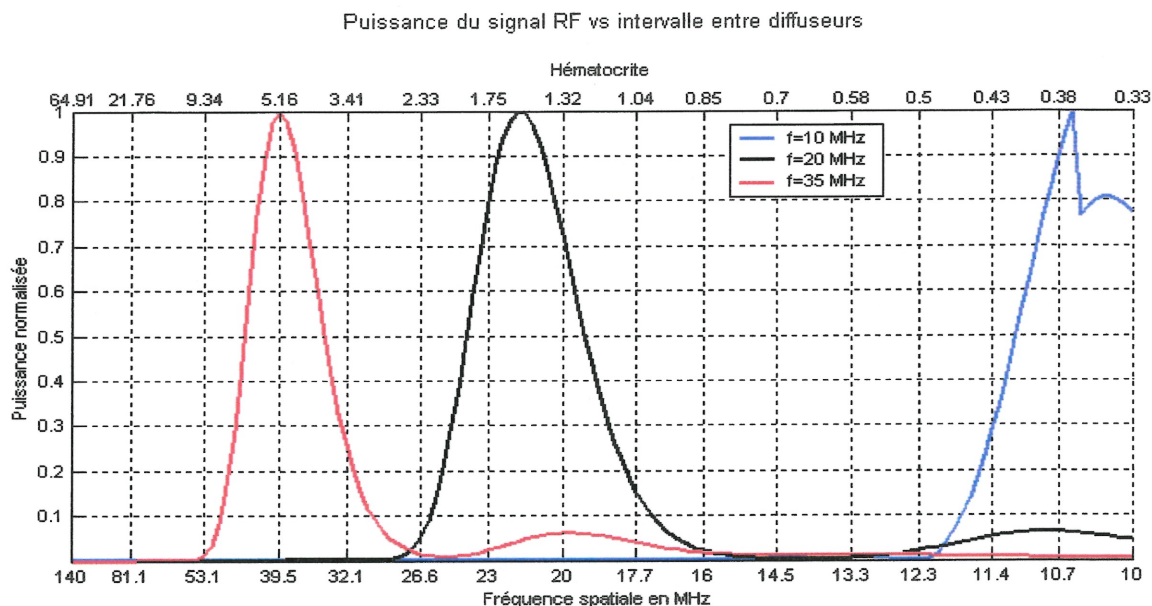


Figure II-15 : Évolution de la puissance ultrasonore en fonction de l'espace entre les diffuseurs, à différentes fréquences d'insonification.

On peut constater à la figure II-15 que pour chaque fréquence ultrasonore utilisée on retrouve un pic de puissance près de la fréquence centrale du transducteur. On observe des pics à 39.5, 22 et 10.6 MHz respectivement pour les fréquences incidentes de 35, 20 et 10 MHz. On peut aussi remarquer des lobes secondaires à 19.5, 11 et 10.3 MHz respectivement pour les fréquences d'insonification de 35, 20 et 10 MHz. Finalement, on peut aussi remarquer qu'au delà de 53 MHz, il n'y a plus de pic de puissance observable.

Les résultats du coefficient d'aplatissement pour des tissus de type cristallin se retrouvent à la Figure II-16. On peut observer une valeur de base de ce coefficient autour de 1.5 pour les fréquences spatiales inférieures à 60 MHz. Près des fréquences nominales de chaque transducteur, on retrouve des valeurs pics à 3.45 pour le capteur à 10 MHz,

2.26 à 20 MHz et 2.25 à 35 MHz. Un comportement erratique est observé en dehors de la bande passante de chaque transducteur.

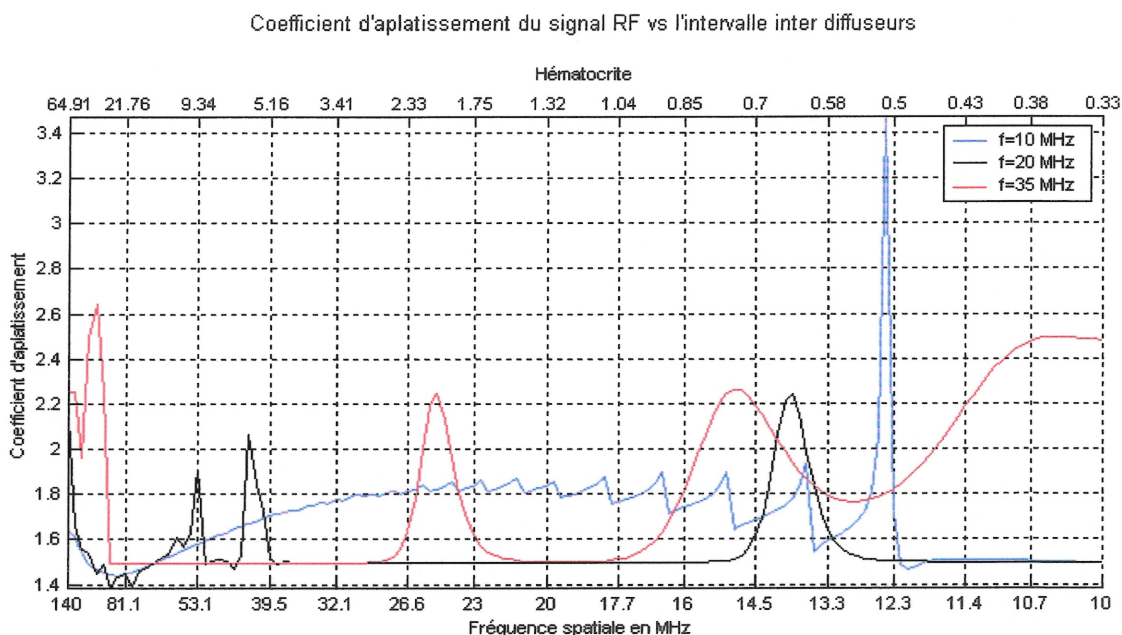


Figure II-16 : Évolution du coefficient d'aplatissement en fonction de l'espace entre les diffuseurs, à différentes fréquences d'insonification.

Les résultats du paramètre de Nakagami (Figure II-17) pour des tissus de type cristallin donnent des évolutions similaires mais en sens opposé à celles rencontrées pour le coefficient d'aplatissement (Figure II-16). Comme pour le coefficient d'aplatissement, à proximité des fréquences nominales de chaque transducteur, on retrouve des valeurs pics (négatifs) à 0.4 pour le capteur à 10 MHz, 0.8 à 20 MHz et 0.8 à 35 MHz. De la même manière que précédemment, un comportement non cohérent est observé en dehors de la bande passante de chaque transducteur.

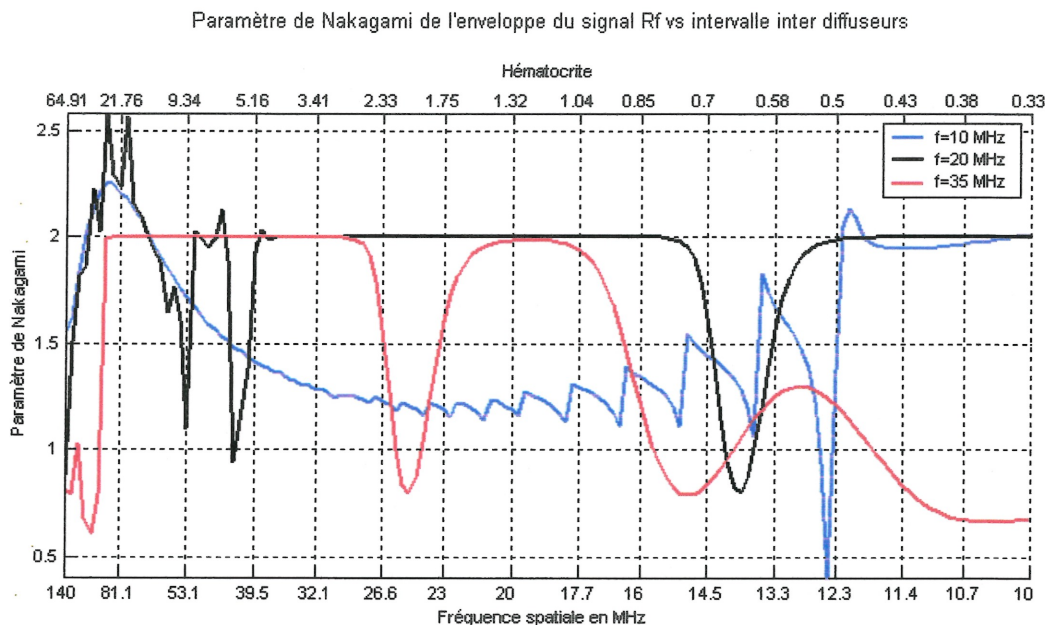


Figure II-17 : Évolution du paramètre de Nakagami en fonction de l'espace entre les diffuseurs, à différentes fréquences d'insonification.

2.3. Tissus à diffuseurs de taille variable

Dans cette section, l'analyse du signal rétrodiffusé a été effectuée sur les tissus unitaires instantanés et sur la juxtaposition de ces derniers visant à simuler une cinétique d'agrégation. Les cinétiques exposées ont été constituées de deux ou trois types de tissus successifs notés respectivement $t=2$ et $t=3$. Dans tous les cas, la puissance ainsi que les paramètres statistiques (coefficient d'aplatissement et paramètre de Nakagami) ont été calculés sur le signal reconstitué. Les résultats obtenus en fonction des fréquences d'insonification (10, 20, 35 MHz) sont les suivants :

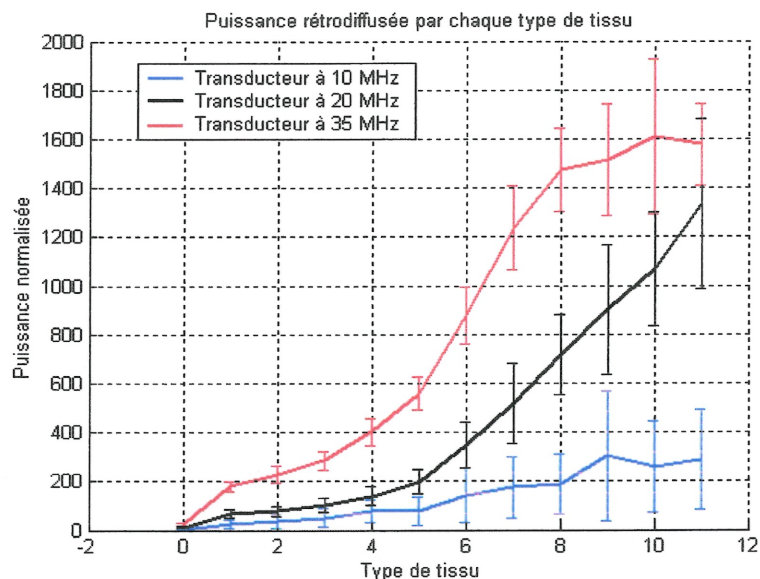


Figure II-18 : Évolution de la puissance rétrodiffusée en fonction du type de tissu pour les transducteurs de 10, 20 et 35 MHz.

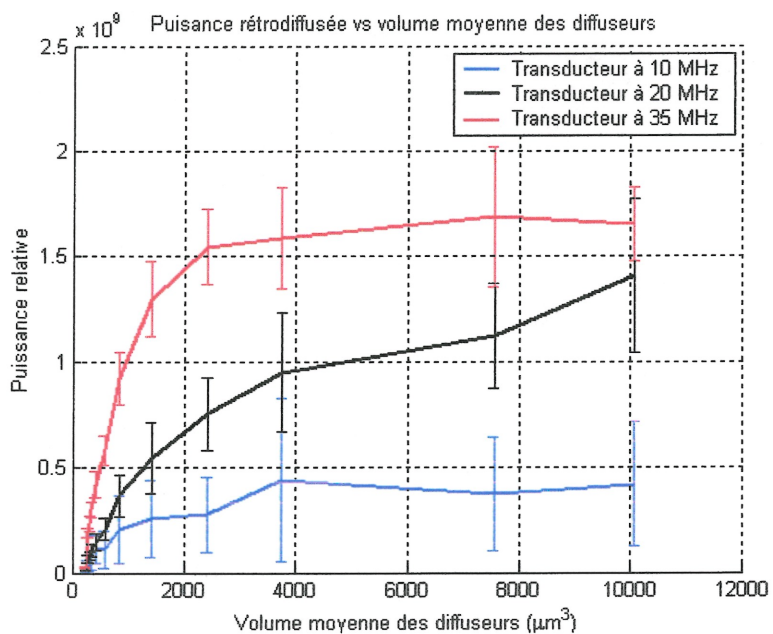


Figure II-19 : Évolution de la puissance rétrodiffusée en fonction du volume moyen des agrégats dans les tissus pour les transducteurs de 10, 20 et 35 MHz.

Tel que le présente les Figures II-18 et II-19, la puissance rétrodiffusée par un milieu composé de diffuseurs de différentes tailles aléatoirement distribués, simulant une cinétique d'agrégation, augmente avec pour une proportion croissante de gros diffuseurs. Dans ces figures la puissance rétrodiffusée est normalisée par l'énergie spectrale de la PSF incidente. En fonction des tissus simulés, on peut observer que la puissance relative va progressivement augmenter pour atteindre des valeurs moyennes de 290, 1330 et 1610 aux fréquences respectives de 10, 20 et 35 MHz. À ces fréquences, les puissances relatives pour un milieu initial désagrégé sont respectivement de 4, 11 et 27. L'augmentation générale de la puissance simulée lors de la cinétique d'agrégation correspond à une valeur moyenne de 41 dB. On peut noter que les puissances augmentent relativement de la même manière avec des pentes différentes, pour les transducteurs de 10 et 35 MHz l'augmentation a tendance à arrêter à partir d'un volume moyen de 4000 μm^3 .

Les figures suivantes (Figure II-20, II-21 et II-22) montrent les variations du coefficient d'aplatissement à 10, 20 et 35 MHz pour un calcul instantané et des fenêtres temporelles considérant deux et trois tissus consécutifs. On observe que pour un calcul instantané, les valeurs des coefficients d'aplatissement restent stables autour de 2.7, 3 et 3.1 en moyenne pour des fréquences incidentes respectives de 10, 20 et 35 MHz. Les valeurs du coefficient d'aplatissement calculées sur une fenêtre temporelle donnent des résultats plus ou moins marqués selon la fréquence d'insonification simulée. Pour une fréquence de 10 MHz, on constate une augmentation du coefficient moyen à la valeur de

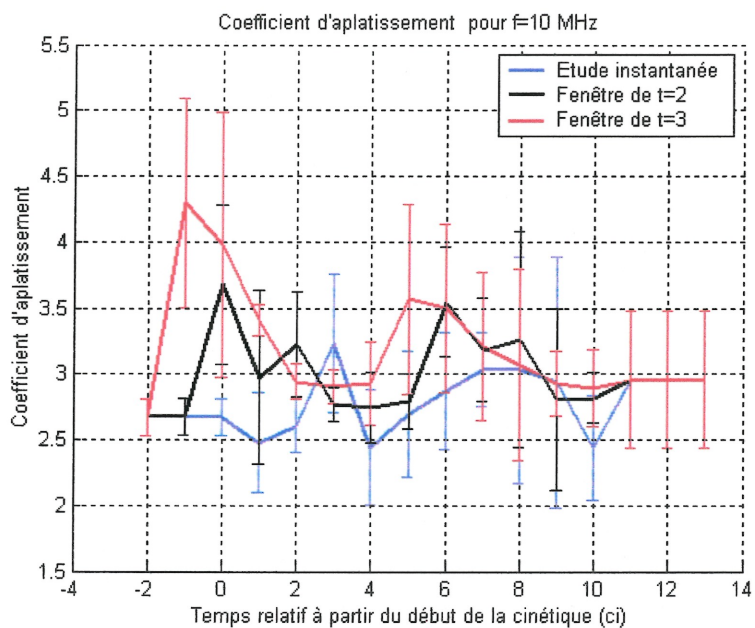


Figure II-20 : Coefficient d'aplatissement à 10 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.

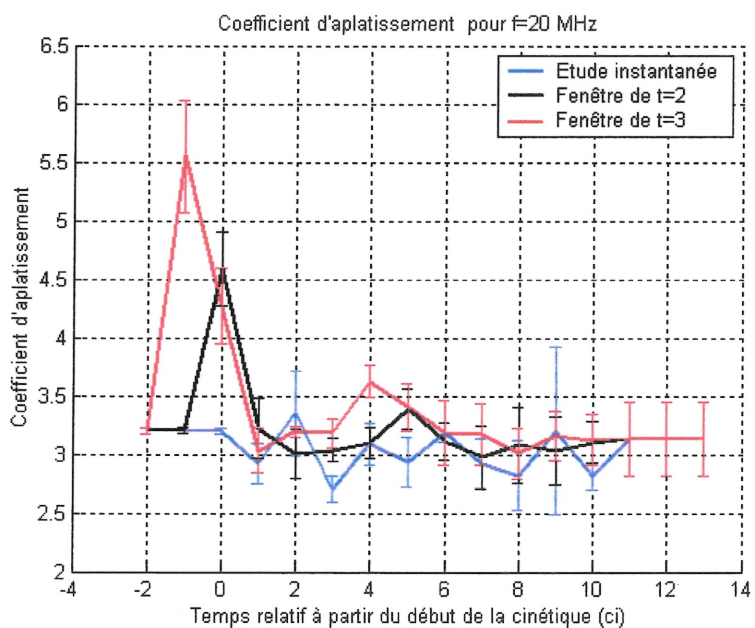


Figure II-21 : Coefficient d'aplatissement à 20 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.

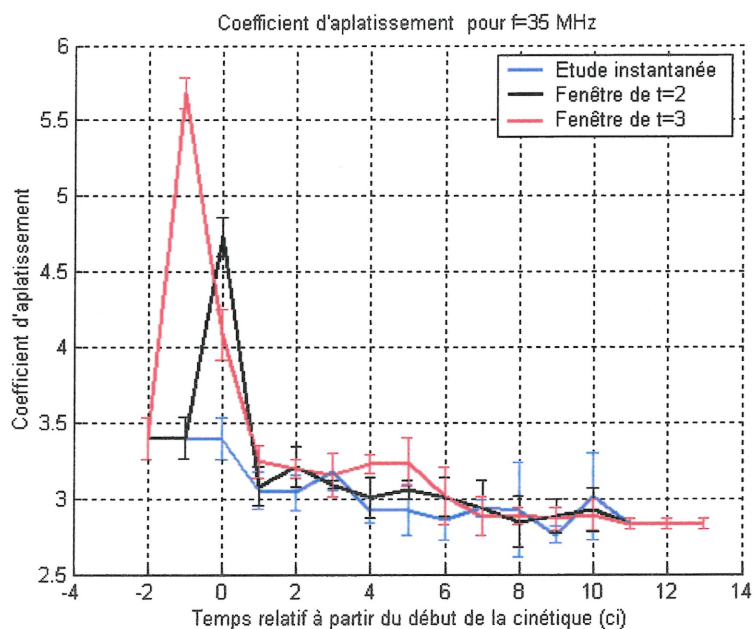


Figure II-22 : Coefficient d'aplatissement à 35 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.

3.6 et 4.3 pour des fenêtres de calcul de 2 et 3 avec une valeur finale moyenne de 3. Pour une fréquence de 20 MHz, cette variation est plus prononcée et atteint respectivement 4.6 et 5.5 pour des fenêtres de calcul de 2 et 3 tissus avec une valeur finale moyenne de 3.2. Pour une fréquence de 35 MHz, les pics du coefficient d'aplatissement sont plus prononcés et atteignent 4.7 et 5.7 pour les deux mêmes fenêtres de calcul, avec une valeur finale de 2.8.

Les figures suivantes (Figure II-23, II-24 et II-25) présentent les variations du paramètre de Nakagami toujours pour des fréquences de 10, 20 et 35 MHz et pour un calcul instantané et de cinétiques sur 2 et 3 tissus. On observe tout d'abord pour un calcul instantané, que les valeurs du paramètre de Nakagami restent assez stables autour de 1.3,

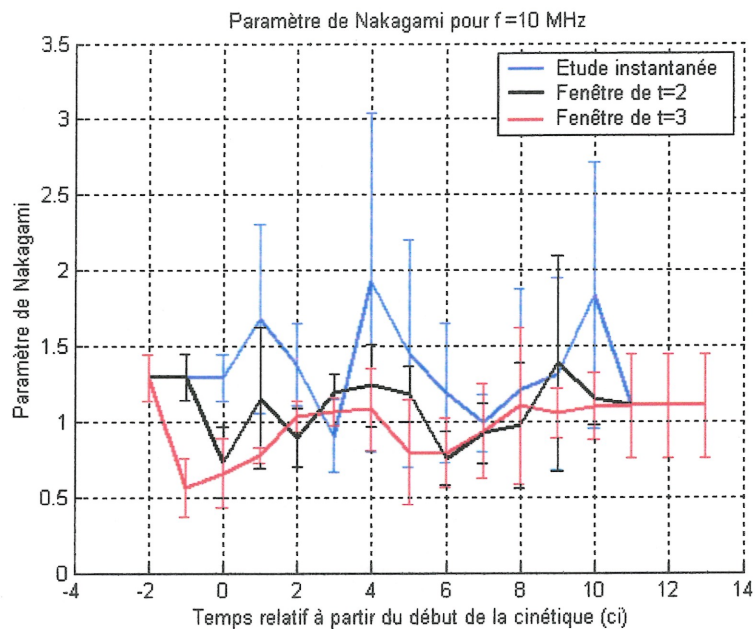


Figure II-23 : Paramètre de Nakagami à 10 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.

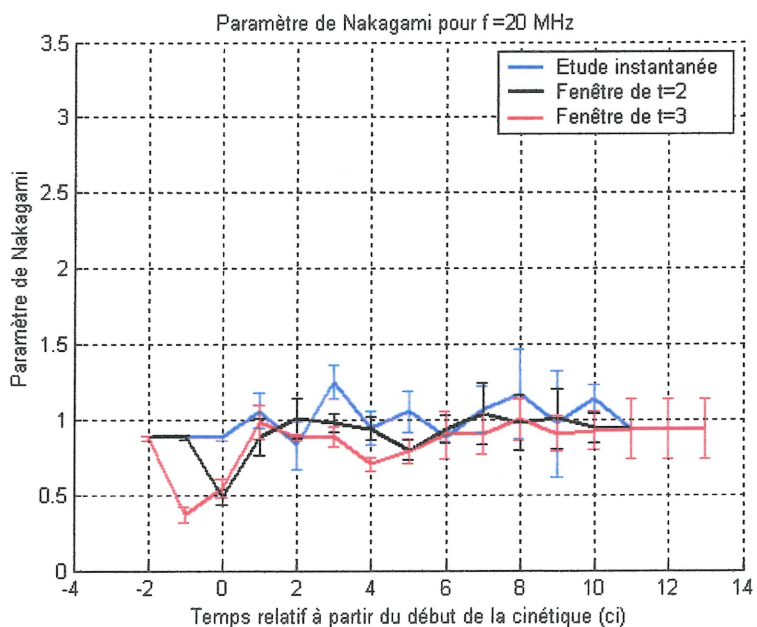


Figure II-24 : Paramètre de Nakagami à 20 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.

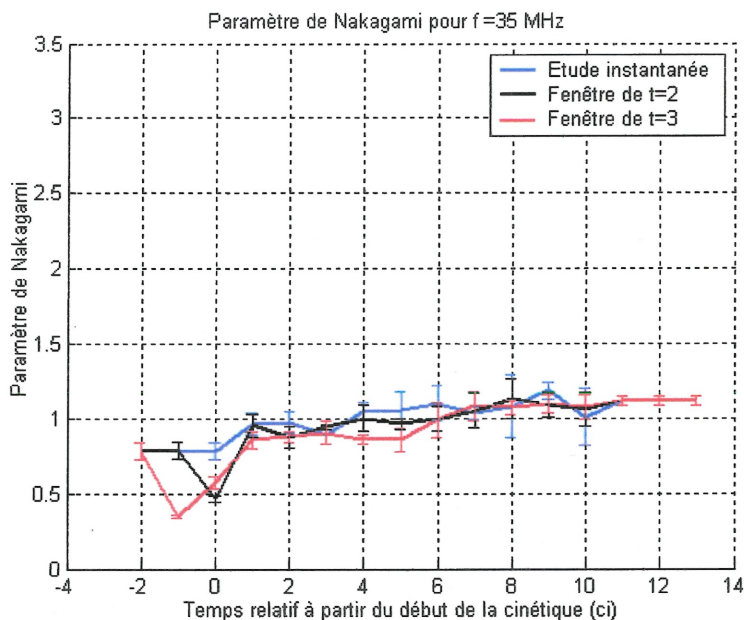


Figure II-25 : Paramètre de Nakagami à 35 MHz pour une étude instantanée et pour des cinétiques d'agrégation simulées.

1.2 et 1.1 en moyenne pour des fréquences incidentes respectives de 10, 20 et 35 MHz. On peut toutefois remarquer qu'à 10 MHz, les variances sont beaucoup plus prononcées qu'à 20 et 35 MHz. Les valeurs du paramètre de Nakagami calculées sur une fenêtre temporelle donnent des résultats plus ou moins marqués selon la fréquence d'insonification simulée. Pour une fréquence de 10 MHz, on constate une baisse à 0.75 et 0.6 pour des fenêtres de calcul de 2 et 3 tissus juxtaposés pour une valeur moyenne finale proche de 1.2. Pour une fréquence de 20 MHz, cette variation est plus prononcée et atteint respectivement 0.6 et 0.45 pour des fenêtres de calculs de 2 et 3 tissus et une valeur finale moyenne de 1.2. Avec une fréquence de 35 MHz, les pics du paramètre de Nakagami atteignent 0.5 et 0.4 pour les deux mêmes fenêtres de calcul, et la valeur finale moyenne est similaire à 1.2.

3. Discussion

Chaque type de simulation va tout d'abord être discuté séparément. Une synthèse suivra.

3.1. Tissus à hématoците variable

La relation entre la puissance rétrodiffusée et l'hématocrite, pour des fréquences moyennes de 10, 20 et 35 MHz, fut présentée à la Figure II-12. Les résultats avaient pour but de montrer la concordance des simulations avec les résultats théoriques et expérimentaux que l'on peut retrouver dans la littérature. Selon plusieurs publications [Berger et al., 1991 ; Twersky, 1987], le pic de puissance se retrouve à des hématocrites autour de 21 % si on considère des diffuseurs de types cylindriques et un domaine bidimensionnel. Dans le cadre des simulations à hématoците variable, le milieu était non agrégant et statique. La Figure II-12 montre bien une évolution de la puissance avec un maximum des trois courbes autour de 20 % d'hématocrite. Dans des conditions de rétrodiffusion de type Rayleigh, la puissance rétrodiffusée est fonction de la fréquence à la puissance quatre [Kuo et Shung, 1994 ; Yuan et Shung, 1988b]. Les rapports entre les puissances rétrodiffusées auxquels on pouvait s'attendre, conformément à la relation théorique de f^4 , auraient du être d'un facteur 16 entre le 10 et 20 MHz, d'un facteur 150 entre de 10 et le 35 MHz et de 9.4 entre le 20 et le 35 MHz. On ne retrouve pas ces facteurs d'échelle dans nos résultats, mais cela est un artéfact connu de ce type de modèle. Le fait d'utiliser la dérivée seconde de la PSF entraîne un décalage en fréquence lors de la convolution qui permet de générer le signal RF.

La Figure II-13 montre le coefficient d'aplatissement pour les trois fréquences d'insonification en fonction de l'hématocrite (de 1 à 45%). Les résultats montrent une quasi-invariance de K avec la fréquence et l'hématocrite. On peut par contre remarquer que les valeurs du coefficient sont faibles et que l'on obtient des valeurs très faibles pour une fréquence de 10 MHz.

La Figure II-14 montre le paramètre de Nakagami aux fréquences de 10, 20 et 35 MHz selon l'hématocrite du milieu (de 1 à 45 %). Les valeurs obtenues sont caractéristiques, selon la littérature, de milieux composés de petites particules aléatoirement dispersées. On peut aussi noter qu'à l'image de K , m semble être sensible aux variations de l'hématocrite du milieu en dessous de 5%, comme on peut le constater sur les figures II-13 et II-14 aux fréquences de 20 et 35 MHz.

3.2. Tissus avec distributions ordonnées de diffuseurs de taille unitaire

Cette série de simulations nous donne quelques indications sur le comportement des différents paramètres et coefficients calculés dans ce travail. Nous pouvons tout d'abord noter que la puissance rétrodiffusée (Figure II-15) est maximale à une fréquence proche de la fréquence centrale du transducteur et aux harmoniques inférieures. La taille des domaines de simulation n'a pas permis de considérer des espaces inter-particules supérieurs à 77 μm (fréquence spatiale de 10 MHz), car au-delà de cette dimension le nombre de particules est si faible que l'étude n'est plus pertinente en terme d'hématocrite (inférieur à 0.33 %). La raison du décalage entre la fréquence de pic et la fréquence réelle d'insonification pourrait provenir d'un artefact du modèle de simulation. En effet, pour tenir compte des deux interfaces d'impédance acoustique au voisinage d'un diffuseur,

une dérivée seconde est introduite dans le modèle (équation 2.4). Cette dérivée a comme effet de décaler vers les hautes fréquences l'onde incidente de la PSF. On peut toutefois noter qu'expérimentalement on observe aussi un décalage entre les spectres des ondes incidentes et rétrodiffusées. Il en résulte que ce décalage est possiblement représentatif du phénomène physique réel.

D'un point de vue théorique, le phénomène d'interférences constructives et destructives prend en compte le déphasage des ondes rétrodiffusées. Ainsi, si les diffuseurs sont espacés de $n\lambda/2$ (c'est à dire n fois la moitié de la longueur d'onde incidente, où n est un nombre entier), on devrait observer des interférences constructives, c'est-à-dire d'amplification de la puissance rétrodiffusée. De même, si les diffuseurs sont espacés de $[(2*n)+1]\lambda/4$, on devrait noter une destruction des ondes rétrodiffusées. À la Figure II-13, on observe les constructions d'ondes que pour les espaces entre diffuseurs proches de la longueur d'onde incidente ou de ses sous-harmoniques ($f/2$). On note le maximum à la fréquence spatiale proche de la fréquence centrale de l'onde émise. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette observation. D'une part, la valeur de l'amplitude associée au phénomène de construction d'ondes est modulée par le nombre de diffuseurs composant le tissu. Ainsi, plus le nombre de diffuseurs est important, plus l'amplitude du signal rétrodiffusé devrait être importante. Donc il est normal d'observer une diminution de l'amplitude de la puissance rétrodiffusée en fonction de la diminution de l'hématocrite (ou fréquence spatiale), quelle que soit la fréquence considérée. Cette diminution n'est pas observable entre fréquences sur la figure présentée car les puissances rétrodiffusées sont normalisées par leur maximum. Sans cette normalisation, il

aurait été très difficile de distinguer le pic de 10 MHz. Néanmoins, on peut observer une faible augmentation de la puissance rétrodiffusée pour les transducteurs de 20 et 35 MHz à la fréquence spatiale de 10.5 et 19 MHz respectivement (qui sont les moitiés des fréquences des pics principaux observés). Il s'agit alors des sous-harmoniques à $f/2$ de chacun de ces transducteurs. D'autre part, le phénomène de construction n'est pas visible au delà de la longueur d'onde de l'onde incidente, car on se retrouve avec autant d'ondes constructrices que destructrices ce qui explique l'absence de pic d'énergie à hautes fréquences spatiales malgré l'augmentation du nombre de diffuseurs.

Les coefficients d'aplatissement (Figure II-16) et les paramètres de Nakagami (Figure II-17), bien que difficile à interpréter, ont des comportements assez similaires. On peut remarquer que ces paramètres varient symétriquement mais de manière opposée. Simultanément, quand le coefficient d'aplatissement augmente, le paramètre de Nakagami diminue. De même, leurs valeurs ne correspondent pas à des distributions connues car K est bien en dessous de 2 et m supérieur à 1. Les patrons cristallographiques donnent en théorie des résultats du paramètre de Nakagami inférieurs à 1. Néanmoins dans leur publication, Shankar [2000] ne donne pas d'indication sur les effets de la fréquence d'insonification sur ce paramètre. Les résultats obtenus dans nos simulations ne confirment pas la théorie pour ce qui est de la valeur de m , mais montrent une sensibilité aux variations de fréquence. Toutefois, les pics observés ne peuvent être associés à des fréquences spécifiques tout comme l'allure générale des courbes qui ne semblent pas montrer de comportements déterministes.

3.3. Tissus à diffuseurs de taille variable à un hémocrite de 40 %

Dans cette série de simulation, plusieurs choses sont à noter. Tout d'abord, on peut étudier les Figures II-18 et II-19 représentant la puissance relative en fonction du temps (type de tissus) ou du volume moyen des agrégats à partir de l'arrêt simulé du flux. On constate que la puissance augmente avec la progression de la taille des agrégats simulés. On remarque aussi que les variations de puissance rétrodiffusée sont plus importantes pour les transducteurs hautes fréquences que pour ceux de basses fréquences. Pour comparer les résultats en fonction de la fréquence, la puissance rétrodiffusée a été normalisée par l'énergie de l'onde incidente. On peut alors constater que la puissance rétrodiffusée est supérieure pour les hautes fréquences que pour les basses fréquences. On constate que les puissances rétrodiffusées atteignent des plateaux qui ne débutent pas au même volume moyen des agrégats. En effet, les conditions Rayleigh sont plus vite obsolètes à hautes fréquences qu'à basses fréquences. Ainsi, à 35 MHz à partir d'un volume moyen des diffuseurs de $2500 \mu\text{m}^3$, la puissance atteint un plateau qui ne semble pas être atteint pour la fréquence de 20 MHz à la fin de la simulation. À une fréquence de 10 MHz, on constate que l'on a aussi une forme de plateau qui se dessine pour les gros réflecteurs. Cette stagnation de la puissance doit être plus un artéfact du modèle qu'une réelle observation prédictive.

Le coefficient d'aplatissement est montré aux Figures II-20, II-21 et II-22 dans le cas des tissus instantanés et pour ceux juxtaposés avec une fenêtre temporelle de 2 et 3 types de tissus successifs. On peut tout d'abord remarquer que l'on ne distingue pas de variation notable de K pour le calcul instantané peu importe la fréquence, et que seule une

juxtaposition des tissus de différents types permet d'obtenir des variations de ce coefficient. Ces résultats sont facilement explicables si l'on regarde les histogrammes individuels des réalisations. La Figure II-26 montre un exemple des histogrammes obtenus pour chaque type de tissu. Les histogrammes a) et b) sont normalisés pour présenter une surface sous la courbe de 1, mais les histogrammes en b) sont en plus

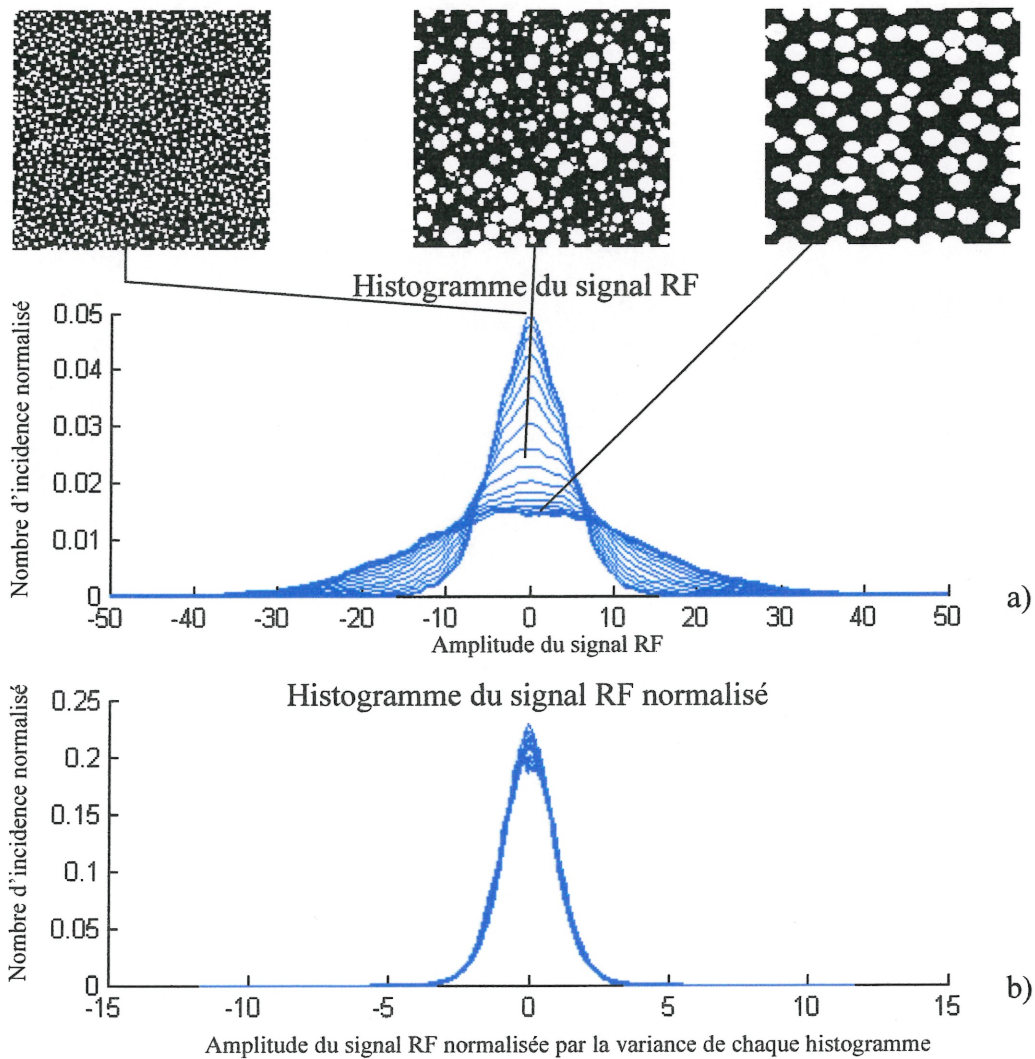


Figure II-26 : Exemple d'histogrammes obtenus à partir de différents tissus.

normalisés par leur variance respective. Tel que montré à la Figure II-26 a, les tissus présentant que des diffuseurs unitaires donnent des histogrammes effilés alors que les histogrammes des tissus comportant de gros réflecteurs sont plus plats. Si ces mêmes histogrammes sont normalisés par leur variance, on s'aperçoit qu'ils se superposent très bien jusqu'à ne pouvoir les distinguer les uns des autres. Le coefficient d'aplatissement est, par définition, le quatrième moment statistique normalisé par le carré du second. Il est donc sensible aux variations de la forme des histogrammes après normalisation par la variance. À la vue de la Figure II-26 b, il est donc facilement compréhensible qu'une étude instantanée de ce coefficient sur le signal RF ne peut donner des résultats variés en fonction du milieu. Par contre, si on associe deux histogrammes provenant de deux tissus de type différent, les résultats montrent une variation de K . Cette variation est d'autant plus forte que le nombre de tissus différents associés est important. Ainsi, les simulations montrent une quasi-stationnarité de K pour un calcul instantané alors que l'on peut observer un pic, au moment du début de la cinétique, d'autant plus grand que la fenêtre temporelle est grande (plus grand pour $t=3$ que pour $t=2$). On remarque aussi des caractéristiques Gaussiennes pour les tissus stationnaires (coefficient d'aplatissement de 3). Une autre remarque peut être faite sur ces figures. En effet, on peut remarquer que l'amplitude des pics augmente avec la fréquence d'insonification. Ceci s'explique par le fait que les variations de formes des histogrammes sont plus importantes au début de la cinétique qu'à la fin. Il est possible de décrire mathématiquement cette analyse et d'estimer les variations de K en fonction des variations des histogrammes. Une telle analyse sera présentée à la section suivante (Cf. section II-3.4).

Le paramètre de Nakagami (Figures II-23, II-24 et II-25) décrit la cinétique d'agrégation de manière similaire au coefficient d'aplatissement. On peut en effet remarquer que ce paramètre, calculé sur l'enveloppe du signal, montre des variations similaires à celles du coefficient d'aplatissement, mais en amplitude opposée ; quand le coefficient d'aplatissement augmente, le paramètre de Nakagami diminue. Les mêmes remarques sur le comportement de ce paramètre peuvent donc être faites. On peut toutefois remarquer que ce paramètre ne réagit pas à l'augmentation de la taille des agrégats comme on aurait pu le supposer selon la théorie de la littérature [Shankar et al., 2000 ; Dumane et Shankar, 2001]. Les valeurs des paramètres rencontrés dans les simulations sont supérieures ou égales à un pour des calculs instantanés. En théorie, un paramètre de Nakagami supérieur est caractéristique d'un milieu composé de petites particules distribuées aléatoirement. Dans notre cas, on aurait du observer une diminution du paramètre avec l'augmentation de la taille des diffuseurs, ce qui n'est pas le cas. Donc le paramètre répond en parti à la théorie en terme de distribution, mais pas en terme de taille des diffuseurs. Il est alors possible de supposer que la variation des tailles des diffuseurs dans le modèle considéré ne soit pas suffisante pour que le paramètre y soit sensible.

3.4. Relation mathématique entre les histogrammes et le coefficient d'aplatissement

Suite aux observations précédentes, il nous a été amené de constater que chaque réalisation individuelle génère une Gaussienne. On peut alors voir si il est possible de prévoir mathématiquement les variations du coefficient d'aplatissement par rapport aux caractéristiques connues des distributions.

Chaque distribution de points Z_i a une variance propre σ_i et une moyenne quasi nulle. On peut donc définir chaque distribution de diffuseurs tel que $Z_i = \sigma_i * Z$ où Z est une distribution Gaussienne normalisée ($Z = G(0,1)$). On peut alors décrire la fonction de probabilité par l'équation générale appliquée à notre cas :

$$P(\sigma_i Z \in [z, z + dz]) \approx f_{z_i}(z) dz \quad (2.17)$$

où z est l'axe des abscisses de l'histogramme de la distribution. On a alors :

$$P\left(Z \in \left[\frac{z}{\sigma_i}, \frac{z}{\sigma_i} + \frac{dz}{\sigma_i}\right]\right) = f_z\left(\frac{z}{\sigma_i}\right) \frac{dz}{\sigma_i} = f_{z_i}(z) dz \quad , \quad (2.18)$$

$$\text{où} \quad f_{z_i}(z) = \frac{1}{\sigma_i} f\left(\frac{z}{\sigma_i}\right) \quad . \quad (2.19)$$

Si on considère une cinétique d'agrégation, c'est-à-dire une variation de la taille des agrégats dans le temps, les distributions obtenues pour chaque acquisition peuvent être exprimées sous la forme :

$Z = Z_1$ quand $T \in [0, \tau_1]$ et $Z = Z_2$ quand $T \in [\tau_1, \tau_1 + \tau_2]$ où τ_1 et τ_2 sont les durées de deux acquisitions consécutives. On peut donc écrire la nouvelle distribution de probabilité sous la forme :

$$\begin{aligned} P(Z = z) &= P(T \in [0, \tau_1]) P_{Z_1}(z) + P(T \in [0, \tau_2]) P_{Z_2}(z) \\ &= \frac{1}{\tau_1 + \tau_2} (\tau_1 P_{Z_1}(z) + \tau_2 P_{Z_2}(z)) \\ &= \left[\frac{1}{\sigma_1} \tau_1 f_{Gaus}\left(\frac{z}{\sigma_1}\right) + \frac{1}{\sigma_2} \tau_2 f_{Gaus}\left(\frac{z}{\sigma_2}\right) \right] / (\tau_1 + \tau_2) \quad . \end{aligned} \quad (2.20)$$

Le $n^{\text{ième}}$ moment de cette nouvelle distribution utilisée pour le calcul du coefficient d'aplatissement s'obtient donc de la manière suivante :

$$\begin{aligned}
E[Z^n] &= \frac{\tau_1}{\tau_1 + \tau_2} \int \frac{z^n}{\sigma_1} f_{Gaus}\left(\frac{z}{\sigma_1}\right) dz + \frac{\tau_2}{\tau_1 + \tau_2} \int \frac{z^n}{\sigma_2} f_{Gaus}\left(\frac{z}{\sigma_2}\right) dz \\
&= \frac{r_1}{\sigma_1} \int z^n f_{Gaus}\left(\frac{z}{\sigma_1}\right) dz + \frac{r_2}{\sigma_2} \int z^n f_{Gaus}\left(\frac{z}{\sigma_2}\right) dz \quad .
\end{aligned} \tag{2.21}$$

si on pose que $u = z/\sigma_1 \Rightarrow z = u \sigma_1$ et $dz = \sigma_1 du$, on obtient alors

$$\int z^n f_{Gaus}\left(\frac{z}{\sigma_1}\right) dz = \frac{\sigma_1^{n+1}}{\sigma_1} \int u^n f_{Gaus}(u) du = \frac{\sigma_1^{n+1}}{\sigma_1} E[G^n] \tag{2.22}$$

où $E[\]$ est la fonction espérance mathématique.

$$\text{Or il est établit que } E[Z^n] = [r_1 \sigma_1^n + r_2 \sigma_2^n] E[G^n] \tag{2.23}$$

où r_i est le nombre d'éléments dans la $i^{\text{ième}}$ distribution ($i \in [0,1]$)

$$\text{d'où } E[Z^4] = [r_1 \sigma_1^4 + r_2 \sigma_2^4] E[G^4] \tag{2.24}$$

$$\text{et } E[Z^2] = [r_1 \sigma_1^2 + r_2 \sigma_2^2] E[G^2] \quad . \tag{2.25}$$

or $E[G^4]=3$ et $E[G^2]=1$

donc le coefficient d'aplatissement de cette réalisation est obtenue par :

$$K = \frac{E[Z^4]}{E[Z^2]^2} = \frac{3(r_1 \sigma_1^4 + r_2 \sigma_2^4)}{(r_1 \sigma_1^2 + r_2 \sigma_2^2)^2} \tag{2.26}$$

or pour nos simulations le nombre d'élément est le même pour tous les tissus, donc

$$r_1 = r_2 = r = 1/2,$$

$$\text{d'où } \frac{K}{3} = \frac{r(\sigma_1^4 + \sigma_2^4)}{r^2(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)^2} = \frac{(\sigma_1^4 + \sigma_2^4)}{r(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)^2} = \frac{2(\sigma_1^4 + \sigma_2^4)}{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)^2} \quad . \tag{2.27}$$

On peut ensuite considérer une approche de corrélation du coefficient d'aplatissement par la puissance. La variance peut être corrélée avec la puissance du signal rétrodiffusé.

Considérons la même approche que précédemment en notant :

$\sigma_1 = \sigma(1 - \varepsilon/2)$ et $\sigma_2 = \sigma(1 + \varepsilon/2)$ ou ε est une petite variation de σ_{moy} noté σ

$$\text{on a donc à partir de l'équation 2.26} \quad \frac{K}{3} \frac{r_1 [\sigma(1 - \varepsilon/2)]^4 + r_2 [\sigma(1 + \varepsilon/2)]^4}{(r_1 [\sigma(1 - \varepsilon/2)]^2 + r_2 [\sigma(1 + \varepsilon/2)]^2)^2} \quad (2.28)$$

$$\begin{aligned} \Leftrightarrow \quad \frac{K}{3} &= \frac{r_1 (1 - \varepsilon/2)^4 + r_2 (1 + \varepsilon/2)^4}{(r_1 [1 - \varepsilon/2]^2 + r_2 [1 + \varepsilon/2]^2)^2} \\ \Leftrightarrow \quad \frac{K}{3} &= \frac{r_1 \left(1 - 2\varepsilon + \frac{2}{3}\varepsilon^2\right) + r_2 \left(1 + 2\varepsilon + \frac{2}{3}\varepsilon^2\right)}{\left(r_1 \left[1 - \varepsilon + \frac{\varepsilon^2}{4}\right] + r_2 \left[1 + \varepsilon + \frac{\varepsilon^2}{4}\right]\right)^2} \end{aligned} \quad (2.29)$$

si on considère un développement au second degré, on obtient alors :

$$\Leftrightarrow \quad \frac{K}{3} = \frac{1 + 2\varepsilon(r_2 - r_1) + \frac{3}{2}\varepsilon^2}{\left(1 + \varepsilon(r_2 - r_1) + \frac{\varepsilon^2}{4}\right)^2} = \frac{1 + 2\varepsilon(r_2 - r_1) + \frac{3}{2}\varepsilon^2}{1 + 2\varepsilon(r_2 - r_1) + \varepsilon^2 \left[(r_2 - r_1)^2 + 1/2\right]} \quad (2.30)$$

$$\text{ce qui donne} \quad \frac{K}{3} = 1 + \varepsilon^2 \left[1 - (r_2 - r_1)^2\right] \quad (2.31)$$

$$\text{or comme on considère que } r_1 = r_2 = r = 1/2 \text{ on a donc} \quad \frac{K}{3} = 1 + \varepsilon^2 \quad (2.32)$$

Cette formulation du coefficient d'aplatissement en fonction de la variance entre deux acquisitions est valide pour de petites fluctuations. Elle peut être étendue à plus de deux distributions, mais les calculs deviennent alors assez fastidieux. Néanmoins, ce calcul indique que le coefficient d'aplatissement va devenir supérieur à trois pour une

cinétique d'agrégation et que les variations du coefficient seront d'autant plus grande que les variations de milieux seront importantes entre chaque mesure. Ceci est en accord avec les observations que l'on peut faire des simulations de cinétique et conforte ainsi le modèle.

3.5. Synthèse

Les simulations discutées ci-dessus sont sources de plusieurs informations qui vont orienter les expérimentations de validation présentées au chapitre suivant.

Dans un premier temps, il fut remarqué que les caractéristiques non Gausiennes de rétrodiffusion ne pouvaient être obtenues que lors de calculs sur des cinétiques d'agrégation. Il est donc important de concevoir un protocole expérimental intégrant une mesure ultrasonore d'un milieu à agrégation évolutive.

Dans un deuxième temps, les simulations ne donnent pas la possibilité de connaître les meilleurs paramètres à utiliser concernant la fenêtre de cinétique à considérer. Même s'il semble que plus la fenêtre de calcul est grande, plus les variations statistiques sont fortes, ces paramètres devront être estimés et optimisés expérimentalement.

Les trois types de simulations exposés précédemment ont montré une assez bonne concordance avec les comportements connus de la littérature, que ce soit pour les évolutions des puissances en fonction de l'hématocrite ou en fonction de la fréquence d'insonification. À notre connaissance, il existe peu de données dans la littérature nous permettant de comparer nos résultats statistiques pour les situations exposées. Le modèle permet de prédire des patrons d'interférences que l'on pourrait rencontrer et ainsi les

reconnaître lors d'expériences. Il montre aussi son potentiel à prédire des réponses pour des milieux plus complexes, tels que des milieux constitués de particules de tailles variables.

Chapitre III. Expérimentations in vitro

Dans le chapitre précédent nous avons pu constater que des différences statistiques notables pouvaient être obtenues uniquement à partir de la simulation des cinétiques d'agrégation. Même si ces résultats théoriques sont prometteurs et montrent la sensibilité du coefficient d'aplatissement et du paramètre de Nakagami, l'expérimentation reste un passage important de validation. Le but des expériences était donc de confirmer les comportements statistiques observés lors des simulations par l'étude du signal rétrodiffusé par le sang lors d'une cinétique d'agrégation. Cette étude a été réalisée sur un écoulement dans un tube circulaire de petit diamètre, pour conserver un aspect physiologique qui permettrait éventuellement de passer de cette expérimentation in-vitro à une étude in vivo. Des transducteurs de différentes fréquences (10, 20 et 35 MHz) ont été choisis afin de mettre en évidence l'influence de la fréquence de mesure sur le signal rétrodiffusé et de confirmer ou d'infirmer les observations faites à partir des simulations.

1. Matériel

Le matériel comprend une structure d'essai, des transducteurs ultrasonores, des dispositifs d'excitation des transducteurs, un dispositif de réception et d'échantillonnage des signaux ultrasonores et enfin un système de traitement des données. Chacun de ces éléments sera détaillé ci-dessous.

1.1. Structure d'essai

La structure d'essai (Figure III-1) permet de faire circuler le sang dans un capillaire situé à 90° par rapport au transducteur. Elle permet aussi de gérer le flux sanguin et de l'arrêter au moment voulu. Le montage comprend les éléments suivants :

- Un réservoir inférieur ouvert servant de volume tampon de sang dans le système.
- Une pompe péristaltique qui entraîne le sang vers le réservoir supérieur et par continuité dans la structure de mesure.
- Un réservoir supérieur fermé stabilisant le flux venant de la pompe et permettant d'avoir un sang non agrégé (ou peu agrégé) à l'entrée de la zone de mesure grâce à l'agitateur magnétique.
- Une tubulure circulaire d'un diamètre de 1.27 mm joignant les réservoirs inférieur et supérieur.
- Un support de mesure comprenant un bloc de gel d'agar à travers duquel seront faites les mesures ultrasonores (Figure III-2). Le gel d'agar est choisi pour permettre une adaptation de l'impédance acoustique avec l'eau située dans le bassin de mesure. Le capillaire de 1.57 mm est moulé dans un gel d'agar adapté en impédance à celle de l'eau.
- Un support de transducteur, permettant son ajustement en position dans les trois axes de l'espace. Seul le positionnement en hauteur n'est pas géré par un micromètre, car ce positionnement ne demande pas une bonne précision.

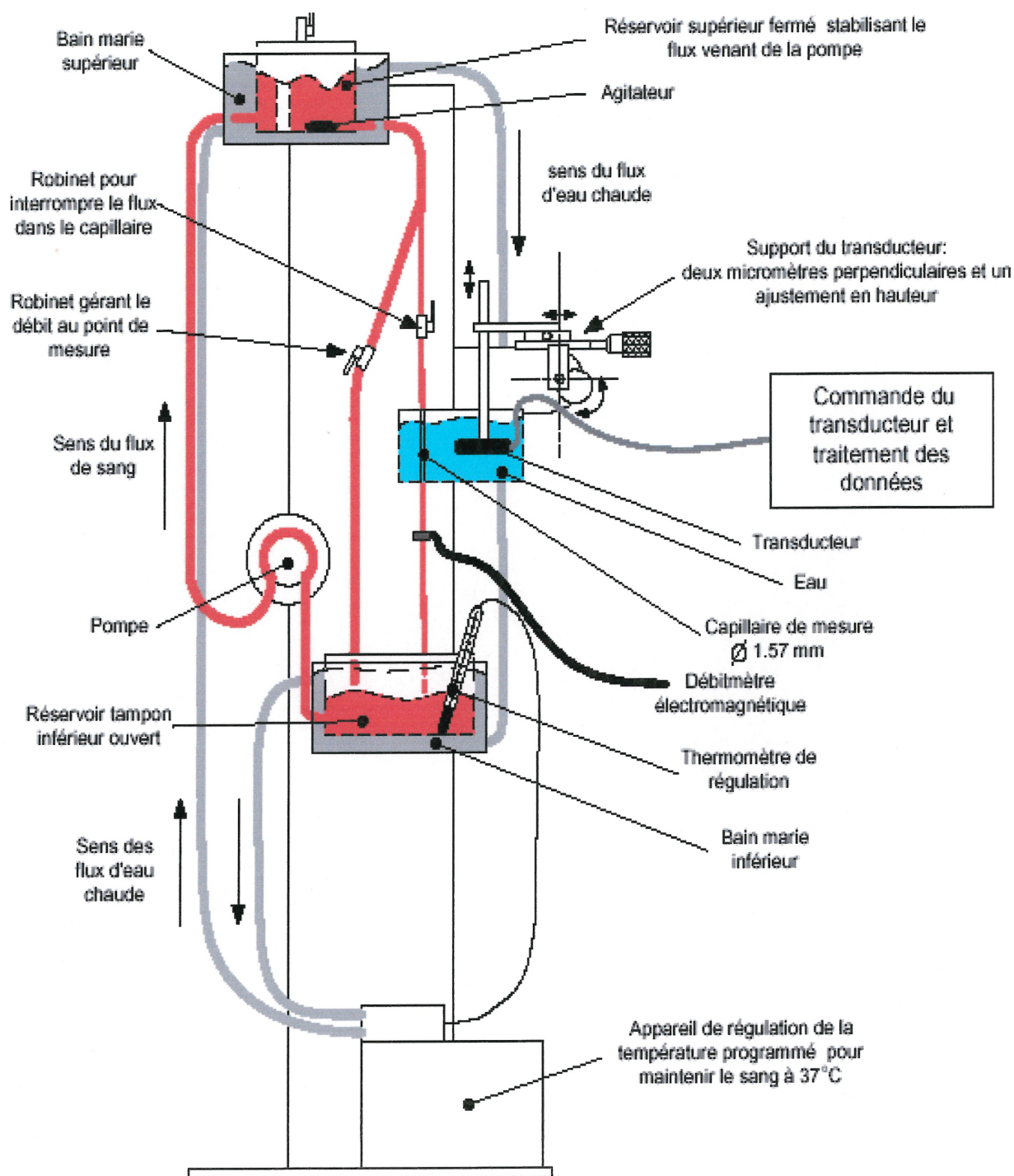


Figure III-1 : Schéma du montage expérimental.

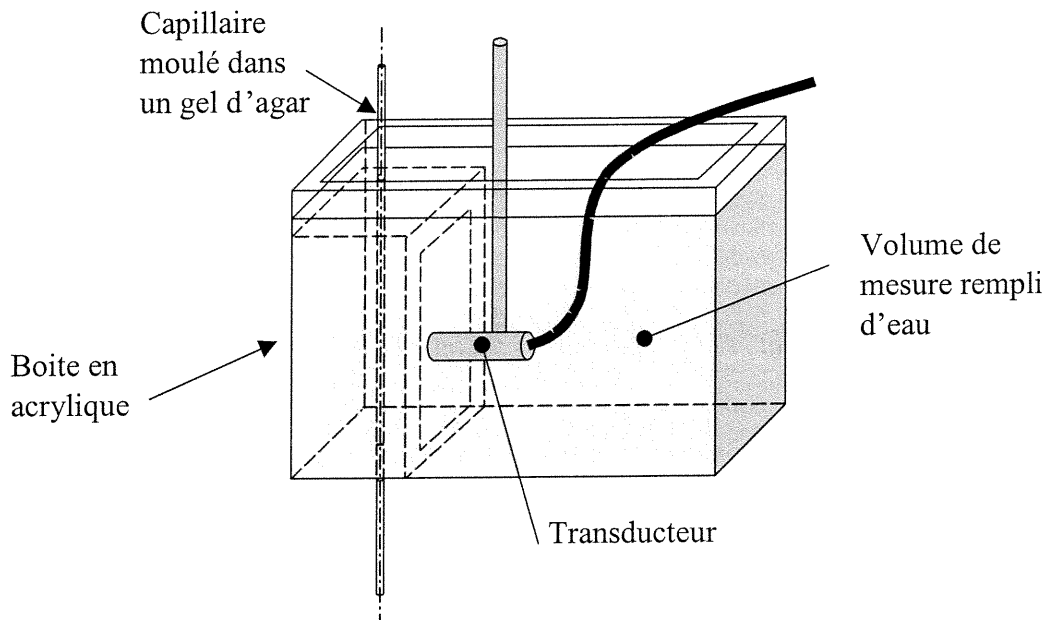


Figure III-2 : Volume de mesure comprenant le capillaire.

1.2. Transducteurs ultrasonores

Les expériences ont été réalisées avec trois transducteurs différents, un 10 MHz non focalisé, un 20 MHz focalisé et un 35 MHz focalisé dont les caractéristiques furent déterminées expérimentalement.

La réponse en fréquence de chaque transducteur (Figure III-3) a été mesurée en utilisant un réflecteur plan en acier inoxydable considéré comme un miroir acoustique parfait. Ce miroir fut placé dans le plan focal du transducteur, ou au point de mesure pour le capteur à 10 MHz. Le positionnement du transducteur par rapport au réflecteur plan fut validé en observant l'amplitude du signal rétrodiffusé pour les transducteurs à 20 et 35 MHz. Pour le transducteur à 10 MHz non focalisé, la mesure est faite à la distance de l'utilisation expérimentale. En effet, c'est dans le plan focal que l'amplitude du signal rétrodiffusé par le miroir est maximale. Les résultats de ces mesures, que l'on retrouve

également au chapitre II (Tableau II-1), sont montrés au Tableau III-1. Les réponses en fréquence expérimentales nous permettent de déterminer la fréquence centrale ‘exacte’ de chaque transducteur ainsi que sa largeur de bande à -3 dB.

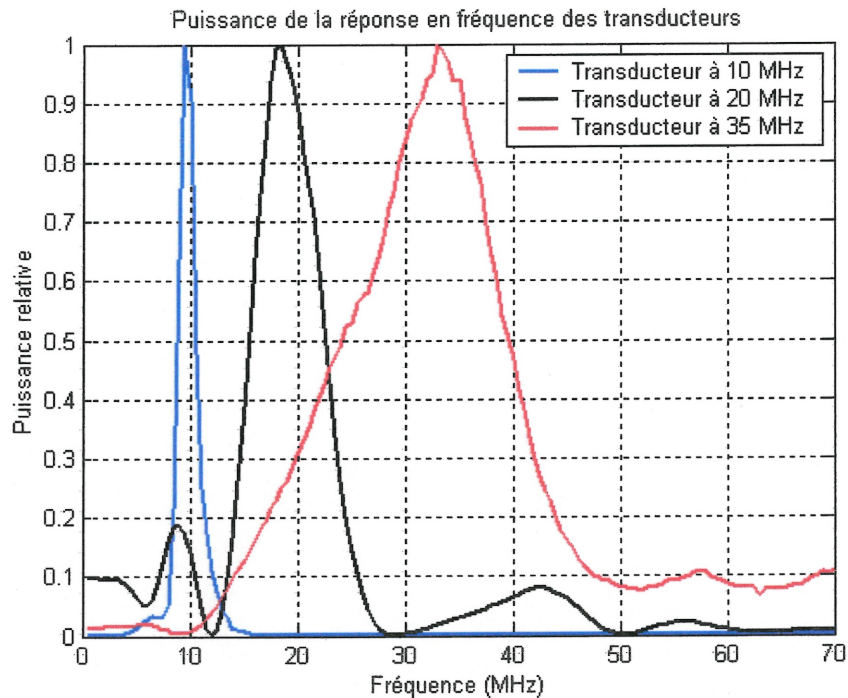


Figure III-3 : Puissance de la réponse en fréquence des trois transducteurs utilisés.

Fréquence centrale approximative (MHz)	Fréquence centrale expérimentale (MHz)	Largeur à mi-hauteur (MHz)	Bande passante (%)
10	9.5	1.8	20
20	18.5	7	33
35	33	16	45

Tableau III-1 : Caractéristiques expérimentales des transducteurs utilisés.

La forme du faisceau ultrasonore fut également mesurée expérimentalement. Pour cela, le transducteur a été placé devant un ensemble de diffuseurs linéaires (fil de $1\ \mu\text{m}$ de diamètre) situés à différentes positions le long du faisceau ultrasonore. En déplaçant latéralement le dispositif par rapport au transducteur, nous avons pu obtenir un estimé du

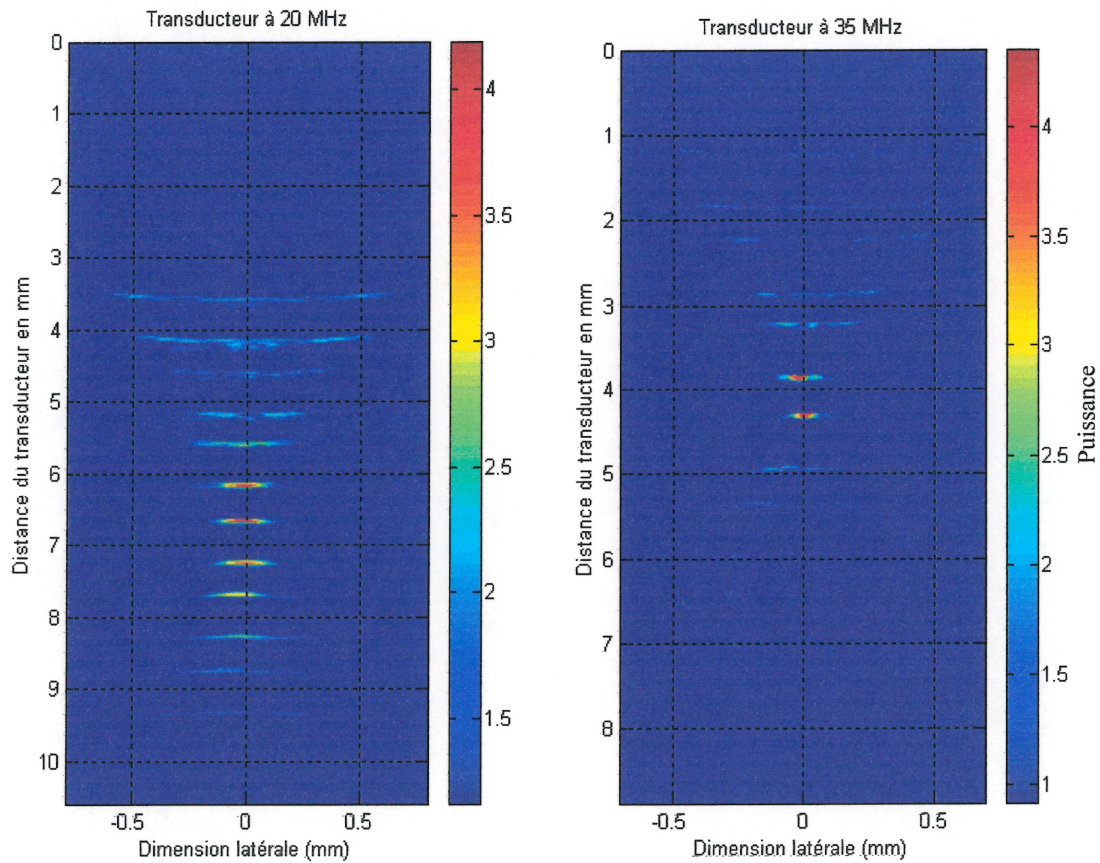


Figure III-4 : Faisceaux ultrasonores pour les transducteurs à 20 (a) et à 35 (b) MHz.

champs acoustique 2D. L'intensité de l'onde rétrodiffusée par chaque diffuseur donne une mesure relative de la puissance locale incidente. Les résultats pour les deux transducteurs focalisés sont montrés à la Figure III-4. De ces mesures, on peut estimer la

largeur du faisceau ultrasonore au plan focal (à -3 dB par rapport au pic de puissance), à environ $200\ \mu\text{m}$ pour le transducteur à 20 MHz et à environ $100\ \mu\text{m}$ pour le transducteur à 35 MHz. Plusieurs observations peuvent également être effectuées. Tout d'abord, on peut remarquer la forme convexe puis concave de l'onde ultrasonore avant et après le plan focal. On peut aussi observer le fait que l'onde, dans le plan focal, est plane, ce qui valide l'hypothèse de construction théorique qui fut faite pour les simulations. On peut aussi remarquer que la distance focale pour le transducteur à 35 MHz est plus proche que pour le capteur à 20 MHz, ainsi qu'une forte atténuation du transducteur à 35 MHz par rapport à la profondeur. La mesure du faisceau ultrasonore du transducteur 10 MHz ne fut pas effectuée car il s'agit d'un transducteur non focalisé. La zone de mesure étant assez éloignée du transducteur (environ 3 cm), le dispositif ne nous permet pas de faire une analyse de la forme du faisceau à cette distance. La taille du faisceau fut donc évaluée à $500\ \mu\text{m}$ à partir d'un seul diffuseur linéaire.

1.3. Acquisition et traitement

a. Systèmes d'excitation : Avtech et Panametrics

Les deux systèmes d'excitation utilisés permettent de gérer des paramètres tels que la fréquence d'excitation du transducteur, la fréquence de répétition de l'excitation, les filtres passe-bas et passe-haut, et la puissance transmise au transducteur. Les deux systèmes permettent de couvrir une plage d'excitation comprise entre 19 et 55 MHz.

Le système Panametrics est utilisé uniquement pour le transducteur à 10 MHz. Les paramètres d'excitation disponibles sont les suivants :

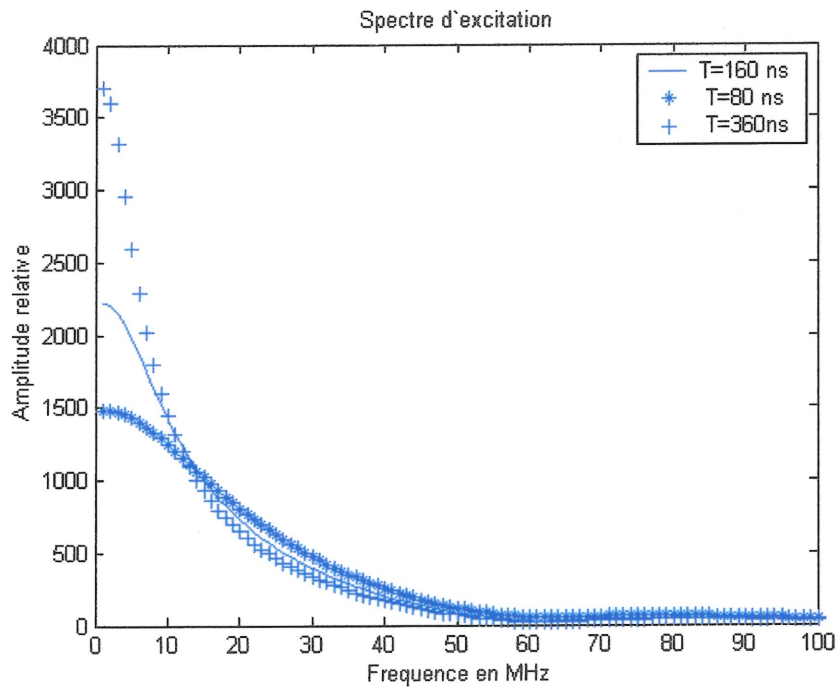
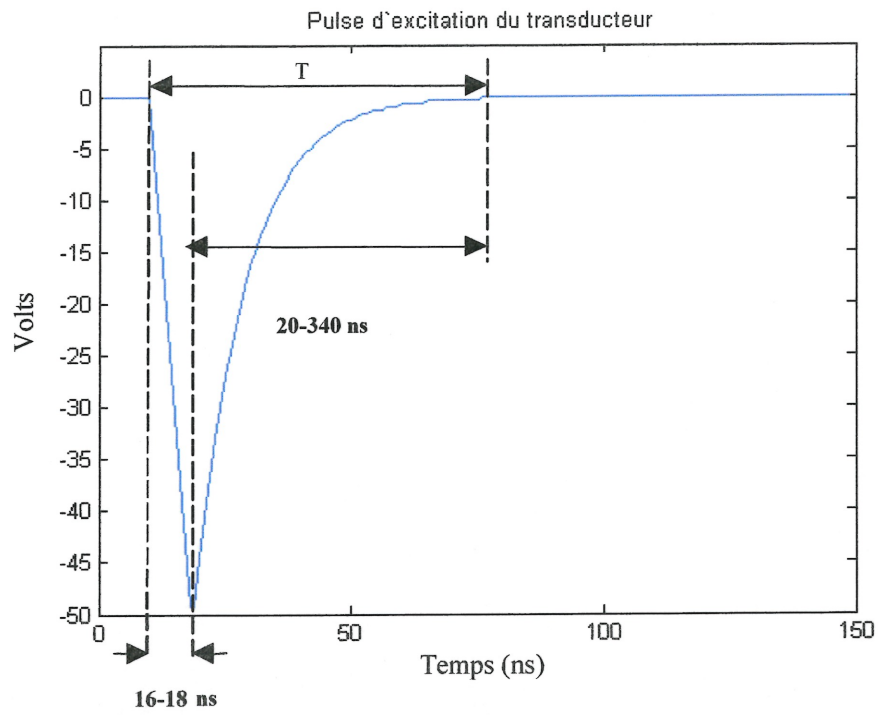
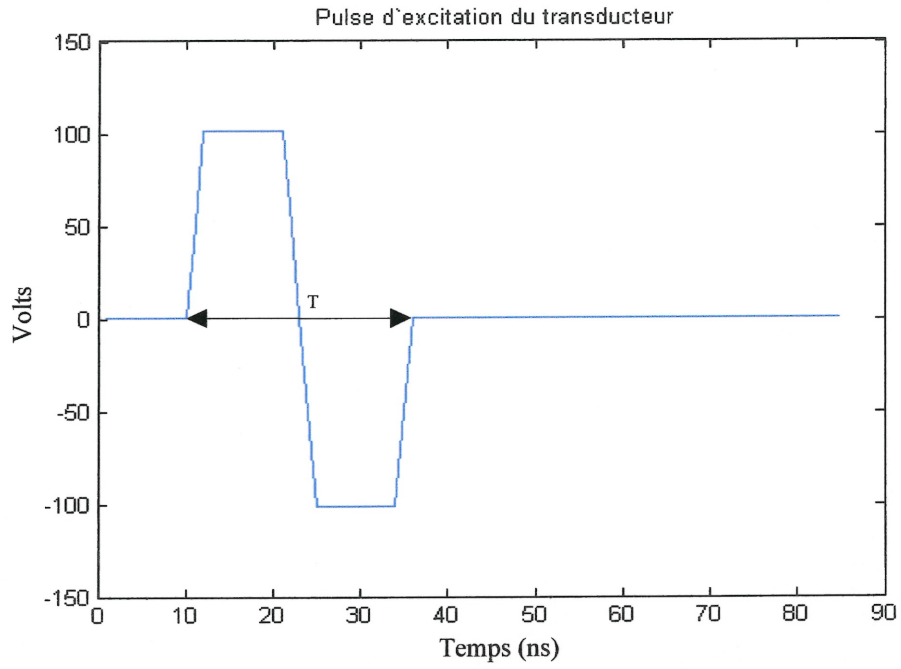


Figure III-5 : Forme de l'onde d'excitation (a) et des spectres (b) en fonction de la période d'excitation (T) réglée sur l'appareil.

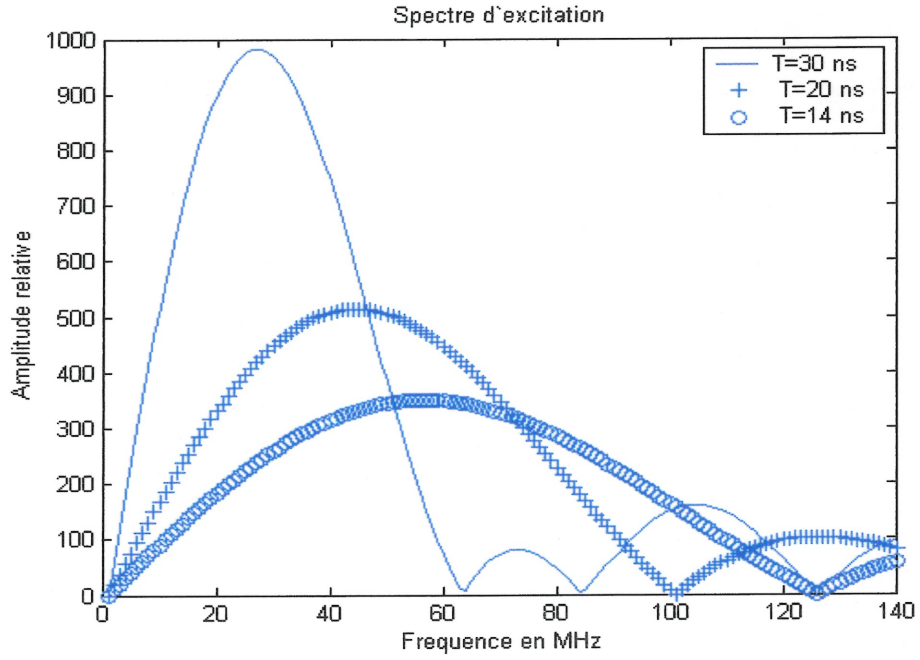
- Puissance : 1 à 36 μ J
- PRF : 200 à 20 000 Hz
- Amortissement : 7 à 50 Ohms
- Filtre passe-haut : 1 kHz à 10 MHz
- Filtre passe-bas : 20 MHz à 200 MHz
- Atténuation : 0 à 60 dB
- Gain : 26, 40 ou 54 dB

Le signal d'excitation de cet appareil se présente sous la forme d'une impulsion négative (Figure III-5 a) dont la base de temps (T) est modulable. Ce mode d'excitation ne permet pas de régler la puissance d'excitation à une fréquence précise, c'est un exciteur large bande. Néanmoins, les paramètres de puissance et l'amortissement permettent de faire varier la bande passante du signal transmis comme on peut le voir sur la Figure III-5 b. Les spectres d'excitation obtenus montrent que ce système ne peut être utilisé que pour le transducteur à 10 MHz ; au delà de cette fréquence, la puissance transmise au transducteur insuffisante pour obtenir une rétrodiffusion adéquate à 20 et à 35 MHz. Les paramètres optimums choisis pour nos mesures sont donc : une puissance de 36 μ J ; un PRF de 1 kHz ; un amortissement de 7 Ohm ; un filtre passe-haut de 1MHz ; un filtre passe-bas de 20 MHz ; une atténuation de 0 dB et un gain de 26 dB.

Le système Avtech est un système d'excitation à bande passante plus étroite que le système Panametrics, mais surtout il permet de faire varier la fréquence centrale du spectre d'excitation (Figure III-6 b). Les paramètres que l'on peut ajuster sont :



a)



b)

Figure III-6 : Forme de l'onde d'excitation (a) et des spectres (b) en fonction de la période d'excitation (T) réglée sur l'appareil.

- Fréquence d'excitation : 19, 25, 40, 55 MHz
- Filtre passe-bas : 40MHz à 80 MHz
- Filtre passe-haut : 0 à 30MHz
- Gain : de -5 à 31 dB

Ce système, plus versatile que le précédent, permet de régler une fréquence centrale d'excitation précise, toutefois, elle ne permet pas, dans son utilisation actuelle, de gérer la puissance transmise. La forme du pulse (Figure III-6 a) d'excitation est formée de deux créneaux (un positif et l'autre négatif) d'amplitudes égales et dont la fréquence propre (ou période T) est directement reliée à la fréquence centrale du spectre d'excitation. Les paramètres choisis pour exciter nos transducteurs sont :

Transducteur (MHz)	Fréquence d'excitation (MHz)	Filtre passe-bas (MHz)	Filtre passe- haut (MHz)	Gain (dB)
20	19	40	5	20
35	55	80	10	20

Tableau III-2 : Paramètres d'excitation et d'acquisition des transducteurs avec le système Avtech.

b. Système d'acquisition: carte Gage 8500 CS

La carte Gage 8500 CS est une carte d'acquisition et d'échantillonnage permettant de numériser le signal reçu par le transducteur. Plusieurs paramètres peuvent être ajustés :

- La fréquence d'acquisition : de 25 à 500 MHz.
- La longueur des acquisitions (en nombre d'échantillons).
- Le nombre d'acquisitions successives (mode multiple record).

- Délai entre chaque groupe d'acquisition.
- Le nombre de groupes d'acquisition.

Les paramètres d'acquisition utilisés sont : une longueur d'acquisition d'environ 6000 points (nombre de points nécessaires pour avoir tout le signal désiré), un nombre d'acquisitions successives de 10 (multiple record), un délai d'acquisition de 3 secondes, une échelle de mesures de +/- 400 mV et une fréquence d'échantillonnage de 500 MHz. Un signal de synchronisation obtenu des appareils Panametrics ou Avtech a permis la concordance temporelle lors des numérisations avec l'oscilloscope Gage 8500 CS. Chaque fichier d'acquisition est sauvegardé sur le disque dur sous le format '.sig' propre à Gage.

c. Système de traitement des données

L'ordinateur utilisé pour le traitement des données est un Pentium III 600 MHz. Le programme Matlab permet de faire, dans un premier temps, la transformation des fichiers d'acquisition '.sig' de la carte Gage en fichiers ASCII ensuite utilisés sous forme de matrices pour le post traitement des données. Des acquisitions (Figure III-7), seules les zones d'intérêt (l'intérieur du capillaire) furent conservées et utilisées comme données pour les calculs de la puissance, du coefficient d'aplatissement et du paramètre de Nakagami.

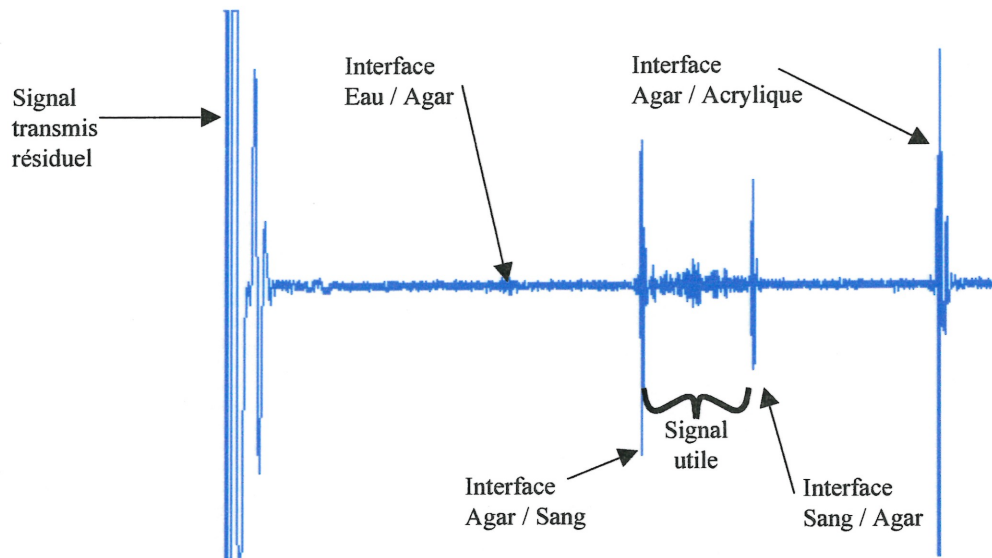


Figure III-7 : Exemple d'acquisition montrant les différentes interfaces observées ainsi que la zone de signal utile.

2. Méthodes

2.1. Préparation du volume de mesure

La zone de mesure consiste en une enceinte d'acrylique (Figures III-8 et III-2) dans laquelle un capillaire de 1.57 mm de diamètre (1/16 pouce) est moulé dans un gel d'agar. L'enceinte permet de conserver le gel d'agar dans l'eau entre chaque expérimentation et de faire une adaptation de l'impédance acoustique entre la surface du transducteur et la zone de mesure. L'adaptation des impédances acoustiques entre l'eau et le gel d'agar est confirmée par la faible amplitude de l'écho d'interface eau/agar montrée à la Figure III-7. Le gel est constitué d'un mélange de 86 ml d'eau auquel on ajoute 8 ml de glycérol et 3 g d'agar en poudre. Le tout est porté à ébullition et mélangé. Le liquide visqueux obtenu est versé dans le moule contenant le capillaire de plastique de 1.57 mm

de diamètre servant d’empreinte. Il faut porter attention aux nombreuses bulles qui se trouvent en suspension après l’ébullition du mélange ou créées lors du remplissage du moule. Il est possible de limiter cet inconvénient en appliquant une pression négative au mélange après la sortie du four, ce qui facilite la remontée des bulles. De plus, le remplissage peut se faire avec une seringue pour limiter la formation de bulles. Une empreinte (Figure III-8) permet de diminuer la distance entre la surface du gel et le capillaire pour permettre une mesure à la profondeur voulue, i.e. en fonction de la faible distance focale des transducteurs (environ 6 mm pour le transducteur 20 MHz et 4 mm pour le transducteur 35 MHz). Après refroidissement d’environ $\frac{1}{4}$ d’heure, le capillaire de plastique et l’empreinte sont enlevés et le boîtier fermé pour être rempli d’eau afin que le gel ne sèche pas.

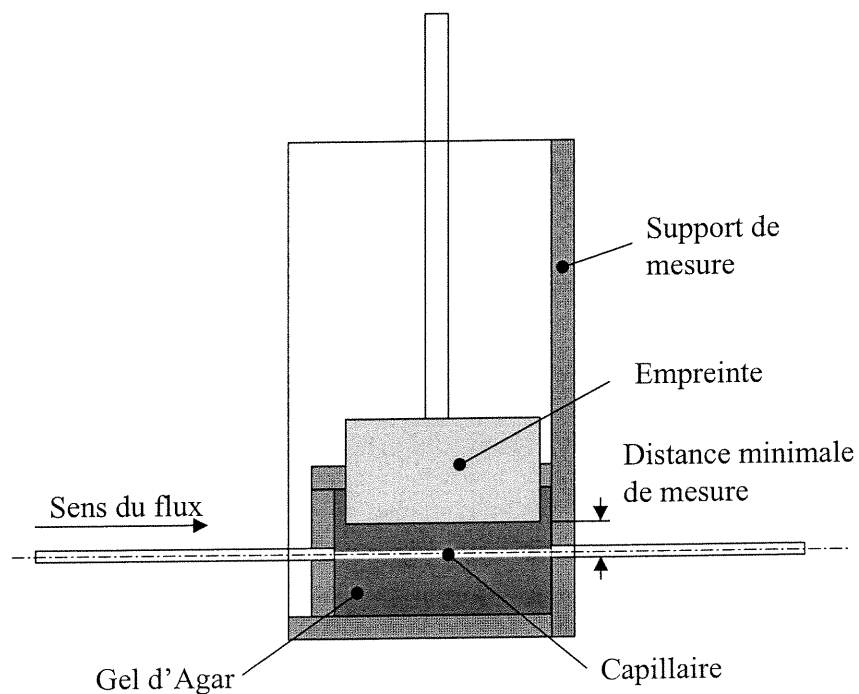


Figure III-8 : Agrandissement de la zone de mesure lors du moulage du capillaire.

2.2. Préparation du sang

Dans l'étude expérimentale, deux types de sang ont été étudiés de manière à s'assurer que les variations mesurées lors de l'arrêt du flux étaient bien dues au phénomène d'agrégation et non à des artefacts dus à la sédimentation ou autres phénomènes associés à l'arrêt du flux. Pour cela, les sangs utilisés étaient d'une part du sang total, c'est-à-dire sans modification des caractéristiques d'agrégation du donneur, et d'autre part, du sang lavé qui est alors non-agrégeant.

Du sang humain en provenance de l'hôpital Hôtel-Dieu du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal suite à la saignée de patient a été utilisé. Les pathologies associées à ces saignées obligatoires et périodiques sont la porphyrie, l'hémochromatose et la polymivéra. Ces pathologies n'étant pas associées à des modifications morphologiques ni structurales des hématies, ni à une modification notable de la composition du plasma, il est assumé que ce sang peut être utilisé comme sang normal. Le sang est collecté dans des poches prévues à cet effet et mélangé avec de l'EDTA pour éviter la coagulation. Son utilisation est faite dans les 24 heures après la collecte du sang pour minimiser son altération avec le temps. Une mesure de l'hématocrite du sang total (H_{initial}) est tout d'abord faite. Pour cela le sang est aspiré par capillarité dans un micro tube qui est ensuite scellé et placé dans une centrifugeuse durant 10 minutes à 12 000 tr/min. Pour garder un hématocrite constant, le sang est ensuite centrifugé dans sa poche à 2500 tr/min durant 20 minutes. La poche présente alors les deux phases principales du sang, c'est-à-dire les hématies dans le fond de la poche et le plasma en surface. Il est donc possible de retirer le plasma et d'en mesurer son volume ($V_{\text{plasma initial}}$).

a. Préparation du sang total.

Pour obtenir du sang total avec un hématicrite constant de 40 % ($H_{\text{désiré}}$), on rajoute aux hématies restants dans la poche un certain volume du plasma donné par l'équation suivante :

$$V_{\text{plasma à rajouter}} = [(1-H_{\text{désiré}}) / (1-H_{\text{initial}})] * [H_{\text{initial}}/H_{\text{désiré}}] * V_{\text{plasma initial}} \quad (3.1)$$

Le sang ainsi obtenu est délicatement brassé et une mesure de l'hématocrite est effectuée pour vérification avant utilisation dans le dispositif de mesure.

b. Préparation du sang non agrégeant.

Pour obtenir un milieu non agrégeant, il suffit de laver le sang. Pour cela, après l'extraction du plasma, celui-ci est remplacé par un volume équivalent de solution saline isotonique (0.9% de chlorure de sodium). Après un délicat brassage, la poche de sang est de nouveau centrifugée à 2500 tr/min durant 20 minutes. On obtient alors, encore une fois, une séparation des deux phases, hématies et solution saline. On remplace de nouveau cette solution saline contenant du plasma résiduel par un volume équivalent d'eau saline et on recommence la procédure de brassage et de centrifugation. On arrive alors à laver le sang et extraire la majorité des molécules et macromolécules contribuant au phénomène d'agrégation. Après extraction de la solution saline, la dernière étape est l'ajout d'un volume de solution saline suffisant pour obtenir l'hématocrite désiré. Pour cela il suffit d'utiliser la même formule (équation 3.1) que dans le cas du sang total, mais en remplaçant le plasma par de la solution saline propre. Une dernière vérification de l'hématocrite du sang lavé ainsi obtenu est effectuée avant de l'utiliser pour les expérimentations.

c. Qualité du sang

La qualité du sang est mesurée par plusieurs paramètres obtenus d'un agrégamètre à laser de type AFFI Bio de l'INSERM et d'un viscosimètre de modèle DV-III de la marque Brookfield. Le Tableau III-3 présente les résultats des mesures pour le sang lavé, considéré comme non agrégeant, le sang total et les données de Weng et al [1996]. On peut constater que les valeurs mesurées sont conformes aux valeurs trouvées dans la littérature pour le sang total, et que le sang lavé présente des caractéristiques très faiblement agrégeantes avec des temps d'agrégation environ 100 fois supérieure au sang total.

	Sang lavé (n=3)	Sang total (n=3)	Weng [1996] (n=19)
tA (s)	318.3 ± 107.7	3.3 ± 0.5	2.9 ± 0.8
tF (s)	9.62 ± 2.12	24.8 ± 4.5	25 ± 5
$S10$	10.7 ± 0.04	19.3 ± 1.7	23 ± 3
γD (s-1)	17.9 ± 2.66	40.5 ± 15.7	49 ± 4
γS (s-1)	20.3 ± 5.86	102.3 ± 39.2	119 ± 18
IS	0.97 ± 0.006	0.63 ± 0.005	0.58 ± 0.02
Ht (%)	39.5 ± 0.6	39.5 ± 0.5	44 ± 5

Tableau III-3 : Paramètre d'agrégation du sang utilisé (Cf. section I-2.5). La colonne de droite sont les données du sang humain (total) extrait de Weng et al [1996].

2.3. Protocole d'acquisition

Le protocole expérimental exposé ci-dessous a été utilisé aussi bien pour les expériences sur le sang total que sur le sang lavé.

1. Mesure de l'hématocrite du sang par centrifugation dans un capillaire. L'hématocrite considéré dans cette expérience est de 40 %.
2. Mesure de la relation entre l'agrégation érythrocytaire et les forces de cisaillement par rétrodiffusion laser dans un agrégamètre de type Regulest de l'INSERM.
3. Mesure de la viscosité du sang dans un viscosimètre (modèle DV-III) fabriqué par la société Brookfield.
4. Mesures ultrasonores dans le capillaire :

La structure demande quelques manipulations préalables à la mesure expérimentale. Il faut tout d'abord remplir le réservoir supérieur à un niveau minimum de 6 cm en ayant pris soin d'ouvrir la prise d'air du couvercle. Une fois le réservoir supérieur ajusté, la valve supérieure est fermée pour garder ce volume constant (il fluctuera de ± 0.5 cm en fonction de la dépression ou surpression dans le réservoir). Le sang doit être entraîné dans le système pendant une durée d'environ une demi-heure pour éliminer au maximum les microbulles. Les réservoirs supérieur et inférieur sont placés dans un bain-marie qui permet le maintien de la température du sang à 37 °C. La mesure de la température de contrôle est faite dans le réservoir ouvert inférieur. Après la période de circulation du sang dans le système, il faut fixer le débit de la pompe, la vitesse de rotation de l'agitateur (1 ou 2 rotations par seconde) et le débit au robinet de la tubulure principale, pour avoir le débit voulu dans le capillaire de mesure. La gestion du flux est réalisée à l'aide d'un débitmètre électromagnétique de la compagnie Carolina Medical (Cliniflow II). La sonde utilisée fonctionne par induction et permet de mesurer des flux de 10 à 100 ml/min dans des tuyaux de 1.57

mm de diamètre. La séquence d'acquisition est alors lancée. Chaque acquisition est une succession de 10 mesures à un PRF de 1 kHz et à une fréquence d'échantillonnage de 500 MHz. La durée des acquisitions est variable en raison de la non homogénéité des distances focales des transducteurs utilisés. Chaque acquisition est répétée toutes les 3 secondes avant et après l'arrêt du flux soit respectivement pour des périodes de 1 et 6 minutes.

5. Répétitions de la mesure 5 fois pour chaque transducteur afin de vérifier et valider l'expérience.
6. Pour chaque expérience, le paramètre qui va varier est uniquement la fréquence d'insonification qui se situe à 10, 20 et 35 MHz. L'ordre d'utilisation des transducteurs n'est pas défini de manière à éviter les artefacts de mesure cumulés dus à des modifications de la qualité du sang durant l'expérimentation (notamment de l'hémolyse).
7. Le flux initial dans le capillaire servant à inhiber l'agrégation des hématies est de 40 ml/min. Une mesure de l'hématocrite est réalisée avant chaque expérience pour vérifier qu'un tel flux initial dans le système ne crée pas trop d'hémolyse.
8. Une fois toutes les expériences effectuées, des mesures de la viscosité et de l'agrégation par rétrodiffusion laser sont effectuées pour évaluer les caractéristiques non-Newtoniennes de l'échantillon de sang.
9. Nettoyage du système avec un rinçage préalable à l'eau (10 min), puis avec du SDS (45 min), ensuite de nouveau un rinçage à l'eau courante et enfin un rinçage avec une

solution saline. Le dernier rinçage à l'eau saline a pour but de limiter l'hémolyse pour l'expérience suivante (problème de la pression osmotique).

2.4. Profil de vitesse dans l'écoulement.

Des modèles mathématiques d'écoulement de fluides peuvent nous permettre d'estimer le type de flux obtenu dans le capillaire ainsi que les forces de cisaillement présentes. Les données de base nécessaires pour ces modèles sont les dimensions du dispositif expérimental, le débit et les caractéristiques non Newtoniennes du sang. Dans notre cas, un capillaire de 1.57 mm a été utilisé, le débit imposé était de 40 ml/mn et une courbe de viscosité en fonction du taux de cisaillement a été obtenue avec le viscosimètre Brookfield (model DV-III).

Le principe fondamental de la mécanique s'écrit sous la forme :

$$\rho \partial_t \bar{V} + \bar{V} \cdot \nabla \bar{V} = \text{div} \bar{\sigma} + \rho \bar{f} \quad (3.2)$$

où ρ est la masse volumique du fluide, \bar{V} est le vecteur vitesse, ∇ est l'opérateur gradient, div est l'opérateur divergence, $\bar{\sigma}$ est le tenseur des contraintes et \bar{f} est le vecteur des forces volumiques extérieures. La loi de comportement usuellement utilisée pour un fluide incompressible vérifie la relation :

$$\bar{\sigma} = -p_s \bar{I} + \eta \left(\bar{\nabla} \bar{V} + \bar{\nabla} \bar{V}^T \right) \quad (3.3)$$

où p_s est la pression statique, \bar{I} est la matrice identité et η est la viscosité dynamique du fluide. En utilisant la loi de comportement (équation 3.3), sous les hypothèses d'un écoulement permanent et d'un fluide incompressible, l'équation 3.2 devient :

$$\rho \bar{V} \cdot \bar{\nabla} \bar{V} = -\bar{\nabla} p_s + \eta \Delta \bar{V} + \bar{\nabla} \eta \left(\bar{\nabla} \bar{V} + \bar{\nabla} \bar{V}^T \right) + \rho \bar{f} \quad (3.4)$$

où Δ est l'opérateur Laplacien. Supposons maintenant que l'écoulement est rectiligne, continu, laminaire et dans une conduite rigide de section circulaire. De plus, notons la coordonnée radiale u et la coordonnée longitudinale z (l'écoulement s'effectue dans le sens des z positifs). Si les forces volumiques extérieures (poids, accélération) sont négligées, l'équation 3.4 devient alors :

$$\partial_r (u \eta \partial_r V) = u \partial_z p_s \quad (3.5)$$

où $\partial_z p_s$ représente le gradient de pression longitudinal, c'est-à-dire le long de l'axe du tuyau. Suite aux hypothèses imposées, le gradient de pression est constant et négatif. Ainsi l'équation 3.5 peut encore être simplifiée sous la forme suivante :

$$\eta \partial_u V = \frac{1}{2} u \partial_z p_s \quad . \quad (3.6)$$

Si la viscosité dynamique η est constante, l'équation 3.6 donne un profil de vitesse V parabolique. Toutefois, la viscosité du sang dépend du taux de cisaillement $\partial_r V$. En conséquence l'équation 3.6 est une équation différentielle non linéaire :

$$f(\partial_r V) \partial_r V = \frac{1}{2} u \partial_z p_s \quad (3.7)$$

Le modèle de viscosité couramment utilisé dans la littérature est une fonction puissance du taux de cisaillement [Baaijens et al., 1993; Ballyk et al., 1994 ; Chaturani, 1990 ; Dutta et Tarbell, 1996] :

$$\eta = f(\partial_u V) = a |\partial_u V|^b \quad (3.8)$$

où $a > 0$ et $-1 < b \leq 0$. Ce modèle, appelé 'power-law model', a une bonne corrélation avec les courbes expérimentales de viscosité. On peut maintenant résoudre l'équation 3.7 ; dans ce cas, le profil des vitesses est défini comme suit :

$$V = V_{\max} \left[1 - \left(\frac{u}{R} \right)^{\frac{b+2}{b+1}} \right] \quad (3.9)$$

L'inconvénient du modèle de l'équation 3.9 est que le profil normalisé des vitesses (V/V_{\max}) est indépendant du débit, ce qui est contraire aux observations

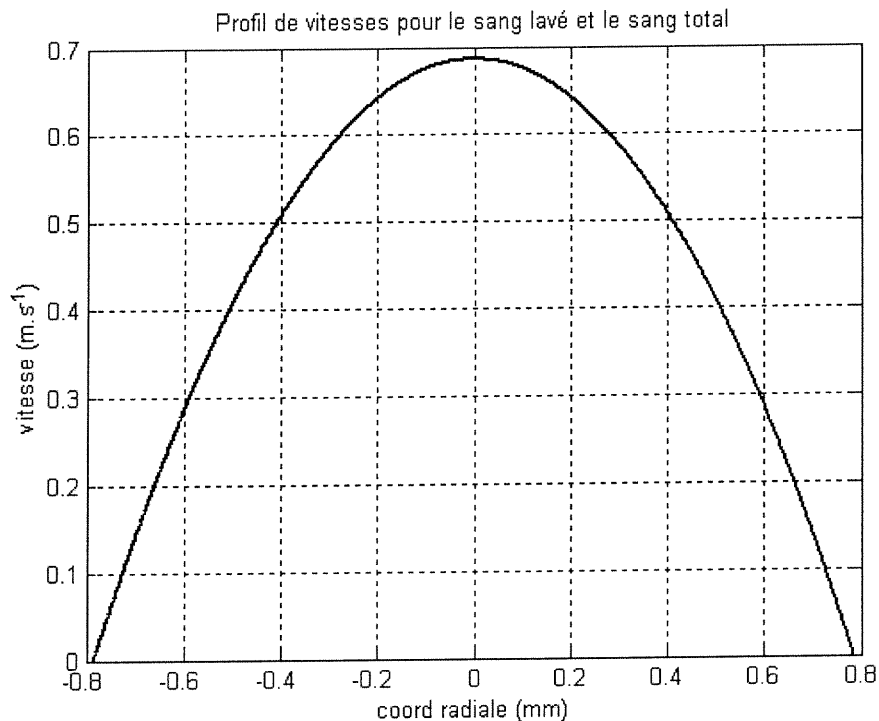


Figure III-9 : Exemple de profils de vitesse rencontrés dans le capillaire de 1.57 mm avec le sang total et le sang lavé établies à partir de l'équation 3.7.

expérimentales dans le cas du sang [Cloutier et al., 1996]. Il est donc plus approprié d'utiliser les données expérimentales de η mesurées avec le viscosimètre pour chaque échantillon de sang utilisé (Figure III.9). On peut alors résoudre numériquement

l'équation 3.5 et remonter ainsi au profil de vitesses dans le tube et aux forces de cisaillement. Les valeurs obtenues pour les deux fluides sont montrées dans le tableau III-2. Ces résultats nous confirment des valeurs de cisaillement assez fortes pour désagréger totalement notre sang avant l'arrêt du flux (taux de cisaillement moyen supérieur à 600 s^{-1}). Les courbes obtenues pour les deux types de sang se superposent. C'est pour cette raison que la Figure III-9 n'en présente qu'une.

Il est aussi possible de calculer de nombre de Reynolds dans le cas de notre écoulement dans le capillaire, ce qui nous donnera une indication sur l'hypothèse d'un écoulement laminaire.

$$\text{Re} = \frac{2RV_{\text{moy}}\rho}{\eta} \quad (3.10)$$

où R est le rayon du capillaire ($0.78 \cdot 10^{-3} \text{ m}$), V_{moy} la vitesse moyenne dans le capillaire (0.458 m.s^{-1}), ρ la densité du sang ($1.093 \cdot 10^6 \text{ g.m}^{-3}$) et η sa viscosité dynamique (3.3 mP). Les résultats (Tableau III-4) nous donne un nombre de Reynolds caractéristique d'un écoulement laminaire comme assumé dans les hypothèses.

	Vitesse moyenne (m.s^{-1})	Vitesse max (m.s^{-1})	Taux de cisaillement moyen (s^{-1})	Taux de cisaillement max (s^{-1})	Nombre de Reynolds
Sang total	0.458	0.686	876	1760	236
Sang lavé	0.458	0.686	875	1760	236

Tableau III-4 : Vitesses et taux de cisaillement dans le dispositif expérimental pour le sang total et le sang lavé.

3. Résultats

3.1. Expérimentations sur du sang lavé

Le but de cette première série d'expérimentation est de connaître les variations des paramètres calculés pour un milieu peu ou pas agrégeant. Pour cette série d'expérimentation, le sang de 3 donneurs fut utilisé. Pour chaque échantillon de sang, 5 mesures suivant le protocole expliqué précédemment furent faites donnant ainsi 15 expériences comme base de calcul des coefficients et paramètres. Les écarts-types ne sont

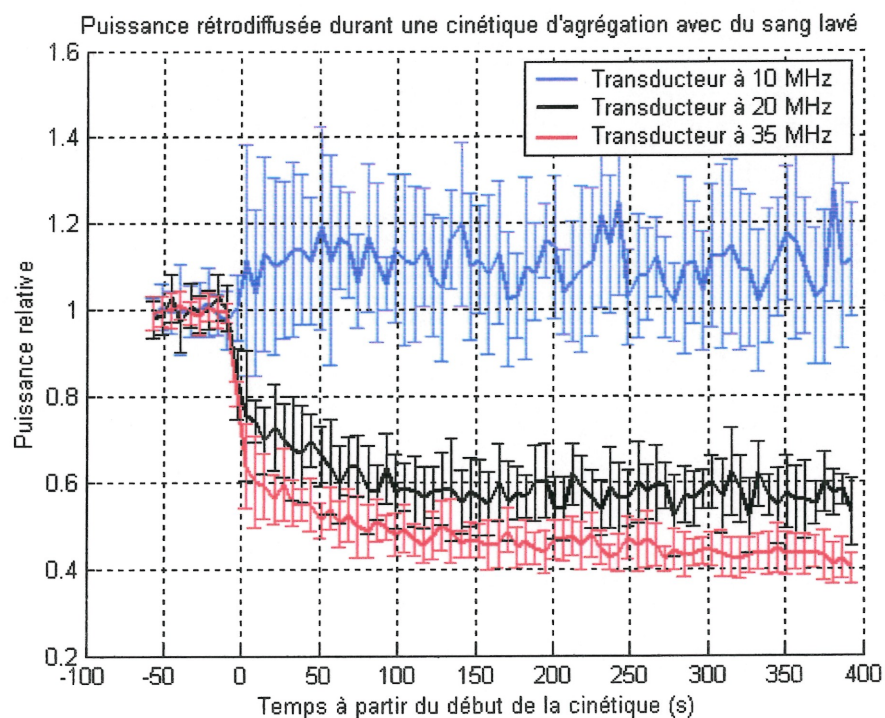


Figure III-10 : Puissance rétrodiffusée par le sang lavé au cours d'une cinétique d'agrégation pour les trois transducteurs.

pas montrés pour toutes les figures pour éviter de les surcharger, mais leurs valeurs restent comprises entre 5 et 10 % de la valeur moyenne affichée. Les résultats obtenus pour les trois transducteurs (10, 20 et 35 MHz) sont présentés à la Figure III-10.

Les graphiques présentés sont normalisés en amplitude par la puissance moyenne rétrodiffusée avant l'arrêt du flux. De cette manière, on peut apprécier plus facilement le gain ou la perte de puissance rétrodiffusée au cours du temps. Ce que l'on peut tout d'abord constater est que la puissance rétrodiffusée n'évolue pas de la même manière en fonction de la fréquence ultrasonore incidente. Ainsi, pour une fréquence ultrasonore incidente de 10 MHz, on constate que la puissance rétrodiffusée augmente légèrement après l'arrêt du flux. Cette augmentation n'est que de l'ordre de 1 dB. Pour une fréquence ultrasonore incidente de 20 MHz, on constate une diminution d'environ 4 dB de la puissance rétrodiffusée après l'arrêt du flux. De même, pour une fréquence ultrasonore de 35 MHz, on constate que la diminution de puissance après l'arrêt du flux est de l'ordre de 7 dB par rapport à la puissance durant l'écoulement.

Les coefficients d'aplatissement que l'on peut observer sur un calcul instantané pour les trois transducteurs (Figure III-11) ne montrent pas de variations appréciables avant comme après l'arrêt du flux. Les moyennes des valeurs observées sont respectivement de 3, 3.1 et 3.8 pour les fréquences incidentes de 10, 20 et 35 MHz.

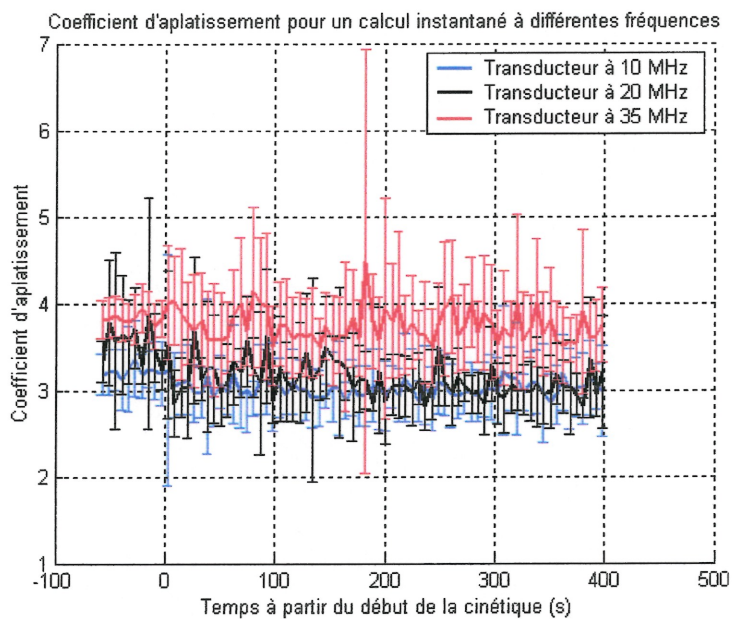


Figure III-11 : Coefficient d'aplatissement calculé instantanément pour du sang lavé au cours d'une cinétique d'agrégation avec les trois transducteurs.

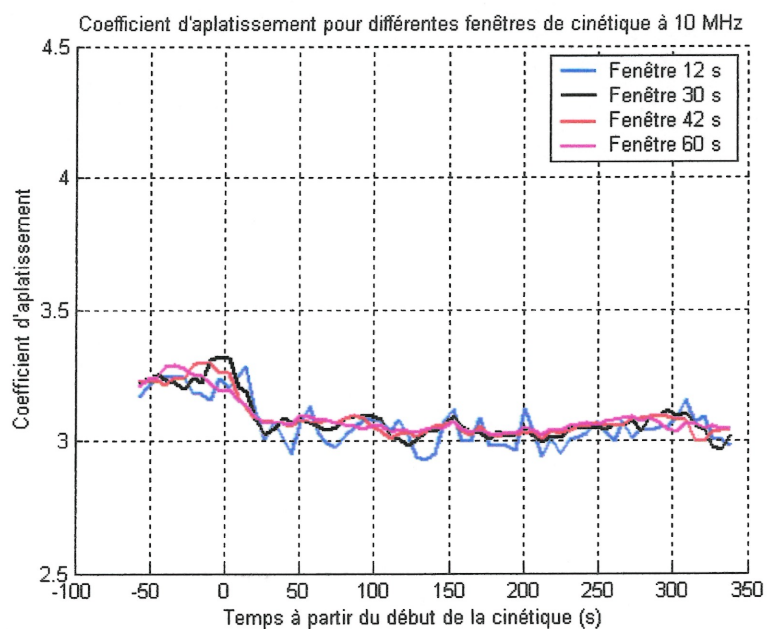


Figure III-12 : Coefficient d'aplatissement calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 10 MHz.

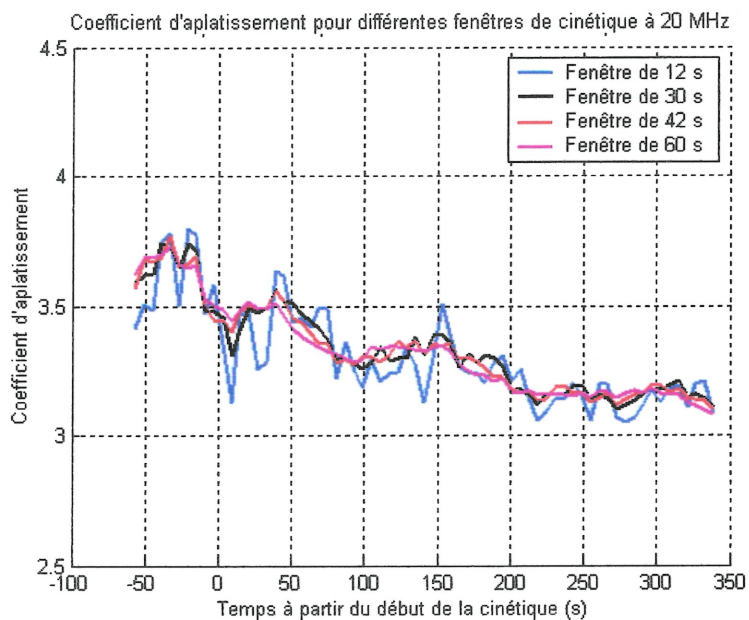


Figure III-13 : Coefficient d'aplatissement calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 20 MHz.

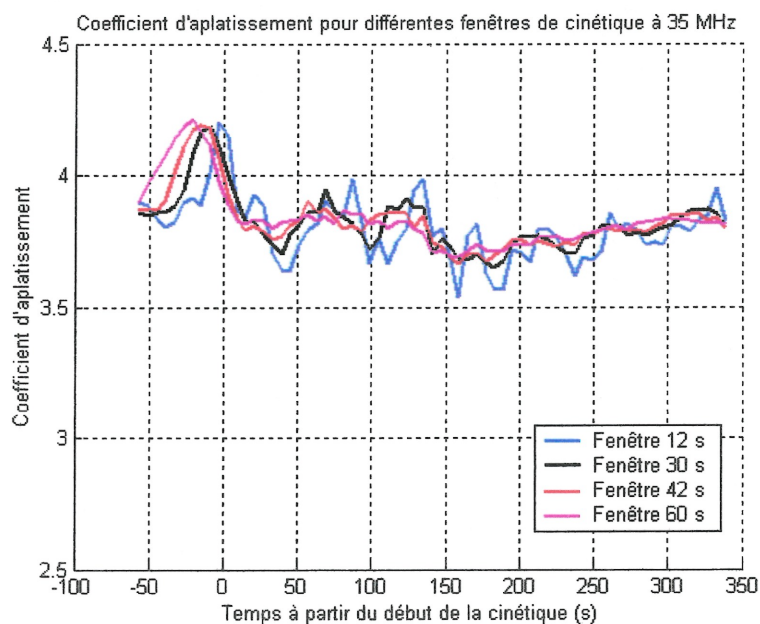


Figure III-14 : Coefficient d'aplatissement calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 35 MHz.

Pour le calcul des coefficients d'aplatissement sur une cinétique d'agrégation avec une fenêtre temporelle de mesure plus ou moins grande (Figures III-12, III-13 et III-14), soit de 12, 30, 42 et 60 secondes, on ne constate pas non plus de grosses variations en fonction du temps. De plus, quelle que soit la période de cinétique, le coefficient d'aplatissement n'est pas dissociable d'une fenêtre de calcul à l'autre à une fréquence donnée. On peut toutefois remarquer que leurs valeurs moyennes évoluent un peu par rapport aux valeurs calculées instantanément. Ainsi, pour une fréquence de 10 MHz, on constate un petit palier suite à l'arrêt du flux passant de 3.25 à 3.05 en moyenne. Pour une fréquence de 20 MHz, on peut noter une diminution constante du coefficient allant de 3.7 à 3.2. Enfin, pour une fréquence de 35 MHz, on peut constater un léger pic de largeur variable selon la fenêtre avant l'arrêt du flux (coefficient d'aplatissement varie de 3.8 à 4.2). Ce pic est suivi d'un plateau autour de 3.8. Toutes ces variations observées pour différentes fenêtres de calcul restent limitées et sont souvent peu significatives devant les écarts-types des courbes. De façon générale, par contre, la valeur moyenne du coefficient d'aplatissement en fonction du temps semble croître avec la fréquence.

Les calculs instantanés du paramètre de Nakagami au cours de l'expérience avec du sang lavé (Figure III-16) ne nous montrent pas d'évolution particulière et ont pour valeur moyenne 1, 1 et 0.7 respectivement pour les fréquences de 10, 20 et 35 MHz. On peut toutefois noter une légère augmentation du paramètre après l'arrêt du flux pour les fréquences de 20 et 35 MHz.

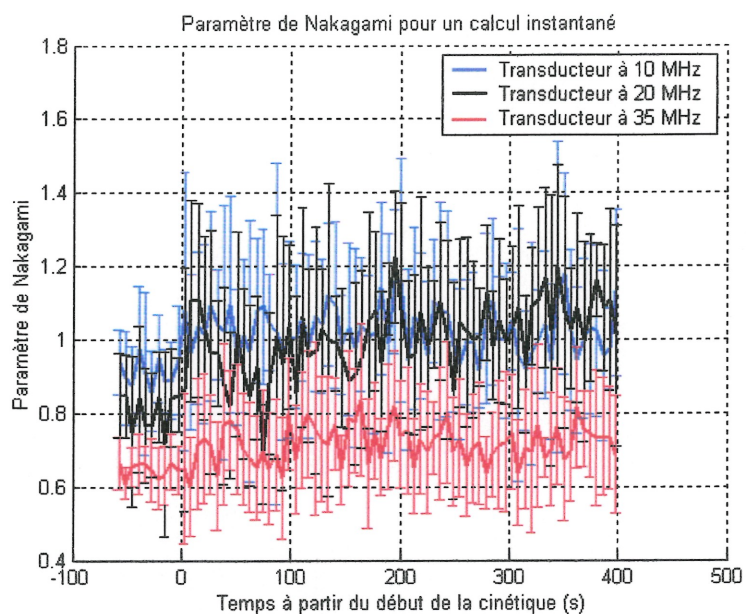


Figure III-15 : Paramètre de Nakagami calculé instantanément pour du sang lavé au cours d'une cinétique d'agrégation avec les trois transducteurs.

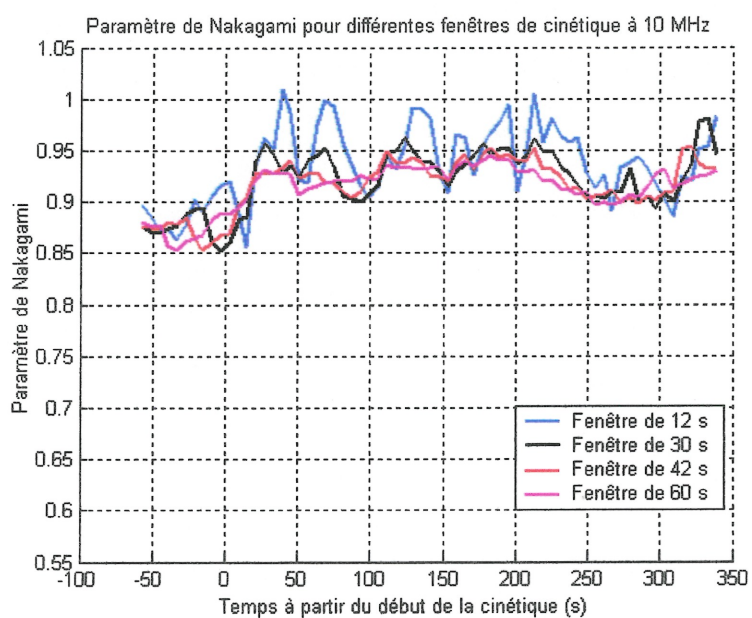


Figure III-16 : Paramètre de Nakagami calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 10 MHz.

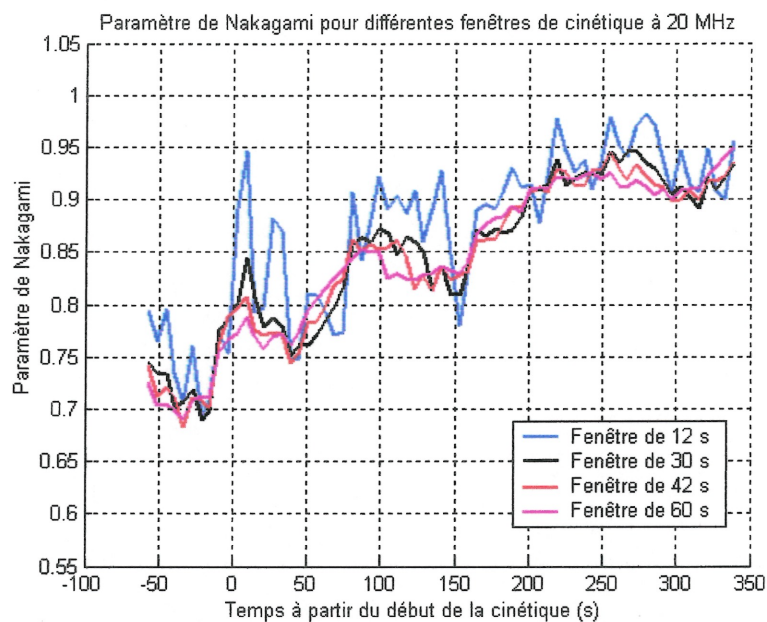


Figure III-17 : Paramètre de Nakagami calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 20 MHz.

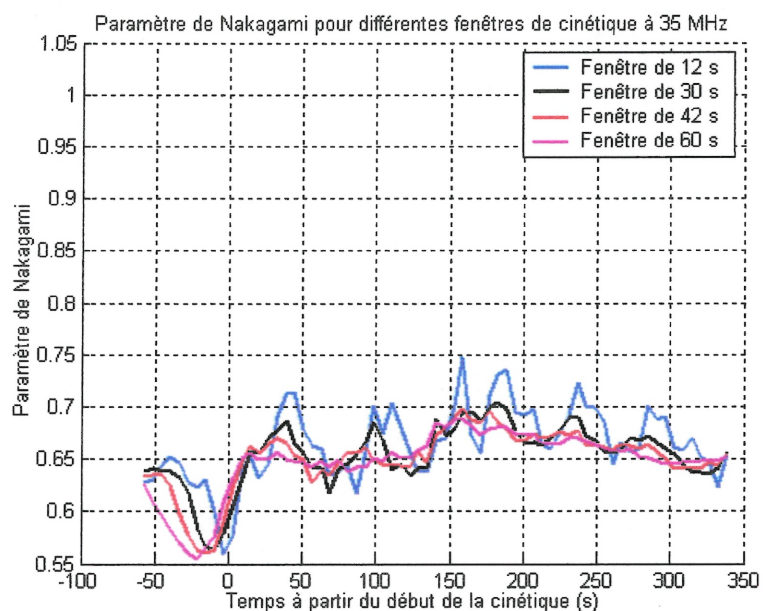


Figure III-18 : Paramètre de Nakagami calculé sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes pour du sang lavé et une fréquence incidente de 35 MHz.

Lors du calcul du paramètre de Nakagami sur des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes, les résultats ne nous montrent pas de grosses variations d'une fenêtre à l'autre pour une même fréquence incidente. On peut noter que pour une insonification à 10 MHz (Figure III-16), on a une valeur moyenne du paramètre durant l'écoulement de 0.87 qui augmente à 0.94 après l'arrêt du flux. Pour une insonification à 20 MHz (Figure III-17), le graphique montre une augmentation constante durant toute l'expérience avec des variations importantes. La courbe part alors d'une valeur moyenne de 0.73 pour atteindre une valeur moyenne de 0.93, sans écart particulier lors de l'arrêt de l'écoulement. Avec une insonification à 35 MHz (Figure III-18), on peut noter un léger pic négatif d'amplitude constante, passant de 0.63 à 0.56, juste avant l'arrêt de l'écoulement. Il en suit un court plateau à une valeur moyenne de 0.66. Ici aussi on peut noter que ces variations ne sont pas très significatives si on prend en compte les écarts-types. En moyenne, le paramètre de Nakagami diminue en fonction de la fréquence.

3.2. Expérimentations sur du sang total

Cette série d'expérience a également été réalisée avec les trois transducteurs de 10, 20 et 35 MHz. Cinq cinétiques consécutives ont été mesurées sur trois échantillons de sang de donneurs (n=15). Dans les graphiques ci-dessous, les écarts-types ne sont pas tous affichés pour éviter de surcharger certaines courbes, mais leurs valeurs restent cantonnés autour de 5 à 10 % de la valeur moyenne affichée. Les résultats obtenus sont les suivants.

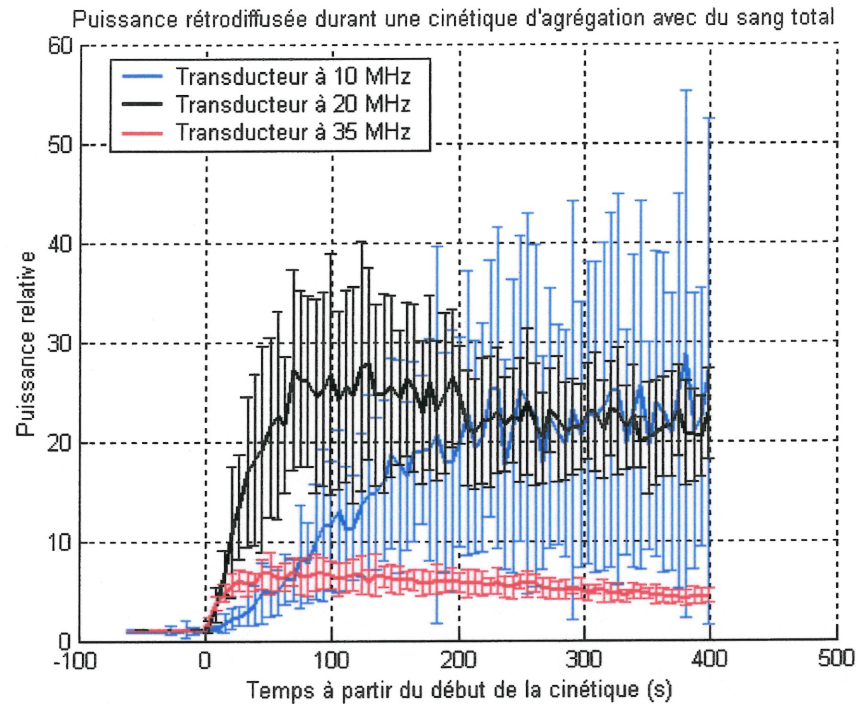


Figure III-19 : Puissance rétrodiffusée par le sang total, calculée au cours d'une cinétique d'agrégation pour les trois transducteurs.

Comme pour le sang lavé, la puissance montrée à la Figure III-19 est normalisée par la moyenne de la puissance rétrodiffusée par le milieu durant l'écoulement du sang. On remarque que la variation de la puissance est fortement dépendante de la fréquence d'insonification. Ainsi, pour une fréquence incidente de 10 MHz, la cinétique d'agrégation dure environ 210 secondes avant que la puissance ne se stabilise. L'augmentation de la puissance est alors de l'ordre de 31 dB. Pour une fréquence incidente de 20 MHz, le temps de stabilisation de la puissance n'est plus que de l'ordre de 80 secondes avec une augmentation de puissance de l'ordre de 33 dB. Enfin, pour une fréquence incidente de 35 MHz, le temps de stabilisation de la puissance est de 50 secondes mais avec une augmentation de seulement 16 dB.

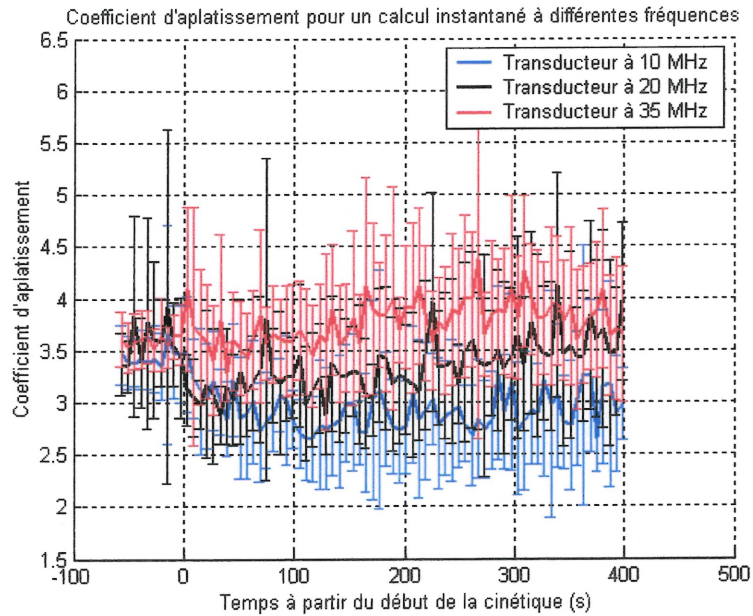


Figure III-20 : Coefficient d'aplatissement pour du sang total, calculé instantanément au cours d'une cinétique d'agrégation en utilisant les trois transducteurs.

Lors du calcul instantané du coefficient d'aplatissement sur le sang total (Figure III-20), il apparaît que celui-ci varie peu au cours de l'acquisition et a respectivement comme valeur moyenne 2.9, 3.3 et 3.7 pour les fréquences de 10, 20 et 35 MHz. On peut cependant noter que pour les fréquences de 10 et 20 MHz, les valeurs avant l'arrêt du flux étaient un peu supérieures, soient 3.4 et 3.6 respectivement.

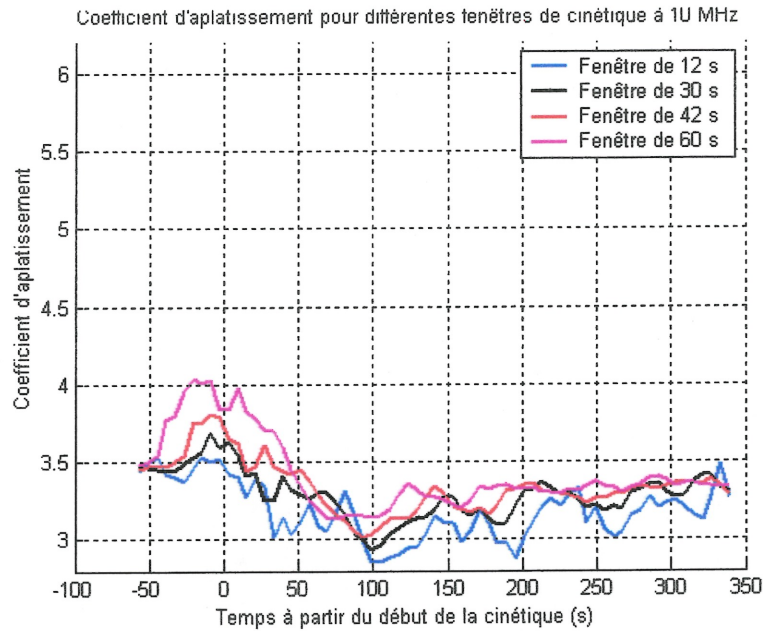


Figure III-21 : Coefficient d'aplatissement calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 10 MHz.

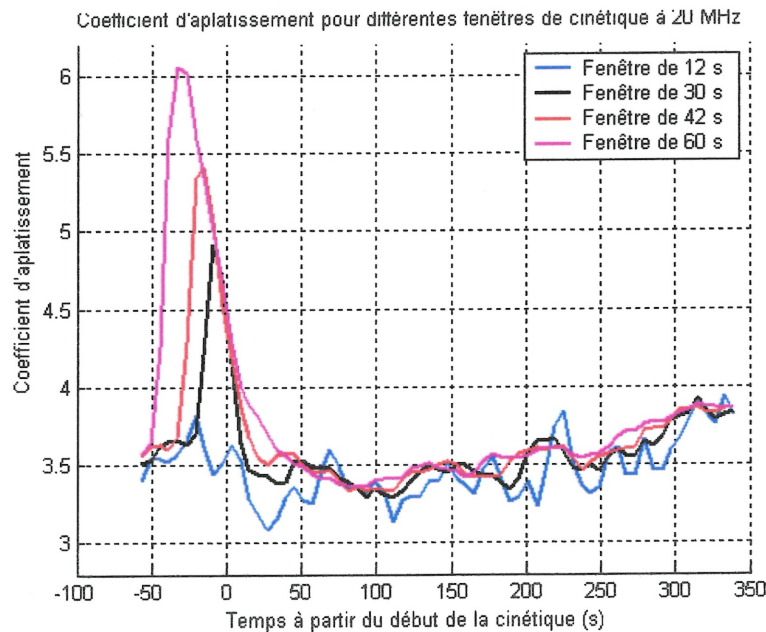


Figure III-22 : Coefficient d'aplatissement calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 20 MHz.

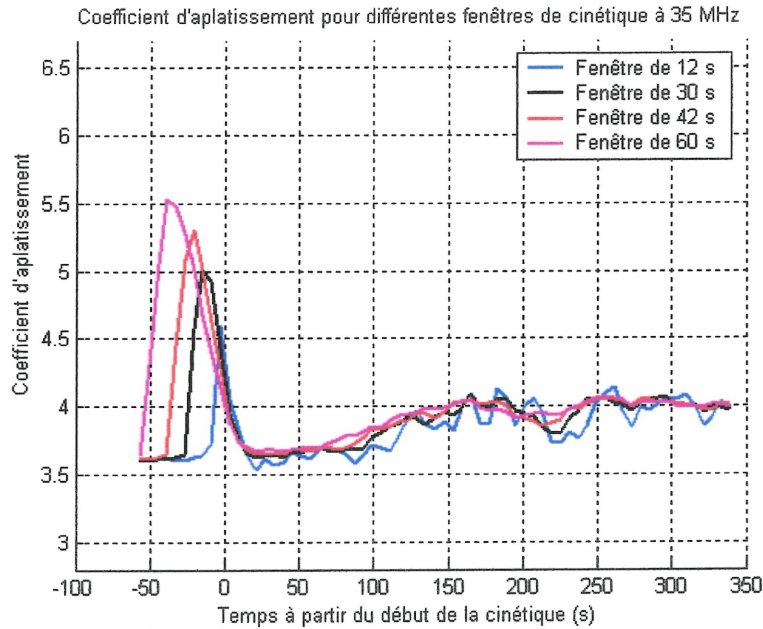


Figure III-23 : Coefficient d'aplatissement calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 35 MHz.

Les résultats obtenus pour le calcul du coefficient d'aplatissement sur des fenêtres de calcul de longueurs variables donnent des évolutions caractéristiques. Ainsi, pour une fréquence d'insonification de 10 MHz (Figure III-21), on observe de légères augmentations du coefficient d'aplatissement au début de la cinétique d'agrégation. L'augmentation est légère et le coefficient atteint 4 pour la fenêtre de 60 secondes. D'une manière générale, les courbes obtenues à 10 MHz sont assez superposables à celle obtenue lors du calcul instantané avec une valeur moyenne du coefficient de 3.35. Pour une fréquence d'insonification de 20 MHz (Figure III-22), les résultats montrent une nette variation du coefficient d'aplatissement en fonction de la fenêtre de calcul. D'une valeur moyenne de 3.5 durant l'écoulement, le coefficient va soit rester stationnaire pour une fenêtre de 12 secondes, soit augmenter jusqu'à des valeurs de 4.9, 5.4 et 6.1

respectivement pour les fenêtres de 30, 42 et 60 secondes avant de revenir à sa valeur initiale. De même, pour une fréquence incidente de 35 MHz (Figure III-23), nous pouvons noter des évolutions du coefficient d'aplatissement passant d'une valeur de 3.5 avant l'arrêt du flux à des valeurs de 4.6, 5, 5.3 et 5.5 respectivement pour des fenêtres de 12, 30, 42 et 60 secondes avant de revenir à des valeurs proches du début.

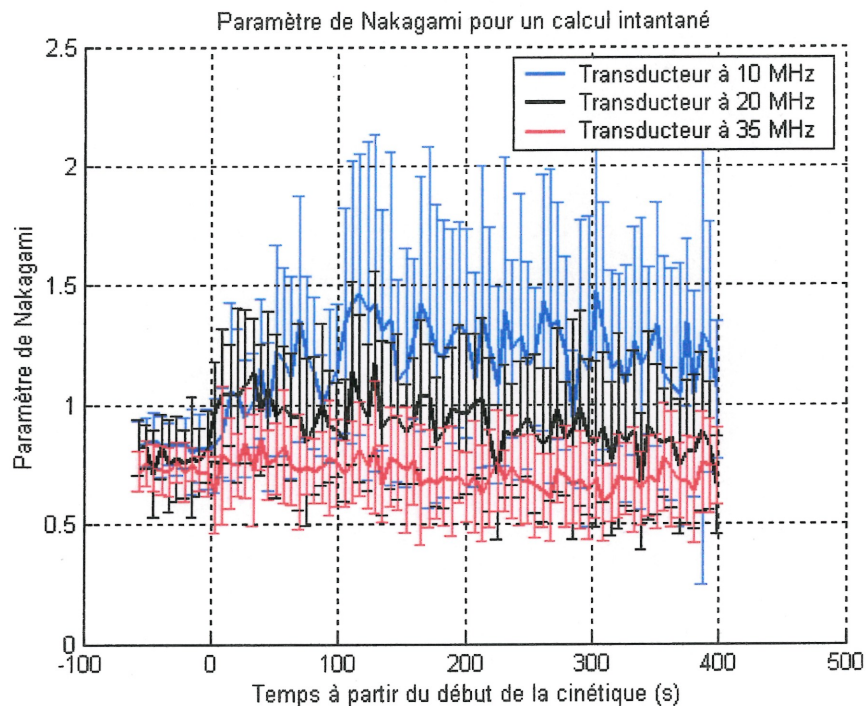


Figure III-24 : Paramètre de Nakagami pour du sang total, calculé instantanément au cours d'une cinétique d'agrégation en utilisant les trois transducteurs.

Les résultats du calcul instantané du paramètre de Nakagami avec du sang total sont montrés à la Figure II-24. On peut noter que d'une valeur moyenne de 0.75, le paramètre croît jusqu'à des valeurs de 1.3 à une fréquence de 10 MHz et 1.0 pour une fréquence de 20 MHz, mais reste stationnaire pour la fréquence de 35 MHz avec des valeurs moyennes de 0.75 après l'arrêt du flux.

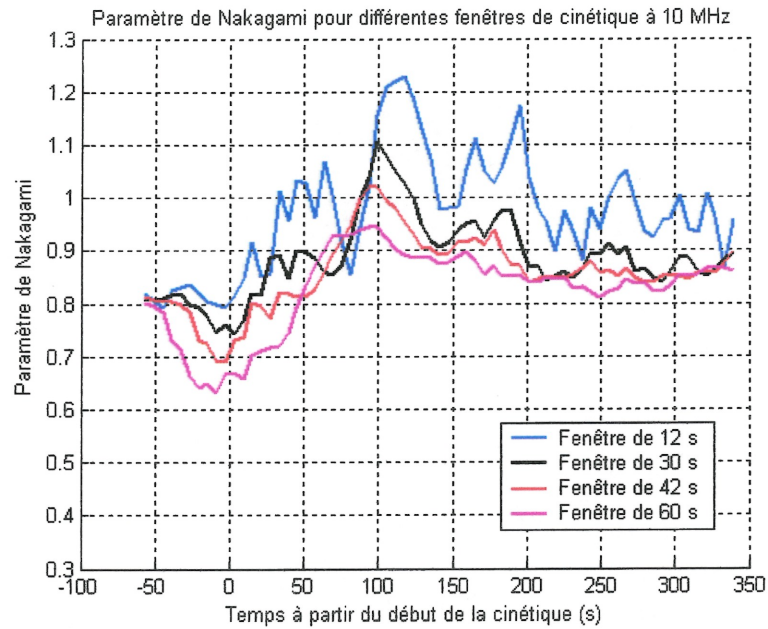


Figure III-25 : Paramètre de Nakagami calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 10 MHz.

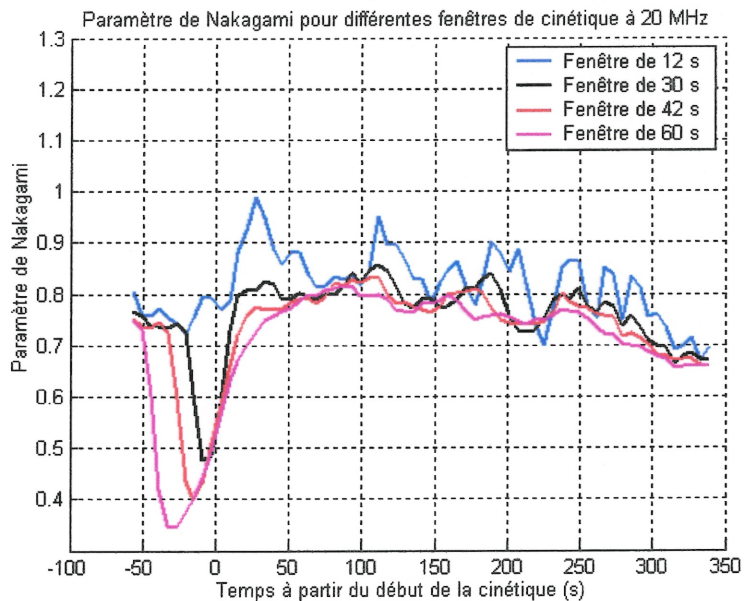


Figure III-26 : Paramètre de Nakagami calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 20 MHz.

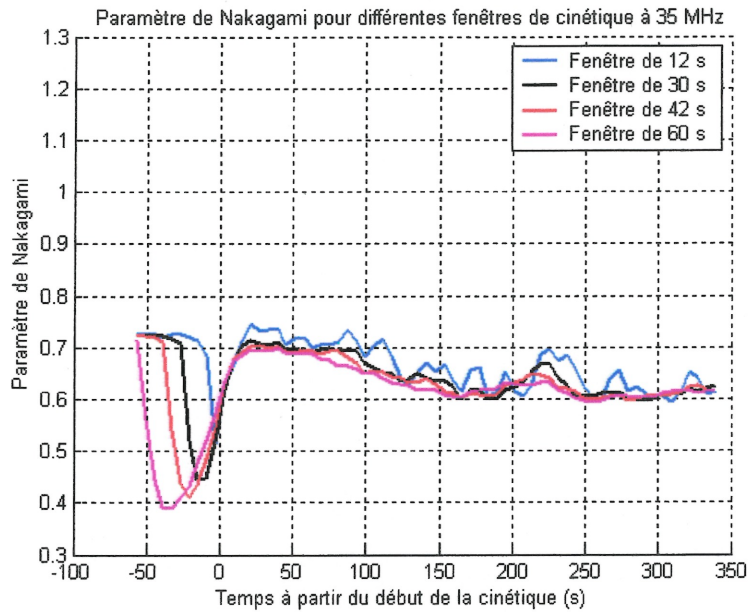


Figure III-27 : Paramètre de Nakagami calculé pour différentes fenêtres de cinétiques (12, 30, 42 et 60 secondes) pour le transducteur à 35 MHz.

Les résultats du paramètre de Nakagami sur des fenêtres temporelles variables donnent des résultats intéressants. Pour une fréquence de 10 MHz, (Figure III-25) on peut noter que les courbes moyennes ne sont pas très dissociables. Toutes les courbes ont une évolution présentant un début à 0.8 suivie d'une légère baisse elle-même suivie d'une augmentation autour de 0.9. On peut toutefois noter que pour une fenêtre de 60 secondes, on a un pic négatif plus prononcé atteignant 0.64, et suivi d'une augmentation plus importante que les autres courbes jusqu'à 1.2. Pour une fréquence de 20 MHz (Figure III-26), on peut observer des variations notables du paramètre de Nakagami passant de 0.75 à 0.48, 0.4 et 0.35 respectivement pour des fenêtres de calcul de 30, 42 et 60 secondes. De même, pour une fréquence incidente de 35 MHz (Figure III-27), les valeurs du paramètre

de Nakagami passent de 0.72 à 0.52, 0.45, 0.41 et 0.39 respectivement pour les fenêtres de calculs de 12, 30, 42 et 60 secondes.

4. Discussion

Chaque expérience va tout d'abord faire l'objet d'une discussion individuelle qui sera suivie par une synthèse regroupant les remarques que l'on peut faire en comparant les deux expérimentations.

4.1. Sang lavé

Le premier paramètre étudié est la puissance rétrodiffusée (Figure III-11) par le milieu non agrégeant suite à l'arrêt du flux sanguin. De façon peut-être surprenante, on note de faibles variations de la puissance rétrodiffusée par le sang non agrégeant suite à l'arrêt du flux. Il est par contre intéressant de noter que ces variations sont fonction de la fréquence d'insonification. Le phénomène mesuré serait le reflet de la sensibilité du signal rétrodiffusé à l'agitation des hématies par le flux. Plusieurs publications [Shung et al., 1992 ; Cloutier et Shung, 1993] font état de cet effet et montrent que la puissance rétrodiffusée augmente pour un milieu agité ou turbulent. L'augmentation de l'impact de ce phénomène à hautes fréquences est cependant nouveau et n'a pas été rapportée dans la littérature. Même si dans notre cas l'écoulement n'était normalement pas turbulent ($Re = 236$), l'agitation du flux était suffisante pour agir sur le signal rétrodiffusé. À la Figure III-10, ceci se traduit par une baisse de la puissance rétrodiffusée après l'arrêt de l'écoulement sanguin, car les puissances sont normalisées par rapport à la puissance

rétrodiffusée durant l'écoulement. Les baisses observées sont de -4 et -7 dB respectivement pour les fréquences de 20 et 35 MHz.

Pour les calculs instantanés du coefficient d'aplatissement, on ne trouve pas d'évolutions significatives permettant de dire que le coefficient est sensible au changement d'écoulement. Lors des calculs du coefficient d'aplatissement sur des fenêtres temporelles de 12, 30, 42 et 60 secondes, on a remarqué par contre quelques évolutions surtout à hautes fréquences. Ces augmentations, compte tenu de l'écart-type des mesures, ne sont probablement pas significatives.

Le paramètre de Nakagami fut calculé sur les mêmes signaux que le coefficient d'aplatissement. À l'image du coefficient d'aplatissement, celui-ci ne varie presque pas au cours de l'expérience quelle que soit la fréquence d'insonification. Selon la théorie vue à la section I-3.2 c, un paramètre de Nakagami supérieur à 1 dénote un milieu plutôt composé de petites particules aléatoirement distribuées, alors qu'un paramètre inférieur à 1 serait le reflet d'un arrangement géométrique. Dans notre cas, on obtient des valeurs du paramètre de Nakagami correspondant bien à un milieu non agrégé aléatoire pour les fréquences de 10 et 20 MHz. Toutefois, les valeurs obtenues pour une fréquence de 35 MHz pourraient sous-entendre un arrangement particulier des hématies dans le milieu. Comme aucune étude ne montre de dépendance de ce paramètre à la fréquence d'insonification, il n'est donc pas possible de tirer des conclusions par rapport à cette remarque. Ce que l'on peut noter des graphiques montrant le paramètre de Nakagami pour différentes fenêtres de calcul et différentes fréquences (Figures III-16, III-17 et III-18), c'est que d'une manière générale les tendances sont similaires à celles observées

pour le coefficient d'aplatissement mais en amplitude opposée. Les variations de ce paramètre semblent toutefois plus marquées que celles observées avec le coefficient d'aplatissement. Néanmoins, elles restent assez peu significatives compte tenu des écarts-types de l'ordre de 10 % de la valeur moyenne.

À la vue de ces résultats, il est donc possible de dire que pour le sang lavé, donc pour un milieu peu ou pas agrégeant, les paramètres tels que la puissance rétrodiffusée, le coefficient d'aplatissement et le paramètre de Nakagami ne varient pas significativement, conformément aux attentes théoriques.

4.2. Sang total

On peut remarquer à la Figure III-19 que les variations de la puissance sont fortement dépendantes de la fréquence d'insonification. De tels résultats n'ont jamais été rapportés dans la littérature. Les expériences nous donnent une augmentation de la puissance avec l'augmentation de l'agrégation quel que soit le transducteur utilisé. Cependant, il apparaît que l'augmentation de la puissance rétrodiffusée par le milieu agrégé est plus faible à 35 MHz qu'à 20 ou 10 MHz. Ceci semble conforme à de récents travaux de simulations [Savéry et Cloutier, 2001] montrant une sensibilité en puissance plus faible à hautes fréquences. Une autre observation que l'on peut faire est la variation du temps de stabilisation de la puissance selon la fréquence incidente. On a constaté que le temps de stabilisation de la puissance diminuait avec l'augmentation de la fréquence. On peut s'interroger sur les causes de ces variations qui semblent être inversement corrélées à la définition spatiale.

Tel que montré à la Figure II-20, les résultats pour le calcul instantané du coefficient d'aplatissement sont conformes aux attentes et correspondent à une rétrodiffusion de type Gaussienne. On constate aux Figures III-21 à III-23 que la taille de la fenêtre de calcul a une forte influence sur l'apparition du pic de ce paramètre. Il semble aussi que la fréquence affecte la sensibilité de ce coefficient. Tous ces résultats sont en accord avec les simulations présentées au chapitre II (Figures II-20 à II-23).

En ce qui concerne le paramètre de Nakagami, on peut s'interroger sur les variations observées lors du calcul instantané. L'augmentation à 10 MHz (Figure III-25), même si elle est faible, est contraire à la théorie si on considère que lors de l'agrégation les diffuseurs grossissent. Ainsi, on aurait dû voir une diminution du paramètre au lieu d'une augmentation. Pour les calculs sur des fenêtres temporelles plus ou moins grandes, les évolutions sont similaires mais en sens opposé à celles observées avec le coefficient d'aplatissement, mais moins faciles à distinguer parmi les écarts-types.

4.3. Synthèse des résultats expérimentaux

La première constatation que l'on peut tirer de ces deux expériences, est que les sangs lavé et total ont des comportements acoustiques bien différents. Le seul paramètre modifié lors des expériences avec le sang lavé et le sang total est la capacité du milieu à s'agréger ou pas. Les résultats obtenus montrent que la puissance rétrodiffusée par le sang est un paramètre très sensible à l'agrégation à la vue des fortes variations que nous pouvons observer entre les deux expériences, mais que cette sensibilité diminue fortement avec l'augmentation de la fréquence. Ainsi, pour les fréquences de 10, 20 et 35

MHz, on obtient des variations de la puissance respective de 1, -4 et -7 dB pour le sang lavé, et 31, 33 et 20 dB pour le sang total.

On peut constater que les valeurs des coefficients d'aplatissement et des paramètres de Nakagami, contrairement à la puissance, restent sensiblement les mêmes pour un calcul instantané qu'il s'agisse de sang lavé ou total, et quelle que soit la fréquence d'insonification. Néanmoins, ces paramètres statistiques ne réagissent pas de la même manière lors des calculs sur des fenêtres temporelles appliquées aux deux types de sangs. Pour le sang lavé, quelle que soit la fenêtre de calcul utilisée, on observe une quasi-invariance, alors que pour le sang total, à haute fréquence, ces valeurs fluctuent significativement. Dans ce dernier cas, on observe des pics significatifs au moment de l'arrêt du flux.

La fréquence est un facteur qui semble aussi fortement influencer la sensibilité des paramètres statistiques calculés pour du sang total. Il apparaît que les hautes fréquences sont plus sensibles aux variations du milieu que les basses fréquences. Ainsi, pour une fréquence de 35 MHz, les pics du coefficient d'aplatissement, comme celui du paramètre de Nakagami, sont visibles même pour une fenêtre de calcul de petite taille (12 secondes), alors que pour une fréquence de 20 MHz elle n'apparaît qu'à partir de 30 secondes et qu'elle est à peine visible à 10 MHz pour une fenêtre de 60 secondes. Cette sensibilité peut s'expliquer à la fois par la plus grande résolution axiale des transducteurs hautes fréquences, comparée aux transducteurs de fréquences plus basses, mais aussi par le fait que l'on s'éloigne plus rapidement des conditions de Rayleigh pour les transducteurs hautes fréquences, avec le grossissement 'relatif' des agrégats.

Chapitre IV. Discussion générale

L'objectif de ce travail de maîtrise était de montrer la pertinence de l'utilisation de paramètres statistiques pour l'évaluation de l'agrégation érythrocytaire. Pour cela, il fut fait une étude prospective théorique suivie d'une série d'expériences sur une structure d'essai. Les trois paramètres évalués furent : la puissance rétrodiffusée, le coefficient d'aplatissement et le paramètre de Nakagami. Dans cette discussion générale, nous allons nous pencher sur les similitudes et les enseignements que nous donne la globalité de ce travail. Pour ce faire, la majorité des comparaisons seront faites entre les simulations informatiques basées sur les tissus à diffuseurs de taille variable aléatoirement distribués à hémocrite constant de 40 % et les expériences sur le sang total.

La puissance rétrodiffusée par un milieu tel que le sang est un paramètre qui est déjà bien documenté. Selon la théorie, plusieurs phénomènes entrent en jeu dans l'augmentation ou la diminution des puissances rétrodiffusées. Les Figures II-18 et III-19 montrent les résultats des calculs des puissances rétrodiffusées pour les simulations et les expériences. On peut tout d'abord constater leurs similitudes et différences notables. Tout d'abord, on peut noter que les deux graphes présentent des augmentations assez distinctes de la puissance rétrodiffusée en fonction du temps. Même si la puissance progresse avec l'augmentation de la taille des agrégats dans les deux figures, les différences en fonction de la fréquence amènent certaines interrogations. En fait, il semble que les simulations ne reflètent pas assez bien les conditions finales d'agrégation. On peut tout d'abord

comparer les résultats au début de la cinétique d'agrégation. À ce moment, les variations de puissance sont similaires entre les simulations et l'expérimentation. Mais il semble que la présence de plus gros agrégats dans les simulations aurait pu mettre plus clairement en évidence le fait que la puissance à 20 MHz continue d'augmenter, alors que la puissance à 35 MHz stagne à la fin du processus d'agrégation. Ceci peut faire parti des recommandations pour de futurs travaux d'optimisation du modèle. Un autre problème, celui de la troncature latérale de la PSF à 10 MHz, peut être à l'origine du comportement décevant de l'étude de ces tissus. Une modification de la largeur du faisceau simulé pourrait améliorer les performances prédictives du modèle.

Le coefficient d'aplatissement est un des paramètres statistiques les plus intéressant à comparer entre les résultats simulés et expérimentaux. Dans un premier temps, on peut remarquer le nombre important de similitudes. En effet, on peut noter les valeurs des coefficients d'aplatissement pour un calcul instantané. Dans le cas de tissus composés de diffuseurs de taille variable aléatoirement distribués, on observe que les coefficients d'aplatissement augmentent avec la fréquence d'insonification autant pour les simulations que l'expérimentation. On retrouve, pour les simulations (Figures II-20 à II-22) des valeurs moyennes du coefficient d'aplatissement de 2.7, 3 et 3.1 pour les fréquences de 10, 20 et 35 MHz. Expérimentalement (Figures II-21 à II-23), les valeurs trouvées sont de 3.1, 3.4 et 3.7 pour les mêmes fréquences d'insonification. Il n'est pas étonnant de ne pas trouver des valeurs semblables entre les résultats théoriques et expérimentaux, mais il est bon de constater que dans les deux cas le coefficient tend à augmenter avec la fréquence, ce qui sous-entend des variations de la forme des

histogrammes avec la fréquence incidente. Il n'est pas surprenant de constater que le coefficient d'aplatissement semble croître avec la fréquence si on considère que les conditions de Rayleigh sont de moins en moins présentes à hautes fréquences.

Pour le calcul sur une fenêtre temporelle, d'autres remarques viennent conforter le modèle par rapport aux résultats expérimentaux. On peut tout d'abord s'arrêter sur l'amplitude des pics en fonction de la taille de la fenêtre de calcul ainsi que de la fréquence. Une première remarque peut être faite sur la forte similitude des amplitudes rencontrées à chaque fréquence. Ainsi, à 10 MHz, on observe théoriquement et expérimentalement une très faible sensibilité du coefficient d'aplatissement aux variations de la taille de la fenêtre. Dans les deux cas, c'est avec une fenêtre très large que les premières variations significatives sont observables. Dans le cas des fréquences de 20 et 35 MHz, on peut noter que la sensibilité à plus haute fréquence avait été prévue par les simulations, mais pas l'augmentation du pic à 20 MHz plus importante qu'à 35 MHz pour des fenêtres plus larges. On peut toutefois expliquer ce résultat par le fait que les simulations peuvent difficilement être associées à un moment précis de la cinétique d'agrégation expérimentale et que ce manque de prévision peut tout simplement venir d'une fenêtre de calcul trop petite pour les simulations.

La remarque suivante porte sur les pentes et les points d'intersection des décroissances des pics (Figures II-20 à II-22 et Figures III-21 à III-23). On peut en effet noter que dans le cas des simulations comme dans le cas des expérimentations, les courbes se coupent toutes en un même point proche ou égal à l'instant de l'arrêt de l'écoulement. Cette situation serait donc intéressante à étudier plus en détail avec d'autres

expérimentations en utilisant des échantillons de sang plus ou moins agrégeants que ceux utilisés dans les expériences montrées dans ce travail. Ainsi, il pourrait être mis en évidence si cette observation vient d'une coïncidence, ou si il s'agit bien d'un phénomène exploitable. On peut aussi remarquer que les pentes décroissantes du coefficient d'aplatissement des Figures III-22 et III-23 sont relativement constantes quelle que soit la taille de la fenêtre de calcul utilisée pour les fréquences de 20 et 35 MHz. Néanmoins, les simulations ne confirment pas cette tendance. Il est à noter que le nombre limité de points dans cette zone peut être à l'origine du manque de précision théorique et donc de l'absence de l'observation de ce phénomène dans la simulation. L'intérêt de ces nouvelles investigations réside dans le fait que la pente de décroissance faible du coefficient d'aplatissement à 35 MHz pour du sang lavé (Figure III-14) s'accroît largement à la Figure III-23 pour du sang total. Ceci suppose que la pente de décroissance pourrait augmenter avec l'agrégabilité des érythrocytes.

Si on compare les réponses théoriques et expérimentales du coefficient d'aplatissement et du paramètre de Nakagami, on s'aperçoit que plusieurs aspects se recourent. En effet, on peut remarquer que les fluctuations de ces paramètres statistiques ne sont pas indépendantes et varient similairement peu importe le milieu insonifié. Ces similitudes donnent un certain niveau de confiance au modèle. En effet, les simulations comme les mesures expérimentales montrent des valeurs du paramètre de Nakagami proches de 1 avec des évolutions négatives en début de cinétique. Ces évolutions sont, selon la littérature, une caractéristique de milieux périodiques ou de milieux composés de gros diffuseurs. Comme nous l'avons vu dans le cas des simulations sur des milieux

périodiques (section II-2.2), le paramètre de Nakagami ne semble pas répondre adéquatement et semble constamment suivre les évolutions du coefficient d'aplatissement. L'intérêt de ce paramètre calculé sur l'enveloppe du signal RF n'est donc pas plus important que le coefficient d'aplatissement calculé directement sur le signal RF. De plus, il est à noter que les variations en début de cinétique sont plus facilement remarquables pour le coefficient d'aplatissement que pour le paramètre de Nakagami, ce qui nous ferait préférer le coefficient d'aplatissement comme paramètre statistique.

À la vue de ces résultats, il est intéressant de se poser des questions sur la relation entre le coefficient d'aplatissement et le niveau d'agrégation proprement dit. En effet, il est fort probable que la forme et l'amplitude des pics observés soient en relation avec le taux d'agrégation du milieu, à l'image de la puissance rétrodiffusée. Ainsi, pour une même fréquence et pour une fenêtre de calcul constante, on pourrait observer des variations dans l'amplitude du pic, sa pente de décroissance ou même sa largeur. D'autres expériences avec du sang à taux d'agrégation variable seraient intéressantes à effectuer pour valider ce concept.

Pour ce qui est du modèle de simulation, il serait intéressant de constituer plus de milieux intermédiaires (Tableau II-3), entre le début et la fin de la cinétique d'agrégation, pour pouvoir prévoir plus finement les évolutions des coefficients et paramètres. Une autre amélioration pourrait être l'ajout, aux modélisations des tissus existants, de diffuseurs de plus grosse taille pour permettre de mieux simuler les évolutions de la puissance rétrodiffusée en fonction de la fréquence. Néanmoins, cet ajout risque de ne rien

changer aux résultats statistiques car ceux-ci ne sont sensibles qu'au début de la cinétique d'agrégation. Il serait probablement aussi possible d'améliorer les prévisions des évolutions des coefficients et paramètres statistiques en adoptant une forme de PSF un peu plus similaire à celle trouvée expérimentalement. Un autre modèle, non testé dans cette étude, est le Modèle β [Gilman, 1997]. Celui-ci permet d'obtenir une enveloppe non-Gaussienne, se rapprochant plus de la forme expérimentale tout en restant une équation continue et dérivable sur le domaine. Cette formulation de la PSF pourrait être intéressante à étudier plus en profondeur.

Enfin, il est à noter qu'à la vue générale des résultats obtenus dans ce travail, les paramètres statistiques et la puissance calculées sur le signal rétrodiffusé par le sang lors d'une cinétique d'agrégation sont des paramètres complémentaires mais pas redondants. En effet, on peut voir que la puissance à basse fréquence est sensible à la progression de l'agrégation, mais que les paramètres statistiques ne répondent pas bien. Inversement à haute fréquence, la sensibilité de la puissance est assez faible alors que les coefficients statistiques sont très sensibles. Ceci ouvre donc la porte à un nouveau moyen de palier aux manques d'information que l'on pouvait avoir à hautes fréquences à partir de la puissance rétrodiffusée.

Conclusion

Le travail exposé dans ce mémoire avait pour objectif de valider l'utilisation du coefficient d'aplatissement et du paramètre de Nakagami comme mesures statistiques visant la caractérisation de l'agrégation érythrocytaire.

Nous pouvons conclure ce travail en notant, tout d'abord, la concordance entre le modèle théorique de simulation et les expérimentations. Les résultats simulés ont été validés par les mesures expérimentales d'une manière remarquable. Nous montrons ainsi que les statistiques peuvent jouer un rôle dans la détection et la quantification de l'agrégation érythrocytaire promue par l'arrêt de l'écoulement sanguin. D'autre part, il est montré dans ce mémoire que le coefficient d'aplatissement et le paramètre de Nakagami sont sensibles à la fréquence d'insonification utilisée et que c'est dans les hautes fréquences qu'ils répondent le mieux. Ceux-ci doivent donc rester des paramètres de choix pour de futures applications à hautes fréquences. Cette étude a aussi montré que toutes les distributions obtenues à partir du signal RF sont de même type et que l'information statistique ne peut être obtenue qu'à partir de calculs sur des fenêtres temporelles. Enfin, cette étude a permis, de manière indirecte, de confirmer la sensibilité plus importante des transducteurs hautes fréquences aux déplacements rapides des particules insonifiées. Cette sensibilité est montrée par la présence d'une variation de la puissance rétrodiffusée par du sang lavé en présence du flux sanguin comparativement à celle obtenue en l'absence d'écoulement.

Finalement, il ressort de ce travail qu'en associant plusieurs paramètres calculés de manières différentes à partir du signal rétrodiffusé par le sang, comme la puissance

rétrodiffusée et le coefficient d'aplatissement, il devient possible de quantifier de manière non intrusive le taux d'agrégation à basses comme à hautes fréquences. Ainsi, il serait intéressant de faire des mesures chez les patients à partir de cette technique qui permet de s'affranchir des contraintes associées à la ponction sanguine et à l'analyse dans un instrument de mesure.

Bibliographie

1. Allard L., Cloutier G., Durand L.G. (1996) Effect of the insonification angle on the Doppler backscattered power under red blood cell aggregation conditions. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 43. 211-219.
2. Armstrong J.K., Meiselman H.J., Fisher T.C. (Sept 1997) Covalent binding of poly(ethylene glycol) (PEG) to the surface of red blood cells inhibits aggregation and reduces low shear blood viscosity. *Am. J. Hematol.* Vol. 56(1). 26-28.
3. Asakura S., Osawa F. (1954) On interaction between two bodies immersed in a solution of macromolecules. *J. Chem. Phys.* Vol. 22. 1255-1256.
4. Baaijen J.P.W., Steenhoven A.A., Janssen J.D. (1993) Numerical analysis of steady generalized Newtonian blood flow in 2D model of the carotid artery bifurcation. *Biorheology.* Vol. 30. 63-74.
5. Ballyk P.D., Steinman D.A., Ethier C.R. (1994) Simulation of non-Newtonian blood flow in an end-to-side anastomosis. *Biorheology.* Vol. 31. 565-586.
6. Bascom P.A.J., Cobbold R.S.C. (1995) On a fractal packing approach for understanding ultrasonic backscattering from blood. *J. Acoust. Soc. Am.* Vol. 98. 3040-3049.
7. Baskurt O.K., Farley R.A., Meiselman H.J. (Dec. 1997) Erythrocyte aggregation tendency and cellular properties in horse, human, and rat: a comparative study. *Am J Physiol.* Vol. 273(6 Pt 2). 2604-12.

8. Baskurt O.K., Bor-Kucukatay M., Yalcin O., Meiselman H.J. (2000) Aggregation behavior and electrophoretic mobility of red blood cells in various mammalian species. *Biorheology*. Vol. 37. 417-428.
9. Bäumlér H., Donath E., Pratsch L., Lerche D. (1991) Aggregation and disaggregation of human red blood cells in neutral polymer electrolyte solution. *Edition médicale Int, Cachan*. 24-37.
10. Bäumlér H., Neu B., Donath E., Kiesewetter H. (1999) Basic phenomena of red blood cell rouleaux formation. *Biorheology*. Vol. 36. 439-442.
11. Berger N.E., Lucas R.J., Twersky V. (1991) Polydisperse scattering theory and comparisons with data for red blood cells. *J. Acoust. Soc. Am.* Vol 89(3). 1394-1401.
12. Bishop J.J, Popel A.S, Intaglietta M., Johnson P.C. (2001) Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: A review of recent studies. *Biorheology*. Vol. 38. 263-274.
13. Bilito Y.Y. (1999) Rheological action of aspirin on human erythrocytes. *Clin. Hemoreol. Microcirc.* Vol. 20(3). 159-165.
14. Borders S.E., Fronck A., Kemper W.S., Franklin D. (1978) Ultrasonic energy backscattered from blood: An experimental determination of the variation of sound energy with hematocrit. *Ann. Biomed. Eng.* Vol. 6. 83-92.
15. Boynard M., Lelievre J.C. (1990) Size determination of red blood cell aggregates induced using ultrasound backscattering phenomenon. *Biorheology*. Vol. 27, 39-46.
16. Bozzo J., Hernandez M.R., Del Giorgio A., Ordinas A. (Sep. 1996) Red blood cell aggregability is increased by aspirin and flow stress, whereas dipyridamole induces

- cell shape alterations : measurements by digital image analysis. *Eur. J. Clin. Invest.* Vol. 26(9). 747-754.
17. Brooks D.E., Goodwin J.W., Seaman G.V.F. (1970) Interaction among erythrocytes under shear. *J. Appl. Physiol.* Vol. 28. 172-177.
 18. Brooks D.E. (1973a) Electrostatics effects in dextran mediated cellular interactions. *J. Colloid Interface Sci.* Vol. 43. 714-726.
 19. Brooks D.E. (1973b) The effect of neural polymers on the electrokinetic potential of cells and other charged particules. *J. Colloid Interface Sci.* Vol. 43. 687-699.
 20. Caimi G., Canimo B., Romano A., Lo Presti R. (2000) Erythrocyte aggregation and erythrocyte membrane properties in type 2 diabetes mellitus and in vascular atherosclerotic disease. *Thromb. Haemost.* Vol. 83 (3). 516-527.
 21. Cramblitt R.M., Parker K.J. (1999) Generation of non-Rayleigh Speckle distributions using marked regularity models. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 46 (4). 867-874.
 22. Casas-Vásquez J. (1990) Lecture notes in physics. Rheological modelling : Thermodynamical and statistical approaches. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Springer-Verlag. 1-378.
 23. Chaturani P. (1990) Pulsatile flow of power-law fluid model for blood flow under periodic body acceleration. *Biorheology.* Vol. 27. 747-758.
 24. Chen J.F., Zagzebski J.A., Madsen E.L. (1994) Non-Gaussian versus non Rayleigh statistical properties of ultrasound echo signals. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 41. 435-441.

25. Chien S. (May 1970) Shear dependence of effective cell volume as a determinant of blood viscosity. *Science*. Vol. 168. 977-979.
26. Chien S., Jan K.M.. (1973) Red cell aggregation by macromolecules : Roles of surface adsorption and electrostatic repulsion. *J. Supramol. Structure*. Vol. 1. 385-409.
27. Chien S., King R.G., Schuessler G.B., Skalak R., Tözeren A., Usami S., Copley A.L. (1978) Roles of red cell deformability and aggregation in blood viscoelasticity. *Biorheology*. Vol. 74. 56-60.
28. Chirstensen D.A (1988) *Ultrasonic bioinstrumentation*. Editions John Wiley & Sons.
29. Christopher D.A., Burns P.N., Hunt J.W., Foster F.S. (1995) The effect of refraction and assumed speeds of sound in tissue and blood on Doppler ultrasound blood velocity measurements. *Ultrasound Med Biol*. Vol. 21(2). 187-201.
30. Cicco G., Pirrelli A. (1999) Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* Vol. 21(3-4) 159-164.
31. Cloutier G., Shung K.K., (1993). Cyclic variation of the power doppler signals backscattered by polystyrene microspheres and porcine erythrocyte suspensions *IEEE Trans Biomed. Eng.* Vol. 40 (9). 953-62.
32. Cloutier G., Qin Z., Durand L.G., Teh B.G. (1996) Power Doppler ultrasound evaluation of the shear rate and shear stress dependences of red blood cell aggregation. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* Vol. 43. 441-450.

33. Cramblitt R.M., Parker K.J. (1999) Generation of non-Rayleigh speckle distributions using marked regularity models. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.*, Vol. 46(4). 867-874.
34. Demiroglu H., Barista I., DüNDAR S. (1996) Erythrocyte aggregation in patients with coronary heart disease. *Clinical Hemorheology*. Vol. 16. 313-317.
35. Demiroglu H. (1997a) The importance of erythrocyte aggregation in blood rheology : Considerations on the pathophysiology of the thrombotic disorders. *Blood*. Vol. 89. 4236-42.
36. Demiroglu H., Barista I., DüNDAR S. (1997b) The effect of age and menopause on erythrocyte aggregation. *Thrombosis & Haemostasis*. Vol. 77. 404.
37. Doppler J.C. (1843) Ueber das farbige licht der dopplesterne und eineiger anderer gestirne des himmels. *Abhandl Konigl Bohm Ges Ser*. Vol. 2. 465-482.
38. Dumane V.A., Shankar P.M. (2001) Use of frequency diversity and Nakagami statistics in ultrasonic tissue characterization. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 48 (4) 1139-1146.
39. Dutt V., Greenleaf J.F. (1994) Ultrasound echo envelope analyses using a homodyned K distribution signal model. *Ultrasound Imaging*, Vol. 16. 265-287.
40. Dutta A., Tarbell J.M. (1996) Influence of non-Newtonian behavior of blood on flow in an elastic artery model. *J. Biomech. Eng.* Vol. 118. 11-119.
41. Fahraeus R. (1929) The suspension stability of blood. *Physiol. Rev.* Vol. 9. 241.

42. Fatkin D., Loupas T., Low J., Feneley M. (1997) Inhibition of red cell aggregation prevents spontaneous echocardiographic contrast formation in human blood. *Circulation*. Vol 96(3). 889-896.
43. Fontaine I., Cloutier G., Allard L. (1997) Non-gaussian statistical property of the ultrasonic doppler signal downstream of a severe stenosis. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 23. 41-45.
44. Fontaine I., Bertrand M., Cloutier G. (1999a) A system-based approach to modeling the ultrasound signal backscattered by red blood cells. *Biophysical Journal*. Vol. 77. 2387-99.
45. Fontaine I., Bertrand M., Cloutier G. (1999b) A system-based simulation model of the ultrasound signal backscattered by blood. *IEEE Ultrason. Symp. Proc.* Vol. 2. 1369-72.
46. Fontaine I., Cloutier G. (2000) Frequency dependence of simulated ultrasound signals backscattered by aggregating red blood cells. *Acoustical Imaging*. Vol. 25. 297-302.
47. Gill R.W. (1985) Measurement of blood flow by ultrasound : accuracy and sources of error. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 11(4). 625-641.
48. Gilman L.C. (1997) First-order statistics of pulsed sinusoid backscatter from random media : Basic elements of an exact treatment. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 44 (4) 798-804.
49. Hadengue A.L., Del-Pino M., Simon A., Levenson J. (Aug. 1998) Erythrocyte disaggregation shear stress, sialic acid and cell aging in humans. *Hypertension*. Vol. 32(2). 324-330.

50. Harrington K., Deane C., Campbell S. (1996) Measurement of volume flow with time domain and M-mode imaging : in vitro and in vivo validation studies. *J. Ultrasound Med.* Vol. 15(10). 715-720.
51. Insana M.F., Wagner R.F., Garra B.S., Brown D.G., Shawker T.H. (1986) Analysis of ultrasound image texture via a generalized Rician statistics. *Optical Engineering.* Vol. 25. 743-48.
52. Irimajiri A., Ando M., Matsuoka R., Ichinowatari T., Takeuchi S. (Aug 1996) Dielectric monitoring of rouleaux formation in human whole blood : a feasibility study. *Biochim. Biophys., Acta.* Vol. 1290(3). 207-209.
53. Jakeman E. (1980) On the statistics of K distribution noise. *J. Phys.* Vol. 13. 31-48.
54. Junker R., Heinrich J., Ulbrich H., Schulte H., Schönfeld R., Kohler E., Assmann G. (1998) Relationship between plasma viscosity and the severity of coronary heart disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* Vol. 18. 870-875.
55. Kesmarky G., Toth K., Habon L., Vajda G., Juricskay I. (1998) Hemorheological parameters in cultured bovine aortic endothelial cells. *Med. & Biomed. Eng.* Vol. 36. 122-128.
56. Kremkau F. (1990) Doppler angle error due to refraction. *Ultrasound Med. Biol.* Vol.16 (5). 519-524.
57. Khan M.M., Puniyani R.R., Huilgol N.G., Hussain M.A., Ranade G.G. (1995) Hemorheological profiles in cancer patients. *Clinical Hemorheology.* Vol. 15. 37-44.
58. Kolosova M.V., Novitskii V.V., Kravets E.B., Stepovaia E.A., Filippov G.P., Tukhvatulín R.T., Anosova N.V., Novikova L.K., Dorovskikh I.A., Tarkhova E.P.,

- Batukhtin A.V., Kalinima L.V. (Aug 1997) Reversible cell aggregation in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Klin Lab Diagn.* 12-14.
59. Kuc R. (May 1986) Ultrasonic tissue characterization using kurtosis. *IEEE Trans. Ultrason. Ferro. Freq. Contr.* Vol. UFFC-33 (3). 273-279.
60. Kuo I.Y., Shung K.K. (1994) High frequency ultrasonic backscatter from erythrocyte suspension. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* Vol. 41. 29-34.
61. Lacombe C., Lelièvre J.C. (Nov-Dec 1981) Viscosity and blood structure. *Biochimie.* Vol. 63 (11-12). 883-5.
62. Le Devehat C, Khodabandehlou T, Dougny M. (Jan-Feb 1992) Hemorheological parameters in isolated obesity. *Diabete Metab.* Vol. 18 (1). 43-47.
63. Lee A.J., Mowbray P.I, Lowe G.D.O., Rumley A., Fowkes F.G.R., Allan P.I. (1998). Blood viscosity and elevated carotid intima-media thickness in men and women. *Circulation.* Vol. 97. 1467-1473.
64. Letcher R.L., Chien S., Pickering T.G., Sealy J.E., Laragh J. (1981) Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects : role of fibrinogen and concentration. *Am. J. Med.* Vol. 7. 1195-1220.
65. Letcher R.L., Chien S., Pickering T.G., Laragh J.H. (1983) Elevated blood viscosity in patients with borderline essential hypertension. *Hypertension.* Vol. 5. 757-762.
66. London M. (Mar-Apr 1997) The role of blood rheology in regulating blood pressure. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* Vol. 17(2). 93-106.
67. Macovski A. (1983) Medical imaging systems. *Labrary of Congress Cataloging in Publication Data.*

68. Malek A.M., Alper S.L., Izumo S. (1999) Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *Am. Med. Ass.* Vol. 21. 2035-2042.
69. Martinez M., Vaya A., Gil L., Marti R., Dalmau J., Aznar J. (Jul 1998a) The cholesterol/phospholipid ratio of the erythrocyte membrane in children with hypercholesterolemia. Its relationship with plasma lipids and red blood cell aggregability. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* Vol. 18(4):259-263
70. Martinez M., Vaya A., Server R., Gilsanz A. Aznar J. (Jul. 1998b) Alteration in erythrocyte aggregability in diabetics : The influence of plasmatic fibrinogen and phospholipids of the red blood cell membrane. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* Vol. 18(4). 273-284.
71. Mc Dicken W.N. (1991) Diagnostic ultrasonics, principles and use of instruments, Churchill Livingstone.
72. Meiselman H.J., Baskurt O.K., Sowemimo-Coker S.O., Wenby R.B. (1999) Cell electrophoresis studies relevant to red blood cell aggregation. *Biorheology.* Vol. 36(5-6). 427-432.
73. Merrill E.W., Gilliland E.R., Lee T.S. and Salzman E.W. (1966) Blood rheology : Effect of fibrinogen deduced by addition. *Circ. Res.* Vol. 18. 437-446.
74. Mesquita R., Goncalves M.I., Dias S., Sargento L., Saldanha C., Martins e Silva J. (1999) Ethanol and erythrocyte membrane interaction : a hemorheologic perspective. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* Vol. 21(2). 95-98.
75. Meunier J., Bertrand M. (1995) Ultrasonic texture motion analysis : Theory and simulation. *IEEE Trans. Med. Imag.* Vol. 14(2). 293-300.

76. Miller B., Heilmann L. (1989) Hemorheological parameters in patients with gynecologic malignancies. *Gynecologic Oncology*. Vol. 33. 177-181.
77. Mo L.Y.L., Cobbold R.S.C. (1992) A unified approach to modeling the backscattered Doppler ultrasound from blood. *IEEE Trans.Biomed. Eng.* Vol. 39. 450-461.
78. Molthen R.C., Shankar P.M., Reid J.M. (1995) Characterization of ultrasonic B-scan using non-Rayleigh statistics. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 21 (2). 161-170.
79. Nagda K.K., More N.B. (Oct 1998) Surface changes of erythrocytes membrane in alcohols—a study of lectin binding. *India J. Physiol. Pharmacol.* Vol. 42 (4). 548-550.
80. Nakagami M. (1960) The m-distribution. A general formula of intensity distribution in rapid fading. *Statistical Methods on Radio Wave Propagation*. Hoffman W.C. Ed. New York: Pergamon Press. 3-36.
81. Narayanan V.M., Shankar P.M., Reid J.M. (1994) Non Rayleigh statistics of ultrasonic backscatterred signals. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 41. 845-852.
82. Novitskii V.V., Stepovaia E.A., Goldberg V.E., Kolosova M.V., Koreshkova K.G., Sokolova I.B., Bulavina I.V. (Sep-Oct 1999) Reversible aggregation and the surface architectonics of the peripheral blood erythrocytes in lung cancer patients before and during the carrying out of antitumor polychemotherapy. *Eksp Klin Farmakol.* Vol. 62(5). 28-30.

83. Peyreigne C., Fedou C., Benhaddad A.A., De Boisvilliers F., Mercier J., Bringer J., Brun J.F (1999) Hemorheology of growth hormone-deficient adults. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* Vol. 20(3). 167-74
84. Pignon B., Jolly D., Potron G., Lartigue B., Vilque J.P., Nguyen P., Etienne J.C., Stolz J.F. (1994) Erythrocyte aggregation – Determination of normal values : Influence of age, sex, hormonal state, oestroprogestative treatment, haematological parameters and cigarette smoking. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* Vol. 36. 431-439.
85. Poggi M., Palareti G., Biagi R., Lenani C., Parenti M., Babini A.C., Baraldi L., Coccheri S. (1994) Prolonged very low calorie diet in highly obese subjects reduces plasma viscosity and red cell aggregation but not fibrinogen. *Int. J. Obesity.* Vol. 18. 490-496.
86. Popel A.S., Johnson P.C., Kameneva M.V., Wild M.A. (1994) Capacity for red blood cell aggregation is higher in athletic mammalian species than in sedentary species. *J. Appl. Physiol.* Vol. 77, 1790-1794.
87. Qin Z., Durand L.G., Cloutier G. (1998) Kinetics of the "black hole" phenomenon in ultrasound backscattering measurement with red blood cell aggregation. *Ultrasound Med. Biol.* Vol. 24. 245-256.
88. Rayleigh J.W.S. (1945) Vibrations of solid bodies. In: *Theory of sound.* 2. Dover Publications, New York. 414-431.
89. Rice S.O. (1945) Mathematical analysis of random noise. *Bell Syst. Tech. J.* Vol. 14. 46-52.

90. Sabolovic D., Sestier C., Perrotin P., Guillet R., Tefit M., Boynard M. (Jan 2000) Covalent binding of polyethylene glycol to the surface of red blood cells as detected and followed up by cell electrophoresis and rheological methods. *Electrophoresis*. Vol 21(2). 301-306.
91. Satomura S. (1959) Study of the flow pattern in peripheral arteries by ultrasonics. *J. Acoust. Soc. Jap.* Vol. 15. 151-158.
92. Savéry D., Cloutier G. (2001) A point process approach to assess the frequency dependence of ultrasound backscattering by aggregating red blood cells. *J. Acoust. Soc. Am.* Vol. 110(6). 3252-3262.
93. Shankar P.M., Reid J.M., Ortega H., Piccoli C.W., Goldberg B.B. (1993) Use of non-Rayleigh statistics for the identification of tumors in ultrasonic B-scans of the breast. *IEEE Trans. Med. Imaging*. Vol. 12. 687-692.
94. Shankar M.P. (2000) A general statistical model for ultrasonic backscattering from tissues. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 47 (3). 727-736.
95. Shung K.K., Sigelmann R.A., Reid J.M. (1976) Scattering of ultrasound by blood. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* Vol. 23. 460-467.
96. Shung K.K., Yuan Y.W., Fei D.Y., Tarbell J.M. (1984) Effect of flow disturbance on ultrasonic backscatter from blood. *J. Acoust. Soc. Am.* Vol. 75. 1265-1272
97. Shung K.K., Cloutier G., Lim C.C. (1992) The effects of hematocrit, shear rate, and turbulence on ultrasonic Doppler spectrum from blood. *IEEE Trans Biomed. Eng.* Vol. 39(5). 462-469.

98. Shung K.K., Thieme G.A. (1993) Ultrasonic scattering in biological tissues. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press, 1-486.
99. Stoltz J.F., Donner M. (1987) Hemorheology : Importance of erythrocyte aggregation. *Clinical Hemorheology*. Vol. 7. 15-23.
100. Suzuki Y., Tateishi N., Soutani M., Maeda N. (Jul-Aug 1996) Flow behavior of erythrocytes in microvessels and glass capillaries : effects of erythrocyte deformation and erythrocyte aggregation. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* Vol. 16(4). 187-194.
101. Teh B.G., Cloutier G. (2000) Modeling and analysis of ultrasound backscattering by speherical aggregates and rouleaux of red blood cells. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* Vol. 47. 1025-1035.
102. Tuthill T.A., Sperry R.H., Parker K.J. (1988) Deviations from Rayleigh statistics in ultrasonic speckle. *Ultrasonic Imaging*. Vol. 10. 81-89.
103. Twersky V. (1987) Low-frequency scattering by correlated distribution of randomly oriented particles. *J. Acoust. Soc. Am.* Vol 81(5). 1609-1618.
104. Urbanova R. (Oct. 1996) Effect of temperature on rheologic properties of blood and internal viscosity of erythrocytes. *Cas. Lek. Cesk.* Vol. 23. 135-155.
105. Valensi P., Paries J., Maheo P., Gaudery F., Attali J.R. (Sep. 1996) Erythrocyte rheological changes in obese patients: influence of hyperinsulinimi. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* Vol. 20(9). 814-9
106. Van Leeuwenhoek A. (1674) Microscopical observations concerning blood, milk, bones, the brain, spittle and cuticula. *Philos. Transactions Royal Soc., London*, Vol. 9, 121.

107. Vander A.J., Sheman J.H., Luciano D.S. (1994) Human physiology, The mechanisms of body function. Sixth Edition Mc Graw-Hill, Inc.
108. Vaya A., Martinez M., Dalmau J., Aznar J. (Nov 1998) Hemorheological changes in children with polygenic hypercholesterolemia. Clin. Hemorheol. Microcirc. Vol. 19(3):259-262.
109. Wagner R.F., Insana M.F., Brown D.G. (1986) Unified approach to the detection and classification of speckle texture in diagnostic ultrasound. Optical Engineering. Vol 25 (6). 738-742.
110. Wang S.H., Shung K.K. (2001) In vivo measurements of ultrasonic backscattering in blood. IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont. Vol. 48 (2). 425-431.
111. Weng X., Cloutier G., Pibarot P., Durand L.G. (1996) Comparison and simulation of different levels of erythrocyte aggregation with pig, horse, sheep, calf, and normal human blood. Biorheology. Vol. 33 (4-5). 365-77.
112. White D.N. (1982) Johann Christian Doppler and his effect-a brief history. Ultrasound Med. Biol. Vol. 8. 583-591.
113. Yuan Y.W. Shung K.K. (1988a) Ultrasonic backscatter from flowing whole blood : I. Dependence on shear rate and hematocrit. J. Acoust. Soc. Am. Vol. 84. 52-58.
114. Yuan Y.W. Shung K.K. (1988b) Ultrasonic backscatter from flowing whole blood : II. Dependence on frequency and fibrinogen concentration.. J. Acoust. Soc. Am. Vol. 84. 1195-1200.