

Université de Montréal

Caractérisation de caillots sanguins par méthodes ultrasonores

Par

Guillaume Bosio

Département de pharmacologie et physiologie - Institut de génie biomédical

Faculté de médecine

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Philosophiæ Doctor (Ph.D.)

en génie biomédical

Octobre 2023

© Guillaume Bosio, 2023

Université de Montréal

Institut de génie biomédical, Faculté de médecine

Cette thèse intitulée

Caractérisation de caillots sanguins par méthodes ultrasonores

Présentée par

Guillaume Bosio

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

Farida Chériet

Président-rapporteur

Guy Cloutier

Directeur de recherche

Jean Provost

Membre du jury

Jean-Luc Gennisson

Examineur externe

Samuel Kadoury

Représentant du doyen

Résumé

Les caillots sanguins sont responsables de nombreuses pathologies, telles que les thromboses veineuses profondes (TVP), les embolies pulmonaires (EP) ou les accidents vasculaires cérébraux (AVC). La thromboembolie veineuse, regroupant les thromboses veineuses profondes et les embolies pulmonaires, ainsi que les accidents vasculaires cérébraux sont parmi les principales causes de décès. La formation d'un caillot sanguin survient suite à une lésion de la paroi endothéliale, d'un changement hémodynamique de l'écoulement sanguin ou de conditions d'hypercoagulation du sang. Lors de situations pathologiques, le caillot ne se dissout pas naturellement et des anticoagulants sont prescrits. Leur but est d'empêcher l'évolution du caillot et de prévenir des risques de récives. Dans le cas d'un accident vasculaire cérébral ou de certaines embolies pulmonaires, de l'activateur tissulaire du plasminogène recombinant (rt-PA) peut être prescrit pour dissoudre directement le caillot. Ces traitements comportent des risques d'hémorragie interne, et une incertitude persiste encore sur leur durée d'administration. La caractérisation des caillots sanguins vise à mieux comprendre leur développement pour pouvoir adapter les traitements et potentiellement à confirmer leur effet. Un moyen de caractériser les tissus est d'utiliser des méthodes ultrasonores.

L'élastographie, une de ces méthodes, permet de calculer la rigidité d'un tissu, caractérisé par son module d'Young. On appelle élastographie dynamique les méthodes d'élastographie basées sur la propagation d'ondes de cisaillement dans le tissu pour calculer son module d'Young (relié à la vitesse de l'onde). Plusieurs études ont montré que le module d'Young de caillots sanguins augmentait avec le temps et que des caillots plus vieux et plus denses étaient plus résistants à la dissolution. La dispersion de l'onde de cisaillement reliée à la contribution visqueuse du tissu est un paramètre nouvellement disponible sur certains échographes cliniques qui est peu étudié dans le cadre des caillots sanguins. L'atténuation de l'onde de cisaillement est également un paramètre acoustique, non explorée dans le cas des caillots sanguins. L'utilisation de l'atténuation de l'onde de cisaillement a montré des résultats encourageant en simulations et sur fantômes. Cependant, avec les méthodes actuelles, le calcul de l'atténuation d'onde de

cisaillement suppose un milieu homogène ne favorisant pas la présence de résonances acoustiques, ce qui n'est pas le cas pour des caillots cylindriques dans des vaisseaux sanguins. L'enveloppe ultrasonore peut également être étudiée de manière statistique et les paramètres issus de ces statistiques reflètent la microstructure des tissus imagés.

L'objectif général de cette thèse est de caractériser les caillots sanguins pendant leur évolution à l'aide des différents paramètres découlant des ultrasons. Cette caractérisation vise à permettre aux soignants d'adapter l'administration du traitement. Un autre objectif consiste à évaluer l'effet du traitement sur les différents paramètres ultrasonores afin d'attester son efficacité. Pour réaliser ces objectifs l'étude se sépare en trois parties.

La première partie est une étude *in vivo* en partenariat avec le centre hospitalier universitaire de Grenoble qui vise à étudier le module d'Young et les paramètres d'ultrasons statistiques au cours du temps chez des patients présentant des thromboses veineuses profondes. Les patients étaient sous anticoagulants ; le module d'Young n'a pas montré de changement significatif entre les mesures aux jours 0, 7 et 30. Les paramètres statistiques (étudiés suivant la distribution statistique homodyne K) ont montré une augmentation de l'intensité des rétrodiffuseurs (probablement liée à une augmentation du nombre de brins de fibrine et/ou du nombre de globules rouges) et une désorganisation des rétrodiffuseurs. Une des conclusions est que les paramètres statistiques pourraient permettre d'améliorer la caractérisation de caillots sanguins même quand le module d'Young ne varie pas significativement.

La deuxième partie se concentre sur l'analyse du phénomène de résonance acoustique présent lors du passage d'ondes de cisaillement dans le caillot. Le but était de trouver une région d'intérêt où le calcul de l'atténuation de l'onde de cisaillement présente le moins de variation associée à ce phénomène. Les paramètres liés à la résonance, le module d'Young, la dispersion et l'atténuation de l'onde de cisaillement ont pu être reportés dans des fantômes de différents diamètres ainsi que dans des caillots *in vitro* pendant leur coagulation. Une région d'intérêt minimisant la résonance lors du calcul de l'atténuation de l'onde de cisaillement a pu être trouvée.

La troisième étude porte sur l'effet de traitement avec du rt-PA sur le module d'Young, la dispersion de l'onde de cisaillement, l'atténuation de l'onde de cisaillement et les paramètres d'ultrasons statistiques. Du sang de porc a été collecté et 3 caillots par échantillon ont été préparés, chacun subissant une condition différente de traitement (pas de traitement, traitement à 20 minutes après le début de la coagulation et traitement à 60 minutes après cette phase initiale). Les résultats montrent que le module d'Young diminue significativement avec l'ajout du traitement, la dispersion de l'onde de cisaillement augmente pour les caillots traités à 60 minutes comparés à ceux non traités, l'atténuation de l'onde de cisaillement augmente pour les caillots traités à 20 minutes comparés à ceux non traités et l'intensité des rétrodiffuseurs diminue significativement dans les deux conditions de traitement. Ces paramètres pourraient aider à confirmer l'effet du traitement et déceler si des patients y sont résistants ou non.

Cette thèse a permis une meilleure compréhension des propriétés mécaniques et acoustiques des caillots sanguins au cours de la coagulation et en fonction de traitements. Tout ceci constitue autant de propriétés qui pourraient être utilisées afin d'adapter la dose et la durée d'un traitement afin de réduire les effets secondaires lors de la prise en charge des patients.

Mots-clés : Caillot sanguin, thrombus, ultrason, élastographie, onde de cisaillement, dispersion et atténuation des ondes de cisaillement, distribution statistique homodyne K.

Abstract

Blood clots are the cause of numerous pathologies, including deep vein thrombosis (DVT), pulmonary embolism (PE) and stroke. Venous thromboembolism, which includes deep vein thrombosis and pulmonary embolism, and stroke are among the leading causes of death. Blood clots form as a result of damage to the endothelial lining, hemodynamic changes in blood flow or hypercoagulable blood conditions. In pathological situations, the clot does not dissolve naturally, and anticoagulants are prescribed. Their purpose is to prevent the clot from progressing and to reduce the risk of recurrence. In the case of stroke or certain pulmonary embolisms, recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) may be prescribed to dissolve the clot. While these treatments can be effective, they do pose a risk of causing internal bleeding, and there is currently uncertainty regarding the optimal duration for administering them. Blood clot characterization aims to better understand how blood clots develop, so as to be able to adapt treatments and potentially confirm their effect. One way of characterizing tissues is to use ultrasound methods.

Elastography, one such method, calculates the stiffness of a tissue characterized by its Young's modulus. Elastography methods based on shear wave propagation in a tissue to calculate the Young's modulus (related to the wave velocity) are known as dynamic elastography approaches. Several studies have shown that the Young's modulus of blood clots increases with time, and that older and denser clots are more resistant to dissolution. Shear wave dispersion related to the viscous contribution of a tissue is a newly available parameter on some clinical ultrasound scanners. However, little is known in the context of blood clots. Shear wave attenuation is also an acoustic parameter related to tissue viscosity and it is unexplored in the case of blood clots. The use of shear wave attenuation has shown encouraging results in simulations and on phantoms. However, with current methods, the calculation of the shear wave attenuation assumes a resonance-free homogeneous medium, which is not the case for cylindrical clots in blood vessels. The ultrasound envelope can also be studied statistically, and the parameters derived from these statistics reflect the microstructure of the tissues imaged.

The general aim of this thesis is to characterize blood clots as they evolve, using various parameters derived from ultrasound. This characterization is intended to enable caregivers to adapt treatment administration. Another objective is to evaluate the effect of treatment on the various ultrasound parameters, in order to attest its effectiveness. To achieve these objectives, the study is divided into three parts.

The first part is an *in vivo* study in partnership with Grenoble University Hospital to investigate the Young's modulus and statistical ultrasound parameters over time in patients with deep vein thrombosis. The patients were on anticoagulants, and the Young's modulus showed no significant changes between measurements on days 0, 7 and 30. Statistical parameters (studied according to the homodyne K statistical distribution) showed an increase in the intensity of scatterers (probably linked to an increase in the number of fibrin strands and/or number of red blood cells) and a disorganization of scatterers. One conclusion is that statistical parameters might be used to improve the characterization of blood clots even when the Young's modulus does not vary significantly.

The second part focuses on the analysis of the resonance phenomenon present when shear waves pass through the clot. The aim was to find a region of interest where the calculation of the shear wave attenuation shows the least possible variation due to this behavior. Parameters related to resonance, the Young's modulus, shear wave dispersion and shear wave attenuation were plotted in phantoms of different diameters and in *in vitro* blood clots during coagulation. A region of interest was found, which minimized resonances when calculating shear wave attenuation.

The third study investigates the effect of *in vitro* treatments with rt-PA on the Young's modulus, shear wave dispersion, shear wave attenuation and statistical ultrasound parameters. Porcine blood was collected and 3 clots per sample were prepared, each undergoing a different treatment condition (no treatment, treatment at 20 minutes after the beginning of coagulation and treatment at 60 minutes after the onset of coagulation). The Young's modulus decreased significantly with treatment, the shear wave dispersion increased for clots treated at 60 minutes compared to those untreated, the shear wave attenuation increased for clots treated at 20

minutes compared to those untreated, and the backscatter intensity decreased significantly in both treatment conditions. These parameters might help confirm the effect of a treatment and detect whether or not patients are resistant to it.

This thesis has led to a better understanding of the mechanical and acoustic properties of blood clots during coagulation and as a function of a treatment. These properties can be used to adapt the dose and duration of treatment to reduce side effects in the management of patients.

Keywords: Blood clot, thrombus, ultrasound, elastography, shear wave dispersion, shear wave attenuation, homodyne-K distribution.

Table des matières

Résumé	3
Abstract	6
Table des matières	9
Liste des tableaux	15
Liste des figures	16
Liste des sigles et abréviations	22
Remerciements	25
Chapitre 1 – Caillots sanguins	27
1.1 De la formation à la dissolution	27
1.1.1 Formation	27
1.1.2 Type de caillot et composition	29
1.1.3 Évolution et dissolution des caillots	29
1.2 Prise en charge des caillots	30
1.2.1 Détection	30
1.2.2 Traitements	33
1.2.3 Caractérisation de caillots	35
Chapitre 2 – Ultrasons	36
2.1 Techniques de base	36
2.1.1 Image mode B	38
<i>Description de la méthode</i>	38
<i>Applications</i>	39
2.1.2 Échographie Doppler	40

<i>Description de la méthode</i>	40
2.2 Élastographie.....	41
2.2.1 Description de la méthode.....	41
2.2.2 Élastographie quasi-statique.....	41
2.2.3 Élastographie dynamique.....	43
<i>Comment générer l'onde de cisaillement</i>	43
<i>Vitesse de l'onde de cisaillement</i>	44
<i>Différentes méthodes d'élastographie dynamique</i>	44
2.2.4 Autres méthodes.....	46
2.2.5 Méthodes de calculs directe et indirecte.....	46
2.2.6 Modèles rhéologiques.....	48
2.2.7 Applications cliniques ou de recherche actuelles	49
2.2.8 Élastographie et caillots sanguins	50
2.3 Viscoélasticité.....	51
<i>Applications</i>	52
2.3.2 Atténuation de l'onde de cisaillement.....	53
<i>Description de la méthode</i>	53
<i>Applications</i>	55
2.3.3 Dispersion.....	57
<i>Description de la méthode</i>	57
<i>Applications</i>	57
2.4 Distribution homodyne K	58
<i>Description du modèle</i>	58
<i>Applications du modèle HKD</i>	59

Chapitre 3 : Objectifs de la thèse	61
3.1 Objectif principal	61
3.2 Objectif spécifiques.....	61
3.3 Études.....	63
Chapitre 4 : Élastographie par ondes de cisaillement et échographie quantitative comme biomarqueurs pour caractériser la thrombose veineuse profonde <i>in vivo</i>	65
Avant-propos.....	66
Résumé.....	66
4.1 Abstract:	68
Objective	68
4.2 Introduction.....	68
4.3 Methods	70
4.3.1 Inclusion and exclusion criteria	70
4.3.2 Study conduct.....	71
4.3.3 Post processing.....	71
4.3.4 Elastography features	72
4.3.5 Statistical QUS features.....	73
4.3.6 Statistical analysis.....	74
4.4 Results	74
4.4.1 SWE features	75
4.4.2 HKD features	77
4.5 Discussion	79
4.5.1 Study limitations.....	81
Acknowledgement:	82

Chapitre 5 : Résonance, vitesse, dispersion et atténuation de la propagation d’ondes de cisaillement induites par ultrasons dans des caillots de sang <i>in vitro</i>	83
Avant-propos.....	84
Résumé:.....	84
5.1 Abstract:	86
5.2 Introduction:.....	87
5.3 Methods:	89
5.3.1 Gel phantom preparation	89
5.3.2 Blood clot preparation	89
5.3.3 Experimental setup	90
5.3.4 Data acquisition and post-processing	92
5.3.5 Statistics	96
5.4 Results:	96
5.4.1 Gel phantom inclusions.....	96
5.4.2 Blood clot inclusions.....	100
5.5 Discussion:.....	103
5.5.1 Gel phantom experiments	103
5.5.2 Blood clot experiments	105
5.5.3 Limitations.....	107
5.6 Conclusion:	108
Chapitre 6 : Effet du traitement rt-PA sur les paramètres mécaniques et ultrasonores de caillots sanguin <i>in vitro</i> pendant la coagulation.....	109
Avant-propos.....	110
Résumé.....	110

6.1 Abstract:	111
6.2 Introduction:.....	113
6.3 Methods:	114
6.3.1 Blood clots and phantom preparation	115
6.3.2 Experimental setup	115
6.3.3 Data acquisition.....	117
6.3.4 Post processing.....	117
6.3.5 Statistical analysis.....	119
6.4 Results:	120
6.5 Discussion:.....	123
6.6 Conclusion:	128
Chapitre 7 : Discussion et conclusion.....	129
7.1 Discussion générale.....	129
<i>Formulation des hypothèses</i>	129
<i>Récapitulatifs des hypothèses/résultats attendus, numérotées de H1 à H8 :</i>	131
7.1.1 Première étude.....	131
7.1.2 Seconde étude.....	132
7.1.3 Troisième étude	132
7.1.4 Hypothèses vs résultats	133
7.2 Originalité des travaux	133
7.2.1 Élasticité <i>in vivo</i>	133
7.2.2 Dispersion de l'onde de cisaillement	133
7.2.3 Atténuation de l'onde de cisaillement.....	134
7.2.4 Effet du traitement sur l'élasticité	134

7.2.5 Paramètres homodyne K et caillots sanguins	134
7.3 Travaux futurs	135
7.3.1 Atténuation de l'onde de cisaillement.....	135
7.3.2 Effet du traitement sur les propriétés mécaniques et acoustiques	135
7.3.3 Paramètres homodyne K.....	135
7.4 Conclusion générale	136
Références bibliographiques.....	137
Annexes	162
Annexe A : auteur et co-auteur d'articles scientifiques pendant cette thèse	162
Annexe B : conférences réalisées pendant ma thèse	168

Liste des tableaux

Tableau 1. –	General Characteristics of the 16 Patients Included in the Study.....	74
Tableau 2. –	Median and Interquartile Range Values of Young’s moduli with presence or absence of Pulmonary Embolism (PE) at Day 0	76
Tableau 3. –	Median and interquartile range values of homodyned K-distribution parameters with presence or absence of pulmonary embolism (PE) at day 0.	79

Liste des figures

- Figure 1.** – Formation d'un caillot sanguin. Le volet A décrit un vaisseau sanguin normal et le volet B un vaisseau sanguin avec une rupture de l'endothélium et la formation d'un caillot. Le volet C est une image de globules rouges pris dans un maillage de brins de fibrine (un zoom du caillot), source de l'image : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Red_Blood_Cells_In_Clot.png28
- Figure 2.** – Représentation d'un thromboélastogramme et de sa courbe associée. En A le thromboélastogramme. Le réservoir extérieur oscille et lorsque le sang coagule, l'oscillation se propage à la goupille dont le mouvement est enregistré par un capteur. En B la courbe associée à une coagulation classique. Le temps R correspond au temps où le sang est encore liquide et très peu visqueux. On retrouve K le temps de formation du caillot, α (alpha) la pente, MA l'amplitude maximale et A_{30} , l'amplitude après 30 minutes de l'amplitude maximale. Le volet B provient de : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thromboelastography_parameters.png.32
- Figure 3.** – Principe de base des ultrasons. Le volet A représente l'émission des ultrasons par la sonde échographique. Le volet B montre la réception des ultrasons réfléchis par les éléments constituant le milieu imagé.....37
- Figure 4.** – Exemple d'image mode B en niveau de gris. Ici l'imagerie est utilisée pour visualiser un fœtus. Source de l'image : <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Scan20semanas1.png>.
38
- Figure 5.** – Différentes méthodes d'élastographie. L'élastographie quasi-statique est représentée aux volets A, B et C. Les volets D, E et F représentent différentes méthodes d'élastographie dynamique. OdC est l'acronyme pour ondes de cisaillement.46
- Figure 6.** – Exemple d'éléments et modèles rhéologiques de base.49
- Figure 7.** – Post-traitement des données pour obtenir les mesures d'atténuation des ondes de cisaillement. Les cartes de vitesses sont calculées à partir des données de radiofréquence. La vitesse de groupe et l'AOC sont évaluées à partir des cartes en 3 dimensions des vitesses d'ondes de cisaillement (la 3ème dimension correspond au temps t) dans la région d'intérêt choisie (pas

affichée ici). La méthode R-FS plutôt que FS ou 2P-PFS est représentée ici car c'est celle qui sera utilisée dans le reste de l'article.....56

Figure 8. – (A) Example of a shear wave elastography image of an 84-year old female with a DVT and no PE. The region in which the acquisition was performed (rectangular area, called Q-box, in elastography and B-mode images) was selected prior to manual segmentation. The range of Young's moduli is represented by a colorbar in kPa. The colorbar varied between 0 and 180 kPa. (B-left) Previously selected Q-box (as pointed by the arrow) that was used to manually delineate the clot's contours by a clinician. (B-right) Result of the manual segmentation. The elastography feature extraction was restricted to this region of interest.73

Figure 9. – An example of a parametric map with the corresponding B-mode image for parameter k (coherent-to-diffuse backscatter ratio). (Left) A rectangular box (Q-box) within the B-mode image was selected by a clinician to better delineate the thrombus. (Right) Value of k within the delineated ROI (in yellow). The patient is the same one as for **Figure 8.**74

Figure 10. – Median and IQR values of Young's moduli over segmented ROIs within clots. Different times are presented with different colors. N represents the number of patients for which acquisitions were available. No significant differences with Kruskal-Wallis test: $p > 0.05$76

Figure 11. – Median values of HKD parameters k , $1/(\kappa + 1)$, μ_n , and $1/\alpha$ over segmented ROIs within clots. Different times are presented with different colors. N represents the number of patients for which acquisitions were available. Parameters $1/(\kappa + 1)$, μ_n and $1/\alpha$ median have been tested with Kruskal-Wallis test followed (for $1/(\kappa + 1)$, μ_n) by a post-hoc multiple pairwise comparison (Wilcoxon) using the Holm-Bonferroni adjustment. ANOVA test followed by a post-hoc multiple pairwise comparison (t-test) using the Holm-Bonferroni adjustment has been performed on μ_n median. $*p < 0.05$78

Figure 12. – (A) Experimental setup corresponding to a gel phantom with a blood clot inclusion, (B) a reconstructed B-mode image with the region-of-interest (ROI in black), and (C) a velocity map at $t = 4$ ms after the radiation pressure push, colorbar correspond to the normalized displacement speed. Axes are in mm, x is the push line direction, and z the shear wave propagation direction.....91

Figure 13. – Space-time image of SW displacements. Colorbars represent the normalized amplitude of the displacement. Displacement have been averaged along the z direction inside the ROI. First milliseconds were removed because they correspond to frames of radiation force pushes. Only one direction of propagation can be seen because of the directional filter. Slopes of the yellow/blue “lines” are linked to the group velocity. The blood clot represented in panels F, G and H corresponds to the pig #20.93

Figure 14. – Visual examples of computation of the shear wave dispersion and shear wave attenuation. The phase velocity at a given frequency is computed by fitting the phase of the shear wave velocity over displacement (panel A). The shear wave dispersion is computed by fitting the phase velocity over the frequencies (panel B). In panel C, amplitude spectra are plotted at different space points and fitted by gamma distributions. In panel D, the shear wave attenuation coefficient is computed as the slope of the rate parameter of the several gamma fittings over distances. The data used for this plot correspond to the blood clot inclusion of porcine #19.94

Figure 15. – Example of displacement amplitude spectra. (A) A single peak amplitude spectrum with a least squared fitting (in red) used in the revisited frequency shift method. (B) The same fitting method as in A was applied to a multiple peaks amplitude spectrum. Parameter w_1 corresponds to the width of the first peak f_1 . Parameters d_1 , d_2 and d_3 are distances between frequency peaks in the case of resonances.95

Figure 16. – (A, B, C and D) The number of peaks (n_p) in amplitude spectra of inclusions with different diameters. The three ROIs are represented, black for ROI #1, yellow for ROI #2, and green for ROI #3. Red rectangles represent the size and position of the inclusion. (E) The number of peaks over ROIs with different diameters. Symbol \boxtimes indicates that the box presents significant differences (at $p < 0.001$) with all other color boxes of the same ROI. Symbol \circ indicates that the box presents significant differences (at $p < 0.001$) with all other ROI boxes of the same diameter (same color). Symbol * indicates significant differences at $p \leq 0.05$97

Figure 17. – (A) The effect of the inclusion diameter on f_1 (the position of the first peak of the amplitude spectrum, left), w_1 (the width at half maximum of the first frequency peak, center), and d (the mean distance between peaks, right). Symbol \boxtimes means that the box presents significant

differences (at $p \leq 0.01$) with all other color boxes for the same parameter. (B) Coefficients of variation for f_1 (left), w_1 (center), and d (right), corresponding to data shown in A.98

Figure 18. – Coefficients of determination R^2 of the gamma fitting used for shear wave attenuation computation. On each box, the central mark indicates the median, and the bottom and top edges of the box indicate the 25th and 75th percentiles, respectively. Outliers are represented with the ‘+’ red marker. Boxes of R^2 are plotted for the different ROIs in the case of the homogeneous phantom (purple), and for the 12-mm gel inclusion phantom (orange). The symbol * represents $p < 0.001$99

Figure 19. – (A) Shear wave dispersion and (B) shear wave attenuation coefficient comparison between no inclusion (homogeneous phantom) and the gel inclusion for the 3 ROIs. Significant differences between the homogeneous phantom and the phantom inclusion were found ($p < 0.001$, as highlighted by the symbol **). Significant differences between ROIs were found in the inclusion gel ($p \leq 0.005$), as highlighted by the symbol *.100

Figure 20. – (A) Blue dots represent means and the gray area standard deviations over 20 blood clots showing a significant increase over time ($p < 0.001$). (B, C, and D – colors correspond to different porcine samples) Amplitude spectrum parameters f_1 (the position of the first peak of the amplitude spectrum), w_1 (the width at half maximum of the first peak), and d (the mean distance between peaks) for 20 blood clots in vitro. Significant increases were found for the 3 spectral parameters ($p < 0.001$). R^2 was calculated as an assessment of the goodness-of-fit ($R^2 = 0.77$ for f_1 , 0.60 for w_1 , and 0.48 for d).101

Figure 21. – (A) Shear wave dispersion over time (all data pooled). (B) Shear wave attenuation coefficient over time (all data pooled). Blue circles represent mean values and gray areas standard deviations over 20 blood clots. Significant global effects (decrease) were found for both parameters ($p < 0.001$) using ANOVA tests.102

Figure 22. – Experimental setup. In A, a phantom with 3 inclusions was made. In B, the blood was split into 3 tubes and weighted. The phantom’s holes were filled with blood (panel C); 3 different treatment conditions (panels D, E, F) were applied to the blood clots one after another; measurements were made over 100 minutes on each clot (G). Clots were weighted again at the end of experiments (H).116

Figure 23. – Post processing steps with the second clot of pig #9 as an example. A schematic version of the acquisitions is presented in panel A. The ROI is shown for display only; the ROIs used are ROI #1 in panels C to F and ROI #2 in panels B and G. Panel B represents echo envelope maps (B-mode display) and panel C is showing particle velocity maps; images are displayed at frame number 10 (i.e., 2.5 ms), where the propagation of shear waves is visible. Ultrasound radiation pressure pushes are represented by blue crosses in panels A, B and C, ROIs by blue rectangles, and the clot position by red rectangles. Panels D, E and F represent SW parameters overlaid on the B-mode background. Panel G corresponds to the labeled map, on which HKD parameters were computed (H) overlaid on the B-mode image for display. Units are in pixels and time frames, the x-axis goes from 0 to 1000 pixels (i.e., 0 to 3.62 cm), the z-axis ranges from 0 to 128 (i.e., 3.56 cm), and frames are displayed from 5 to 99 (i.e., 1.3 to 24.8 ms).....119

Figure 24. – Mass loss for different treatment conditions; there are n = 10 clots per each condition. ANOVA with repeated measures showed a significant difference of the treatment between untreated clots and treated ones (p < 0.001). Symbol * indicates a significant difference computed with pairwise comparisons with p < 0.005.....120

Figure 25. – Shear wave elastography parameters. The Young's elasticity modulus is displayed in panel A, the shear wave dispersion in panel B, and the shear wave attenuation in panel C, over time and for different treatment conditions. The linear mixed model showed a statistically significant effect of time on the Young's modulus (p < 0.001). Differences were also noticed between untreated and both treatment conditions (p < 0.001). A statistically significant effect of treatment was observed for shear wave dispersion between untreated clots and clots treated at 60 min (p < 0.001). Significant reductions over time were noticed for shear wave attenuation (p < 0.001), and the treatment at 20 minutes impacted this metric (p < 0.031). A total of 10 porcine blood samples split into 3 clots each were used, so that for each curve n=10. The mean ± standard deviation over the different samples are plotted in gray.....122

Figure 26. – Homodyne K-distribution parameters over time and for different treatment conditions. Panel A represents the diffuse-to-total signal power ratio $1/(\kappa+1)$, and panel B corresponds to the intensity of the echo envelope μ . The linear mixed model confirmed a time effect for μ (p < 0.032). This parameter also differed between untreated clots and clots treated at

20 and 60 minutes ($p < 0.001$ and $p < 0.02$). A total of 10 porcine blood samples split into 3 clots each were used, so that for each curve $n=10$. The mean \pm standard deviation over the different samples are plotted in gray color.....123

Figure 27. – Velocity maps at different times for pig #9 as an example; color bars represent the normalized shear wave speed amplitude in m/s. Panel A corresponds to velocity maps just after pouring the blood into the gel phantom inclusion; shear waves (characterized by high and low speed amplitudes) do not propagate far from the pushes' locations ($z = 32$ pixels). Blue arrows indicate the shear wave's propagation direction and time increased with frames going from 10 to 99. After 10 minutes of coagulation (panel B), shear waves propagated faster and disappeared from the image at frame 99. Red rectangles correspond to the position of the clot. Directional filtering was applied.126

Figure 28. – Exemple de spectres d'amplitude de déplacement. (A) Spectre d'amplitude d'un seul pic ajusté par la méthode des moindres carrés, celle utilisée dans la méthode originale de décalage de fréquence revisitée. (B) Ajustement des pics de résonance, effectué par la distribution gamma doublement tronquée. (C) La même méthode d'ajustement qu'en A a été appliquée à un spectre d'amplitude à pics multiples. (D) Un spectre d'amplitude à pics multiples a été ajusté avec l'algorithme DTGD. Le paramètre f_1 correspond à la fréquence du premier pic. Le paramètre w_1 correspond à la largeur du premier pic. Le paramètre d est la moyenne entre d_1 , d_2 et d_3 (s'il y a suffisamment de pics).171

Liste des sigles et abréviations

AMUSE : Mesure de l'Atténuation par Élastographie Ultrasonore à ondes de cisaillement, « Attenuation Measuring Ultrasound Shearwave Elastography »

ARFI : Rayonnement acoustique à forte impulsion, « Acoustic Radiation Force Impulse »

ARFIRE : Élastographie par Résonance Induite par la Force de Rayonnement Acoustique, « Acoustic Radiation Force Induced Resonance Elastography »

AOC : Atténuation de l'Onde de Cisaillement

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

BI-RADS : Imagerie du Sein Système de Rapports et de Données, « Breast Imaging-Reporting And Data System »

CFT : Temps de Formation du caillot, « Clot Formation Time »

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CT : Temps de coagulation, « Coagulation Time »

CV : Coefficient de Variation

DOC : Dispersion de l'Onde de Cisaillement

EP/PE : Embolie Pulmonaire, « Pulmonary Embolism »

FS : Décalage de Fréquence, « Frequency Shift »

HKD : Distribution Homodyne K, « Homodyne K-Distribution »

IRM : Imagerie par résonance magnétique

IQ : Quadrature en Phase, « In-phase Quadrature »

IQR : Intervalle Interquartile, « Interquartile Range »

IVUS : ultrasons intravasculaires. « Intravascular Ultrasound »

LMM : Modèles Linéaires à effets Mixtes , « Linear Mixed effect Models »

MA : Amplitude Maximum, « Maximun Amplitude »

MCF : Fermeté Maximale du Caillot, « Maximal Clot Firmness »

NIH : Institut National de la Santé, « National Institute of Health »

NIVE : Élastographie Vasculaire Non-Invasive, « NonInvasive Vascular Elastography »

PERC : Critère d'Exclusion de l'Embolie Pulmonaire, « Pulmonary Embolism Rule-out Criteria »

QUS : Ultrasons Quantitatifs, « Quantitative Ultrasound »

RF : Radiofréquence, « Radio Frequency »

R-FS : Décalage en Fréquence Revisité, « Revisited-Frequency Shift »

ROC : Caractéristique d'Exploitation du Récepteur, « Receiver Operating Characteristic »

ROI : Région d'Intérêt, « Region Of Interest »

Rt-PA : Activateur Tissulaire Recombinant du Plasminogène, « Recombinant Tissu Plasminogen Activator »

SDUV : dispersion des ondes de cisaillement ultrasonores par vibrométrie, « Shearwave Dispersion Ultrasound Vibrometry »

SW : Onde de cisaillement, « Shear Wave »

SWE : Élastographie par onde de cisaillement, « Shear Wave Elastography »

SWIRE : Élastographie résonante par onde de cisaillement induite, « Shear Wave Induced Resonance Elastography »

TE : Élastographie transitoire, « Transient Elastography »

TEG : Thromboélastogramme, « Thromboelastogram »

TEV/VTE : Thromboembolie Veineuses, « Venous Thromboembolism »

ToF : Temps de vol, « Time of Flight »

t-Pa : Activateur tissulaire du plasminogène, « Tissue Plasminogen Activator »

TVP/DVT : Thrombose Veineuse Profonde, « Deep Vein Thrombosis »

VOP : Vitesse de l'Onde de Pouls, « Pulse Wave Velocity »

2P-FS : Décalage de fréquence en 2 points, « 2 Points-Frequency Shift »

2P-FSP : Puissance du décalage de fréquence en 2 points, « 2 Points-Frequency Shift Power »

Remerciements

Un grand merci à toute l'équipe du LBUM, de mon directeur de recherche, Guy Cloutier, pour ses nombreuses corrections au dernier arrivant en thèse, Harry ! Merci aux membres du jury pour la relecture et les commentaires sur cette thèse. Merci à Guillaume Flé pour ses conseils, relectures et les moments passés ensemble. Au groupe d'Iraniens, Sajad, Iman, Ladan, Sam et Sepideh, à Pedro et son apprentissage de la langue française, à Mercedes, Arnaud, Samuel, François x2, Marie-Hélène, Kishan et Marie, dite vroum vroum. Un immense merci aux membres passés également (Tekla, Marc, Manish, Frank, Julia...), notamment Boris qui a pu me faire aussi bien découvrir le Verasonics que l'escalade de glace dans les Laurentides ! Un grand merci à l'ensemble du 11 ième étage et le personnel du CrCHUM, Marie J. pour avoir apporté du lien et de la bonne humeur, Rémi, Valentin, Margaux, Sandrine, Werner, Marie M. et les autres du LIO ou BBF ! Évidemment un gros merci aux colocs que j'ai pu avoir, vivre à 5 ça fait vite rencontrer du monde ! Notamment à Hamza qui aura été là de mon arrivé à la fin de la thèse, Eugénie, Paul, Inès, Kim, Claire qui ont tous rendu la vie à Montréal plus agréable ! Un merci aux amis rencontrés ici, Tammie, Oli, Solène, Henri, Thomas, Élo, Guigui numéro 2. Ceux rencontrés au volley, à l'escalade, au japonais. ! Merci à Émilie de m'avoir soutenue pendant près de deux ans. Un remerciement spécial au groupe du G, que j'ai appris à connaître chalet après chalet, Camille, Jeanne, le G, Emma, Lucien, Mélissa, Eliot, et avec qui j'ai découvert les shots à l'huile d'olive, les capitales des pays du monde et le signe astrologique chinois de Céline. Un remerciement particulier à Robin pour m'avoir soutenu aux bons moments, et, pour avec Clem (un gros merci aussi), de m'avoir accueilli chez eux de si nombreuses fois pour manger et jouer. Un grand merci à Clem, petite licorne, pour ses conseils, sa relecture de la thèse, son soutien et son humour ! Merci au groupe du dimanche soir, avec lequel pendant plus d'un an on s'est retrouvé presque religieusement pour voir des films, des séries mais surtout se raconter nos vies ! Donc merci à Powen, Myriam, Juan, August, Marc-Antoine et Marie. Au groupe des vaches de Keen, Marie, Marie, Rachel et Margaux. Un remerciement s'impose également pour tous ceux qui m'ont soutenus de l'autre

côté de l'océan, et que j'ai pu retrouver pour les nouveaux ans ou en voyage, Dodo, Loïc, Solène, Aries, Marie et bien sûr Arnaud! Pour finir un grand merci à ma famille, mes cousins, Nadir, Malik, Célia, Corentin et Camille que j'aime fort ! Mes oncles et tantes, de Nice ou d'ailleurs, à Cyril et Hervé, à ma petite mamie qui m'a toujours cajolé à mes retours et évidemment à mes parents qui m'auront autant soutenu dans ma thèse que m'encourager à revenir plus près d'eux. Et je finirai par remercier mon petit frère à qui j'envoie tout plein d'amour.

Chapitre 1 – Caillots sanguins

Les caillots sanguins (thrombus) sont responsables de nombreuses pathologies et font partie des préoccupations majeures du domaine de la santé. Les thrombus veineux touchent chaque année plus d'une personne sur 1000 et peuvent être mortels ¹. Une bonne compréhension de leur formation, composition, des traitements et de leurs effets ainsi que des propriétés des caillots pourraient être des atouts pour leur prise en charge.

1.1 De la formation à la dissolution

1.1.1 Formation

La formation d'un caillot est généralement due à un (ou plusieurs) éléments de la triade de Virchow ²:

- Dysfonctionnement ou altération de l'endothélium (paroi des vaisseaux sanguins)
- Variation hémodynamique de l'écoulement sanguin (stase ou turbulence)
- Hypercoagulabilité

Ces éléments entraînent l'activation de la "cascade de coagulation" via les voies intrinsèque et extrinsèque. La voie intrinsèque est causée par le contact du sang avec des surfaces externes au corps (du verre par exemple) et la surface de certaines cellules *in vivo*. Cependant, les activateurs pathophysiologiques n'ont pas été encore clairement identifiés ³. La voie extrinsèque se développe lorsque le facteur tissulaire, présent dans le tissu endothélial, entre en contact avec le sang. Ces deux voies mènent à la formation de thrombine (une enzyme) active qui clive le fibrinogène (une protéine soluble) en brins de fibrine (non soluble). Ces brins de fibrine vont agir comme la matrice du caillot sanguin en réunissant globules rouges et plaquettes pour finaliser la formation du caillot, voir **Figure 1**. Pour plus de détails, le lecteur pourra se référer à plusieurs écrits scientifiques qui résument ces différentes étapes ²⁻⁵.

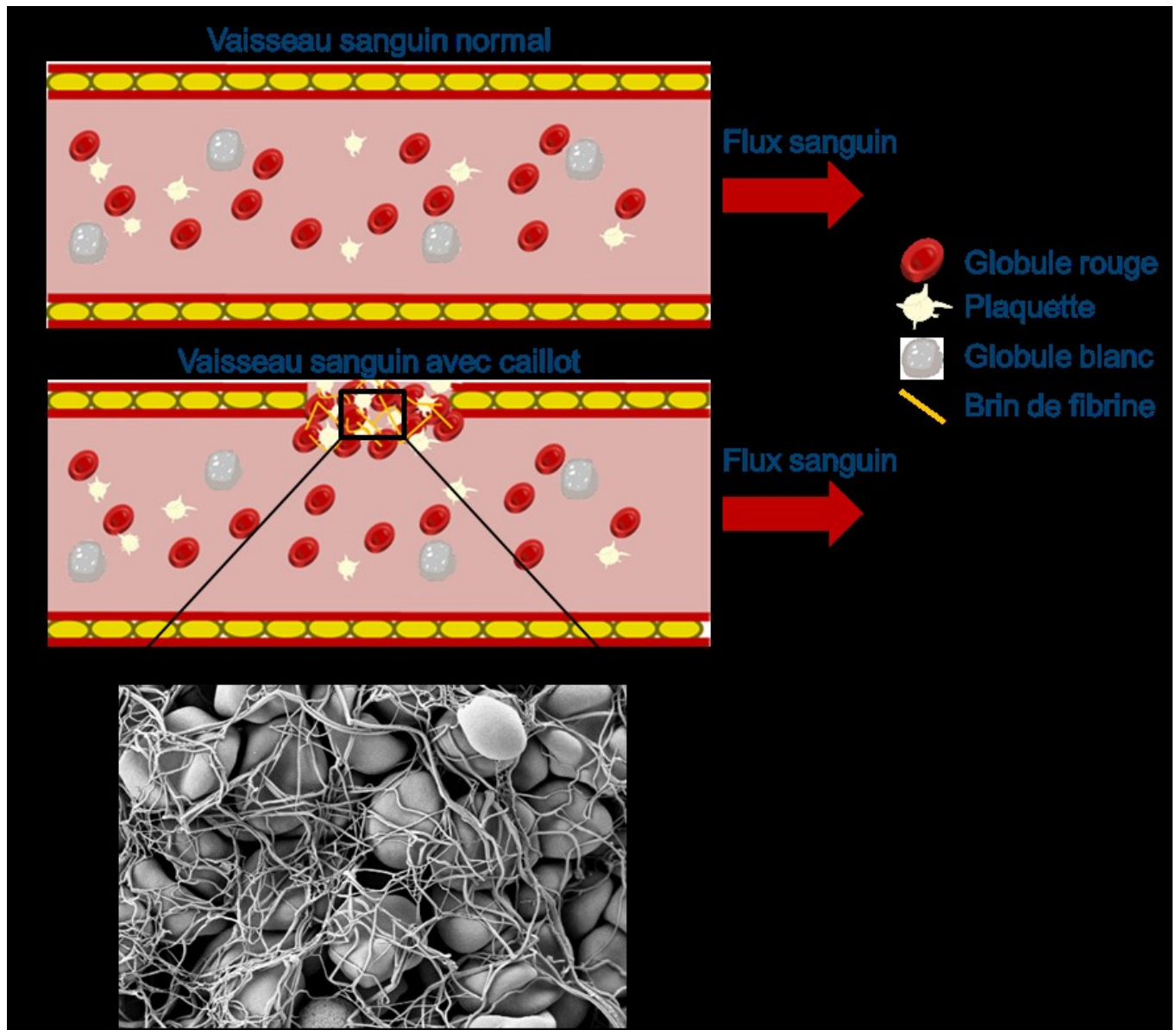


Figure 1. – Formation d'un caillot sanguin. Le volet A décrit un vaisseau sanguin normal et le volet B un vaisseau sanguin avec une rupture de l'endothélium et la formation d'un caillot. Le volet C est une image de globules rouges pris dans un maillage de brins de fibrine (un zoom du caillot), source de l'image :

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Red_Blood_Cells_In_Clot.png

1.1.2 Type de caillot et composition

Il existe différents type de caillots en fonction de leur position dans le corps, les caillots veineux (dit rouges) et les caillots artériels (dit blancs). Leur appellation vient des proportions de leurs composants, pour les caillots veineux on retrouvera en général plus de globules rouges (~60 %), qui leur donnent leur couleur, que de composants de fibrine (~30 %) et de plaquettes ⁶. Ces caillots sont formés majoritairement dans les veines où le taux de cisaillement de l'écoulement sanguin est relativement faible ($10-100 \text{ s}^{-1}$). Un plus grand nombre de plaquettes (~30 %) et de brins de fibrine est présent dans un thrombus artériel (~40 %) ⁶. Les thrombus blancs subviennent dans des zones où les conditions d'écoulement sont plus intenses avec des taux de cisaillement entre 10^2 et 10^5 s^{-1} . Ils sont souvent causés par la rupture de plaque d'athérome (accumulation de dépôts de graisses) qui endommage la paroi endothéliale.

1.1.3 Évolution et dissolution des caillots

Si les caillots répondent le plus souvent à un besoin physiologique (stopper un saignement par exemple), non dissous ils peuvent mener au blocage partiel ou complet d'un vaisseau sanguin. On appelle thrombus veineux profond (TVP) un caillot qui se forme dans une veine profonde de la cuisse ou du mollet. Il est possible qu'une partie du caillot se décroche (embolie) et voyage dans le système veineux bouchant un vaisseau pulmonaire. Ceci représente l'une des formes les plus graves d'embolie. Les embolies pulmonaires (EP) et les TVP font partie des thromboembolies veineuses (TEV). Les propriétés (son âge, sa rigidité, sa densité, sa concentration en brins de fibrine...) d'un caillot sont liées à sa probabilité de causer une embolie ⁷. Un caillot artériel peut également voyager ou se former dans le cerveau et causer un accident vasculaire cérébral (AVC). Il peut aussi gêner la circulation sanguine et causer des insuffisances cardiaques. La plupart du temps, les facteurs qui permettent la formation du caillot sont également responsables de sa dissolution (lyse). Ainsi, lorsqu'un caillot sanguin se forme, de l'activateur du plasminogène tissulaire (t-PA) est produit naturellement par les cellules endothéliales qui tapissent les parois des vaisseaux sanguins. Le t-PA active ensuite le plasminogène (une enzyme inactive produit par le foie) le transformant en plasmine qui va briser les brins de fibrine. Lorsque ces mécanismes ne sont pas suffisants, des symptômes apparaissent et la consultation d'un professionnel de la santé devient nécessaire.

Les caillots peuvent être différenciés à plusieurs stades : les caillots aigus, les subaigus, et les caillots chroniques. Durmaz *et al.* ⁸ divisent les trois catégories en fonction de leurs âges, avec les caillots aigus ayant été formés entre 0 et 14 jours, les subaigus entre 14 et 28 jours, et les chroniques au-delà. Czaplicki *et al.* ⁹ les divisent en 4 stades avec : 1) l'induction, au jour 0 ; 2) le thrombus aigu, dominé par la fibrine entre les jours 1 et 7; 3) le thrombus intermédiaire avec l'apparition de collagène dans sa composition (subaigu), entre les jours 7 et 14; et 4) les thrombus chroniques organisés, après le jour 14 avec une grande partie du thrombus qui est constitué de collagène. Des variations dans le choix des jours sont présentes et montrent un besoin précis de déterminer l'âge des caillots. Les différents stades sont associés à l'évolution de la structure du caillot au cours du temps. Les caillots jeunes (avant 3 jours) sont plutôt formés de brins de fibrine qui englobent les plaquettes et les globules rouges. Ils évoluent en se fixant plus fortement à la paroi endothéliale, en laissant entrer des leucocytes et en formant du collagène dans le caillot. Après 1 semaine, les caillots sont composés d'environ 20% de collagène et ce taux monte à 80% après 3 semaines ⁹. Ces évolutions rendent le caillot de plus en plus difficile à lyser ¹⁰.

1.2 Prise en charge des caillots

1.2.1 Détection

En cas de suspicion de TVP, un médecin cherchera les principaux symptômes comme des rougeurs, des sensations de chaleur, des veines apparentes à la surface de la peau, des enflures ou de la douleur au touché. Deux scores de risque existent pour les TVP, appelé score de Wells et de Oudega ¹¹. Ces scores s'appuient sur les facteurs de risques de thrombus tels qu'une chirurgie récente, une immobilisation prolongée, la présence de tumeurs ou l'utilisation de pilule contraceptive afin d'établir un score de probabilité de thrombus. En cas de suspicion d'embolie pulmonaire (EP), d'autres tests peuvent être effectués comme le contrôle de la pression artérielle, le taux d'oxygène ou l'un des scores suivants : score de Wells pour les EP, Geneva original, Geneva modifié ou Critères d'exclusion de l'embolie pulmonaire (PERC). De même que pour les TVP, ces scores sont liés à plusieurs facteurs comme l'âge, une chirurgie récente, la fréquence cardiaque, l'historique de thrombus ou l'hypoxie. Pour les AVC, les symptômes se manifestent au niveau du

visage et du comportement de la personne touchée, les tests de Cincinnati ou AVC score de NIH permettent d'évaluer ces symptômes.

En cas de suspicion révélée par l'un des scores cliniques, un test D-dimer (des fragments de fibrine) peut être prescrit. Ce test est sensible au niveau de fibrine dans le sang et est élevé lors d'évènements thrombotiques. En vieillissant et changeant de structure, les tests D-dimer sont de moins en moins capables de détecter la présence de caillots¹². Après un mois seulement, 20% des caillots ont des niveaux de fibrine détectables, pourcentage qui tombe à 10% pour des caillots vieux de 3 mois⁹. D'autres pathologies répondent positivement à ce test qui a plutôt vocation d'exclure des tests supplémentaires en cas de résultats négatifs. Pour la détection de TVP, l'échographie de compression (partielle ou complète), qui consiste à comprimer les veines profondes du bas du corps avec une sonde échographique, fait également partie des tests de routine. Un résultat positif de ce test amène directement à une médication. Concernant les PE, après les scores et les tests D-dimer, une échographie thoracique peut être effectuée. D'autres méthodes prescrites sont la scintigraphie pulmonaire V/Q et l'angiographie pulmonaire, plus précis que l'échographie mais nécessitant l'injection d'agents de contraste et impliquant des irradiations. En cas de résultat positif à l'une de ces méthodes, un traitement est mis en place. Les AVC doivent être traités rapidement, les méthodes d'imagerie pour les détecter sont la tomodensitométrie cérébrale (irradiante), ou l'angiographie par résonance magnétique.

La thromboélastographie (TEG) est une méthode développée dès la fin des années 1940 qui calcule des paramètres liés à la coagulation sanguine¹³. Son fonctionnement se base sur un cylindre interne en rotation libre et un cylindre externe creux oscillant. Le sang est versé entre les deux cylindres et la partie extérieure se met à osciller de $\pm 4^\circ$ et $45'$ (minute d'arc, sous unité du radian) toutes les 5 secondes. Cette oscillation provoque un mouvement du cylindre interne lorsque la viscoélasticité du sang est suffisante. On appelle R ou le temps de coagulation (CT) le moment où le cylindre interne bouge de plus de 2 millimètres. Le temps pour atteindre un déplacement de 20 mm est appelé K ou le temps de formation du caillot (CFT). Le paramètre alpha correspond à la pente du thromboélastogramme, détaillé à la **Figure 2**. Le paramètre MA, ou la fermeté maximale du caillot (MCF), correspond à l'amplitude maximale du cylindre interne. Ces paramètres peuvent être reliés à des pathologies; une diminution de K ou alpha peut être

révélateur d'un déficit de fibrinogène; un R élevé peut montrer une déficience des facteurs de coagulations; un MA bas serait expliqué par un manque de plaquettes ou une déficience de leur activation ¹⁴. Le TEG est également utilisé afin de calculer l'élasticité et la viscosité de caillots en formation *in vitro*.

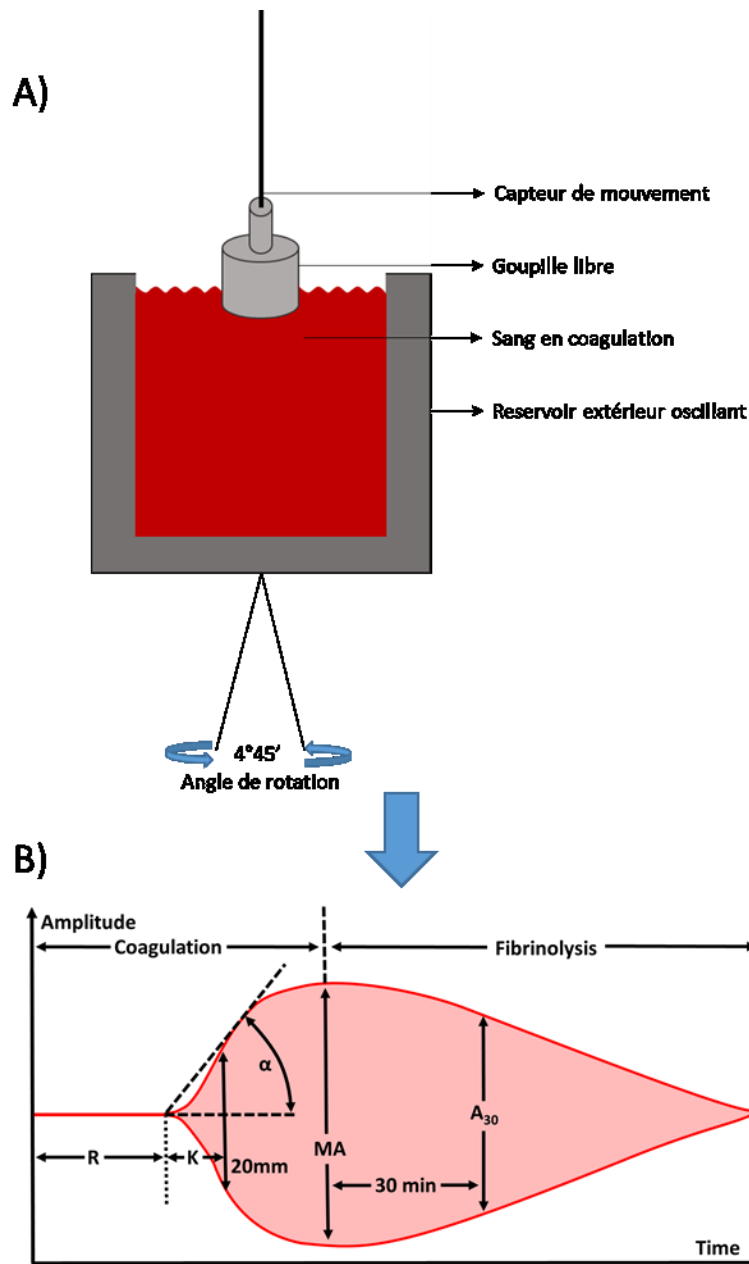


Figure 2. – Représentation d'un thromboélastogramme et de sa courbe associée. En A le thromboélastogramme. Le réservoir extérieur oscille et lorsque le sang coagule, l'oscillation se propage à la goupille dont le mouvement est enregistré par un capteur. En B

la courbe associée à une coagulation classique. Le temps R correspond au temps où le sang est encore liquide et très peu visqueux. On retrouve K le temps de formation du caillot, α (alpha) la pente, MA l'amplitude maximale et A_{30} , l'amplitude après 30 minutes de l'amplitude maximale. Le volet B provient de :
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thromboelastography_parameters.png.

1.2.2 Traitements

Les anticoagulants constituent le principal traitement utilisé dans la prise en charge de caillots sanguins¹⁵⁻¹⁸. Ils préviennent la formation de nouveaux caillots et empêchent ceux existants de se développer. Le but est d'éviter les complications et de laisser au corps le soin de détruire petit à petit le caillot de façon naturelle. Les exemples d'anticoagulants incluent la warfarine, l'héparine et les nouveaux anticoagulants oraux tels que le dabigatran, le rivaroxaban et l'apixaban. Dans les cas plus extrêmes et dangereux, des thrombolytiques sont utilisés pour dissoudre les caillots sanguins existants. L'activateur tissulaire du plasminogène recombinant (rt-PA) est un exemple de thrombolytique courant. Il est possible d'utiliser des cathéters afin de délivrer des thrombolytiques directement au niveau du caillot. Dans des cas plus rare, on peut recourir à la chirurgie pour enlever directement le caillot (thrombectomie). La thrombectomie consiste à insérer un cathéter dans l'artère affectée et à utiliser des fils rigides pour dissoudre puis retirer le caillot avec le cathéter. Des filtres veineux peuvent aussi être utilisés pour empêcher les caillots sanguins des veines profondes des jambes, telle que la veine cave inférieure, de se déplacer vers les poumons.

Des méthodes plus récentes sont utilisées en recherche pour aider à traiter les caillots. On appelle sonothrombolyse l'utilisation d'ultrasons focalisés couplée au rt-PA pour augmenter l'effet du traitement¹⁹. Cette méthode a montré une meilleure recanalisation pour les patients ayant subi une injection de rt-PA combinée aux ultrasons^{19,20}. Les microbulles sont des bulles de gaz de quelques micromètres servant généralement d'agent de contraste pour l'imagerie ultrasonore. Leur capacité à osciller et à entrer en cavitation sous la présence d'ultrasons a augmenté leur spectre d'utilisation. L'utilisation du phénomène de cavitation de microbulles sous l'effet d'ultrasons a même montré un effet de lyse sans utilisation de rt-PA²¹, bien qu'étant

amplifié lorsque combiné avec le rt-PA ²². Les mécanismes opérants pendant la sonothrombolyse ont pu être détaillés dans différents articles ²³⁻²⁵. Les microbulles peuvent également aider à l'administration de médicaments, notamment en ouvrant la barrière hémato-encéphalique (interface sang cerveau) ²⁶⁻²⁹. L'effet de la température sur la lyse du caillot a également été testé en chauffant les caillots par ultrasons focalisés (sans rt-PA). Les effets *in vitro* montrent un effet positif de la température sur la lyse du caillot, mais les effets *in vivo* (chez l'animal pour le moment) soulignent des potentiels problèmes pour la sécurité des modèles ³⁰. La destruction de thrombus par laser solide pompé par diode a également pu être testé *in vitro* et montre une destruction du caillot par effet thermique et la création et la cavitation de bulles sous l'effet du laser ³⁰.

Pour les thrombus veineux profonds, selon certains facteurs de risques (cancer, récurrence du thrombus...) le traitement peut varier en temps ou en type d'action (héparine, activateurs tissulaires de plasminogène...). Le traitement varie aussi en fonction de la localisation du caillot; les thrombus artériels dépendamment de leur position et de leur sévérité peuvent être enlevés par opération chirurgicale, les AVC seront plus souvent traités avec des tPA, tandis que les TVP sont majoritairement traités avec des anticoagulants oraux ou de l'héparine ³¹⁻³³. L'âge du caillot joue également un rôle majeur dans les traitements prescrits. Les thrombus aigus sont plus susceptibles d'emboliser et sont également plus sensibles aux différents traitements ³⁴. Cette sensibilité s'explique par leur composition avec une partie importante de brins de fibrines dont la destruction est le point central des traitements. Il est possible qu'aucun traitement ne soit prescrit en cas de thrombus chronique qui sera très résistant à la lyse et avec de faible chance d'emboliser ³⁵.

Les effets secondaires de ces traitements sont pour les anticoagulants principalement des saignements excessifs et des hématomes. Il en est de même pour les thrombolytiques qui présentent un risque d'hémorragie interne dans 7% des cas ³⁶. Le risque de récurrence d'évènements thrombotiques est élevé (17.5% dans les 2 ans ³⁷), pour cela les anticoagulants sont souvent prescrits pour des périodes de 6 mois ou plus. Il existe également des patients résistants aux traitements ³⁸⁻⁴¹, résistance qu'il faut identifier rapidement si l'on veut les soigner de manière adaptée.

1.2.3 Caractérisation de caillots

Caractériser un caillot pour mieux le traiter est encore un défi. Jusqu'ici des caractérisations en fonction de sa position dans le corps, sa taille, son âge, sa cause soupçonnée ou les symptômes associés sont utilisés. La classification des caillots en stages aigus, subaigu et chronique se fait généralement avec l'historique des symptômes du patient. Posséder un outil de mesure fiable, répétable et précis de l'âge du caillot est donc clef pour sa prise en charge.

Le degré d'occlusion veineuse est un des paramètres qui peut être associé à l'âge du caillot¹². Il a été montré par IRM que les caillots passaient par plusieurs phases d'oxygénation au cours du temps ce qui pouvait servir comme marqueur de leur âge⁴². De nouvelles méthodes de caractérisation ont vu le jour notamment avec l'avancée des ultrasons. Les brins de fibrines composant les caillots renvoient les ultrasons et les caillots sont vus plus « lumineux » sur des images ultrasonores lorsque le maillage de brins de fibrine est plus dense⁴³. De plus, cette luminosité augmente pendant la coagulation au fur et à mesure que de nouveaux brins se forment⁴⁴. On appelle *in vitro*, un caillot âgé ou rétracté un caillot que l'on laisse volontairement coaguler pendant une période de temps (de 1h à quelques jours si conservé au réfrigérateur). Des études récentes ont mis en évidence une relation entre l'âge du caillot et l'une de ses propriétés mécaniques : le module d'Young (aussi appelé module élastique). Ce module a également été lié à sa densité et à sa résistance au rt-PA⁴⁵. Ainsi, plus un caillot était âgé plus son module d'Young était élevé et plus il était difficile à lyser⁴⁶⁻⁵¹. L'avantage d'un tel paramètre est de fournir une mesure quantitative à laquelle on pourrait associer un traitement au cas par cas. Avec des rhéomètres (comme le TEG) on peut extraire le module de stockage G' et le module de perte G'' qui constituent des propriétés mécaniques intrinsèques des caillots *in vitro*¹³. D'autres propriétés quantitatives sont calculables, notamment via l'utilisation d'ultrasons. Ces méthodes sont revues dans le chapitre suivant.

Chapitre 2 – Ultrasons

2.1 Techniques de base

Les ultrasons sont des ondes mécaniques dont la fréquence est supérieure à 20 000 Hz, le seuil supérieur de perception de l'oreille humaine. En médecine, ils sont majoritairement utilisés comme moyen d'imagerie des tissus humains. Les sondes ultrasonores (ou échographiques) sont composées d'éléments piézoélectriques pouvant convertir un signal électrique en ondes sonores et inversement. Les ultrasons émis dans un tissu sont réfléchis par les éléments d'une taille similaire ou supérieure à la longueur d'onde, $\lambda = c/f$, où c est la célérité de l'onde (~ 1540 m/s dans les tissus biologiques) et f est la fréquence centrale de la sonde (souvent comprise entre 2 et 20 MHz), voir **Figure 3**. Les éléments piézoélectriques convertissent les ultrasons retournés au transducteur en signaux électriques. Les signaux ainsi acquis sont appelés : données de radiofréquence (RF). Des algorithmes de retard et somme consistant à appliquer un délai à chaque élément piézoélectrique en fonction de la zone à imager sont généralement utilisés afin de reconstruire une image ultrasonore (image mode B à la **Figure 4**). Il existe également des algorithmes dits de migration qui convertissent les signaux RF en image en niveau de gris⁵². Les fréquences utilisées sont adaptées à l'imagerie des tissus mous du corps humain, permettant une pénétration suffisante dans ces tissus. L'atténuation des ondes, caractérisée par la perte d'amplitude du faisceau ultrasonore en fonction de la profondeur d'imagerie, est liée à l'absorption (en partie sous forme de chaleur) et à la diffusion d'ondes par les éléments du milieu imagé. Cette propriété affecte la profondeur à laquelle on peut imager un milieu et est dépendante de la fréquence d'imagerie. Le coefficient d'atténuation d'un tissu est exprimé en décibel (dB) ou Neper (Np) par mètre par hertz (dB/m/Hz ou Np/m/Hz). Les ultrasons à plus basse fréquence sont donc moins atténués et peuvent pénétrer plus profondément dans les tissus. Les ultrasons à plus haute fréquence sont plus atténués et ne pénètrent pas aussi profondément dans les tissus⁵³. Dans la suite de cette thèse, on fera la distinction entre les ondes de compressions, utilisées pour imager un tissu et suivre des déplacements en élastographie, et les ondes de cisaillements, reliés aux propriétés mécanique du tissu dans lequel elles se propagent.

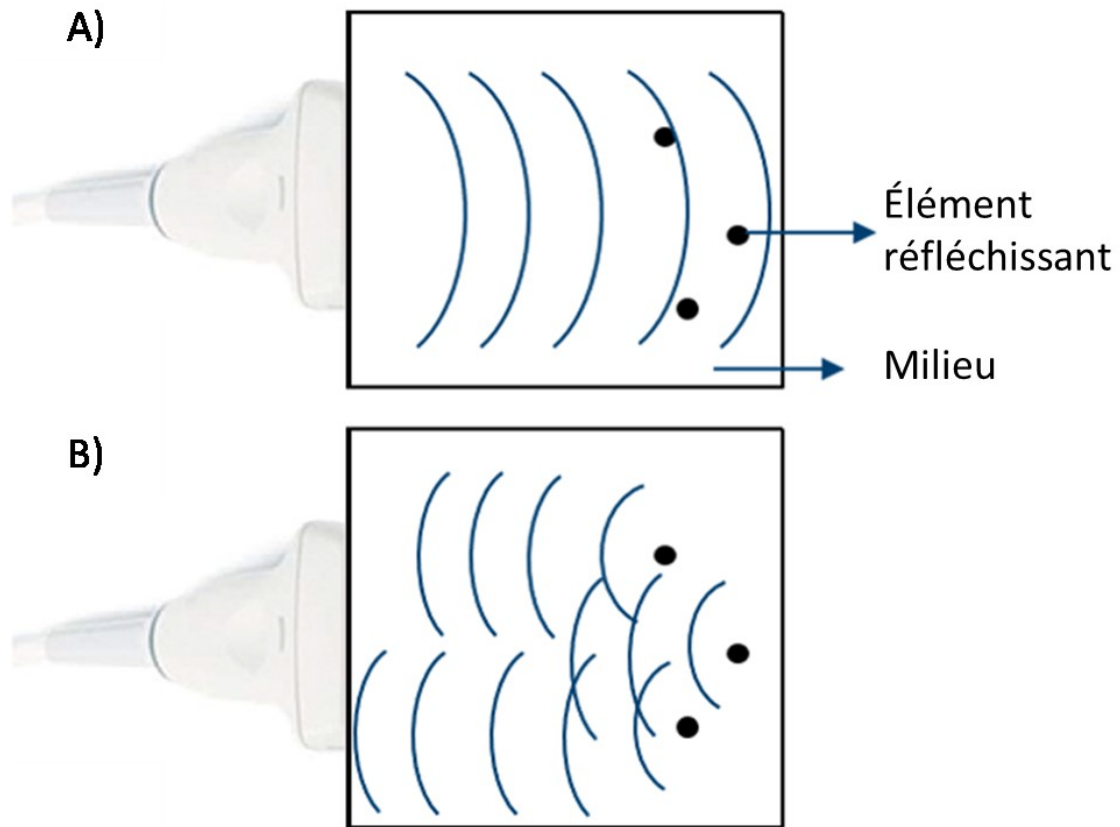


Figure 3. – Principe de base des ultrasons. Le volet A représente l'émission des ultrasons par la sonde échographique. Le volet B montre la réception des ultrasons réfléchis par les éléments constituant le milieu imagé.



Figure 4. – Exemple d’image mode B en niveau de gris. Ici l’imagerie est utilisée pour visualiser un fœtus. Source de l’image : <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Scan20semanas1.png>.

2.1.1 Image mode B

Description de la méthode

Le mode B est la norme d’affichage la plus répandue en échographie clinique. Il permet d’imager des tissus humains en se basant sur l’amplitude du signal réfléchi ou rétrodiffusé par les éléments constituant le tissu. Il est approprié ici de définir les deux modes d’interaction de l’onde avec le milieu imagé qui permet un retour d’énergie pour former l’image mode B. Nous avons défini précédemment la réflexion; la rétrodiffusion fait référence au signal retourné vers le transducteur et provenant d’éléments tissulaires plus petits que la longueur d’onde (typiquement plus petit que $\lambda/10$ ⁵⁴). La réflexion à la frontière de différents milieux ou la rétrodiffusion par différents éléments constituant ce milieu se produisent à cause de différences d’impédances acoustiques

de ces milieux ou éléments. L'impédance acoustique $Z = \rho c$ avec ρ la densité du milieu en kg/m^3 et c la vitesse du son (des ondes de compression) dans le milieu (en m/s). Le coefficient d'intensité de réflexion ou de rétrodiffusion est caractérisé par :

$$a = \frac{(z_1 - z_2)^2}{(z_1 + z_2)^2}, \quad (1)$$

avec z_1 et z_2 l'impédance acoustique de deux milieux différents qui reflètent la capacité d'une onde à être réfléchi. Plus a est proche de 1 plus les milieux présentent une différence d'impédance acoustique importante et plus les ondes seront retournées à leur interface. On dit d'un milieu ou d'une interface qui retourne fortement les ondes qu'elle est échogène (clair, proche du blanc dans une image en ton de gris comme à la **Figure 4**). Au contraire, si les deux impédances acoustiques sont proches, a tend vers 0 et le signal sera vu comme hypoéchogène (noir sur l'image mode B) ⁵³. À titre d'exemple, l'impédance acoustique des tissus mous humains varie entre $1.38 \times 10^6 \text{ kg/s/m}^2$ pour le gras et $1.7 \times 10^6 \text{ kg/s/m}^2$ pour les muscles ou le foie. Les os sont aux alentours de $7 \times 10^6 \text{ kg/s/m}^2$ et l'air présente une impédance de $0.0004 \times 10^6 \text{ kg/s/m}^2$. La différence d'impédance acoustique entre les tissus mous et les os ou l'air font des frontières tissus mous/air, air/os et tissus mous/os des zones très échogènes.

Applications

Avec sa capacité à générer une image de l'intérieur du corps, le mode B est un outil incontournable pour de nombreuses applications cliniques. Il permet notamment de guider l'injection de produits dans une zone spécifique du corps. On retrouve ce type d'injection pour cibler des antidouleurs dans les muscles ou articulation là où de l'arthrite peut être présente. Avant l'arrivée des ultrasons, les injections étaient faites « à l'aveugle », et l'imagerie mode B a permis d'augmenter le taux de succès de ce type d'interventions. La structure de certaines lésions, kystes ou tumeurs peut présenter des différences d'échogénicité avec le reste des tissus, faisant de leur détection une des applications de l'imagerie mode B. Elle permet également de suivre l'évolution de la grossesse et de recueillir des informations cruciales sur le fœtus de personnes enceintes comme des anomalies, sa localisation, sa position, l'âge, ou les battements cardiaques. Enfin, l'imagerie mode B est utilisée pour la détection de caillots sanguins et de

problème d'écoulement cardiovasculaire, bien que l'échographie Doppler soit privilégiée dans ce dernier cas ⁵³.

2.1.2 Échographie Doppler

Description de la méthode

L'échographie Doppler est une méthode d'imagerie qui utilise l'effet Doppler pour visualiser le mouvement des tissus et du sang. Majoritairement utilisée pour le sang, il sera fait mention ici de flux sanguin, mais cette méthode peut s'appliquer pour d'autres fluides tels que l'urine. L'effet Doppler est connu notamment pour le changement de son que produit une sirène de pompier lorsqu'elle s'approche et s'éloigne de nous. Le même principe est appliqué dans ce mode d'imagerie avec la sonde qui est fixe et le sang qui est en mouvement. Les éléments présents dans le sang, appelés éléments figurés du sang (globules rouges, globules blancs, plaquettes), se comportent comme des diffuseurs et renvoient des ultrasons décalés positivement en fréquence s'ils se rapprochent de la sonde et négativement décalés s'ils s'en éloignent. Ce décalage permet donc de connaître la direction du flux sanguin et l'amplitude de ce décalage en fréquence donne la vitesse de l'écoulement. Il faut cependant éviter de placer la sonde perpendiculairement au vaisseau à imager car le décalage en fréquence sera nul (rien ne s'approchant ou s'éloignant de la sonde).

Cliniquement, plusieurs méthodes d'affichage existent : le Doppler couleur qui change le flux sanguin de couleur en fonction de sa direction et de son amplitude en temps réel ; le Doppler spectral qui affiche sur un graphique la direction et l'amplitude du flux sanguin au cours du temps ; le Doppler de puissance qui permet de visualiser de faibles écoulements sanguins sans en connaître la direction ; et l'échographie Duplex qui combine l'imagerie mode B et le Doppler couleur. D'autres méthodes plus spécifiques sont détaillées dans l'article de Hoskins ⁵⁵. Grâce à cette technique, les ultrasons deviennent une des principales méthodes utilisées pour le diagnostic des obstructions vasculaires (*e.g.*, sténoses artérielles et caillots sanguins artériels ou veineux). L'échographie Doppler est également utilisée pour diagnostiquer des problèmes cardiaques en étudiant la circulation sanguine dans le cœur. Elle permet aussi d'évaluer la

circulation sanguine dans le cordon ombilical ou toute autre pathologie liée à la circulation sanguine ^{56,57}.

2.2 Élastographie

Un besoin grandissant dans le domaine de l'imagerie est de pouvoir caractériser les tissus, comme c'est le cas pour la classification en stades du cancer du sein, de la stéatose ou de la fibrose du foie. Obtenir une valeur chiffrée permettant de séparer un tissu sain d'un tissu pathologique est une plus-value essentielle au diagnostic. L'utilisation de plusieurs paramètres combinés (la rigidité du tissu, les résultats de tests sanguins, l'échogénicité...) est de plus en plus privilégiée pour accroître la performance des diagnostics. L'élastographie ultrasonore, relativement peu coûteuse et disponible dans le monde industrialisé, se place dans cette lignée.

2.2.1 Description de la méthode

Historiquement, la palpation était utilisée pour évaluer la rigidité (ou élasticité) de certains tissus et différencier les tissus sains des tissus pathologiques. Même si cette pratique est encore utilisée (pour des examens rapides de routine ou des autopalpations), l'élastographie permet maintenant de caractériser les tissus de manière quantitative et non invasive. L'idée principale est que la rigidité du tissu apporte des informations diagnostiques sur la présence ou l'état d'une pathologie. Une tumeur ou un foie pathologique aura tendance à être plus rigide qu'un tissu sain ⁵⁶. Il existe deux types d'élastographie : la quasi-statique et la dynamique.

2.2.2 Élastographie quasi-statique

L'élastographie quasi-statique consiste à mesurer la déformation entre le tissu soumis à une pression (imposée par le technicien à l'aide de la sonde, imposé par une machine ou induite par ultrasons focalisés (ARFI ⁵⁸)) et le tissu au repos. Une représentation de l'élastographie quasi-statique est disponible à la **Figure 5**, volet A pour la sollicitation manuelle. Les zones se déformant le moins avec la pression exercée sont les plus rigides. Cette méthode est limitée par la grande variabilité des mesures sachant que la force appliquée n'est pas toujours contrôlée. Cette limite a pu en partie être contournée avec l'utilisation d'une plaque de compression automatique qui

permet d'obtenir une valeur quantitative de la rigidité^{59,60}. Les organes profonds sont également difficiles à évaluer car moins faciles à compresser depuis la surface.

L'élastographie vasculaire non-invasive (NIVE) a été développée afin de caractériser les plaques carotidiennes, associées au risque d'AVC⁶¹ (**Figure 5** volet C). Cette méthode se sert de la pulsation cardiaque afin de mesurer les déformations de l'artère et de la plaque associée. Ces déformations sont affichées sous la forme d'élastogramme (images de déformations variables dans le temps). Les contraintes axiales et latérales, celles de cisaillement, les déplacements axiaux et latéraux et le ratio des contraintes axiales cumulées par rapport au mouvement axial cumulé sont autant de paramètres calculés par cette méthode⁶². Cette méthode, couplée avec de l'échographie Duplex est considérée comme prometteuse pour la caractérisation de plaques carotidiennes et la prévention d'AVC⁶². Elle pourrait potentiellement remplacer les méthodes d'IRM coûteuse actuellement utilisées. Elle permet également l'étude du durcissement artériel⁶³, la caractérisation des anévrismes vasculaires⁶⁴, et l'étude des mouvements pulmonaires⁶⁵, pour ne nommer que quelques autres exemples.

Une autre technique utilise les ultrasons intravasculaires (IVUS) afin de générer un modèle d'éléments finis utilisé pour calculer l'élasticité de l'artère et de la plaque artérielle. Les IVUS permettent d'obtenir une image et de segmenter les composants de l'artère et de la plaque artérielle basée sur leur échogénicité. Cette segmentation est ensuite utilisée comme modèle pour recréer numériquement l'artère et la plaque. L'onde associée à la pulsation cardiaque est simulée et les déformations résultantes sont comparées aux images échographiques des IVUS avant et pendant leur déformation⁶⁶. Cette méthode, développée dans les années 2000 par De Korte et *al.*⁶⁶ a subi plusieurs améliorations qui ont permis de mieux prendre en compte la forme anatomique de la plaque⁶⁷ et les propriétés mécaniques orthotropes de la paroi artérielle⁶⁸.

Une autre méthode appelée vitesse de l'onde de pouls (VOP) est utilisée pour mesurer la rigidité de parois artérielles⁶⁹. Cette méthode est techniquement non considérée comme une méthode d'élastographie car elle mesure la rigidité fonctionnelle et pas celle intrinsèque du tissu. Cette méthode implique la mesure directe du temps de propagation de l'onde de pouls, générée lors de l'éjection cardiaque, entre deux points de l'arbre artériel. La vitesse de propagation de

l'onde de pouls est associée aux propriétés élastiques de la paroi artérielle grâce à l'équation de Moens-Korteweg, qui permet de calculer le module d'Young E de la paroi artérielle en fonction de son épaisseur h , de son rayon R , de la vitesse de propagation de l'onde de pouls et de la densité sanguine ρ ⁷⁰ :

$$VOP = \sqrt{\frac{Eh}{2R\rho}}. \quad (2)$$

La méthode ARFI (volet B de la **Figure 5**) focalise les ultrasons de la sonde en un point du tissu afin de provoquer un déplacement^{58,71-73}. L'amplitude de ce déplacement est mesurée et est révélateur de la rigidité du tissu. Cette méthode est également utilisée afin de générer des ondes de cisaillement, utilisées en élastographie dynamique.

2.2.3 Élastographie dynamique

L'élastographie dynamique se base sur la vitesse de propagation d'ondes de cisaillement dans le milieu à imager. Une onde de cisaillement, aussi appelée onde transversale, est une onde mécanique qui se propage et se caractérise par des oscillations de particules perpendiculaires à la direction de transfert d'énergie. Dans le cas d'un milieu homogène, incompressible et isotrope (c'est-à-dire dont les propriétés physiques sont équivalentes dans toutes les directions), la vitesse des ondes de cisaillement est reliée au module d'Young de ce milieu par la relation :

$$E = 3\rho c^2, \quad (3)$$

avec E le module d'Young, ρ la densité du tissu et c la vitesse de l'onde de cisaillement dans le tissu.

Comment générer l'onde de cisaillement

Différentes techniques existent pour générer l'onde de cisaillement. Les premières ont recourt à un vibreur externe en contact avec la peau proche du tissu à imager, la vibration propageant des ondes de cisaillement dans les tissus. Les autres techniques utilisent des ultrasons focalisés en un ou plusieurs points afin de générer un ou des déplacements qui se propagent dans le milieu. Ces déformations se propagent dans un volume sous la forme d'ondes élastiques de cisaillement et de compression.

Vitesse de l'onde de cisaillement

Deux méthodes principales de calcul de la vitesse de l'onde sont utilisées, la vitesse de groupe et celle de phase⁷⁴. La vitesse de groupe est une mesure de la vitesse à laquelle une onde se propage dans un milieu donné. Contrairement à la vitesse de phase, qui mesure la vitesse à laquelle une crête de l'onde se déplace à travers le milieu, la vitesse de groupe mesure la vitesse à laquelle l'énergie de l'onde se propage. Pour calculer cette vitesse, on utilise généralement des algorithmes de temps de vol (ToF pour « *time of flight* ») qui correspond à la durée nécessaire pour qu'un objet, une particule ou une onde se déplace sur une certaine distance. Ces algorithmes sont souvent basés sur des méthodes de corrélations croisées et de temps-crêtes⁷⁵.

La vitesse de phase est la vitesse à laquelle une crête d'onde se propage dans un milieu et est associée à une fréquence. La méthode du gradient de phase estime cette vitesse en utilisant la différence de phase évaluée à différents emplacements pour des fréquences spécifiques⁷⁶. Une autre méthode convertit les données spatiale et temporelle en nombre d'ondes et fréquences avec la transformée de Fourier à deux dimensions et utilise la distribution d'amplitude des crêtes pour estimer la vitesse de phase⁷⁷. La vitesse de groupe et celle de phase ne donnent pas les mêmes résultats lorsque le milieu est dispersif (*i.e.*, lorsque la vitesse de l'onde de cisaillement dépend de sa fréquence). La vitesse de phase est généralement inférieure à la vitesse de groupe.

Différentes méthodes d'élastographie dynamique

Parmi les différentes méthodes on retrouve l'élastographie transitoire (TE, **Figure 5** volet F) qui se sert d'une sonde montée sur l'axe d'un vibreur pour générer l'onde de cisaillement⁷⁸. L'élastographie de résonance par ondes de cisaillement induites (SWIRE) se sert également d'un vibreur externe pour générer des ondes de cisaillement^{79,80}. Cette méthode est utilisée dans des géométries propices à la présence de résonances (*i.e.*, des géométries cylindriques comme des caillots sanguins) et calcule la vitesse de l'onde de cisaillement en réglant le vibreur aux fréquences de résonance afin de maximiser l'amplitude des ondes de cisaillement. Les développements récents de cette technique se passent de vibreur externe et utilisent les ondes de cisaillement générées dans le tissu par focalisation et le calcul de la vitesse à la fréquence du pic principal⁴⁹. L'élastographie par ondes de cisaillement à source ponctuelle utilise l'onde de

cisaillement induite par focalisation d'ultrasons en un point (**Figure 5** volet D) ⁸¹. La vitesse de cette onde ainsi que le module d'Young du tissu sont calculés avec l'équation 2. Une autre méthode (élastographie 2D par ondes de cisaillement, 2D SWE) utilise également la focalisation d'ultrasons pour induire plusieurs déplacements les uns en dessous des autres afin de générer un front d'onde de cisaillement plan (**Figure 5** volet E) ^{82,83}. La vitesse de cette onde est ensuite reliée au module d'Young.

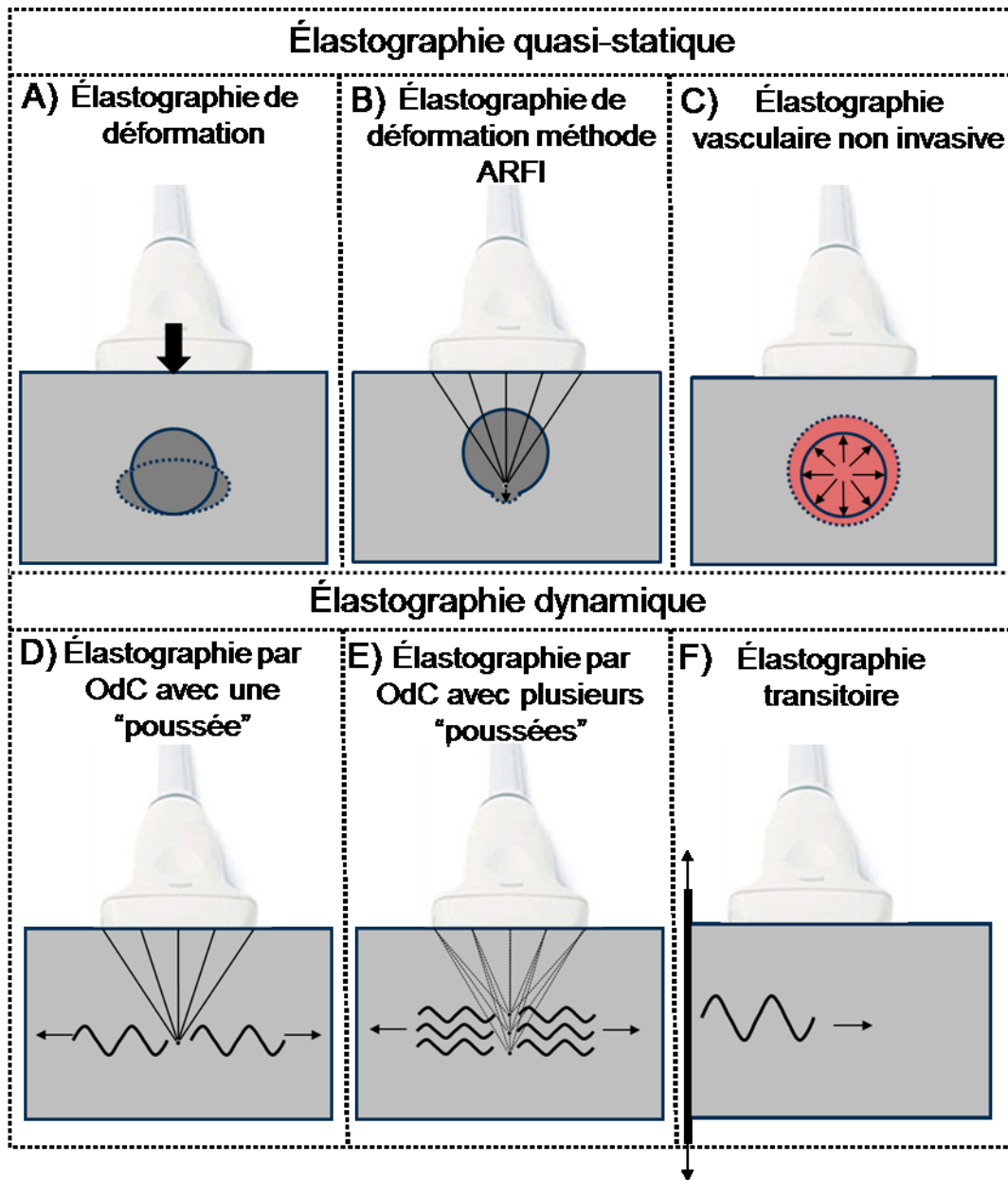


Figure 5. – Différentes méthodes d'élastographie. L'élastographie quasi-statique est représentée aux volets A, B et C. Les volets D, E et F représentent différentes méthodes d'élastographie dynamique. OdC est l'acronyme pour ondes de cisaillement.

2.2.4 Autres méthodes

Si l'élastographie dynamique peut être limitée par ses hypothèses (différentes en fonction des techniques utilisées), les tissus composés de plusieurs couches comme les artères, la paroi de la vessie ou la peau ne satisfont pas la majorité des hypothèses et les ondes élastiques pour ces tissus suivent la théorie des ondes guidées. Ces milieux sont dispersifs et l'évaluation de la dispersion des ondes de cisaillement est utilisée pour calculer la rigidité à l'aide d'un modèle théorique⁸⁴.

D'autres méthodes reposent également sur la génération et le suivi d'ondes de torsion⁸⁰, moins sensible à l'atténuation. Cette technique possède un taux d'acquisition élevé (*i.e.*, beaucoup d'images par seconde) et une bande de fréquences plus large est nécessaire pour analyser les propriétés viscoélastiques; cette approche est encore en développement⁸⁵.

2.2.5 Méthodes de calculs directe et indirecte

Les méthodes de calcul du module élastique reposent sur l'hypothèse du comportement linéaire élastique de matériaux afin de relier la contrainte subie par le matériau à sa déformation selon la relation :

$$\sigma_{i,j} = E_{i,j,k,l} \varepsilon_{k,l} , \quad (4)$$

avec σ la contrainte et ε la déformation. La contrainte peut également être exprimée en fonction des coefficients de Lamé sous l'hypothèse d'un comportement mécanique élastique et isotrope selon la relation :

$$\sigma_{i,j} = 2\mu\varepsilon_{k,l} + \lambda\delta_{i,j}\Delta , \quad (5)$$

où $\delta_{i,j}$ est le delta de Kronecker, λ et μ sont le premier et second coefficient de Lamé, respectivement, et $\Delta = \nabla \mathbf{u} = \varepsilon_{11} + \varepsilon_{22} + \varepsilon_{33}$ où \mathbf{u} représente les trois composantes du mouvement. Les deux coefficients de Lamé sont reliés au module d'Young E et au coefficient de poisson ν ^{86,87} selon les équations :

$$\mu = \frac{E}{2(1 + \nu)}, \quad \lambda = \frac{\nu E}{(1 + \nu)(1 - 2\nu)}. \quad (6)$$

Puisque le module d'Young est souvent l'inconnu dans notre problème, on utilise l'équation de Navier afin d'exprimer les déplacements en fonction des coefficients de Lamé. On obtient ainsi :

$$\nabla \cdot \mu \nabla \mathbf{u} + \nabla(\lambda + \mu) \nabla \cdot \mathbf{u} = \rho \frac{\partial^2 \mathbf{u}}{\partial t^2}, \quad (7)$$

où ρ est la densité du matériau et t le temps. Dans le cadre de déformations transitoires (comme les déformations induites par ultrasons), on obtient en différenciant l'équation (7) l'équation d'onde suivante :

$$\nabla^2 \Delta = \frac{1}{c_1^2} \frac{\partial^2 \Delta}{\partial t^2}, \quad (8)$$

où la vitesse de l'onde de compression c_1 est exprimé par

$$c_1 = \sqrt{\frac{\lambda + 2\mu}{\rho}}. \quad (9)$$

Afin de dériver l'équation d'onde pour la propagation d'ondes de cisaillement, on prend le rotationnel de l'opération (7) qui nous donne :

$$\nabla^2 \nabla \frac{\mathbf{u}}{2} = \frac{1}{c_2^2} \frac{\partial^2 \nabla \frac{\mathbf{u}}{2}}{\partial t^2}, \quad (10)$$

où $\nabla \frac{\mathbf{u}}{2}$ est le vecteur rotationnel et où c_2 , la vitesse de l'onde de cisaillement, est donnée par :

$$c_2 = \sqrt{\frac{\mu}{\rho}}. \quad (11)$$

On retrouve l'équation (3) à partir de l'équation (6) exprimant le second coefficient de Lamé μ et l'équation (11) sous l'hypothèse que le matériau est incompressible (c.-à-d. $\nu = 0.5$).

La méthode de résolution indirecte a le plus souvent recours à des méthodes d'éléments finis afin de calculer les déplacements liés à une force pour des matériaux de différentes rigidités.

La méthode est posée comme un problème d'optimisation dont l'objectif est de minimiser la différence au moindre carré entre des champs de déplacements mesurés expérimentalement et ceux calculés par un modèle numérique. Cette méthode permet de se libérer de l'hypothèse d'homogénéité qui est une des limites de la résolution directe. La théorie et les équations régissant cette méthode peuvent être retrouvées dans l'article de synthèse de M. M. Doyley⁸⁸. Un autre auteur (E. Van Houten) a également développé plusieurs de ces méthodes de reconstruction pour l'IRM^{89,90}.

2.2.6 Modèles rhéologiques

Afin de calculer l'élasticité et la viscosité d'un matériau, une méthode possible est de faire correspondre des essais de compression et de relaxation avec des modèles rhéologiques. Ces modèles sont généralement composés de deux éléments ; les ressorts représentant un comportement purement élastique donné par la loi de Hooke vue à l'équation (4) et les amortisseurs représentant un comportement visqueux newtonien régi par l'équation suivante :

$$\sigma = \eta \dot{\epsilon} \quad (12)$$

où σ est la contrainte, η est la viscosité et $\dot{\epsilon}$ est la dérivée de la déformation. On peut combiner ces modèles dans le but de simuler des matériaux complexes, des exemples sont présentés à la **Figure 6**.

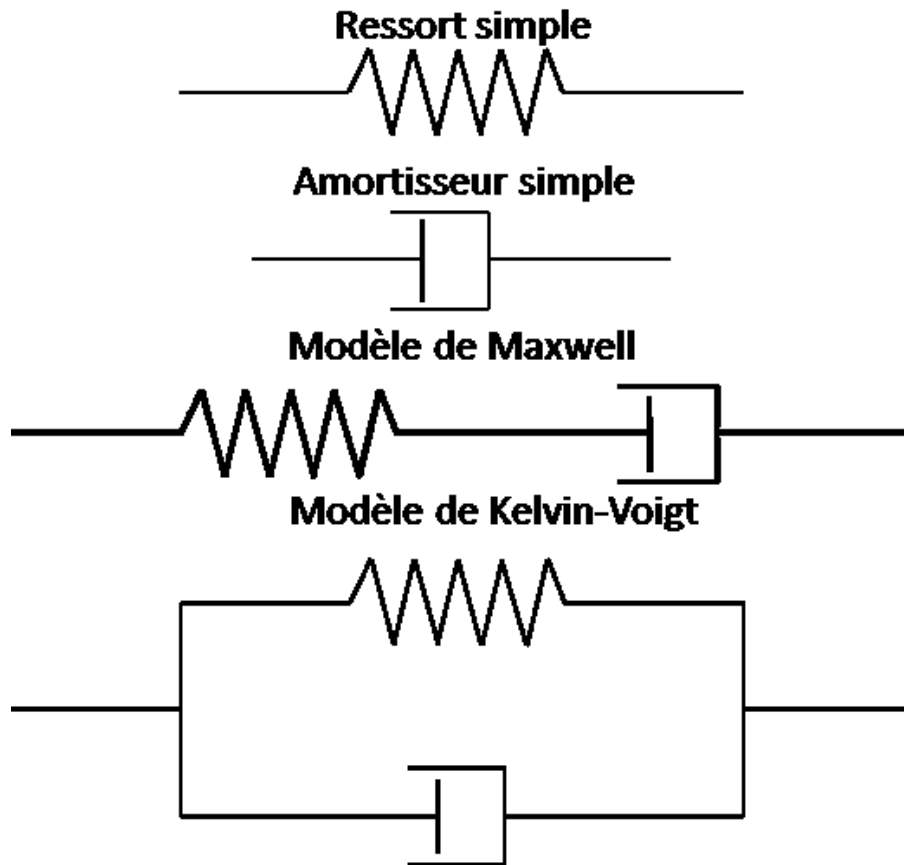


Figure 6. – Exemple d'éléments et modèles rhéologiques de base.

2.2.7 Applications cliniques ou de recherche actuelles

La biopsie est la méthode standard pour catégoriser plusieurs maladies comme la fibrose et la stéatose du foie, le cancer du sein ou de la prostate. Cependant, cette technique est invasive, peut causer des saignements et n'est pas toujours bien représentative de la zone d'intérêt car seule une petite partie en est extraite.

La fibrose et la stéatose du foie sont des maladies liées à une cicatrisation des tissus conjonctifs et à l'accumulation de gras dans les cellules du foie, respectivement. Ces deux pathologies peuvent amener à une cirrhose et un cancer du foie et sont classées en plusieurs stades/grades (F0 à F4 pour la fibrose, S0 à S4 pour la stéatose). L'élastographie est utilisée pour aider à la classification des différents stades de la fibrose, connue pour augmenter la rigidité du foie, et permet de réduire le nombre de biopsies lorsque ses résultats sont négatifs (stade F0)^{91,92}. La classification des stades intermédiaires de la fibrose (F2-F3) reste un réel défi pour les

différentes techniques d'élastographie⁹¹. La classification des grades de stéatose reste encore un objectif à atteindre et n'est pas concluante en se basant sur la rigidité⁹³. Cependant, d'autres paramètres dont la viscosité commencent à être mis en place^{94,95}.

Le cancer du sein se caractérise quant à lui par la présence d'une masse rigide dans une partie du sein. La différence de rigidité de la lésion, pas forcément visible en imagerie mode B, en fait un sujet de choix pour l'élastographie. Les différents stades permettant de caractériser les cancers du sein s'échelonnent du stade 1 au stade 4 en fonction de la taille, des métastases et de l'atteinte ganglionnaire. L'élastographie est utilisée pour classer les stades de cancer du sein et permet là encore de réduire le nombre de biopsies⁹⁶⁻⁹⁸.

Dans le même ordre d'idée, des applications pour la détection ou la classification du cancer de la prostate et de la thyroïde ont été développés⁹⁹⁻¹⁰¹. La revue de la littérature de Payne *et al.* présente également l'utilisation de l'élastographie pour certaines pathologies liées aux muscles, tendons, nerfs et ligaments¹⁰².

Certaines applications vasculaires peuvent être citées ici. Par exemple, les plaques carotidiennes composées de calcium, cholestérol et tissus fibrotiques peuvent se détacher de la carotide et ainsi engendrer des caillots et leurs complications associées. La caractérisation de la rigidité des plaques artérielles semble prometteuse pour prédire leur rupture et le risque d'accidents vasculaires cérébraux¹⁰³. Enfin, l'utilisation de l'élastographie pour caractériser les caillots sanguins est une autre application et constitue la pierre angulaire de ce projet de thèse.

2.2.8 Élastographie et caillots sanguins

Depuis la diffusion de l'élastographie ultrasonore, de nombreuses études se sont intéressées à son utilité liée à la caractérisation des caillots sanguins⁴⁶⁻⁵¹. Il a vite été remarqué que la rigidité du caillot augmente avec le temps (les premières études étant faites avec l'élastographie quasi-statique, on ne parlait pas alors de module d'Young). Ces résultats, cette fois quantifiés par le module d'Young, ont été confirmés par plusieurs études *in vitro* et *in vivo* réalisées sur du sang de rat, porc, lapin et humain⁴⁶⁻⁵¹. Il a également été montré que des caillots rétractés présentent un module d'Young plus élevé que des caillots peu structurés et qu'ils sont plus résistants à la lyse⁴⁵. L'augmentation du module d'Young au cours du temps peut s'expliquer par la formation de

brins de fibrines compactant les plaquettes et les globules rouges ⁶. Ces derniers changent même de forme en se contractant, devenant des polyhédocytes ⁶. La densité et la taille des brins de fibrine ont pu être reliées à la rigidité du caillot. Un caillot dense en brins de fibrine fins est plus rigide qu'un caillot moins dense composé de brins de fibrine plus épais ^{104,105}.

Plusieurs études se sont également intéressées à l'effet de l'hématocrite (le pourcentage de globules rouges dans le sang) sur le module d'Young du caillot. Plus l'hématocrite est faible (plus la part de fibrinogène est importante), plus le module d'Young est élevé ^{46,51,106}. Dans leur article, Bernal *et al.* ¹⁰⁷ ont également montré une diminution de la rigidité du caillot suite à une injection de thrombolytiques. Enfin, des études cliniques ont cherché à montrer la capacité de l'élastographie à distinguer les thrombus aigus des thrombus subaigus et chroniques ^{8,12,108,109}. Ces études ont été récemment résumées dans un article de synthèse de Santini *et al.* ¹² qui conclue que l'élastographie pourrait être ajoutée à l'examen ultrasonore de routine afin d'avoir de plus amples informations sur la composition et l'âge du caillot ¹². La poursuite d'études cliniques est encouragée afin de déterminer des valeurs d'élasticité servant à différencier les stages du caillot.

2.3 Viscoélasticité

Les tissus biologiques composés majoritairement d'eau ne répondent pas entièrement aux critères d'élasticité pure et sont des matériaux viscoélastiques. La viscosité (η) décrit la résistance à la déformation et est dépendante du temps. Trois caractéristiques uniques sont associées aux matériaux viscoélastiques : (i) le fluage viscoélastique caractérisé par l'augmentation de la déformation avec le temps lors d'une contrainte continue ; (ii) la relaxation viscoélastique, caractérisée par une diminution de la contrainte au cours du temps lorsque la déformation reste constante et (iii) l'hystérésis qui caractérise la dissipation d'énergie sous forme de chaleur lors d'une charge cyclique. L'atténuation de l'onde de cisaillement (AOC) et sa dispersion (DOC), décrits dans les paragraphes suivants, font partie des paramètres représentant la composante visqueuse d'un matériau solide viscoélastique.

Une méthode classique permettant de calculer la viscosité d'un matériau est de le soumettre à des tests de compression-relaxation et de faire correspondre ces résultats avec des

modèles rhéologiques. Dans leur article de 2004, Catheline *et al.* ¹¹⁰ se sont servis du modèle de Voigt et Maxwell afin d'exprimer la vitesse de l'onde de cisaillement et l'AOC en fonction des coefficients de Lamé et de la fréquence angulaire ω . D'autres méthodes se passant de modèles rhéologiques pour calculer la viscosité ont également été développées ¹¹¹⁻¹¹³. Le besoin de classification précise de pathologies pousse le domaine de la recherche à ne plus seulement se satisfaire de la rigidité pour caractériser les tissus mais à ajouter des paramètres caractérisant la partie visqueuse des tissus, comme l'AOC, la DOC ou la viscosité.

Applications

Les études cliniques présentant les paramètres liés à la viscosité sont bien moins répandues que celles présentant le module d'Young ou la vitesse de l'onde de cisaillement. Mitri *et al.* ont reporté la viscosité de prostates dans différentes régions montrant la faisabilité de leur méthode utilisant un modèle rhéologique de Kevin-Voigt ¹¹⁴.

On retrouve le coefficient de viscosité dans l'étude de la fibrose du foie, afin d'améliorer la caractérisation en cas de mauvais contraste d'élastographie, d'inflammation ou de congestion ¹¹⁵. Deffieux *et al.* ¹¹⁶ ont montré une corrélation entre le niveau de fibrose et la viscosité. Le scanner clinique Supersonic Imagine® ayant l'outil Vi PLUS permet de mesurer la viscosité (via l'analyse de la dispersion de la vitesse de l'onde de cisaillement); on s'attend donc à ce que des études cliniques sur différents organes se développent à l'avenir ^{117,118}.

Si des corrélations entre la rigidité et l'avancement du cancer du sein ont pu être identifiées, plusieurs limitations (chevauchement de lésions bénignes et malignes, calcification de la zone périphérique à la tumeur) ont mené à la recherche de marqueurs supplémentaires pour sa classification. Plusieurs études ont utilisé la viscosité pour séparer les tissus bénins de tissus malins sans apporter de discrimination plus claire que celle donnée par la rigidité ¹¹⁹⁻¹²².

D'autres études se sont également intéressées à la viscosité d'échantillons de prostate en comparant l'estimation issue de tests mécaniques à celle obtenue en viscoélastographie ultrasonore ^{123,124}. Les résultats prometteurs permettent de distinguer les prostates saines des prostates cancéreuses.

2.3.2 Atténuation de l'onde de cisaillement

Description de la méthode

Une autre caractéristique des ondes de cisaillement est leur atténuation. L'AOC correspond à la diminution de l'amplitude ou de l'énergie de l'onde de cisaillement lorsqu'elle se propage dans un milieu viscoélastique. Cette atténuation est principalement due à la géométrie et à des phénomènes de dispersion, de diffraction et d'absorption qui se produisent lorsque l'onde rencontre des hétérogénéités ou des obstacles dans le milieu, tels que des interfaces entre différents types de tissus ou de structures cellulaires. En élastographie par ondes de cisaillement, l'AOC peut affecter la qualité de la carte d'élasticité. En effet, plus l'onde de cisaillement est atténuée, plus elle perd de son énergie et sa capacité à pénétrer en profondeur dans le tissu, ce qui peut conduire à des erreurs de mesure de la rigidité causées par un mauvais rapport signal-sur-bruit affectant l'algorithme de calcul ¹²⁵. L'atténuation peut également biaiser la mesure de l'élasticité puisque l'équation (3) qui permet de remonter à cette mesure assume un milieu purement élastique (donc sans viscosité, dispersion ou atténuation). L'AOC dépend principalement de la diffraction et de l'absorption de l'onde. Des algorithmes récents ont été proposés pour prendre en compte la diffraction et ainsi associer l'atténuation à l'absorption de l'onde de cisaillement.

Une première méthode pour calculer l'AOC (appelée coefficient d'atténuation dans leur étude) en prenant en compte l'impact de la diffraction a été développée par Bernard *et al.* ¹²⁶ et est nommée méthode de décalage de fréquence (« Frequency-Shift », FS). La méthode FS se base sur l'étude d'ondes de cisaillement en sismologie ¹²⁷ et elle repose sur l'adaptation des équations d'onde pour prendre en compte la source des ondes de manière interne induite par ultrasons. La méthode se base sur l'équation d'onde en une dimension se propageant le long de l'axe x et ayant un spectre $S(f)$. L'amplitude du signal reçu : $R(f)$ peut s'exprimer en fonction des effets géométriques de diffraction $G(f, x)$ (supposés indépendant de la fréquence, donc $G(f, x) = G(x)$) et de la réponse du milieu $H(f, \Delta x)$, avec $\Delta x = x - x_0$. On a donc :

$$|R(f)| = G(x) \cdot H(f, \Delta x) \cdot |S(f)| . \quad (13)$$

Dans cette méthode (et généralement en géophysique et dans les applications des ultrasons médicaux), l'AOC dépend de la fréquence selon la relation :

$$H(f, \Delta x) = e^{-\alpha_0 f \Delta x} . \quad (14)$$

Le spectre d'amplitude $|S(f)|$ généré par la source suit l'hypothèse d'une distribution gaussienne. Cependant, dans leur méthode, Bernard *et al.* utilisent une distribution gamma afin de décrire $|S(f)|$ selon leurs observations sur la forme du spectre obtenu après la génération interne d'ondes de cisaillement par ultrasons. On obtient donc :

$$|S(f)| \propto f^{k_0-1} \cdot e^{-f\beta_0}, \quad (15)$$

où k_0 et β_0 représentent respectivement le paramètre de forme et de d'intensité de la fonction gamma. En utilisant les équations (13), (14) et (15) et l'hypothèse géométrique de diffraction, le spectre d'amplitude après propagation devient :

$$|R(f)| \propto G(x) \cdot e^{-\alpha_0 f \Delta x} \cdot f^{k_0-1} \cdot e^{-f\beta_0}, \quad (16)$$

qui se simplifie en :

$$|R(f)| \propto f^{k_0-1} \cdot e^{-f(\beta_0 + \alpha_0 \Delta x)}. \quad (17)$$

Le terme $G(x)$ a été retiré de l'équation car il est supposé indépendant des fréquences. L'équation (17) décrit alors une distribution gamma de même paramètre de forme qu'à l'équation (15) mais avec un paramètre d'intensité défini par :

$$\beta(\Delta x) = \beta_0 + \alpha_0 \Delta x. \quad (18)$$

En mesurant le spectre de l'onde de cisaillement à différentes positions le long de sa direction de propagation, l'atténuation de l'onde de cisaillement α_0 se calcule comme la pente de $\beta(\Delta x)$ obtenue par une approximation gamma à chaque position. Cette méthode a connu des améliorations avec la méthode de décalage de fréquence à deux points (2P-FS)¹²⁸, la méthode de décalage de fréquence revisité (R-FS)¹²⁹ et la méthode de puissance de décalage à deux points (2P-FSP)¹³⁰. En changeant la méthode d'approximation de la pente de β , les deux méthodes ont réussi, l'une après l'autre, à augmenter la précision du calcul de l'AOC. La méthode 2P-FSP utilise un spectre de puissance au lieu d'un spectre d'amplitude et montre une réduction du bruit. Une autre méthode appelée mesure de l'atténuation par élastographie ultrasonore à ondes de

cisaillement (AMUSE) ¹³¹ utilise la transformée de Fourier à deux dimensions pour passer du domaine spatio-temporel à un domaine en longueurs d'ondes et en fréquences. La largeur à mi-hauteur des pics d'amplitude le long des longueurs d'onde est calculée et sa pente en fonction des fréquences correspond à l'AOC, comme imagé à la **Figure 7** dans l'encadré « atténuation AMUSE ». Ces deux méthodes ont permis la diffusion et l'utilisation de l'AOC pour caractériser les tissus. Ces deux méthodes sont récentes (2017) et les applications de l'AOC n'en sont donc qu'à leurs débuts.

Applications

La méthode AMUSE a été d'abord utilisée sur des patients ayant subi des transplantations du foie afin de détecter la présence d'un rejet cellulaire ¹³¹. Cette méthode couplée à la vitesse de l'onde de cisaillement (donc couplée à la rigidité) a permis de détecter les transplantations présentant des rejets. Dans la première étude portant sur la méthode R-FS, l'AOC permettait de faire la différence entre des foies de canards avant et après gavage ¹²⁹. Par la suite, la méthode R-FS a été démontrée capable de caractériser la stéatose de patients avec foie gras non-alcoolique ⁹⁵. D'autres applications sont attendues, notamment là où le module d'Young seul n'est pas capable de diagnostiquer avec précision la pathologie.

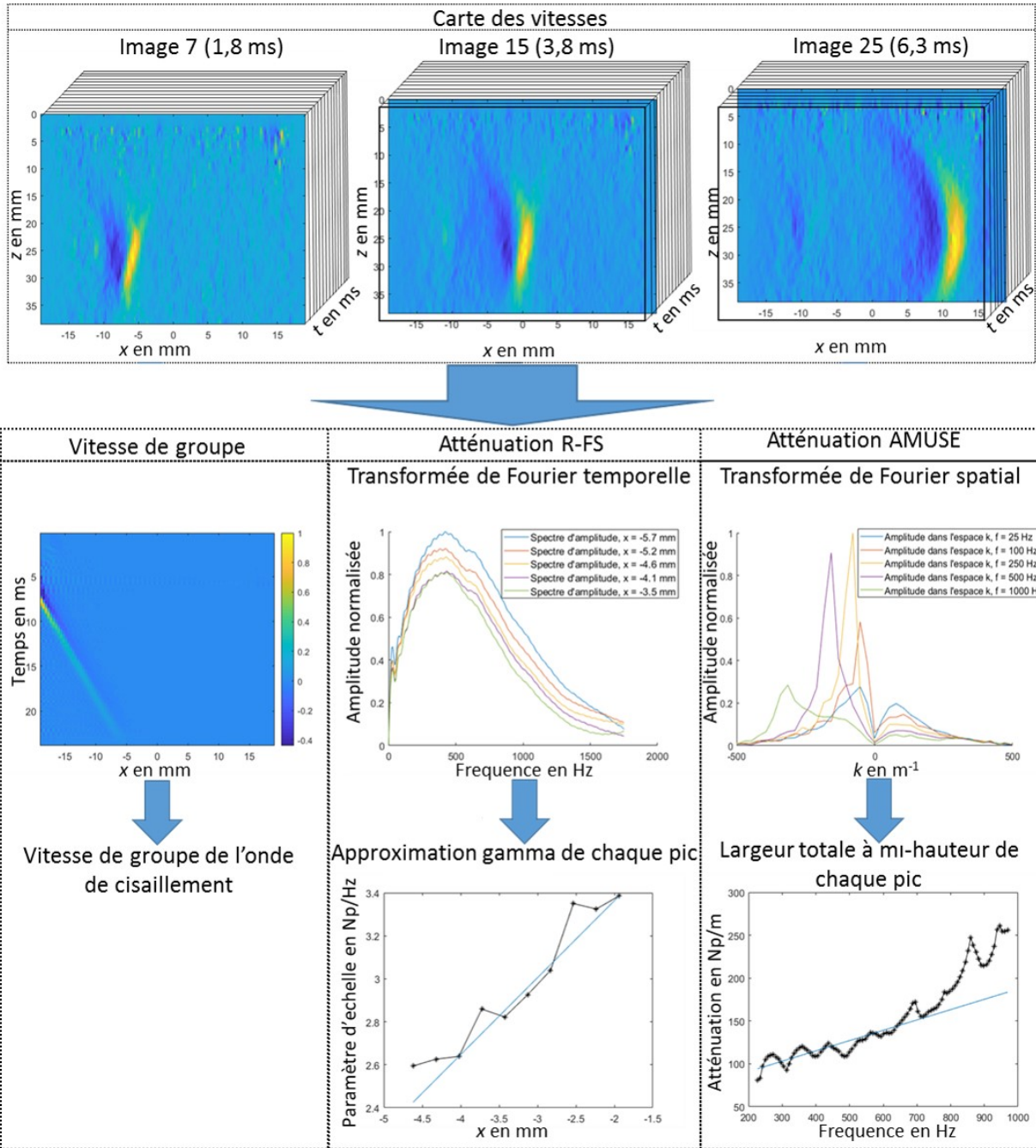


Figure 7. – Post-traitement des données pour obtenir les mesures d’atténuation des ondes de cisailment. Les cartes de vitesses sont calculées à partir des données de radiofréquence. La vitesse de groupe et l’AOC sont évaluées à partir des cartes en 3 dimensions des vitesses d’ondes de cisailment (la 3ème dimension correspond au temps t) dans la région d’intérêt choisie (pas affichée ici). La méthode R-FS plutôt que FS ou 2P-PFS est représentée ici car c’est celle qui sera utilisée dans le reste de l’article.

2.3.3 Dispersion

Description de la méthode

La DOC fait également partie des propriétés associées à la viscosité d'un matériau et est définie comme la pente de la vitesse de l'onde de cisaillement en fonction des fréquences. Elle est caractéristique d'un milieu viscoélastique et a été reliée à l'inflammation et à des pathologies tissulaires ^{114,132,133}. On calcule la dispersion comme la pente des vitesses de phase en fonction de leurs fréquences associées. La méthode de dispersion des ondes de cisaillement ultrasonores par vibrométrie (SDUV), mise en œuvre par Chen *et al.* ¹³⁴, utilise une différence de phase à deux endroits dans l'espace afin de déduire la vitesse de phase. Cependant, les utilisateurs de cette méthode reportent le plus souvent la viscosité calculée à l'aide de la DOC ^{133,135} à l'aide de modèles rhéologique. Une autre méthode se sert d'un lit vibrant afin de générer des ondes de cisaillement dans les tissus profonds ¹³⁶. Gennission *et al.* ont utilisé, quant à eux, un modèle de Kelvin-Voigt afin de calculer la DOC ⁸² puis sont passés à un calcul de la DOC via la transformée de Fourier temporelle des cartes de déplacements des ondes de cisaillement ¹³⁷.

Applications

La majorité des études s'intéressant à la DOC portent sur le foie. Cependant, les résultats divergent, certains montrent une augmentation de la DOC entre le foie de souris maigre et stéatosé ¹³², alors que d'autres études *in vivo* chez l'humain montrent que la DOC n'améliore pas la classification de la stéatose ou fibrose ¹³⁸. Sugimoto *et al.* ¹³⁹ utilisent la DOC comme prédicteur de nécro inflammation du foie, résultats non confirmés par Zang *et al.* ¹⁴⁰.

Une étude montre une augmentation de la DOC des parois ventriculaires lors d'une inflammation aiguë qui est corrélée avec le degré d'inflammation du myocarde ¹⁴¹. Le calcul de la DOC a également été effectué dans les muscles ⁸² et les tendons ¹³⁷, perpendiculairement et parallèlement aux fibres afin de montrer la faisabilité de la méthode pour des milieux anisotropes.

2.4 Distribution homodyne K

Description du modèle

Pour caractériser les tissus, une méthode consiste à étudier la nature statistique du signal rétrodiffusé par les éléments constituant le tissu (ou le sang). Pour cela, l'enveloppe échographique des faisceaux formés pour produire l'image mode B est calculée à partir des données de radiofréquence ou dans le cas d'ondes planes, des données migrées de radiofréquence. L'arrangement microstructural du tissu imagé est caractérisé par la partie cohérente et diffuse du signal. Une composante cohérente du signal apparaît lorsqu'il existe un schéma de périodicité dans la position des diffuseurs (éléments diffusant le signal ultrasonore) ou s'il y a une forte réflexion spéculaire. On appellera la puissance du signal cohérent la puissance de la composante cohérente et la puissance du signal diffus le reste de la puissance (puissance du signal total – puissance du signal cohérent). La puissance du signal diffus représente la partie aléatoire de l'organisation des diffuseurs.

Afin d'analyser statistiquement le signal reçu, des lois de probabilité ont pu être utilisées. Parmi ces lois on retrouve la loi de Rayleigh, sensible au niveau de gris. La loi de Rice ¹⁴², qui est une généralisation de la loi de Rayleigh et prend en compte l'intensité du signal diffus et rajoute un paramètre pour le signal cohérent. La loi de Nakagami ¹⁴³ est un cas spécial de la loi de Rice et de la loi de distribution K qui a été beaucoup utilisée pour l'analyse du signal ultrasonore ¹⁴⁴⁻¹⁴⁶. La loi de distribution K (K-distribution) ¹⁴⁷ permet d'étudier la répartition aléatoire des diffuseurs. La distribution homodyne K (homodyne K-distribution), est celle utilisée dans cette thèse et prend en compte l'intensité, le signal diffus et le signal cohérent (qui correspond physiquement à l'arrangement microstructural des diffuseurs et la manière dont ils sont groupés). Un cas particulier de cette distribution est la distribution K ¹⁴⁸. Un cas limite est la loi de Rice ^{142,149}, voir ¹⁵⁰ pour une synthèse de la littérature sur ces distributions. Notons que la distribution homodyne K a été introduite en imagerie ultrasonore par Dutt *et al.* ¹⁵¹. Elle a pour équation ¹⁵⁰:

:

$$P_{HK}(A|\varepsilon, \sigma^2, \alpha) = \frac{A^{\frac{n}{2}}}{\varepsilon^{\frac{n}{2}-1}} \int u J_{\frac{n}{2}-1}(u\varepsilon) J_{\frac{n}{2}-1}(uA) \left(1 + \frac{u^2\sigma^2}{2}\right)^{-\alpha} du, \quad (16)$$

où $\sigma^2 > 0$, $\varepsilon \geq 0$, $\alpha > 0$ et J_n est la fonction de Bessel du premier ordre p . Les différents paramètres statistiques calculés seront appelés paramètres HKD ou homodyne K dans le reste de la thèse.

Les paramètres HKD sont $1/\alpha$, $1/(\kappa+1)$ et μ ¹⁵² ou « μ normalisé » : μ_n ¹⁵³. Le paramètre HKD $1/\alpha$ est relié à la disposition des agrégats ou regroupement de diffuseurs dans le milieu ainsi qu'à leur nombre par unité de volume ; une faible valeur de $1/\alpha$ correspondant à un milieu géométriquement et acoustiquement homogène, composé de nombreux diffuseurs. Le paramètre $1/(\kappa+1)$ représente le rapport entre la puissance du signal diffus et la puissance du signal total; un milieu contenant des diffuseurs alignés ou très structurés présentera une faible valeur de $1/(\kappa+1)$ car la composante cohérente et donc la puissance du signal cohérent est alors élevée. Le paramètre μ représente la puissance du signal total, ou encore l'intensité moyenne de l'enveloppe échographique, tandis que μ_n est la normalisation de μ par l'intensité maximale dans la zone imagée. Une augmentation de ce paramètre correspond à une augmentation du nombre de rétrodiffuseurs dans la zone imagée, ou de leur échogénicité ou de leur entassement. D'autres distributions statistiques ont été utilisées dans la littérature (comme la distribution de Rayleigh ou celle de Nakagami), le lecteur peut se référer à ^{150,154} pour plus d'information sur l'interprétation physique de la distribution homodyne K. Notons que les paramètres HKD dépendent des paramètres de la sonde utilisée ainsi que de l'atténuation totale des tissus intervenant le long du parcours de l'onde ultrasonore jusqu'à la zone imagée.

Applications du modèle HKD

De nombreuses applications de la méthode HKD sont possibles puisqu'elle pourrait être implémentée en parallèle d'exams cliniques en mode B. Une étude clinique s'est intéressée à l'utilisation des paramètres HKD afin d'évaluer le stade de fibrose du foie chez des patients. Une amélioration de la détection de changement du stade de fibrose a pu être observé ¹⁵⁵. D'autres récentes études montrent une meilleure classification de la stéatose et fibrose du foie, ainsi que son niveau d'inflammation comparé à l'élastographie seule ^{156,157}. D'autres études se sont

intéressées à son utilisation pour caractériser le cancer du sein, d'abord sur des souris en montrant une séparation possible entre les fibroadénomes (tissus conjonctifs), les carcinomes (tissus cancéreux de la peau) et les sarcomes (autre tissus cancéreux) grâce aux paramètres ultrasonores ^{158,159}. Cliniquement, les paramètres HKD ont été combinés à ceux d'élastographie par ondes de cisaillement avec la connaissance des catégories BI-RADS avant biopsie. Cette méthode a permis d'améliorer l'aire sous la courbe ROC (Receiver Operating Characteristics) notamment pour la classification des lésions dans les catégories BI-RADS 4 et 5 ¹⁶⁰. La caractérisation de la composition de plaques carotidiennes a pu être améliorée grâce à l'ajout de paramètres HKD dans les modèles existant ¹⁵³.

D'autres applications pour la classification du cancer de la prostate, de la thyroïde, des dérèglements du myocarde, de la détection de l'apoptose de cellules ou encore de l'étude de l'agrégation des globules rouges sont résumées dans la synthèse de Oelze et Mamou ¹⁶¹.

Chapitre 3 : Objectifs de la thèse

3.1 Objectif principal

L'objectif principal de cette thèse est d'étudier l'évolution du module de Young, de la dispersion et de l'atténuation de l'onde de cisaillement et des paramètres liés à la distribution homodyne K pendant la coagulation et la prise de traitement.

Avec l'analyse de ces différents paramètres, on pourrait avoir des marqueurs plus précis de l'âge des caillots et potentiellement adapter le type de traitement en fonction de ces paramètres. De plus, connaître l'effet des traitements utilisés (en fonction de la sensibilité des paramètres) pourrait permettre de détecter si le patient y résiste et/ou d'adapter la durée de prescription du traitement.

3.2 Objectif spécifiques

- Étudier la variation du module de Young *in vivo* chez des patients atteints de thromboembolie veineuse.

Avec l'évolution du caillot dans une veine, la formation de brin de fibrine, l'extraction de plasma et la formation de collagène, on s'attend à ce que le module de Young augmente avec le temps comme montré *in vitro*^{46,47}, *in vivo* chez l'animal⁴⁸ ou même *in vivo* chez l'humain¹⁶². Pan *et al.*¹⁶² ont pu observer une augmentation du module de Young *in vivo* chez l'humain entre des patients présentant des caillots jeunes/aigües (<14 jours) et des caillots chroniques (>6 mois). Les travaux de cette thèse cherchent à appuyer ces résultats et de voir si l'ajout de l'élastographie permet d'améliorer la caractérisation des caillots dans le cas clinique.

- Étudier la variation des paramètres liés à la distribution homodyne K *in vivo* chez des patients atteints de thromboembolie veineuse.

La loi de distribution homodyne K permet de caractériser l'intensité et la répartition des diffuseurs ultrasonores. Même si la liaison entre les diffuseurs ultrasonores et les éléments

composant le tissu est complexe, ces paramètres pourraient donner une idée du changement d'organisation ou d'intensité des diffuseurs pendant la coagulation *in vivo*. Si des différences sont présentes, ces paramètres pourraient être utilisés cliniquement pour aider au suivi des caillots.

- Rapporter la dispersion et l'atténuation de l'onde de cisaillement pendant la coagulation.

Les caillots sanguins sont viscoélastiques et la prise en compte de paramètres pouvant refléter la partie visqueuse (dispersion et atténuation de l'onde de cisaillement) pourrait améliorer leur caractérisation.

- Trouver un moyen de calculer l'atténuation de l'onde de cisaillement malgré la présence potentielle de résonances mécaniques.

Le calcul de l'AOC suppose un milieu homogène uniforme et infini. Or dans le cas de caillots, le diamètre peut s'approcher de la longueur d'onde de l'onde de cisaillement. Cet objectif vise à étudier cette limite afin de pouvoir calculer l'AOC.

- Attester l'effet du traitement avec la perte de masse du caillot.

Afin de vérifier l'efficacité du traitement, Mercado-Shekhar *et al.*⁴⁵ ont utilisé la perte de masse des caillots. En effet, lors de sa formation, le caillot se densifie en globules rouges, plaquettes et brins de fibrine. Le plasma est rejeté vers l'extérieur du caillot faisant ainsi perdre de la masse au caillot au cours du temps. Avec la présence de thrombolytiques, le plasminogène présent dans le plasma va s'activer et détruire les brins de fibrine faisant perdre de la masse au caillot. Dans leur étude, Mercado-Shekhar *et al.*⁴⁵ ont mis les caillots dans un bain de plasma avec et sans traitement afin de voir la différence dans la perte de masse entre les deux conditions. Ils ont confirmé que la condition avec traitement perdait plus de masse que les caillots mis dans un bain de plasma sans traitement. Nous chercherons dans notre étude à montrer des résultats similaires afin de confirmer l'effet général du traitement sur le caillot avant de regarder son effet sur les différents paramètres ultrasonores utilisés pour caractériser le caillot.

- Caractériser l'effet du traitement sur le module de Young, la dispersion et l'atténuation de l'onde de cisaillement ainsi que les paramètres liés à la distribution homodyne K pendant la coagulation.

Pouvoir caractériser quantitativement l'effet du traitement permettrait une détection rapide des individus résistant ainsi qu'une potentielle amélioration du suivi des patients (réduire ou augmenter la durée des anticoagulants en fonction de la réponse du patient au traitement). Dans leur étude, Gennisson *et al.*¹⁰⁷ ont montré une diminution du module de Young dans un caillot volumineux (plusieurs dizaines de ml) avec injection de thrombolytiques directement dans le caillot. Ces résultats intéressants restent à confirmer, notamment dans des conditions plus réalistes.

3.3 Études

Ces différents objectifs ont pu être étudiés lors des études suivantes réalisées pendant cette thèse.

Le module d'Young de caillots augmente *in vitro* (humain et animal) et *in vivo* (animal) au cours du temps. Qu'en est-il de ce paramètre chez l'humain *in vivo* ? Pour la première étude, en collaboration avec le CHU de Grenoble, des patients présentant des thrombus veineux profonds ont été recrutés et on a subi des examens d'élastographie au jour 0 (leur arrivée), au jour 7 et au 30^{ème} jour après leur arrivée. Les patients ont tous reçus des anticoagulants. Le but de l'étude était de voir si le module d'Young et les paramètres d'ultrasons issus de la distribution homodyne K étaient capables de caractériser l'évolution des caillots avec la prise d'anticoagulants.

Le calcul de l'AOC par méthode ultrasonore est désormais possible grâce à de récentes méthodes. Néanmoins, ce calcul est affecté par des phénomènes de résonances survenant lors du passage de l'onde de cisaillement dans un caillot (autrement dit, passage d'une onde dans un cylindre embastillé dans un fantôme). Cette seconde étude visait à comprendre comment les effets de la géométrie du caillot influencent le calcul de ses propriétés et à évaluer les propriétés liées au phénomène de résonances. L'utilisation de plusieurs paramètres (ici le module d'Young, la DOC, l'AOC et les paramètres de résonance) ont permis de mieux caractériser le matériau, ce qui a été l'un des objectifs de notre étude. Un second objectif était de trouver une région d'intérêt où les phénomènes de résonance peuvent être minimisés dans le but de calculer l'AOC.

La capacité à caractériser un caillot sanguin pourrait grandement aider à sa prise en charge. De plus, connaître la réaction du caillot au traitement permettrait d'attester son efficacité et d'identifier les personnes dont l'organisme est résistant au traitement. La troisième étude a donc utilisé tous les paramètres des études précédentes (module d'Young, DOC, AOC et paramètres homodyne K) dans le but de caractériser l'évolution de caillots soumis à un traitement thrombolytique. Pour cela, des caillots recevant un traitement ont été comparés à d'autres sans traitement.

Chapitre 4 : Élastographie par ondes de cisaillement et échographie quantitative comme biomarqueurs pour caractériser la thrombose veineuse profonde *in vivo*

Shear wave elastography and quantitative ultrasound as biomarkers to characterize deep vein thrombosis *in vivo*

Guillaume Bosio^{1,2} B.Sc., Nora Zenati³ MD, François Destrempe² Ph.D., Boris Chayer² M.Eng.,
Gilles Pernod^{3,4, 5} MD, Guy Cloutier^{1,2,6} Eng., Ph.D.

¹*Institute of Biomedical Engineering, University of Montreal, Montréal, Québec, Canada*

²*Laboratory of Biorheology and Medical Ultrasonics, University of Montreal Hospital Research Center (CRCHUM), Montréal, Québec, Canada*

³*UGA UFRM - Université Grenoble Alpes - UFR Médecine, Grenoble, France*

⁴*Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, Grenoble, France*

⁵*F-CRIN INNOVTE network, Saint Etienne, France*

⁶*Department of Radiology, Radio-Oncology and Nuclear Medicine, University of Montreal, Montréal, Québec, Canada*

L'article suivant est publié avec comme référence : G. Bosio, N. Zenati, F. Destrempe, B. Chayer, G. Pernod, and G. Cloutier, "Shear wave elastography and quantitative ultrasound as biomarkers to characterize deep vein thrombosis *in vivo*," *J. Ultrasound Med.*, vol. 41, no. 7, pp. 1807–1816, 2022.

Avant-propos

La motivation de connaître l'évolution du module d'Young et celui de paramètres d'ultrasons quantitatifs de caillots sanguins *in vivo* au cours du temps se place dans la volonté de pouvoir faire la différence entre thrombus aigu et chronique avec des marqueurs quantitatifs. Ce projet comporte également des motivations secondaires : voir s'il est possible de caractériser l'embolisation en fonction des données d'élastographie et étudier l'effet du traitement sur les propriétés de caillots. L'étude, commencée en 2016, n'a pas utilisé l'AOC de l'onde de cisaillement comme marqueur car elle a commencé avant que ce paramètre soit développé pour des applications médicales au laboratoire. Cette étude a été réalisée via une collaboration entre Grenoble (France) et Montréal (Canada), par une équipe clinique à Grenoble et une équipe de recherche fondamentale en ultrasons à Montréal.

Contribution des auteurs :

Guillaume Bosio : Prise en main du projet à partir de la réception des données cliniques, analyse et traitement des données, statistiques, rédaction et révision de l'article.

Nora Zenati : Mise en place du projet, recrutement des patients et réalisation des expérimentations, communication avec l'équipe de Montréal et aide pour les révisions de l'article.

François Destremes : Écriture de la majorité des codes de traitement de données, aide pour la prise en main des codes et révision de l'article.

Boris Chayer : Communication entre les deux équipes avant l'arrivée de Guillaume Bosio, rédaction de guides d'utilisations des codes d'acquisition des données, tri des données reçues.

Gilles Pernod : Mise en place du projet, co-demandeur de la subvention, organisation des expériences, communication avec l'équipe de Montréal, révision de l'article.

Guy Cloutier : Co-financement d'une partie du projet, co-demandeur de la subvention, direction et révisions de l'article.

Résumé

Objectif - Étudier les paramètres de l'élastographie par ondes de cisaillement et de l'échographie quantitative chez les patients hospitalisés pour une thrombose veineuse profonde (TVP) des membres inférieurs.

Méthode - Seize patients atteints de TVP ont été recrutés et ont subi une élastographie par ondes de cisaillement et des acquisitions de données de radiofréquence pour l'analyse en ultrasons quantitatifs au jour 0, au jour 7 et au jour 30 après le début des symptômes, dans les zones proximales et distales du caillot identifié sur le scanner en mode B. Les caractéristiques de l'élastographie par ondes de cisaillement et par ultrasons quantitatifs ont été calculées à partir des résultats de l'analyse des données. Les caractéristiques de l'élastographie par onde de cisaillement et des ultrasons quantitatifs ont été calculées pour différencier les thrombus au jour 0, au jour 7 et au jour 30 après le traitement à l'héparine ou aux anticoagulants oraux. Le module d'Young a été calculé à partir de l'élastographie par onde de cisaillement, ainsi que les paramètres d'ultrasons quantitatifs des distributions homodyne K (HKD), qui reflètent la structure du caillot sanguin. La médiane et l'intervalle interquartile des paramètres d'élastographie et d'ultrasons quantitatifs à l'intérieur du caillot ont été retenus.

Résultats - Dans la zone proximale du caillot, le rapport HKD de la médiane de rétrodiffusion cohérente/diffuse a montré une diminution significative entre le 7^e et le 30^e jour ($p = 0,036$), tandis que le rapport HKD de la médiane de rétrodiffusion diffuse/totale a présenté une augmentation significative entre le 7^e et le 30^e jour ($p = 0,0491$). Dans la zone distale du caillot, l'intensité normalisée de la médiane de l'enveloppe échographique a montré une augmentation significative entre le jour 0 et le jour 30 ($p = 0,0062$). Aucune caractéristique de l'élastographie n'a montré de différence statistiquement significative au fil du temps. Néanmoins, il a été observé une tendance à la baisse de la médiane du module d'Young dans le caillot chez les patients ayant développé une embolie pulmonaire.

Conclusion - Les caractéristiques QUS peuvent être pertinentes pour caractériser l'évolution du caillot.

Mots clés — Distribution homodyne K; imagerie par ultrasons quantitatifs; élastographie par onde de cisaillement; échographie; thrombus veineux.

4.1 Abstract:

Objective—Investigate shear wave elastography (SWE) and quantitative ultrasound (QUS) parameters in patients hospitalized for lower limb deep vein thrombosis (DVT).

Method—Sixteen patients with DVT were recruited and underwent SWE and radiofrequency data acquisitions for QUS on day 0, day 7, and day 30 after the beginning of symptoms, in both proximal and distal zones of the clot identified on B-mode scan. SWE and QUS features were computed to differentiate between thrombi at day 0, day 7, and day 30 following treatment with heparin or oral anticoagulant. The Young's modulus from SWE was computed, as well as QUS homodyned K-distribution (HKD) parameters reflecting blood clot structure. Median and interquartile range of SWE and QUS parameters within clot were taken as features.

Results—In the proximal zone of the clot, the HKD ratio of coherent-to-diffuse backscatter median showed a significant decrease from day 7 to day 30 ($P = .036$), while the HKD ratio of diffuse-to-total backscatter median presented a significant increase from day 7 to day 30 ($P = .0491$). In the distal zone of the clot, the HKD normalized intensity of the echo envelope median showed a significant increase from day 0 to day 30 ($P = .0062$). No SWE features showed statistically significant differences over time. Nonetheless, a trend of lower median of Young's modulus within clot for patients who developed a pulmonary embolism was observed.

Conclusion—QUS features may be relevant to characterize clot's evolution over time. Further analysis of their clinical interpretation and validation on a larger dataset would deserve to be studied.

Key Words—homodyned K-distribution; quantitative ultrasound imaging; shear wave elastography imaging; ultrasonography; venous thrombosis.

4.2 Introduction

Blood clot formation is a natural response to endothelial damage or a pathological consequence of a particular condition (*e.g.*, blood flow stagnation). A deep vein thrombosis (DVT) consists in the formation of a clot (or clots) in a vein located deep inside the body, mainly the legs. DVT is common to an extent of 1 per 1000 persons each year (in the USA) ^{1,163} and can evolve into

pulmonary embolism (PE), which occurs when the clot, or a part of it, travels in the circulatory system and blocks a downstream blood vessel in the lungs. Both DVT and PE are severe diseases, and DVT complications leading to a PE can be fatal. When a clot occurs and is brought to medical attention, it is typically treated by anticoagulant therapy to avoid further complications.^{31,164} The aim of the treatment is to stop the clot's progression and let the body dissolve it, rather than aiming at directly dissolving the clot. However, the risk of recurrence can yield uncertainty in the treatment's duration.^{165,166} Patients with DVT who develop a PE present clots that are less compact, more permeable and more susceptible to lysis than is the case in the absence of PE.⁷

The age of blood clots has been used as a feature to characterize them. Ultrasound strain and shear wave elastography (SWE) were specifically proposed to assess blood clots' aging *in vitro* and in animal models.^{46-48,167,168} It could be demonstrated that older clots are stiffer. Clinical studies have also reported the usefulness of strain elastography to differentiate acute from chronic thrombi.^{169,170} The effect of treatment on blood clot elasticity has also been investigated. Sutton *et al.*¹⁷¹ demonstrated *in vitro* and in animals the impact of clots' aging on their resistance to lysis: the older a clot, the more resistant it was to breaking up using ultrasound-induced thrombolysis. Mercado-Shekar *et al.*⁴⁵ investigated the effect of blood clots' retraction on Young's moduli from SWE, and on the efficacy of recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) usage. Highly retractable clots had higher Young's moduli and were more resistant to lyse than mildly retracted clots.

Quantitative ultrasound (QUS) imaging has also been investigated in the context of blood clotting analysis.¹⁷²⁻¹⁷⁶ Sigel *et al.*⁴³ showed *in vitro* that loose fibrin clots backscatter less energy (*i.e.*, hypoechoic on B-mode) in comparison with red blood cell rich clots or dense fibrin clots. Another study highlighted the increase in echogenicity during clotting due to fibrin fiber formation.⁴⁴ Some studies have looked at the statistical distribution of backscatter echoes, notably using Nakagami parameters.^{177,178} Fang *et al.*¹⁷⁷ showed *in vitro* that Nakagami parameters were linked to the weight loss ratio of thrombus following treatment with a thrombolytic agent. They also reported¹⁷⁸ *in vitro* that Nakagami parameters decreased during thrombus aging. Another general model for statistical analysis of backscatter echoes that has not

yet been investigated in the context of blood clot imaging is the homodyned K-distribution (HKD)¹⁷⁹, which can characterize microstructural properties of tissues.^{152,180}

The characterization of blood clot properties may provide information about their scalable profile over time, and their amenability to embolization. *In vivo* thrombus characterization could also be relevant in predicting mechanical and structural evolution during anticoagulant therapy. The effect of treatment on patients with DVT remains to be studied using elastography and QUS methods. The first objective of this study was to investigate the evolution of blood clots in patients newly diagnosed and hospitalized for acute DVT using SWE and HKD imaging. The second objective was to assess if patients experiencing a pulmonary embolism had measurable impacts on ultrasound features of imaged blood clots.

4.3 Methods

Patients' recruitment, acquisition of ultrasound images, and manual delineation of clots on one frame were performed at the Centre hospitalier Universitaire de Grenoble, whilst the team at the research center of the Centre hospitalier de l'Université de Montréal provided the manual segmentation software, performed data processing, statistical, and data analyses. The study protocol (Clinical Trial NCT02859532) and informed consent were approved by the ethical committee of Institutional review boards of both centers, and National Agency for Medicines Safety and Health Products. All participants signed an informed consent.

4.3.1 Inclusion and exclusion criteria

Inclusion criteria for participating in the study were patients over 18 years old, with a proximal DVT inducing symptoms for less than 3 days, experiencing a PE or not, treated with heparin or oral anticoagulant, and affiliated to social welfare. Exclusion criteria were pregnant or breastfeeding patients, an expected lifespan of less than one month, a distal or asymptomatic DVT, previous pharmacomechanical thrombolysis, and individuals in exclusion period from another study or under administrative surveillance or guardianship. A total of 16 patients were recruited from February 2017 to January 2019.

4.3.2 Study conduct

DVT was diagnosed according to standard practice, *i.e.* clinical evaluation using Wells score, and imaging by compression ultrasound. After diagnosis, patients were immediately treated with heparin or oral anticoagulant. The first ultrasound acquisitions were made after informed written consent, within one or two days following admission and diagnosis, which we refer to as day 0. Other ultrasound acquisitions were made at day 7 and day 30 visits. All data were anonymized and transfer between teams was performed via a secure drop box in anonymized form.

For each set of acquisitions, the head and base of the clot were identified by use of a B-mode image acquired with an Aixplorer scanner (Aixplorer Multiwave, Supersonic Imagine, Aix-en-Provence, France). Using the SWE mode, image acquisitions were performed in a rectangular area, called Q-box, comprising the clot confirmed by four different clinicians with five years of expertise each in vascular imaging. Ultrasound data were saved on a workstation. Two transversal-view acquisitions of four images each were acquired, one in the proximal zone of the thrombus and one in the distal zone. The distal measurement was located at the femoro-popliteal deep vein segment. The proximal one was performed at femoral or common femoral vein. Cineloops of in-phase and quadrature (IQ) raw data, which were converted to radio frequency (RF) data, comprising at least 50 frames, were also acquired in both proximal and distal zones using the research mode of the Aixplorer system.

Ultrasound data were formatted for the custom manual segmentation software, with prior manual delineation of a region of interest (ROI) within the clot identified by an ultrasound vascular thrombosis specialist. Example of a manual delineation can be found in **Figure 8B**. The ROI was delineated on one frame for each of the four sequences of images (proximal and distal zones, SWE and RF data).

4.3.3 Post processing

The first step of the post-processing was to propagate automatically, with a motion tracking algorithm, the ROI that was manually delineated on a frame on all remaining frames of each acquisition.¹⁸¹ After this step, 4 or 50 images with segmented ROIs were available for each elastography or RF data acquisition, respectively.

The second step consisted in the extraction of SWE and statistical QUS features within segmented ROIs of each sequence of images. This step comprised calculation of the Young's modulus based on the recorded elasticity color maps, and calculation of HKD statistical parameters of the echo envelope of recorded RF data.¹⁵³

4.3.4 Elastography features

We report median and interquartile range (IQR) statistics of the Young's modulus E as elastography features. An example of a SWE image is provided in **Figure 8A**. The yellow ROI in **Figure 8B** was considered to compute the median and IQR of each feature that was evaluated over the four frames available.

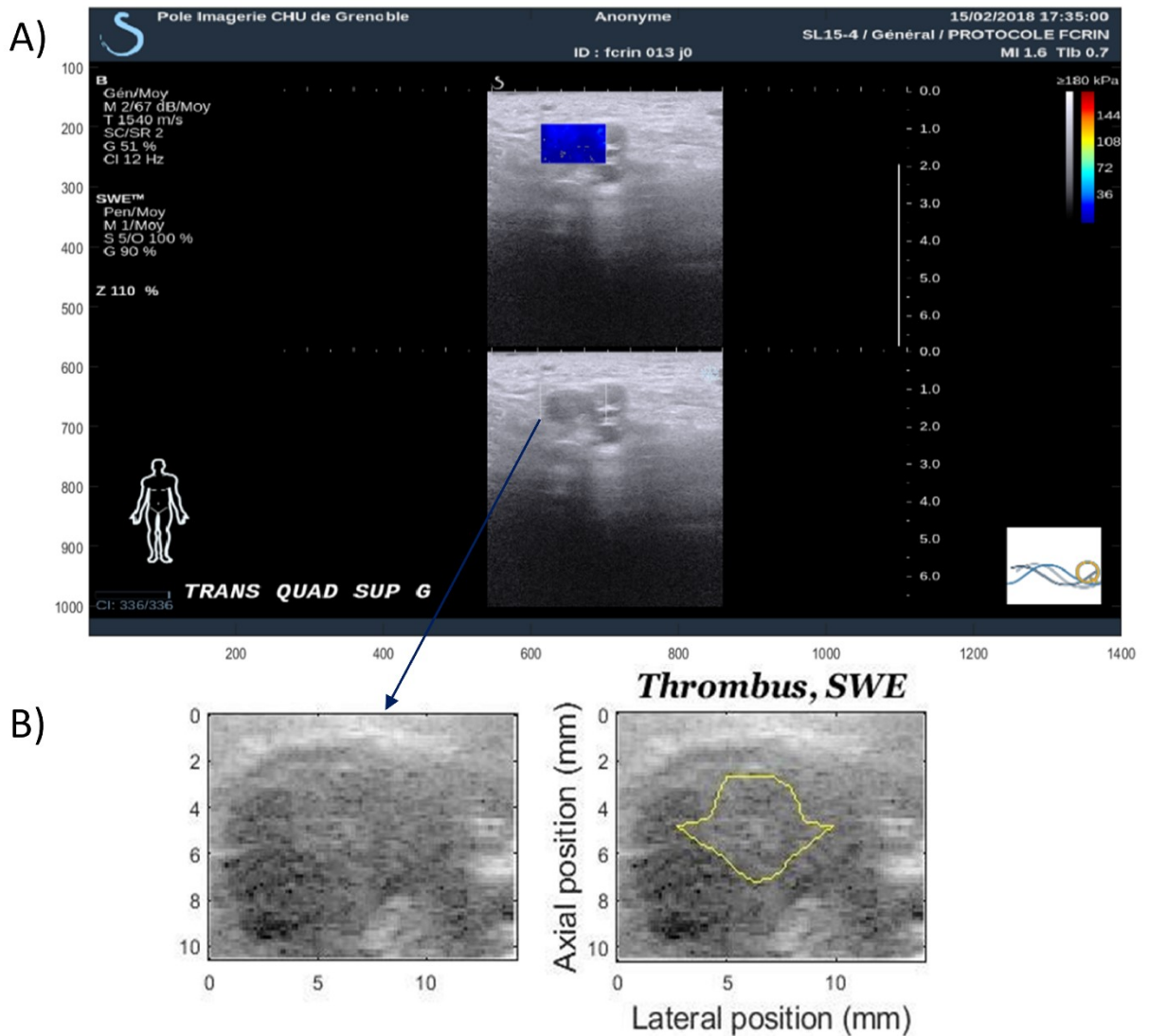


Figure 8. – (A) Example of a shear wave elastography image of an 84-year old female with a DVT and no PE. The region in which the acquisition was performed (rectangular area, called Q-box, in elastography and B-mode images) was selected prior to manual segmentation. The range of Young’s moduli is represented by a colorbar in kPa. The colorbar varied between 0 and 180 kPa. (B-left) Previously selected Q-box (as pointed by the arrow) that was used to manually delineate the clot’s contours by a clinician. (B-right) Result of the manual segmentation. The elastography feature extraction was restricted to this region of interest.

4.3.5 Statistical QUS features

We adopted the HKD statistical model of the echo envelope of RF data for QUS image analysis.^{150,179} Four parameters of that model were considered: k , $1/(\kappa+1)$, μ_n and $1/\alpha$. Parameter k is the ratio of coherent-to-diffuse backscatter signals; $1/(\kappa+1)$ represents the diffuse-to-total signal power ratio; μ_n is the normalized intensity of the echo envelope (mean value divided by the maximal value); and $1/\alpha$ is the reciprocal of the scatterer clustering parameter. Estimation of these parameters¹⁸² within sliding windows of dimensions [4.5 mm axial (47 pixels) x 3 mm lateral (15 pixels)], with a 5% overlap rounded to the integer pixel yielded four HKD parametric maps.¹⁵³ For this purpose, pixels within the ROI were classified into 3 labels with a Monte Carlo algorithm based on echogenicity; for each window, only pixels with same label as the geometric center of the window were considered for the HKD estimation.¹⁵² An example of a k map is displayed in **Figure 9**. On each map, median and IQR within the ROI were computed. The median value over the 50 frames of each feature was evaluated for blood clot analyses.

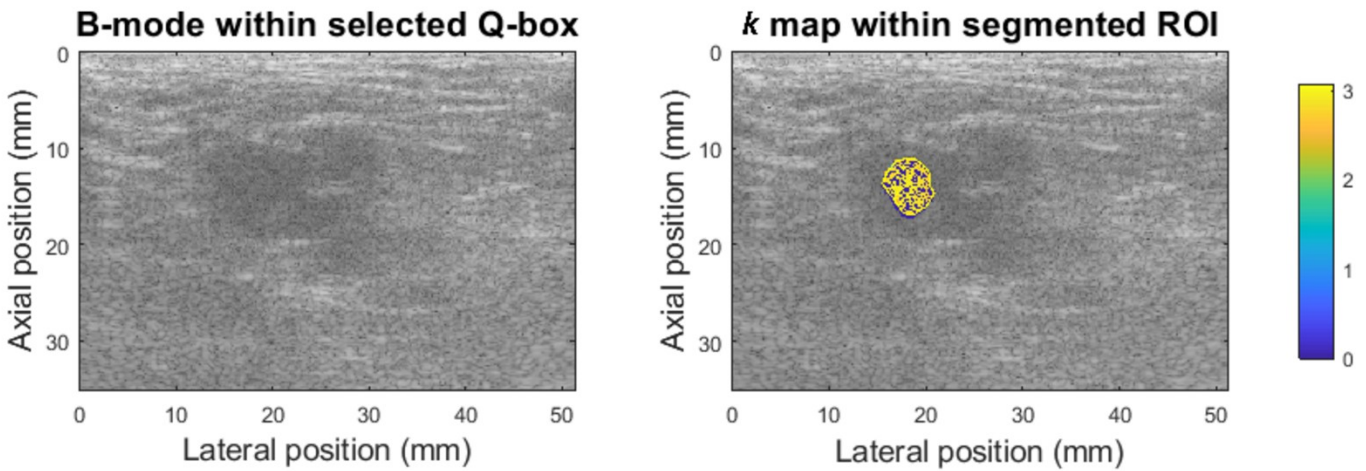


Figure 9. – An example of a parametric map with the corresponding B-mode image for parameter k (coherent-to-diffuse backscatter ratio). **(Left)** A rectangular box (Q-box) within the B-mode image was selected by a clinician to better delineate the thrombus. **(Right)** Value of k within the delineated ROI (in yellow). The patient is the same one as for **Figure 8**.

4.3.6 Statistical analysis

Statistical analysis was performed with software R (version 3.6.3, R Foundation, Vienna, Austria). Shapiro-Wilk test was performed to assess the normality assumption of data. When the test was successful ($p > 0.1$), an ANOVA test was performed to look for differences along time or along the side (proximal or distal). In case of success ($p < 0.05$), post-hoc multiple pairwise comparisons were performed, applying the Holm-Bonferroni correction for p -values. When data were not normally distributed, the Kruskal-Wallis test was performed, followed by multiple pairwise comparisons using the Holm-Bonferroni adjustment, in case of success ($p < 0.05$).

4.4 Results

Demographic and clinical information about the cohort can be seen in **Table 1**. Not all patients had data acquired at each day and on each leg side due to non-availability of ultrasound systems or non-availability of patients for a specific visit.

Tableau 1. – General Characteristics of the 16 Patients Included in the Study

Characteristics	Data
Sex	
Male	14 (87.5%)
Female	2 (12.5%)
Age (year)	
Mean \pm SD (range)	73.5 \pm 10.5 (49-88)
Pulmonary embolism (PE)	
Presence of PE	10 (62.5%)
Absence of PE	6 (37.5%)
Cancer	
Presence of cancer	4 (25%)
Absence of cancer	12 (75%)
Antiplatelet treatment	
Patient with antiplatelet treatment	3 (18.8%)
Patient without antiplatelet treatment	13 (81.2%)
Death	0
Beginning of symptoms before going to the hospital (days)	
DVT: mean \pm SD (range)	3.4 \pm 2.8 (0-8)
DVT with PE: mean \pm SD (range)	4.3 \pm 4.8 (1-15)
Treatment duration (months)	
Mean \pm SD (range)	5,0 \pm 1.4 (3-6)

SD, standard deviation

4.4.1 SWE features

Figure 10 presents box plots of median and IQR values of Young's moduli E over time for proximal and distal measurements. A trend with median elasticity increasing from day 0 to day 7 then decreasing at day 30 can be observed, but there were no significant differences. No statistically significant differences were also found between proximal and distal parts of the thrombus at the various days.

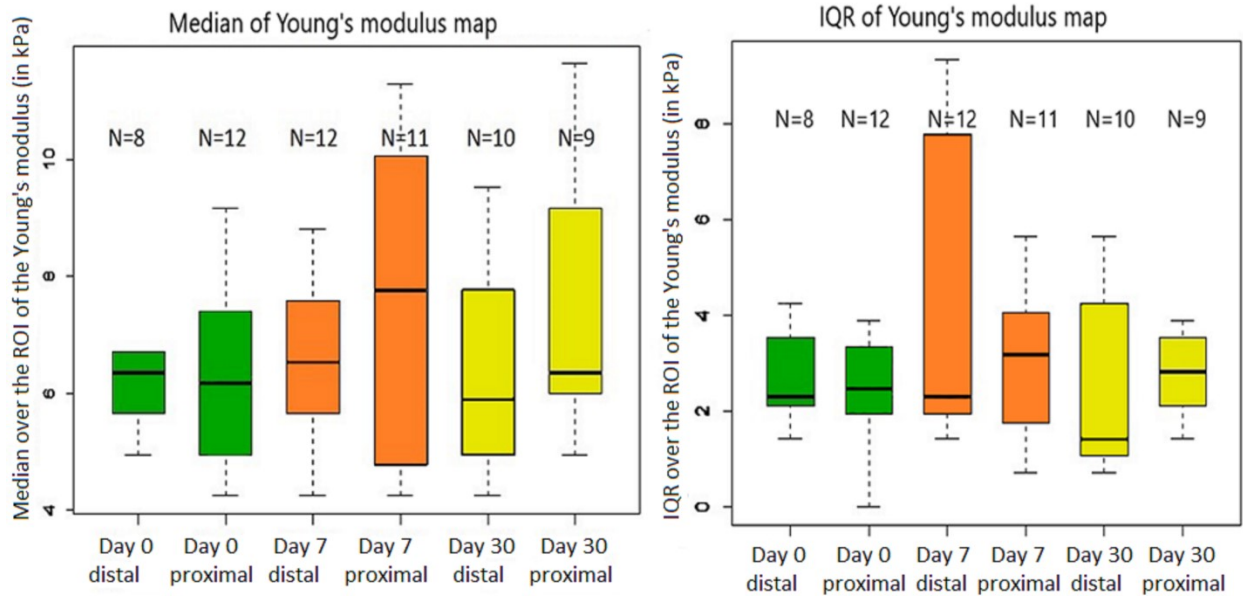


Figure 10. – Median and IQR values of Young’s moduli over segmented ROIs within clots. Different times are presented with different colors. N represents the number of patients for which acquisitions were available. No significant differences with Kruskal-Wallis test: $p > 0.05$.

The median and IQR of Young’s moduli of deep vein thrombi were also compared between patients experiencing or not a pulmonary embolism. We restricted the data analysis to day 0 to reduce the confounding effect of treatment. The aim was to see whether a day 0 thrombus, which would evolve into a PE, could be differentiated from a day 0 thrombus without PE evolution. There were ten of the sixteen patients who presented a PE. For day 0 data in the proximal view, there were acquisitions from twelve patients, nine of which presented a PE. There were eight patients with distal acquisitions with five of them presenting a PE. Non-significant differences were found between groups of deep vein thrombosis that had evolved as a PE versus remaining ones. Mean values of SWE median and IQR for patients who developed a PE, and those who did not can be found in **Table 2**.

Tableau 2. – Median and Interquartile Range Values of Young’s moduli with presence or absence of Pulmonary Embolism (PE) at Day 0

Young’s moduli	
----------------	--

			Mean \pm SD (over patients)
Median (kPa)	Proximal	PE	6.0 \pm 1.7
		No	6.7 \pm 3.1
	Distal	PE	6.7 \pm 1.2
		No	5.6 \pm 0.7
Interquartile range (kPa)	Proximal	PE	2.1 \pm 1.2
		No	3.2 \pm 2.6
	Distal	PE	2.5 \pm 1.6
		No	2.1 \pm 0.7
		PE	
		PE	

No significant differences were observed between PE and no PE at any side (proximal or distal).
SD, standard deviation.

4.4.2 HKD features

Figure 11 summarizes box plots for the median value of k , $1/(\kappa+1)$, μ_n and $1/\alpha$ within segmented ROIs. There was a significant decrease of k ($p=0.036$) between day 7 and day 30 for the proximal segment, and a global significant difference ($p=0.0395$) between distal and proximal measurements. For the median of $1/(\kappa+1)$, a significant increase can be observed between day 7 and day 30 for the proximal segment ($p=0.0491$). The median of HKD parameter μ_n presented also a significant difference ($p=0.0062$) between day 0 and day 30, for distal measurements. Parameter $1/\alpha$ had no significant differences between time points and vessel segments. None of the four IQR parameters presented either any significant differences between time points and vessel segments (results not shown).

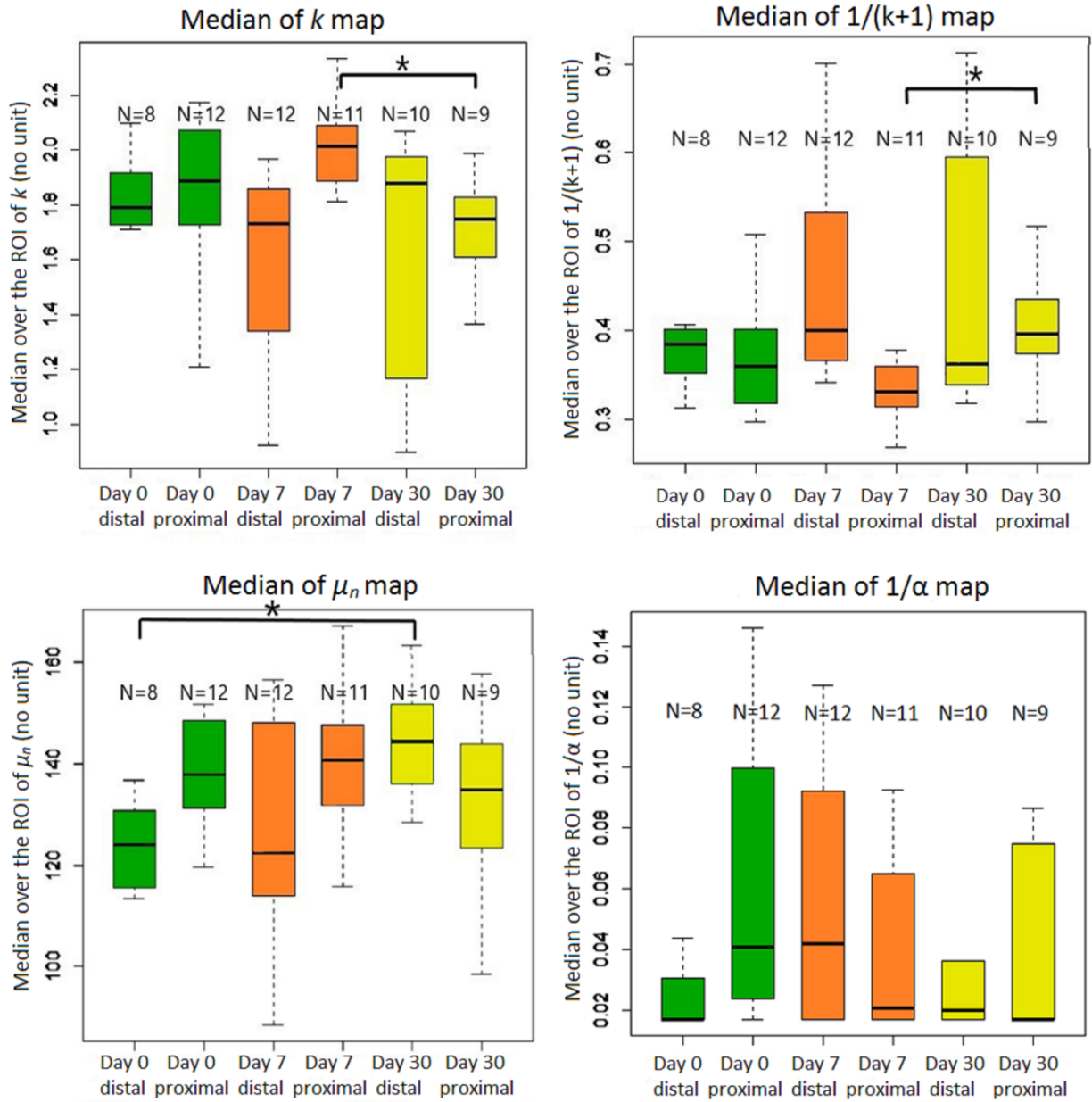


Figure 11. – Median values of HKD parameters k , $1/(\kappa + 1)$, μ_n , and $1/\alpha$ over segmented ROIs within clots. Different times are presented with different colors. N represents the number of patients for which acquisitions were available. Parameters $1/(\kappa + 1)$, μ_n and $1/\alpha$ median have been tested with Kruskal-Wallis test followed (for $1/(\kappa + 1)$, μ_n) by a post-hoc multiple pairwise comparison (Wilcoxon) using the Holm-Bonferroni adjustment. ANOVA test followed by a post-hoc multiple pairwise comparison (t-test) using the Holm-Bonferroni adjustment has been performed on μ_n median. * $p < 0.05$.

Similarly to SWE analyses, HKD parameters have been compared at day 0 to distinguish a thrombus evolving in a PE from a thrombus which did not. Mean of HKD parameters of each group (PE vs. no PE) at day 0 for proximal and distal measurements can be found in **Table 3**. No significant differences were found.

Tableau 3. – Median and interquartile range values of homodyned K-distribution parameters with presence or absence of pulmonary embolism (PE) at day 0.

				k	$1/(\kappa+1)$	μ_n	$1/\alpha$
				Mean \pm SD (over patients)			
Median (no unit)	Proximal	PE		1.84 \pm 0.33	0.38 \pm 0.10	144 \pm 21	0.09 \pm 0.11
		No PE		1.89 \pm 0.22	0.36 \pm 0.05	141 \pm 6	0.06 \pm 0.07
	Distal	PE		1.88 \pm 0.16	0.36 \pm 0.04	115 \pm 27	0.02 \pm 0.01
		No PE		1.19 \pm 1.03	0.60 \pm 0.36	123 \pm 12	0.08 \pm 0.11
Interquartile range (no unit)	Proximal	PE		1.05 \pm 0.54	0.48 \pm 0.59	226 \pm 33	0.18 \pm 0.07
		No PE		1.11 \pm 0.36	0.26 \pm 0.04	229 \pm 18	0.20 \pm 0.02
	Distal	PE		1.27 \pm 0.46	0.68 \pm 0.87	202 \pm 34	0.23 \pm 0.04
		No PE		0.73 \pm 0.80	0.11 \pm 0.13	201 \pm 24	0.15 \pm 0.11

No significant differences were observed between PE and no PE for any side or parameters

SD, standard deviation.

4.5 Discussion

Clot evolution still raises a lot of questions and attention on how to better adapt the treatment, reduce hemorrhage risk due to treatment, understand which clots would embolize, or find alternative treatments. To our knowledge, this study is the first of its kind to explore mechanical and QUS features over time on *in vivo* DVT data with administered anticoagulant drugs to patients.

No significant changes in Young's modulus features were observed in this study. Drugs administered to patients were heparin (for one or two days) or factor Xa inhibitor. Factor Xa acts at the end of the coagulation cascade by cleaving prothrombin into thrombin. Thrombin then converts soluble fibrinogen into insoluble fibrin strands. With inhibition of factor Xa, production

of fibrin strands is stopped, thus preventing further evolution of the clot.¹⁸³ In a recent *ex vivo* study,¹⁸⁴ the Young's modulus of clots with different biological compositions and at the effect of rt-PA on clot elasticity were investigated. In line with our results, they did not find any significant differences in clot's Young's modulus. In opposite, using mechanical testing on *in vitro* blood clot samples, fibrinolysis triggered by rt-PA reduced clot stiffness.¹⁸⁴ In our study, we expected changes in SWE parameters between day 0 and day 30 due to treatment and evolution of the clot. Our results were also expected to be different from other studies^{46–48,170,171} because anticoagulant drugs were not used during the assessment of Young's moduli in these latter reports. Studies have shown that the density of clots is linked to the fibrin concentration.^{185,186} Mercado-Shekhar *et al.*⁴⁵ showed that high density thrombi are linked to higher Young's moduli. By stopping fibrin production, the anticoagulant used could be responsible for the observed stagnation over time of blood clots' Young's modulus. Treatments lasted several months, and all clots were still present after 30 days. Changes in SWE measurements could have been observed if a longer period of observation had been considered until clots became close to final lysis.

Concerning PE, our hypothesis was that clots that end up embolizing are those with low values of Young's moduli (indicating softer blood clots). As results in Table 2 were not conclusive, a larger sample size would likely be required to validate or not this postulate.

The observed decrease in the median of k and increase in the median of $1/(\kappa+1)$ within the proximal zone of clots after day 7 suggest a spatial disorganization of scatterers within the clot, as observed for other tissues.^{181,187} An organized arrangement of scatterers could recall nearly periodic alignment of scatterers, or highly structured spatial organization of scatterers. A disorganized medium would have, on the contrary, close to uniformly positioned scatterers. A less organized medium, as suggested by parameters k and $1/(\kappa+1)$, could indicate a risk of clot embolization into downstream pulmonary vessels, as was hypothesized in.¹⁸⁸

The increase in the median of μ_n within distal measurement of clots between day zero and day 30 corresponds to an increase in the normalized intensity of the echo envelope. These results indicate that despite the effect of oral anticoagulant, a clot is not getting dissolved yet

and probably still contains fibrin strands or red blood cells, which are known to be echogenic.⁴³ Animal experiments with treated clots and histological analysis may allow testing this hypothesis.

In conclusion, measuring *in vivo* biomarkers without resorting at invasive procedure is still a challenge in medical practice. Concerning blood clots, an ultrasound marker of their evolution could be relevant to adapt the treatment's dose or duration.

4.5.1 Study limitations

In this study, data from 16 patients were analyzed. In addition, few patients' data were available at day 0, and three patients had full data available (distal and proximal at all day) which reduced the power of statistical tests. Thus, the small number of recruited patients is a limitation of this study. The non-availability at given time points of the ultrasound scanner or technicians is also a limitation. Because the intake of blood thinners and their effect on blood clot's Young's modulus or HKD parameters has not been reported, it is difficult to reach strong conclusions when it comes to their effect. The study could have benefited from a marker, such as the size of clot, to confirm the effect of the treatment but such measurements on B-mode images might not be conclusive due to variable echogenicity. Another limitation lies in the lack of deeper biological interpretation of QUS parameters in the characterization of blood clots. Future work could focus on the interpretation of HKD biomarkers based on histological analysis, but this would be difficult in the context of this *in vivo* 30-days follow-up study. A larger study cohort could allow testing whether Young's modulus or HKD parameters may be used as predictors of pulmonary embolization. Assessing quantitatively on *in vitro* data the effect of treatment on blood clots based on Young's modulus or HKD parameters could also be relevant.

Acknowledgement: We are grateful to Guillaume Flé for reviewing sections of this manuscript. Partial funding for this project was obtained by the Investigation Network on Venous Thrombo-Embolism of the French Clinical Research Infrastructure Network.

Chapitre 5 : Résonance, vitesse, dispersion et atténuation de la propagation d'ondes de cisaillement induites par ultrasons dans des caillots de sang *in vitro*

Resonance, velocity, dispersion, and attenuation of ultrasound-induced shear wave propagation in blood clot *in vitro* models

Guillaume Bosio^{1,2} B.Sc., François Destrempe² Ph.D., Ladan Yazdani^{1,2} M.Sc.,
Marie-Helene Roy Cardinal² Ph.D., Guy Cloutier^{1,2,3} B.Eng., Ph.D.

¹*Institute of Biomedical Engineering, University of Montreal, Montréal, Québec, Canada*

²*Laboratory of Biorheology and Medical Ultrasonics, University of Montreal Hospital Research Center (CRCHUM), Montréal, Québec, Canada*

³*Department of Radiology, Radio-Oncology and Nuclear Medicine, University of Montreal, Montréal, Québec, Canada*

Running title: Mechanical characterization of blood clots

Le second article est publié en ligne fin 2023 sous la référence : G. Bosio, L. Yazdani, M.-H. Roy-Cardinal, and G. Cloutier, "Resonance, velocity, dispersion, and attenuation of ultrasound-induced shear wave propagation in blood clot *in vitro* models," *J. Ultrasound Med.*, p. Under second review, 2023.

Avant-propos

L'étude des phénomènes de résonances d'ondes de cisaillement s'inscrit dans la volonté de caractériser les caillots sanguins. Cette caractérisation pourrait aider à mieux différencier les thrombus aigus de thrombus chroniques. Dans l'étude précédente, nous avons vu qu'en présence de traitement, le module d'Young seul ne permettait pas de suivre l'évolution de thrombus. Le paramètre de dispersion et celui d'atténuation de l'onde de cisaillement ont été calculés ici en supplément du module d'Young. Les phénomènes de résonances que l'on caractérise ici par l'apparition de plusieurs pics dans les spectres d'amplitude nous ont posé problème lors du calcul de l'atténuation de l'onde de cisaillement. C'est dans le but de résoudre ce problème que s'inscrit ce travail.

Contribution des auteurs :

Guillaume Bosio : Mise en place des expériences, réalisation des expériences, analyse et traitement des données, statistiques, rédaction et révision de l'article.

François Destrempe : Aide et discussion sur l'analyse des pics multiples et les approximations gamma, et révision de certaines parties de l'article.

Ladan Yazdani : Autrice du code de calcul d'atténuation des ondes de cisaillement utilisé et révision de l'article.

Marie-Helene Roy Cardinal : Aide et discussion sur l'analyse des pics multiples et les approximations gamma, aide sur les choix des méthodes statistiques, et révision de certaines parties de l'article.

Guy Cloutier : Financement, direction et révision de l'article.

Résumé :

Objectif : Améliorer la caractérisation des propriétés mécaniques des caillots sanguins. Les paramètres dérivés des spectres de vitesse et d'amplitude des ondes de cisaillement ont été déterminés pour des fantômes de gel et des caillots sanguins *in vitro*.

Méthodes : Des fantômes homogènes et des fantômes avec des inclusions de gel ou de caillots sanguins de différents diamètres et propriétés mécaniques ont été analysés. Des pics de

résonance ont été observés sur les spectres d'amplitude des ondes de cisaillement pour certaines mesures. Des paramètres dérivés de ces pics de résonance ont été reliés aux propriétés des caillots sanguins. Trois régions d'intérêt ont été testées pour analyser les zones où les résonances se produisaient le plus. Pour les expériences sur le sang, vingt échantillons provenant de différents porcs ont été analysés au cours d'une période de coagulation de 110 minutes en utilisant le module d'Young, la dispersion de l'onde de cisaillement et son atténuation.

Résultats : La résonance mécanique s'est manifestée par une augmentation du nombre de pics spectraux des ondes de cisaillement lorsque le diamètre de l'inclusion a été réduit ($p < 0,001$). Les spectres d'amplitude des ondes de cisaillement ont été utilisés afin d'observer les pics de résonance. Dans les inclusions de caillots sanguins, le module d'Young a augmenté au fil du temps pendant la coagulation ($p < 0,001$), et les paramètres spectraux descriptifs (pic de fréquence, largeur de bande et distance entre les pics) étaient linéairement corrélés aux valeurs d'élasticité des caillots ($p < 0,001$) avec $R^2 = 0.77$ pour le pic de fréquence, 0.60 pour la largeur de bande, et 0.48 pour la distance entre les pics. La dispersion des ondes de cisaillement et leur atténuation reflétant le comportement visqueux des caillots sanguins ont diminué avec le temps ($p < 0,001$), principalement au stade précoce (premières minutes) de la coagulation.

Conclusion : La configuration confinée de l'inclusion molle a favorisé les résonances mécaniques des ondes de cisaillement, ce qui peut poser des problèmes pour le calcul des paramètres spectraux, tels que l'atténuation de l'onde de cisaillement. L'impact des résonances peut être réduit en sélectionnant correctement la région d'intérêt pour l'analyse des données.

Mots-clés : résonance spectrale, élastographie par ondes de cisaillement, dispersion des ondes de cisaillement, atténuation des ondes de cisaillement, caillot sanguin, ultrasons.

5.1 Abstract:

Objective: Improve the characterization of mechanical properties of blood clots. Parameters derived from shear wave (SW) velocity and SW amplitude spectra were determined for gel phantoms and *in vitro* blood clots.

Methods: Homogeneous phantoms and phantoms with gel or blood clot inclusions of different diameters and mechanical properties were analyzed. SW amplitude spectra were used to observe resonant peaks. Parameters derived from those resonant peaks were related to mimicked blood clot properties. Three regions of interest were tested to analyze where resonances occurred the most. For blood experiments, twenty samples from different pigs were analyzed over time during a 110-minute coagulation period using the Young's modulus, SW frequency dispersion, and SW attenuation.

Results: The mechanical resonance was manifested by an increase in the number of SW spectral peaks as the inclusion diameter was reduced ($p < 0.001$). In blood clot inclusions, the Young's modulus increased over time during coagulation ($p < 0.001$). Descriptive spectral parameters (frequency peak, bandwidth, and distance between resonant peaks) were linearly correlated with clot elasticity values ($p < 0.001$) with $R^2 = 0.77$ for the frequency peak, 0.60 for the bandwidth, and 0.48 for the distance between peaks. The SW dispersion and SW attenuation reflecting the viscous behavior of blood clots decreased over time ($p < 0.001$), mainly in the early stage of coagulation (first minutes).

Conclusion: The confined soft inclusion configuration favored SW mechanical resonances potentially challenging the computation of spectral-based parameters, such as the SW attenuation. The impact of resonances can be reduced by properly selecting the region of interest for data analysis.

Keywords: spectral resonance, shear wave elastography, shear wave speed, shear wave dispersion, shear wave attenuation, blood clot, ultrasound.

5.2 Introduction:

Ultrasound elastography is used to estimate the stiffness of biological tissues. Several methods have been developed such as strain elastography^{83,189–195}, dynamic elastography^{48,50,83,194–198}, or resonance elastography in the context of soft inclusions surrounded by stiffer tissues^{49,79,199}. Strain elastography uses the deformation subjected to the probe's pressure exerted by a clinician to find differences in stiffness. Other strain imaging methods use the natural pulsation of organs induced by the cardiac pulse pressure^{69,153,200–202}. Dynamic methods mainly consider purely elastic solids using the relationship $E = 3 \rho c_s^2$, where E is the Young's modulus, ρ the tissue density, and c_s the shear wave (SW) velocity. Among dynamic methods are transient elastography (TE)^{78,203}, SW elastography^{82,204,205}, and acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography^{58,71}, which display the velocity (m/s) or Young's modulus (kPa) (see^{83,194,195,198,206} for more details on methods).

With dynamic methods, a displacement map is calculated, and time-of-flight algorithms are used to compute the SW group velocity in the case of elastic methods, and the phase velocity in the case of viscoelastic measurements. These methods are mainly designed for measurements on large homogeneous organs such as the liver, in which wave reflections and resonance phenomena are not expected. These methods usually use directional filtering to alleviate the impact of SW reflections^{207,208}. The SW induced resonance elastography (SWIRE) method uses the resonance of cylindrical inclusions to calculate their elasticity or viscoelasticity^{79,199}. SWIRE requires an external vibrator that excites the material at many frequencies to find resonance peaks and estimates the elasticity at these frequencies (by solving an inverse problem) and/or the viscosity (with a rheological model). Acoustic radiation force induced resonance elastography (ARFIRE) uses the same principle as SWIRE but with a SW generated by an ultrasonic push⁴⁹. The frequency and bandwidth of the first resonant peak in the amplitude spectrum are used to compute viscoelastic parameters.

Other dynamic methods considering viscoelastic solids are based on the SW frequency dispersion, rheological modeling of the SW velocity, SW attenuation, and determination of the complex shear modulus^{82,126,128,129,131,134,209–211}. Most studies have focused on the dispersion and

attenuation of SWs as additional parameters to complement the SW speed or Young's modulus to characterize biological tissues ^{126,131,132,134,137,138,140,212}. The dispersion is the variation of the SW speed with frequency. The SW attenuation is an inherent property of tissues related to the damping of SWs in viscoelastic solids. Recent developments on SW attenuation are based on the attenuation measuring ultrasound SW elastography (AMUSE) method ¹³¹, the frequency shift (FS) method ¹²⁶, and its derivatives: the two-points frequency shift (2P-FS) ¹²⁸ and the revisited frequency shift (R-FS) ¹²⁹ methods. The advantage of FS-based methods is to provide a SW attenuation map reflecting tissue viscosity. However, these methods can be sensitive to noise, and for cylindrical geometries embedding a soft inclusion, spectral resonances may further induce variability.

One of the resonance characteristics is the presence of several peaks in the amplitude spectrum (of the SW displacement over frequency) ⁷⁹. In homogeneous tissues, only one peak is expected ¹²⁶. Clots within blood vessels have a geometry and a viscoelasticity contrast favoring the presence of SW resonances. Studies on the viscoelasticity of clots have shown that as clots form and age, their Young's modulus increase ⁴⁶⁻⁴⁸. Age from diagnosis is the main criterion for classifying between acute, subacute, as well as chronic thrombi ^{12,109}. The treatment applied to the patient depends on this classification ^{12,109}. The age of the clot is calculated according to the onset of symptoms experienced by the patient, and may therefore be subject to error. Characterizing thrombi by their age, linked to the Young's modulus, SW dispersion or SW attenuation could help classify them and hence improve their management. The elasticity increase has also been linked with thrombus resistance to lysis ⁴⁵. Other teams have focused on the impact of treatments on mechanical properties, however, results on Young's modulus alone have not reached a consensus ^{213,214}. In their work using ARFIRE, Bhatt *et al.* ⁴⁹ showed with simulated data that the first resonance peak increases in frequency as the elasticity of the inclusion is raised.

This study aimed to investigate experimentally resonance phenomena in cylindrical soft inclusions to better understand the link with inclusion's properties, as well as to evaluate the impact of resonances on the calculation of the SW dispersion and SW attenuation. Dispersion had briefly been reported in blood clots showing potential to differentiate clots of different

hematocrit^{215,216}. To our knowledge, the SW attenuation has not been reported yet in blood clots. We hypothesize that resonances are caused by the reflection and reverberation of SWs at the interface between two media. We also hypothesize that they do not have time to occur when measurements are centered in the inclusion and close to the induced radiation pressure pushes. This latter hypothesis was tested by selecting several regions of interest (ROI) within phantom inclusions. The addition of SW dispersion and SW attenuation could improve the characterization of the age of blood clots, which is currently limited clinically to the onset of symptoms and to research on the Young's modulus. The spectral resonance phenomenon and how to minimize it have been addressed for the first time in this study.

5.3 Methods:

Experiments were conducted on three types of phantoms: homogeneous gel phantoms without any inclusion, gel phantoms with a gel inclusion, and gel phantoms with a blood clot inclusion. Gel inclusions of different diameters were investigated.

5.3.1 Gel phantom preparation

The phantoms were made following the recipe of Bhatt *et al.*⁴⁹. The surrounding phantom was designed to be stiffer than the blood clot or gel inclusion. It was made of 4% gelatin powder (product number G-1890, Sigma Chemical, Saint-Louis, MO, USA), 1.5% agar (product number A-9799, Sigma Chemical), and 0.9% salt. The salt was used to avoid hypotonicity and cell swelling at phantom-blood interfaces. A softer homogeneous phantom and softer phantom inclusions were made by lowering the gelatin powder proportion to 2%. The purpose of soft inclusions was to approach mechanical properties of blood clots. Different gel inclusion diameters were studied to mimic deep vein thrombosis conditions.

5.3.2 Blood clot preparation

Porcine blood was collected at the animal facility of the University of Montreal Hospital Research Center (Montréal, QC, Canada) and anticoagulated with a sodium citrated solution at a mass ratio of 1/9. Pigs were brought in as part of an experimental protocol²¹⁷, and only a small quantify of blood (10 ml) was collected before any drugs were given to the animal. The pigs all came from

the same farm and are Yorkshire/Landrace hybrids. The hematocrit was set to 40%, and recalcification was obtained by adding CaCl_2 to a concentration of 16.1 mM⁴⁵ to allow blood to coagulate while pouring it into the phantom inclusion. Acquisitions were performed during clotting and hardening over a 110-minute period. Clots were prepared from collected blood of 20 different pigs.

5.3.3 Experimental setup

The liquid phantom was poured into a one liter square container. A cylinder of 12 mm was dipped into the liquid phantom and was removed after gelation to define the geometry of the inclusion. The blood or inclusion gel was then poured into the cavity created by the cylinder. An additional soft homogeneous phantom was also prepared. Ultrasound SW induced elastography measurements were made with a Verasonics system (Verasonics V1, Verasonics Inc., Redmond, WA, USA) using a linear array probe (ATL L7-4, Philips, Bothell, WA, USA), as seen in **Figure 12**. The position of the probe relative to the clot was adjusted to obtain the maximum clot diameter on B-mode imaging. For gel phantom experiments, additional inclusion diameters were considered (6 mm and 18 mm). Inclusions were located at depths of 20 to 40 mm on the x-axis (*Figure 1*), which corresponds to typical ranges of induced radiation pressure pushes in SW elastography^{218,219}. For averaging purposes, four acquisitions were performed on the homogeneous phantom and phantoms with inclusions. In the case of blood clot inclusions, acquisitions were obtained every 4 minutes during 110 minutes. The central frequency of the probe was 5 MHz, the maximum depth (here x because the probe was on the side) of the image was 51 mm, and the width (here z) was 35.6 mm. Each push duration lasted 115 μs and adjacent pushes were separated by 3 mm in the depth direction. Pushes were focused using 64 probe elements centered on the 32nd element. The depth location of pushes (total of 3 pushes) covered a range of 20 to 35 mm, with f-numbers varying from 1.1 to 1.9.

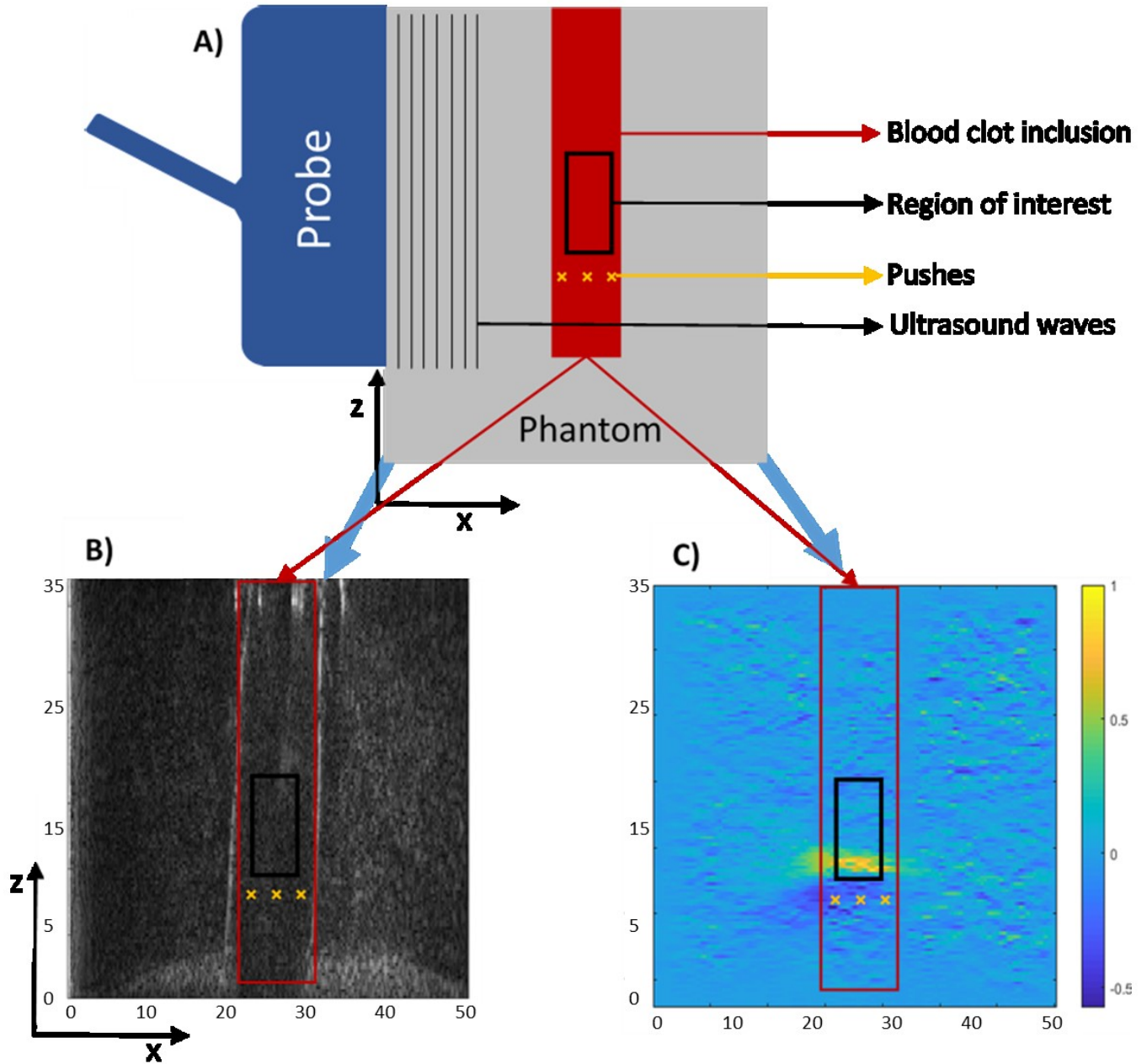


Figure 12. – (A) Experimental setup corresponding to a gel phantom with a blood clot inclusion, (B) a reconstructed B-mode image with the region-of-interest (ROI in black), and (C) a velocity map at $t = 4$ ms after the radiation pressure push, colorbar correspond to the normalized displacement speed. Axes are in mm, x is the push line direction, and z the shear wave propagation direction.

5.3.4 Data acquisition and post-processing

Ultrasound radio frequency (RF) signals were acquired during SW propagation. Each set of acquisitions consisted of 10 consecutive sequences at the three push locations each followed by ultrafast tracking over 100 images (at 4000 images per second). RF migrated signals⁵² were converted to B-mode images for display purposes. Time-varying SW velocity maps were obtained for each sequence using the two-dimensional autocorrelation approach²²⁰, and averaged over the 10 acquisitions. Three ROIs were positioned manually for each clot or gel inclusion based on one B-mode image and the display of the average SW velocity map. The ROI #1 was positioned within the inclusion, had a 5-mm width (150 pixels) in the x-direction (push line axis), and a 10-mm (40 pixels) height in the z-direction (SW propagation direction). ROI #2 had the same width as ROI #1, and half of its height in the z-direction. ROI #3 was reduced in width by 1.7 mm (50 pixels) in the x-direction, and had the same height as ROI #2 in the z-direction.

For computation of the Young's modulus, the SW group velocity within a given ROI was averaged along the x-axis, as in²²¹. A single value was then calculated using a time-of-flight method, after applying a directional spatial filter in the SW propagation direction²⁰⁷. Examples of space-time maps of the displacement are plotted in **Figure 13** for the different conditions. Likewise, the phase velocity was evaluated as a function of frequency to assess viscoelastic dispersion²²¹. In this case, a low-pass filter (500 Hz) was used to remove undesired noises at high frequencies. A pictorial description of the SW dispersion calculation based on the work of Deffieux *et al.*²²¹ is presented in **Figure 14**, panels A and B. Measurements were done by considering 9 lateral pixels corresponding to a distance of 2.25 mm. The frequency range for computing SW dispersion was selected between 50 and 500 Hz^{138,209}. The dispersion was assessed as the slope of the phase velocity along selected frequencies.

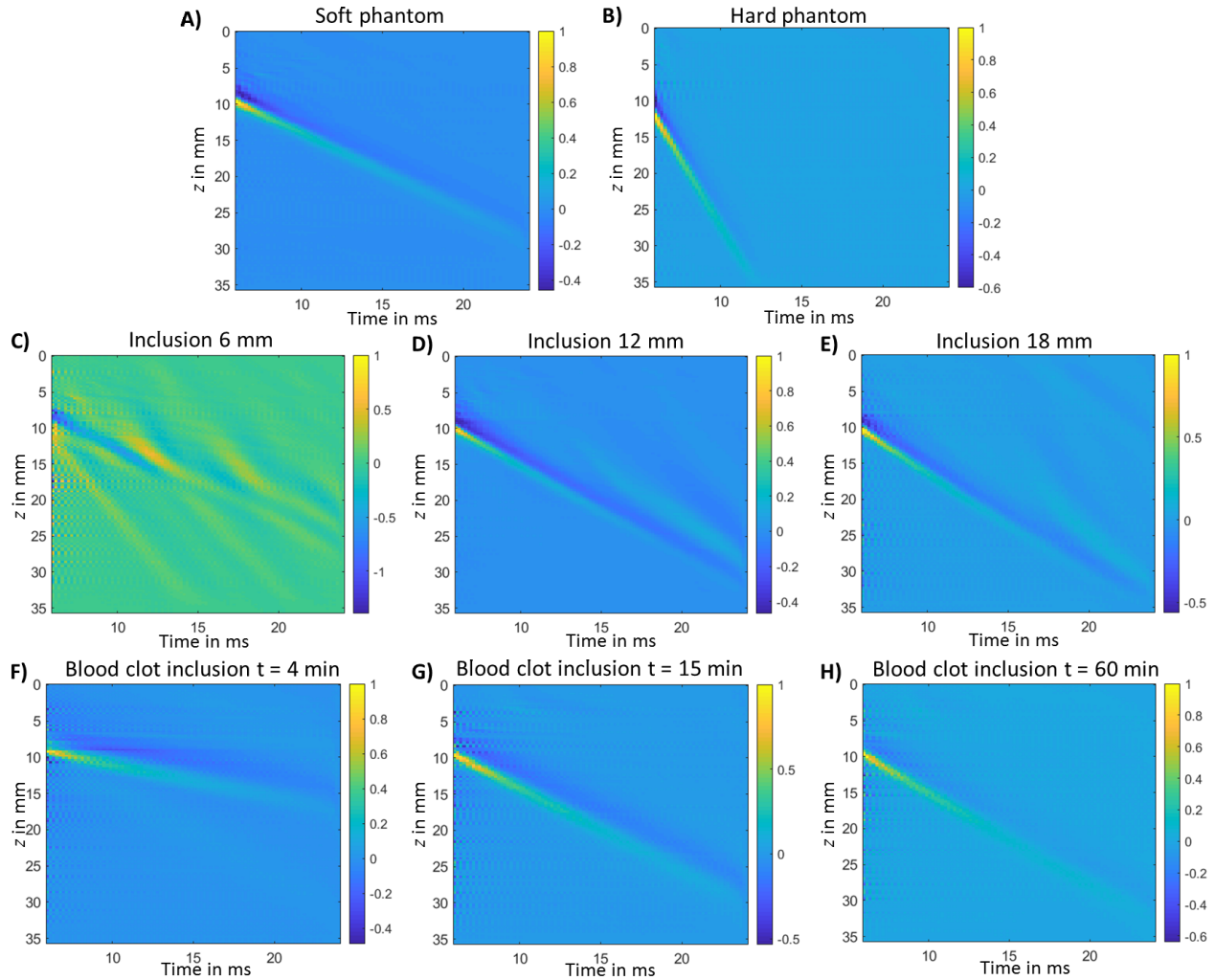


Figure 13. – Space-time image of SW displacements. Colorbars represent the normalized amplitude of the displacement. Displacement have been averaged along the z direction inside the ROI. First milliseconds were removed because they correspond to frames of radiation force pushes. Only one direction of propagation can be seen because of the directional filter. Slopes of the yellow/blue “lines” are linked to the group velocity. The blood clot represented in panels F, G and H corresponds to the pig #20.

SW attenuation maps related to tissue viscosity were computed with the R-FS method ¹²⁹. With this method, the Fourier transform of the SW particle displacement velocity is taken at each position within the ROI, and assumes that the resulting amplitude spectrum fits a single gamma

distribution. Shape and rate parameters of the gamma distribution are obtained by a linear curve fitting (A-RANSAC method ¹²⁹) over a distance of 2.25 mm. The SW attenuation then corresponds to the slope of the rate parameter of the gamma distribution along the SW propagation direction. Panels C and D of **Figure 14** illustrate the computation of the SW attenuation; for more details, the reader can refer to Bernard *et al.* ¹²⁶ and Yazdani *et al.* ¹²⁹. SW attenuation involved gamma fitting over frequencies below 1000 Hz (low-pass filtering at 500 Hz was nevertheless applied to reduce the impact of noise).

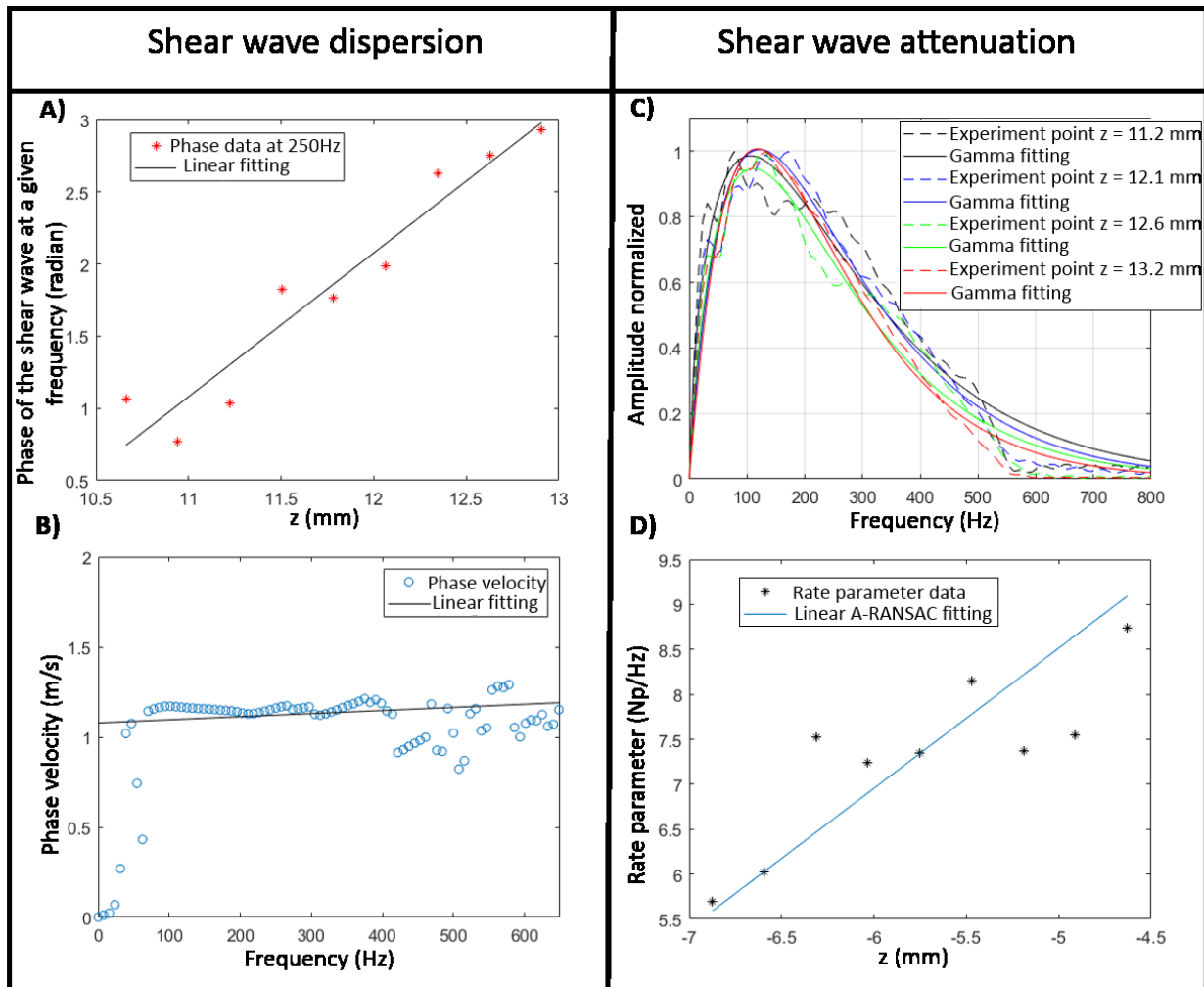


Figure 14. – Visual examples of computation of the shear wave dispersion and shear wave attenuation. The phase velocity at a given frequency is computed by fitting the phase of the shear wave velocity over displacement (panel A). The shear wave dispersion is computed by fitting the phase velocity over the frequencies (panel B). In panel C,

amplitude spectra are plotted at different space points and fitted by gamma distributions. In panel D, the shear wave attenuation coefficient is computed as the slope of the rate parameter of the several gamma fittings over distances. The data used for this plot correspond to the blood clot inclusion of porcine #19.

In the case of soft inclusions, as introduced earlier, SW displacement amplitude spectra may exhibit multiple peaks, as shown in **Figure 15**. The number of peaks depends on resonance properties⁷⁹ and they were calculated for each pixel of the selected ROI. To investigate this phenomenon further, the frequency of the main resonant peak (f_1), its width at half maximum (w_1), and, if multiple peaks appeared, the average distance (d) between their frequency pairs was computed for ROI #1. Moreover, to better understand the impact of material properties on f_1 , w_1 , and d , these parameters were plotted for different gel inclusion diameters or as a function of the Young's modulus of the blood clot inclusion. Coefficients of variation of each of these 3 parameters over the ROI were also computed.

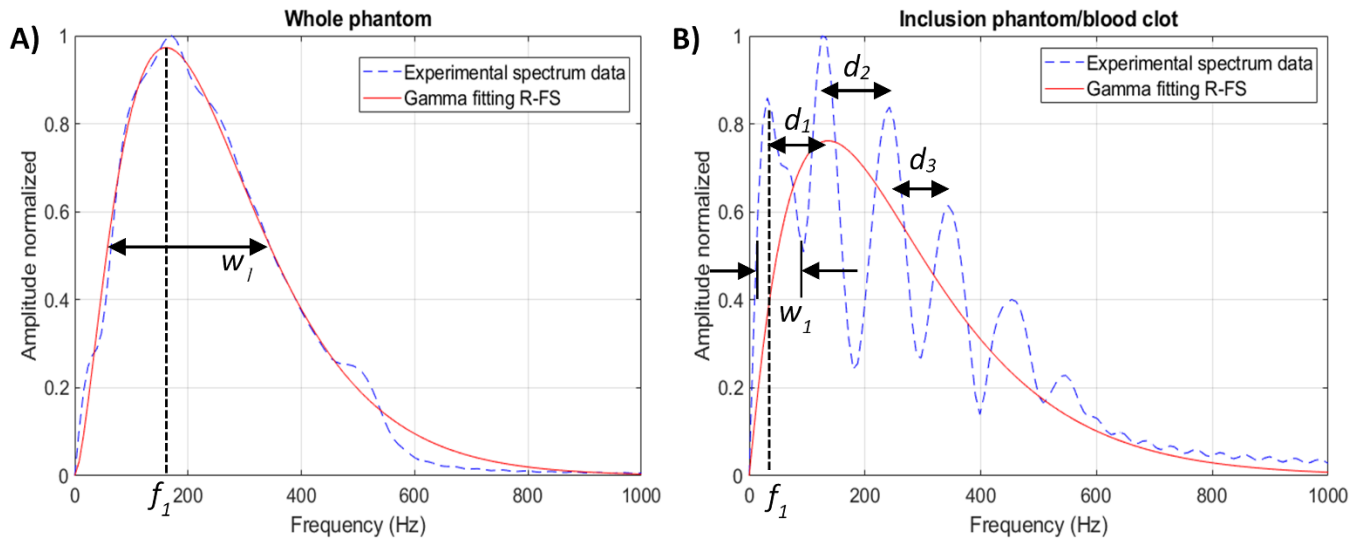


Figure 15. – Example of displacement amplitude spectra. (A) A single peak amplitude spectrum with a least squared fitting (in red) used in the revisited frequency shift method. (B) The same fitting method as in A was applied to a multiple peaks amplitude spectrum. Parameter w_1 corresponds to the width of the first peak f_1 . Parameters d_1 , d_2 and d_3 are distances between frequency peaks in the case of resonances.

5.3.5 Statistics

For gel phantoms, analyses of variance (ANOVA) with multiple pairwise comparisons (Tukey tests) were used to compare the number of peaks, and values of f_1 , w_1 , and d between different inclusion diameters. ANOVA were also used to compare the effect of changing the ROI size and position (*i.e.*, ROI #1, #2, and #3) on R^2 of the gamma fitting, SW dispersion, and SW attenuation computations. For phantoms with blood clot inclusions, linear mixed effect models (LMM) were considered to evaluate the relation between dependent variables f_1 , w_1 , and d , and the inclusion independent variable Young's modulus. To account for repeated data acquisitions over the 110-minute time period, a random intercept was included in the LMM for each pig blood sample. ANOVAs with pairwise comparisons were also used to compare elasticity (Young's modulus), SW dispersion and SW attenuation values at 30 different time points. The Kolmogorov-Smirnov test was performed prior to ANOVA to confirm that data were normally distributed.

5.4 Results:

5.4.1 Gel phantom inclusions

The number of spectral peaks is reported inside the three ROIs for different inclusion diameters in **Figure 16** (panels A, B, C, and D). The two-way ANOVA revealed a statistically significant effect ($p < 0.001$) of the inclusion diameter and selected ROIs on the number of peaks. Detailed results on those numbers can be found in **Figure 16** (E) with significant pairwise differences provided on the graph. For ROI #1, the number of peaks was statistically different between all diameters (the homogeneous phantom can be considered as an infinite diameter inclusion, $p < 0.001$). The number of peaks between the 6-mm inclusion and all other configurations showed significant differences for ROI #2 ($p < 0.001$) and ROI #3 ($p < 0.001$). For all ROIs, the number of peaks was higher when the inclusion diameter was smaller. For all inclusions (6 mm, 12 mm, and 18 mm), the number of peaks for ROI #1 was higher than for ROI #2 and #3 ($p < 0.001$), whereas no differences were observed between ROI #2 and #3. Notice the absence of resonance (*i.e.*, a single spectral peak) for the homogeneous phantom.

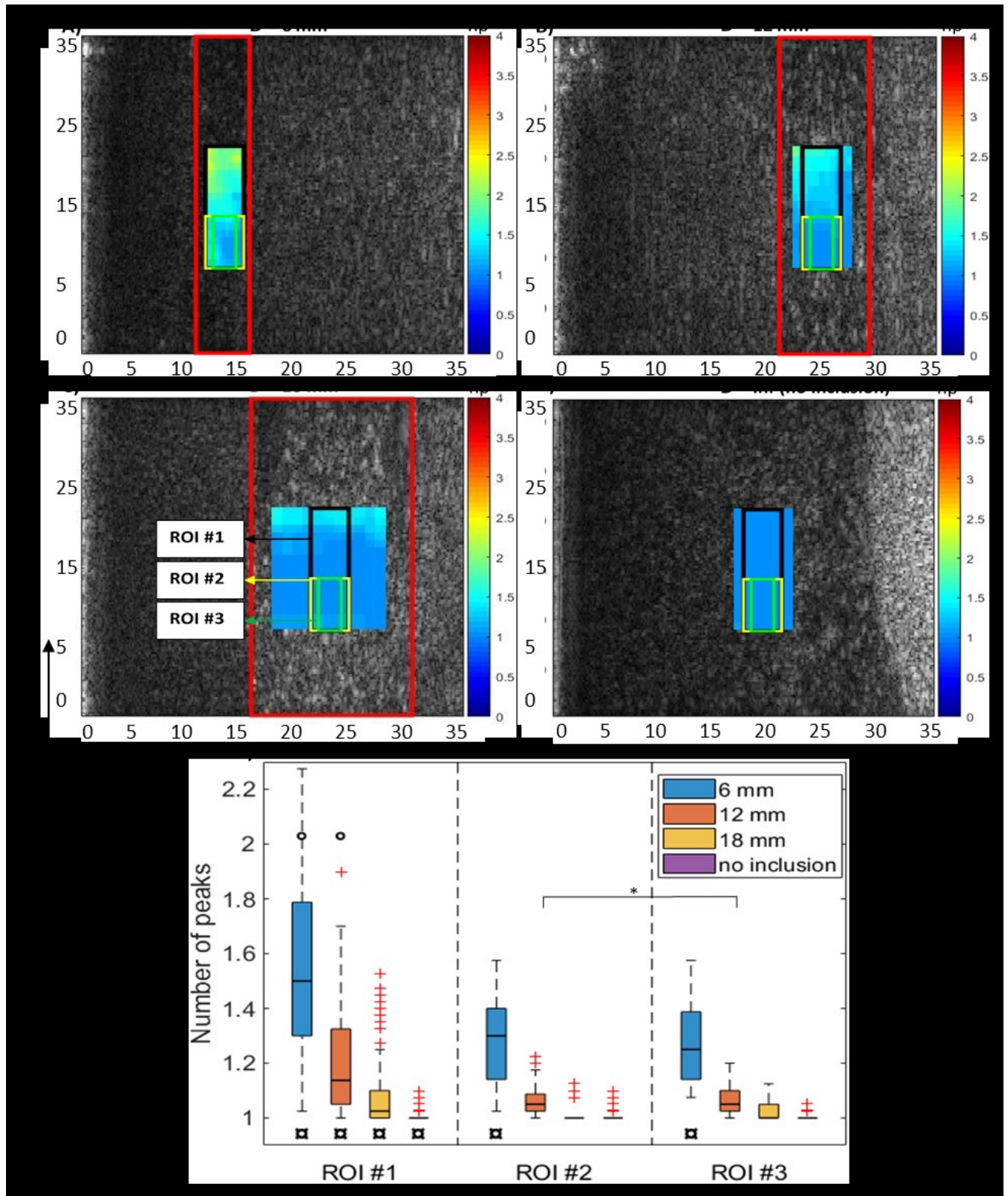


Figure 16. – (A, B, C and D) The number of peaks (np) in amplitude spectra of inclusions with different diameters. The three ROIs are represented, black for ROI #1, yellow for ROI #2,

and green for ROI #3. Red rectangles represent the size and position of the inclusion. (E) The number of peaks over ROIs with different diameters. Symbol \boxtimes indicates that the box presents significant differences (at $p < 0.001$) with all other color boxes of the same ROI. Symbol \circ indicates that the box presents significant differences (at $p < 0.001$) with all other ROI boxes of the same diameter (same color). Symbol * indicates significant differences at $p \leq 0.05$.

Figure 17 (A) summarizes the effect of the inclusion diameter on f_1 , w_1 , and d . Because those parameters are related to the amplitude spectrum and resonance phenomena, the ROI #1 was selected for those results to maximize the number of resonant peaks. One-way ANOVA tests showed statistically significant differences of dependent variables f_1 , w_1 , and d for the different inclusion diameters ($p < 0.001$). Multiple pairwise comparisons showed significant increases in f_1 between 6, 12, and 18-mm diameters versus no inclusions ($p < 0.001$). For w_1 , all comparisons showed significant differences ($p < 0.001$). The same observation was made for d ($p < 0.01$). Coefficients of variation (CV, standard deviation divided by the mean) of each parameter are displayed in **Figure 17** (B). For the three parameters, the CV decreased as the diameter increased (the homogeneous phantom can be considered as an infinite diameter), except for d for the diameter of 18 mm.

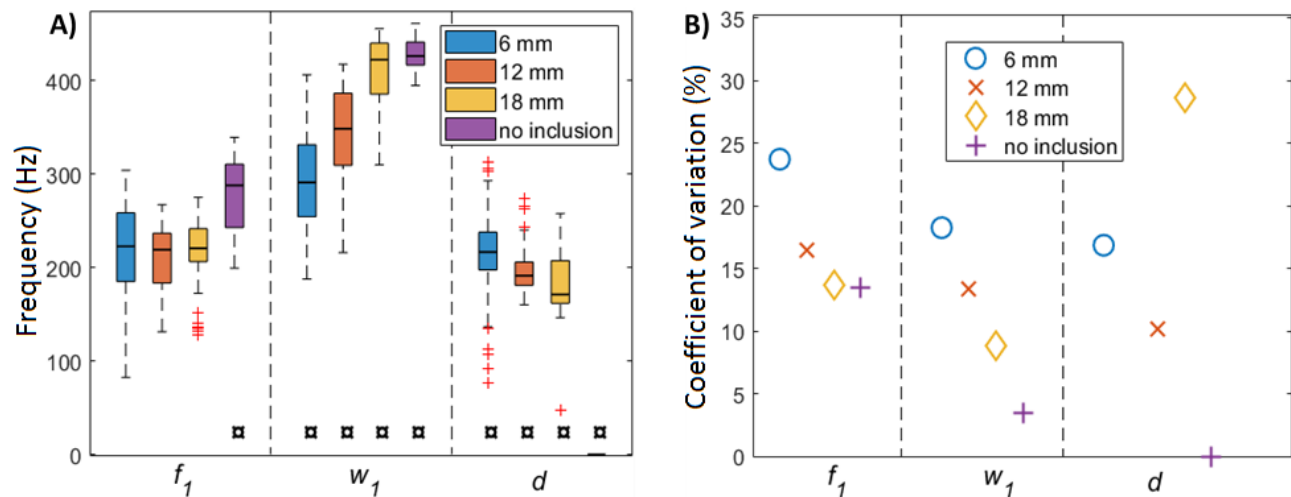


Figure 17. – (A) The effect of the inclusion diameter on f_1 (the position of the first peak of the amplitude spectrum, left), w_1 (the width at half maximum of the first frequency peak,

center), and d (the mean distance between peaks, right). Symbol α means that the box presents significant differences (at $p \leq 0.01$) with all other color boxes for the same parameter. (B) Coefficients of variation for f_1 (left), w_1 (center), and d (right), corresponding to data shown in A.

The median percentiles of the coefficient of determination R^2 related to the precision of the gamma fitting used for SW attenuation computation were calculated for the 3 ROIs of the homogeneous phantom, and for the 12-mm gel inclusion phantom (**Figure 18**). A R^2 close to 1 means that the fitting is good. This coefficient was significantly higher for the homogeneous phantom ($p < 0.001$), which had no multiple resonant peaks, than for the inclusion phantom (all ROIs combined). In the case of the gel inclusion, ROIs #2 and #3 had better fitting accuracy than ROI #1 ($p < 0.001$).

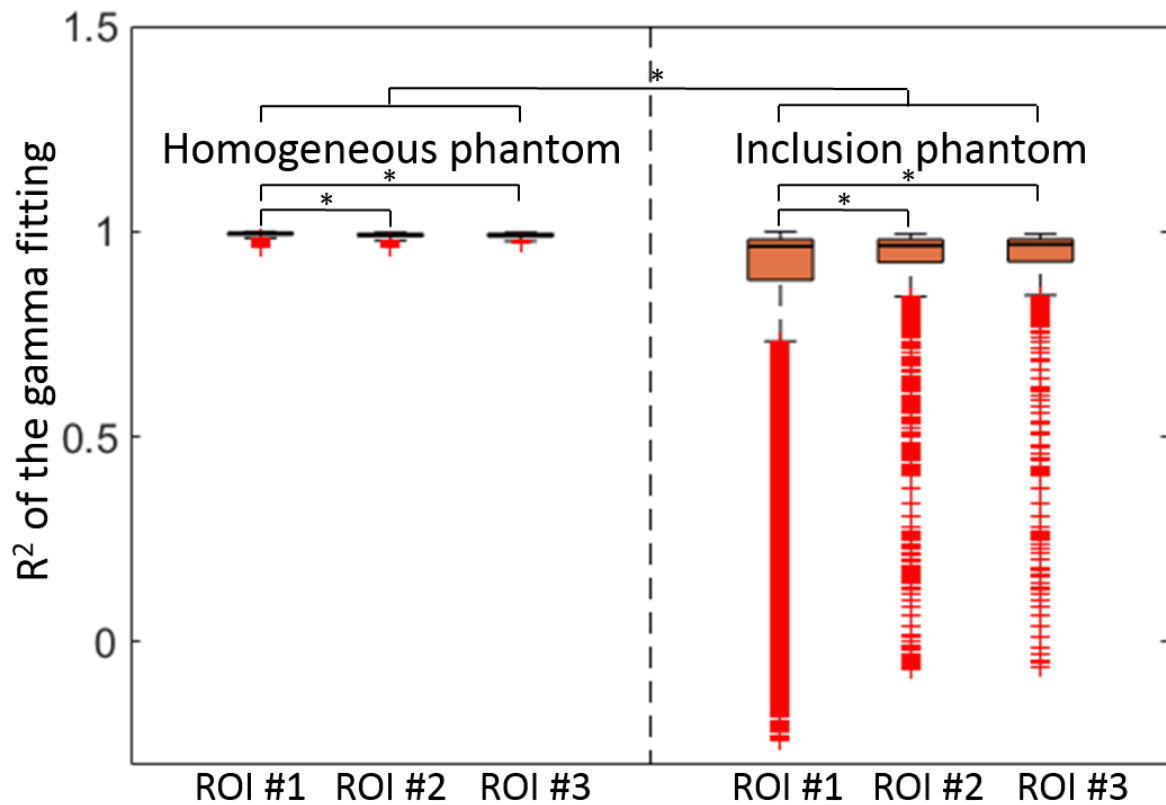


Figure 18. – Coefficients of determination R^2 of the gamma fitting used for shear wave attenuation computation. On each box, the central mark indicates the median, and the bottom and top edges of the box indicate the 25th and 75th percentiles, respectively.

Outliers are represented with the '+' red marker. Boxes of R^2 are plotted for the different ROIs in the case of the homogeneous phantom (purple), and for the 12-mm gel inclusion phantom (orange). The symbol * represents $p < 0.001$.

The elasticity of the homogeneous soft gel phantom and that of the inclusion were 2.24 ± 0.02 kPa and 1.96 ± 0.02 kPa, respectively; both gels were made with the same recipe. The elasticity of the surrounding phantom (with soft inclusions) was 9.49 ± 0.37 kPa. The SW dispersion and SW attenuation were calculated inside the homogeneous gel phantom and inside the gel inclusion of 12 mm for the three ROIs (boxplots are given in **Figure 19**). Dispersions (panel A) were lower for the homogeneous phantom ($p < 0.001$), and between ROI #2 and ROI #1 and #3 for the inclusion ($p < 0.005$). SW attenuation (panel B) was lower for the homogeneous phantom ($p < 0.001$), and between ROI #1 and ROI #2 and #3 for the inclusion ($p < 0.001$).

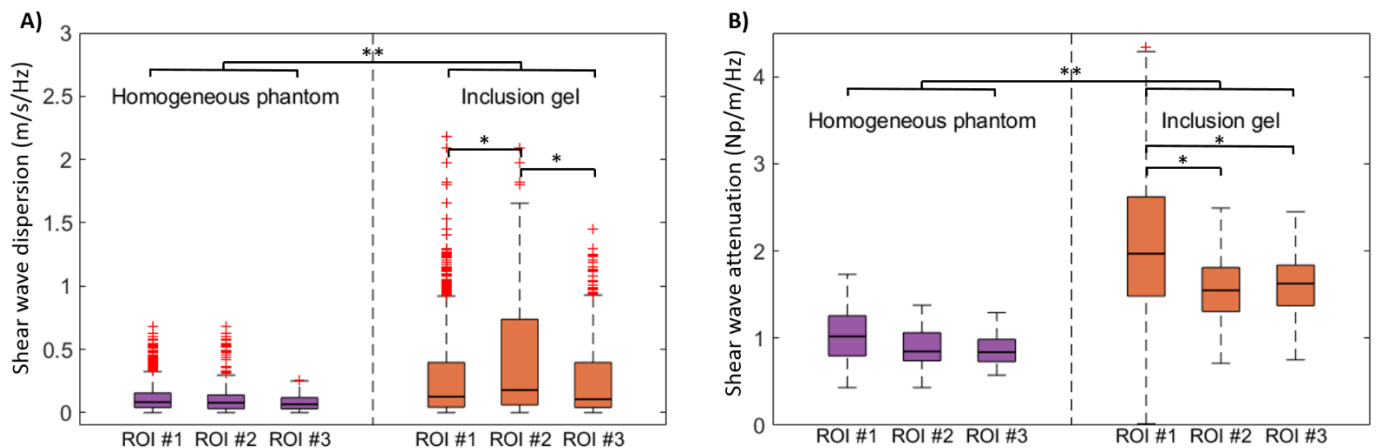


Figure 19. – (A) Shear wave dispersion and (B) shear wave attenuation coefficient comparison between no inclusion (homogeneous phantom) and the gel inclusion for the 3 ROIs. Significant differences between the homogeneous phantom and the phantom inclusion were found ($p < 0.001$, as highlighted by the symbol **). Significant differences between ROIs were found in the inclusion gel ($p \leq 0.005$), as highlighted by the symbol *.

5.4.2 Blood clot inclusions

Clot properties were assessed for 110 minutes with measurements done every 4 minutes. Parameters in **Figure 20** were averaged on a total of 20 blood clots (one per pig). The mean

Young's modulus increased over time (**Figure 20**, panel A, $p < 0.001$). The frequency and width of the first spectral peak (f_1 and w_1) and the mean distance between resonant peaks (d) were averaged over the ROI #1 for each time point to obtain single values reported in panels B, C, and D, respectively. Each color represents a different porcine blood sample. Statistically significant increases ($p < 0.001$) of f_1 , w_1 , and d as a function of the blood clot Young's modulus were observed. Goodness-of-fit parameters R^2 of linear models were 0.77, 0.60 and 0.48 for f_1 , w_1 , and d , respectively.

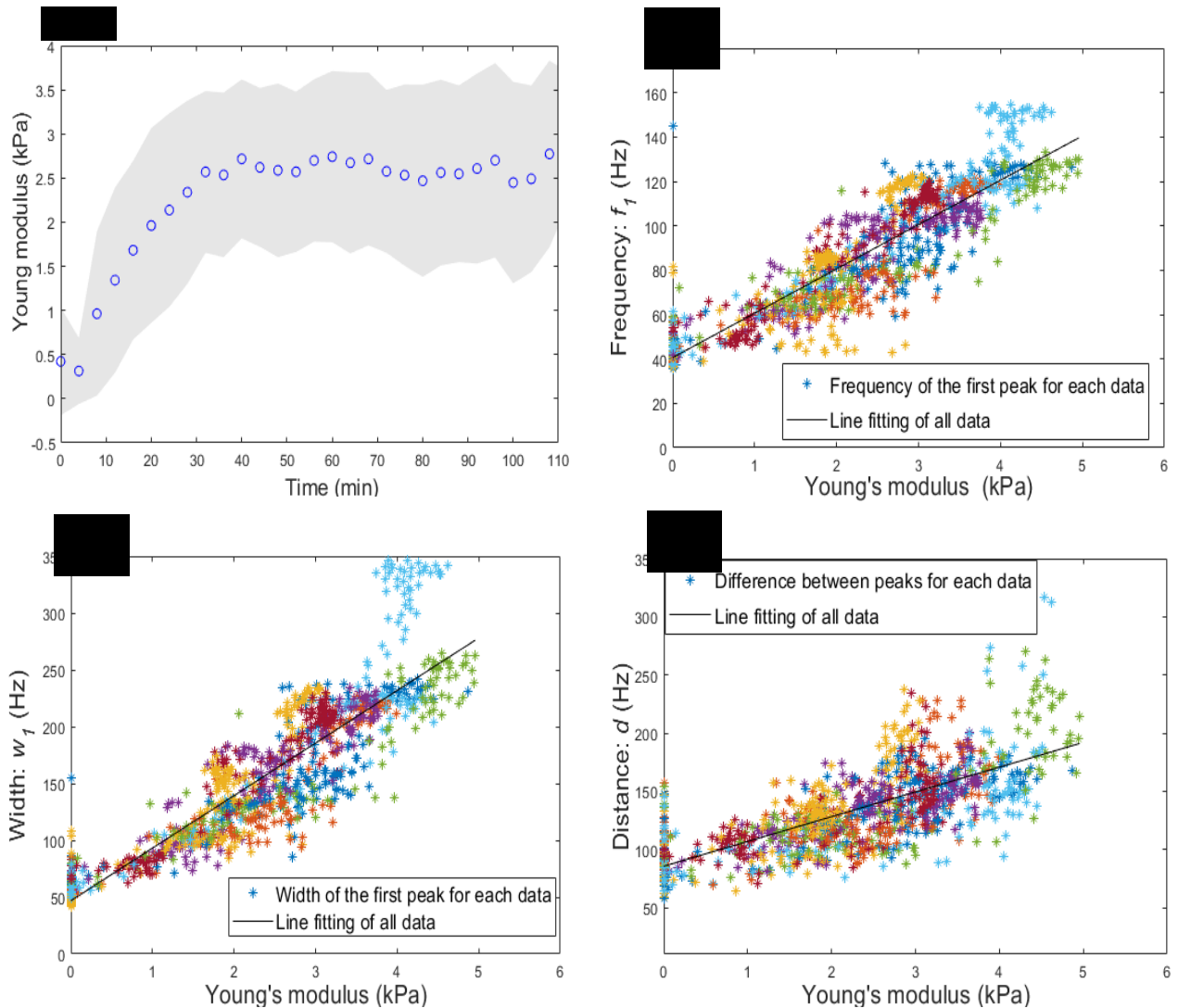


Figure 20. – (A) Blue dots represent means and the gray area standard deviations over 20 blood clots showing a significant increase over time ($p < 0.001$). (B, C, and D – colors correspond to different porcine samples) Amplitude spectrum parameters f_1 (the position

of the first peak of the amplitude spectrum), w_1 (the width at half maximum of the first peak), and d (the mean distance between peaks) for 20 blood clots in vitro. Significant increases were found for the 3 spectral parameters ($p < 0.001$). R^2 was calculated as an assessment of the goodness-of-fit ($R^2 = 0.77$ for f_1 , 0.60 for w_1 , and 0.48 for d).

The SW dispersion and SW attenuation were computed within the ROI #3 to minimize the impact of resonant peaks. The dispersion decreased over time ($p < 0.001$), as displayed in **Figure 21 (A)**. Pairwise comparisons revealed higher dispersions between 0 to 4 minutes compared with values after 24 minutes. The dispersion at 8 minutes was also significantly higher than values from 32 to 54 minutes, and 68 to 100 minutes. The SW attenuation is shown in **Figure 21 (B)**. The SW attenuation decreased over time ($p < 0.001$). Multiple pairwise comparisons showed higher values at 0, 4, 8 and 12 minutes compared with all other measurements after 30 minutes. The mean and standard deviation of R^2 related to the precision of the gamma fitting were 0.95 ± 0.06 in the case of blood clots over ROI #3.

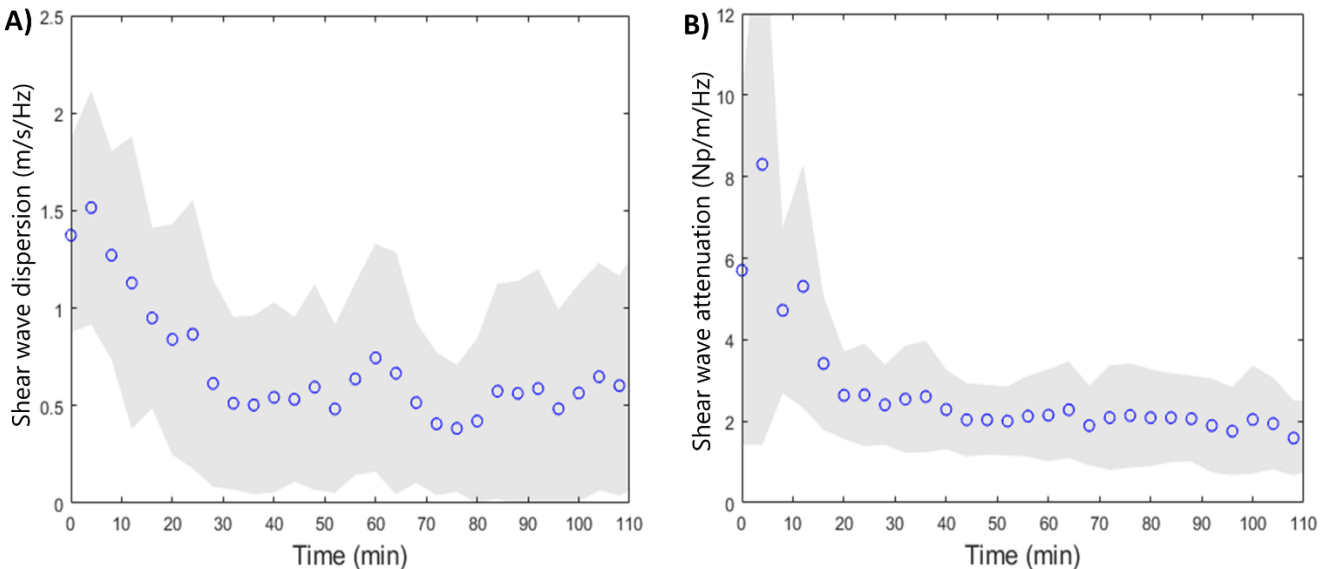


Figure 21. – (A) Shear wave dispersion over time (all data pooled). (B) Shear wave attenuation coefficient over time (all data pooled). Blue circles represent mean values and gray areas standard deviations over 20 blood clots. Significant global effects (decrease) were found for both parameters ($p < 0.001$) using ANOVA tests.

5.5 Discussion:

This work aimed to study geometrical and biomechanical effects of confined cylindrical inclusions on SW properties. Blood clot mimicking gel and coagulating blood inclusions were assessed *in vitro*.

5.5.1 Gel phantom experiments

The number of SW spectral peaks was studied for gel inclusions of different diameters, ROI size, and positions. One hypothesis was that the presence of multiple peaks is related to mechanical resonances of soft inclusions⁷⁹, and that the resonance is caused by the propagation and interaction of SWs with the inclusion boundary and surrounding tissue. During data analysis, we also observed that in a central region of the inclusion and close to acoustic radiation pushes, resonances did not have time to occur. According to **Figure 16 (E)**, a smaller inclusion diameter resulted in a higher number of peaks in amplitude spectra. The three ROIs were selected to observe spatial differences and regions where resonances were most important. The significant decrease in the number of peaks between ROI #1 and ROIs #2 and #3 supports the fact that resonances were less present near acoustic pushes.

Hadj Henni *et al.*⁸⁰ had shown amplitude spectra with multiple peaks corresponding to natural resonant frequencies of a sphere subjected to torsional waves. They excited the material with an external vibrator at the first resonant frequency, assuming that this frequency would maximize the magnitude of displacements. In our case, selecting a given frequency was not possible because SWs were induced by ultrasound pushes resulting in wideband signals (see **Figure 15**). One intuitive hypothesis could be that f_1 , w_1 , and d would increase with the inclusion diameter since fewer peaks would appear in a given frequency range. However, this hypothesis seems to go against results simulated by Bhatt *et al.*⁴⁹. They found that the frequency and half-width of the first resonant peak decreased as the diameter increased from 6 to 16 mm. The decreases were not linear and close to a plateau at 16-mm diameter for both parameters. They also linked parameters f_1 and $w_{1/2}$ (half-width of the spectral peak) to the elasticity and viscosity of inclusions using simulations, and observed a better correlation between f_1 and the elasticity and between $w_{1/2}$ and the viscosity⁴⁹. In their case, the inclusion was imaged longitudinally, and

acoustic pulses were performed outside the inclusion. Multiple peaks were not found in their study, so their simulations do not take into account observations in **Figure 15**. In our study, no significant difference was found between the different inclusion diameters for f_1 ; however f_1 was significantly larger for the gel phantom without any inclusion ($p < 0.001$) than other phantoms with inclusions. This result may be explained by the variability of datasets, which was more important for the smaller inclusion diameter. Significant increases were found for w_1 between all configurations. Decreases of d were also reported between configurations; the presence of more peaks in the same frequency range reduced the distance between them. Coefficients of variation were also reported and decreased as the diameter of the inclusion was increased for all spectral parameters (except d at the diameter of 18 mm). The high CV for d for the inclusion diameter of 18 mm could be explained in part by the lower multiple peak number in the ROI. The CV analyses could emphasize the difficulty of computing particle displacement velocity spectrum-related parameters (f_1 , w_1 , d , and SW attenuation) when reducing the diameter of a soft inclusion.

Soft homogeneous phantom gels and gel inclusions were prepared following the same recipe. However, gelation was different; the gel phantom was poured into an 800 ml square container and then placed in a refrigerator to solidify. On the other hand, the gel inclusion was poured in a hole into a cold stiffer surrounding gel and placed in the refrigerator. Small volume-dependent gelation time changes may have caused different elastic properties of phantoms.

Figure 18 showing the coefficient of determination R^2 confirmed the selection of ROI #3 to minimize the impact of resonant spectral peaks on SW attenuation computation (R^2 was significantly higher for ROI #3 than for ROI #1). The SW dispersion and SW attenuation of the homogeneous phantom showed no significant difference for the 3 ROIs. However, they were significantly higher in the inclusion phantom than in the homogeneous phantom. These higher values for the 3 ROIs may also be due to volume-dependent gelation times affecting viscosity. The calculation of the dispersion is based on the assessment of the SW speed with frequency, so the resonance phenomenon (and therefore the selection of ROIs) had less impact. The calculation of the SW attenuation appeared more accurate (smaller standard deviations) in ROIs #2 and #3 of the inclusion phantom, likely because fewer resonant spectral peaks were present in those ROIs. SW attenuation of the same order of magnitude were reported on homogeneous phantoms made

with gelatin (5%), xanthan gum (0.1-0.5%) and sigmacell (1.5%)¹²⁹. Notice on **Figure 19** the higher standard deviations for the SW dispersion than for the SW attenuation in the inclusion gel for ROIs #2 and #3, suggesting a higher precision of this latter viscosity-related measurement.

5.5.2 Blood clot experiments

The mechanisms that occur during the two hours of coagulation reflect the behavior of an acute thrombus composed of red blood cells, platelets and fibrin strands¹⁰⁸. An *in vivo* thrombus becomes chronic after several days/weeks and is characterized by the presence of collagen, a higher Young's modulus, and greater resistance to treatment than an acute thrombus¹⁰. Acute thrombi are known to be more likely to embolize and create complications^{9,222}. The type and duration of treatment therefore depend on its age, and one of the aims of this study was to characterize the clot age with new parameters such as the SW dispersion and SW attenuation.

The hematocrit was set to 40% to mimic the red blood cell concentration of healthy individuals. Lowering the hematocrit has a known impact on the blood clot Young's modulus^{215,223}; therefore, its effect on resonance parameters might deserve to be studied in the future. The diameter of the blood clot inclusion was set to 12 mm, which is larger than venous clots in lower limbs but similar to those in the common iliac and inferior vena cava²²⁴. As displayed in **Figure 16**, the selection of smaller blood clots to better mimic lower limb conditions would have emphasized resonant spectral peaks. As noticed, SW attenuation computed over the ROI #3 provided a mean R^2 value of 0.95 close to the R^2 computed for the 12-mm gel inclusion within ROI #3 (**Figure 18**), which is confirming the robustness of results.

Previous studies have also shown stiffening of blood clots over time^{13,46-51,107}. This increase is a characteristic of clot aging. However, under clinical conditions, patients, once diagnosed, are treated with anticoagulants, and no time-varying trend in Young's modulus has been observed²¹³. The variability, characterized by the standard deviations, reflects the difference in coagulation between pigs. Parameters that may have played a role in this variability include the sex of pigs, which was not specified, and the time between blood sampling and the start of the experiments, which could vary from a few minutes to 1 hour.

The increase of f_1 , w_1 , and d with the Young's modulus shows that these resonance parameters are dependent of clot properties. The geometry in our study described a longitudinal view with SWs propagating along the clot. In Bhatt *et al.*⁴⁹ study, the imaging of the clot was done with a transverse view; nevertheless, parameters f_1 and $w_{1/2}$ showed similar behaviors in their simulations as in our *in vitro* results (*i.e.*, an increase with rigidity). These findings link resonance parameters to the elastic property of the medium, suggesting that high Young's modulus materials propagate SWs at higher frequencies and with a larger bandwidth than a medium with a lower Young's modulus. If we consider peaks following the first one as resonant harmonics, an increase in d is a consequence of an increase in f_1 . In Bhatt *et al.*⁴⁹, they did not report multiple peaks, it may be due to the transverse view used in their study. Notice in panels B to D of **Figure 20** the significant variability in Young's moduli close to 0 kPa. Panel A in the same figure shows very low Young's moduli at the start of the experiments ($t=0$ and 4 minutes). The still-liquid blood was poured into the phantom at $t=0$ and SWs did not propagate (or propagated very little), increasing the noise in the associated amplitude spectra.

This study also reported the SW dispersion and SW attenuation of blood clots. The blood, via the coagulation cascade, goes from a liquid state to a gel state in a few minutes. The clot structure becomes denser over time^{44,225,226}, especially with the fibrin strand mesh compressing red blood cells and platelets. Plasma is also extracted from the clot^{225,227,228}. We expected that these phenomena would decrease the dispersion and the attenuation of SWs over time because a more compact and dense clot may tend to be less viscous than a still semi-liquid clot. The decrease in the SW dispersion and SW attenuation of clots during the first 20 minutes reflects this clotting process. ROI #3 was chosen to calculate viscosity-related parameters (SW dispersion and SW attenuation) to reduce resonances seen on **Figures 15** and **16**. Because clots are biological viscoelastic tissues, it was expected that there would be SW dispersion^{139,229} during clotting (*i.e.*, an increase of the phase velocity over frequency, as observed in **Figure 21 A**). Dispersion values are similar in magnitude to results reported by Huang *et al.*¹⁰⁶ (0.5 to 1.5 m/s/kHz for us compared to ≈ 0.9 m/s/kHz for them, as estimated from their Figure 7). Clinical ultrasound scanners can now calculate SW dispersion. We evaluated from **Figure 21** the average of the coefficients of variation for the SW dispersion (0.80 ± 0.20) and SW attenuation (0.52 ± 0.11).

Because of the lower variability of SW attenuation, it could substitute or improve SW dispersion for tissue characterization.

This study focused on the characterization of cylindrical blood clots *in vitro*. However, the shape of blood clots *in vivo* is not necessarily cylindrical, but takes the shape of the vein (or artery) in which they form. Moreover, the total occlusion of a vein (or artery) is not systematic¹⁶² and partially occluding clots with different geometries may exist. The resonance of SWs observed in our study may likely occur *in vivo*. An in-depth study of the effect of different clot shapes on resonance phenomena would be necessary for future works, both *in vitro* and *in vivo*.

Since the Young's modulus was calculated using the group velocity, and resonance phenomena are observed in amplitude spectra, we assumed that resonances did not affect the Young's modulus computation. However, other methods for calculating the Young's modulus could have been considered (guided waves²³⁰, phase velocity⁷⁶, reverberant shear waves²¹⁰), and an assessment of the potential impact of spectral resonances would need to be conducted.

5.5.3 Limitations

The pig selection and rearing conditions, feeding, sex, and time between blood collection and experiments could not be controlled as they were part of a protocol external to this study. A more precise control of these conditions and the use of coagulation tests as *a priori* information could have reduced the impact of these confounders and variations between individuals for measured parameters.

The clot geometry was chosen to be cylindrical for practical reasons related to the experimental condition (easy shape to model, practical to extract the clot from the phantom inclusion), and because this shape approximates *in vivo* conditions. However, before using the SW dispersion or SW attenuation *in vivo*, additional studies would deserve to be conducted. Since Bhatt *et al.*⁴⁹ did not report multiple resonant peaks in the transverse view, adding this image orientation for SW attenuation computation could be of interest. It may also emphasize the anisotropic behavior of blood clots.

In our experimental design, the Young's modulus of the inclusion was lower than that of the surrounding medium. This condition corresponds to acute thrombi, and consequently differences in the Young's modulus between the blood clot inclusion and the surrounding medium may no longer be the same in the case of chronic blood clots with expected higher Young's moduli. This difference may also be emphasized under *in vivo* conditions. Moreover, the surrounding medium (here a phantom) was homogeneous and way larger than the endothelial wall. Flow phantoms with a mimicking vessel wall and a heterogeneous layered structure with different Young's moduli would better reflect *in vivo* conditions (*i.e.*, endothelial wall, collagen and elastin, muscles, and surrounding tissues).

5.6 Conclusion:

Characterizing clots by their age through ultrasound measurements might help to differentiate between acute and chronic thrombi, and impact their clinical management. In this study, the Young's modulus, SW dispersion, and SW attenuation were reported for phantoms embedding clotting blood. The cylindrical shape of blood clots favored the appearance of resonances, characterized by multiple peaks on amplitude spectra. With good ROI selection, the impact of resonances could be diminished. In addition, SW dispersion and SW attenuation varied over time, demonstrating their ability to characterize the evolution of blood clots.

Acknowledgement

Authors recognize the guidance provided by Dr Manish Bhatt at the beginning of the project. This study was financed by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (#2022-03729). All authors of this article have reported no disclosures.

Chapitre 6 : Effet du traitement rt-PA sur les paramètres mécaniques et ultrasonores de caillots sanguin *in vitro* pendant la coagulation

Effect of rt-PA on shear wave mechanical assessment and quantitative
ultrasound properties of blood clot kinetics *in vitro*

Guillaume Bosio^{1,2} B.Sc., François Destrempe¹ Ph.D.,

Marie-Hélène Roy Cardinal¹ Ph.D., Guy Cloutier^{1,2,3} B.Eng., Ph.D.

¹Laboratory of Biorheology and Medical Ultrasonics, University of Montreal Hospital Research Center (CRCHUM), Montréal, Québec, Canada

²Institute of Biomedical Engineering, University of Montreal, Montréal, Québec, Canada

³Department of Radiology, Radio-Oncology and Nuclear Medicine, University of Montreal, Montréal, Québec, Canada

Corresponding author, guy.cloutier@umontreal.ca

Phone number : +1 514-890-8000 (24703)

Address : Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal

Tour Viger (local R11-464)

900 rue Saint-Denis

Montréal, Québec, Canada, H2X 0A9

Cet article, a subi sa première ronde de révision mineure en décembre 2023 et sera probablement publié sous le nom : Effect of rt-PA on shear wave mechanical assessment and quantitative ultrasound properties of blood clot kinetics *in vitro*, dans *J. Ultrasound Med.*

Running title: Ultrasound characterization of blood clots

Conflict of interest: None

Avant-propos

Dans la première étude, nous avons pu voir que le module d'Young comme unique paramètre pouvait ne pas être suffisant pour caractériser l'évolution de thrombus *in vivo* chez des patients sous anticoagulants. Le calcul de l'atténuation de l'onde de cisaillement (qui semble plus précis que la dispersion) a été rendu possible par une bonne sélection de la région d'intérêt et une compréhension des phénomènes de résonance liés à la géométrie cylindrique de nos expériences. On a vu précédemment pourquoi la caractérisation de caillots au cours du temps était importante ; on cherchera ici à caractériser l'effet de différents traitements sur les propriétés du caillot. Comprendre cet effet pourrait permettre d'avoir un marqueur indiquant si un traitement est efficace ou non et détecter si des personnes sont résistantes aux traitements. Les paramètres utilisés dans la première étude (module d'Young et ultrasons quantitatifs) ainsi que la dispersion et l'atténuation de l'onde de cisaillement ont été utilisés pour évaluer l'évolution du thrombus dans le temps avec et sans traitement.

Contribution des auteurs :

Guillaume Bosio : Mise en place des expériences, réalisation des expériences, analyse et traitement des données, statistiques, rédaction et révision de l'article.

François Destremes : Aide et discussion sur l'analyse des pics multiples et les approximations gamma, et révision de certaines parties de l'article.

Marie-Helene Roy Cardinal : Aide et discussion sur l'analyse des pics multiples et les approximations gamma, aide sur les choix des méthodes statistiques, et révision de certaines parties de l'article.

Guy Cloutier : Financement, direction et révisions de l'article.

Résumé

Objectif : Les conséquences associées aux caillots sanguins sont nombreuses et sont responsables de nombreux décès dans le monde. L'évaluation de l'efficacité du traitement est nécessaire pour le suivi des patients et pour détecter les patients résistants au traitement. Le but de cette étude était de caractériser l'effet du traitement sur des caillots sanguins *in vitro* à l'aide de paramètres quantitatifs d'échographie.

Méthode : Le sang de 10 porcs a été prélevé pour former trois caillots par porc dans des fantômes de gélatine. Les caillots ont été soumis à *i*) aucun traitement, *ii*) un traitement au rt-PA (activateur tissulaire recombinant du plasminogène) après 20 minutes de coagulation, et *iii*) un traitement au rt-PA après 60 minutes de coagulation. Les caillots ont été pesés avant et après l'expérience pour évaluer l'effet du traitement par la perte de masse. La cinétique du caillot a été étudiée sur 100 minutes en utilisant l'élastographie (module de Young, dispersion des ondes de cisaillement et atténuation des ondes de cisaillement). Les paramètres de distribution homodyne K (HKD) dérivés des statistiques de l'enveloppe échographique ont également été étudiés pendant la formation et la dissolution du caillot (rapport de puissance entre le signal diffus et le signal total et paramètre d'intensité).

Résultats : Les caillots traités ont perdu significativement plus de masse que les caillots non traités ($p < 0,005$). Une augmentation significative du module d'Young a été observée avec le temps ($p < 0,001$), et des réductions significatives ont été observées pour les caillots traités à 20 ou 60 minutes par rapport aux caillots non traités ($p < 0,001$). La dispersion des ondes de cisaillement était différente pour les caillots traités à 60 minutes par rapport aux caillots non traités ($p < 0,001$). L'atténuation des ondes de cisaillement a diminué avec le temps ($p < 0,001$) et était différente pour les caillots traités à 20 minutes par rapport aux caillots non traités ($p < 0,031$). Le paramètre d'intensité HKD a varié dans le temps ($p < 0,032$), et était plus faible pour les caillots traités à 20 et 60 minutes que pour ceux non traités ($p < 0,001$ et $p < 0,02$).

Conclusion : L'effet du traitement au rt-PA a pu être confirmé par une diminution du module d'Young et du paramètre d'intensité normalisé HKD. La dispersion et l'atténuation des ondes de cisaillement étaient sensibles aux traitements tardifs et précoces, respectivement. Le module d'Young, l'atténuation des ondes de cisaillement et le paramètre d'intensité HKD ont varié dans le temps malgré le traitement.

6.1 Abstract:

Objective: The consequences associated with blood clots are numerous and are responsible for many deaths worldwide. The assessment of treatment efficacy is necessary for patient follow-up

and to detect treatment-resistant patients. The aim of this study was to characterize the effect of treatment on blood clots *in vitro* using quantitative ultrasound parameters.

Method: Blood from 10 pigs was collected to form three clots per pig in gelatin phantoms. Clots were subjected to *i*) no treatment, *ii*) rt-PA (recombinant tissue plasminogen activator) treatment after 20 minutes of clotting, and *iii*) rt-PA treatment after 60 minutes of clotting. Clots were weighted before and after the experiment to assess the treatment effect by the mass loss. The clot kinetics was studied over 100 minutes using elastography (Young's modulus, shear wave dispersion and shear wave attenuation). Homodyne K-distribution (HKD) parameters derived from speckle statistics were also studied during clot formation and dissolving (diffuse-to-total signal power ratio and intensity parameters).

Results: Treated clots loosed significantly more mass than non-treated ones ($p < 0.005$). A significant increase in Young's modulus was observed over time ($p < 0.001$), and significant reductions were seen for treated clots at 20 or 60 minutes compared to untreated ones ($p < 0.001$). The shear wave dispersion differed for treated clots at 60 minutes versus no treatments ($p < 0.001$). The shear wave attenuation decreased over time ($p < 0.001$), and was different for clots treated at 20 minutes versus no treatments ($p < 0.031$). The HKD intensity parameter varied over time ($p < 0.032$), and was lower for clots treated at 20 and 60 minutes than those untreated ($p < 0.001$ and $p < 0.02$).

Conclusion: The effect of rt-PA treatment could be confirmed by a decrease in Young's modulus and HKD intensity parameter. The shear wave dispersion and shear wave attenuation were sensitive to late and early treatments, respectively. The Young's modulus, shear wave attenuation, and HKD intensity parameter varied over time despite treatment.

6.2 Introduction:

Blood clots are a direct response to one of the three factors that make up Virchow's triad: hemodynamic variations (stasis or turbulence), endothelial cell damage or hypercoagulability ². Clot formation in the venous system can lead to a deep venous thrombus (DVT) (located in a deep vein, often in the leg) and can evolve into pulmonary embolism if part of the clot travels and blocks pulmonary veins. This pathology affecting more than 1 in 1000 people each year in the Western world is critical and can be fatal ^{1,231,232}

Two main types of treatment are used to manage clots: anticoagulants and thrombolytics ^{31,164,233}. Anticoagulants are given by injection or orally and are intended to stop the evolution of the clot, prevent it from embolization and limit possible recurrences. Thrombolytics aim to break down the clot directly by destroying the fibrin mesh that binds it together. The side effects of these treatments range from mild abdominal pain to the risk of internal bleeding (especially for thrombolytics) ^{234–237}. The duration of administering anticoagulants is influenced by the crucial concern of DVT recurrence risk ^{238,239}. Guidelines exist ^{233,240,241} but treatment may still be prescribed for several years at the discretion of the treating physician ²³⁹. Rapid diagnosis of DVT is important for its management ^{239,242,243}. In addition, quantification of the effectiveness of the treatment is necessary for follow-up and to identify resistance in efficacy ^{38,39}. There are several methods for treatment management such as the Prothrombin Time (PT) that evaluates blood coagulation *in vitro*, which is now generalized in the International Normalized Ratio (INR) ^{244,245}. However, this test still lacks precision and standardization. The D-dimer test can also be used to prolong treatment but it is generally used to prevent the risk of recurrence ²⁴⁶. A recent study proposed to use clot structure parameters with a gel point analysis as a marker of treatment effect ²⁴². Other *in vitro* studies used the percentage of mass loss to assert the effect of a treatment ^{45,50} but this method is not amenable to *in vivo* situations.

For the above reasons, ultrasound-based methods were investigated as means of characterizing blood clots *in vitro* and *in vivo*. Early reports related clot aging to their ability to deform under a manually applied probe pressure ¹⁶⁷. The age of blood clots has also been quantitatively related to their rigidity ^{46,48,50,247}. An *in vivo* rabbit model study ⁴⁸ could successfully

separate acute from chronic thrombi with shear wave (SW) elastography. Such results have been less conclusive in humans ^{8,9,108,109}; readers may consult a systematic review of clinical studies for details ¹². The clot's resistance to thrombolytics has also been related to its stiffness and mass density ⁴⁵. With clot aging, its stiffness increases and it becomes more resistant to thrombolytics. Recent studies have focused on new quantitative ultrasound parameters to characterize blood clots, such as SW dispersion and SW attenuation ²⁴⁸, and homodyne K-distribution (HKD) parameters ²¹³.

The SW dispersion measures the frequency dependency of the SW speed ^{135,209}. The SW attenuation coefficient is a quantitative parameter that describes the ability of a medium to attenuate shear waves due to viscous effects ^{126,128,129,131}. Both parameters decreased during coagulation and stabilized after 40 minutes *in vitro* ²⁴⁸. HKD parameters based on the analysis of ultrasound speckle statistics reflect acoustical and geometric properties of scatterers in the imaged tissue ^{152,179}. Two relevant HKD parameters can be described: the diffuse-to-total signal power ratio $1/(\kappa+1)$, and μ , the intensity of the echo envelope ¹⁵². In humans treated with anticoagulants ²¹³, these parameters were evaluated over a period of 30 days post-hospitalization. Time differences of $1/(\kappa+1)$ and μ were noticed, whereas no effect of anticoagulant treatment was observed for SW elasticity.

To avoid *in vivo* confounding variables in the interpretation of results, this study aimed to characterize blood clots with different treatment (thrombolytic) conditions *in vitro*. Properties of clots were assessed using ultrasound SW elasticity, SW dispersion, SW attenuation, and HKD parameters $1/(\kappa+1)$ and μ .

6.3 Methods:

In vitro experiments were performed using blood from 10 pigs. For each pig, three clots were formed and subjected to different treatment conditions. SW elastography and HKD measurements were made during clots' formation and treatment follow-up.

6.3.1 Blood clots and phantom preparation

Porcine's blood samples (hybrid Yorkshire/Landrace) were obtained from the animal facility of the University of Montreal Hospital Research Center (Montréal, QC, Canada). A quantity of 20 ml was collected in a tube containing 0.9% sodium citrate before any drugs were administered to the pig (to conduct experimental studies independent of the current protocol). The hematocrit was set to 40% using centrifugation, plasma separation, and erythrocyte volume adjustment for all samples. Blood was then split into 3 tubes and each tube was weighed.

6.3.2 Experimental setup

For each pig, a phantom with three identical cylindrical holes of 12 mm diameter and 60 mm depth was prepared. The phantom was fabricated according to the method of Bhatt *et al*⁴⁹, using 4% gelatin (product number G-1890, Sigma Chemical, Saint-Louis, MO, USA) and 1.5% agar (product number A-9799, Sigma Chemical). Clot formation was induced by adding CaCl₂ at a concentration of 16.1 mM⁴⁵. Liquid blood from the 3 tubes was poured in each phantom hole just after the addition of CaCl₂. Ultrasound measurements were then made over a period of 100 minutes. Three recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) treatment conditions, one for each clot, were used: *i*) no treatment, *ii*) rt-PA treatment at 20 minutes, and *iii*) rt-PA treatment at 60 minutes after blood pouring. The ultrasound data recording corresponding to each rt-PA treatment condition was randomly done for each porcine sample to avoid confounding time effects. The rt-PA dose was 3.15 µg/mL, as in the *in vitro* study of Mercado-Shekhar *et al.*⁴⁵. After 100 minutes, clots were carefully removed from the inclusion, dried and reweighed. A summary of the experimental protocol is given in **Figure 22**.

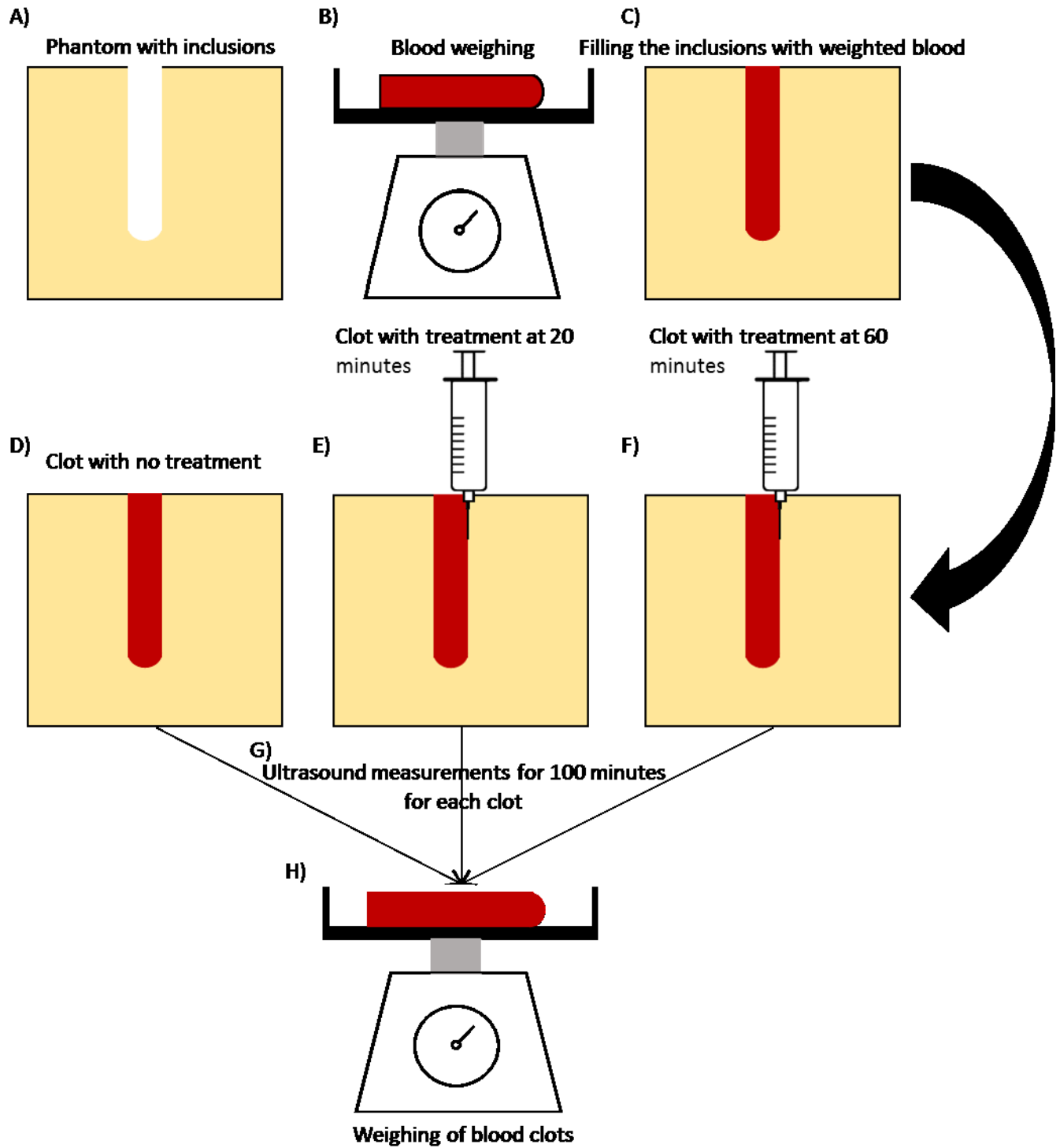


Figure 22. – Experimental setup. In A, a phantom with 3 inclusions was made. In B, the blood was split into 3 tubes and weighted. The phantom's holes were filled with blood (panel C); 3 different treatment conditions (panels D, E, F) were applied to the blood clots one after

another; measurements were made over 100 minutes on each clot (G). Clots were weighted again at the end of experiments (H).

6.3.3 Data acquisition

Ultrasound data were acquired using a Verasonics V1 scanner (Verasonics V1, Verasonics Inc., Redmond, WA, USA) equipped with a 128-element linear probe (ATL L7-4, Philips, Bothell, WA, USA) held by a clamp. SWs were generated by 3 pushes performed one below the other within the clot (in the x direction, as illustrated in **Figure 23 A**) to create a wavefront traveling in the clot longitudinal direction z . Pushes were focused using 64 probe elements centered on the 32nd element. Ultrafast ultrasound images without compounding at 4000 frames per second were acquired to track propagating SWs. Acquisitions were repeated every four minutes during blood clotting.

6.3.4 Post processing

A pictorial description of post-processing steps is given in **Figure 23**. An acquisition on a given blood clot included 99 radiofrequency signal frames (4 frames corresponding to the push duration were discarded from data analysis). At each four-minute time point, 10 successive acquisitions were made for averaging purpose. To measure elastography parameters, three-dimensional particle velocity matrix were generated using Loupas *et al.*'s algorithm²²⁰, incorporating x (width), z (depth), and t (time frames) coordinates (**Figure 23 C**). Directional filtering was applied to minimize reflected waves²⁰⁷. From the particle velocity matrix, the SW group velocity, SW phase velocity (for dispersion computation), and SW attenuation coefficient were computed using the time-of-flight²⁴⁹, shear wave spectroscopy⁷⁶, and revisited frequency-shift (R-FS)¹²⁹ methods, respectively. The selected range of frequencies for SW dispersion was 50 to 500 Hz^{209,248,250}, and 0 to 500 Hz for SW attenuation computation. Examples of SW elasticity, SW dispersion, and SW attenuation maps derived from those measures are given in **Figure 23 D, E and F**). The region of interest (ROI) for these maps had a dimension of 150×20 pixels, *i.e.* 0.5×0.5 cm centered within the clot and close to the push, as ROI #3 in²⁴⁸.

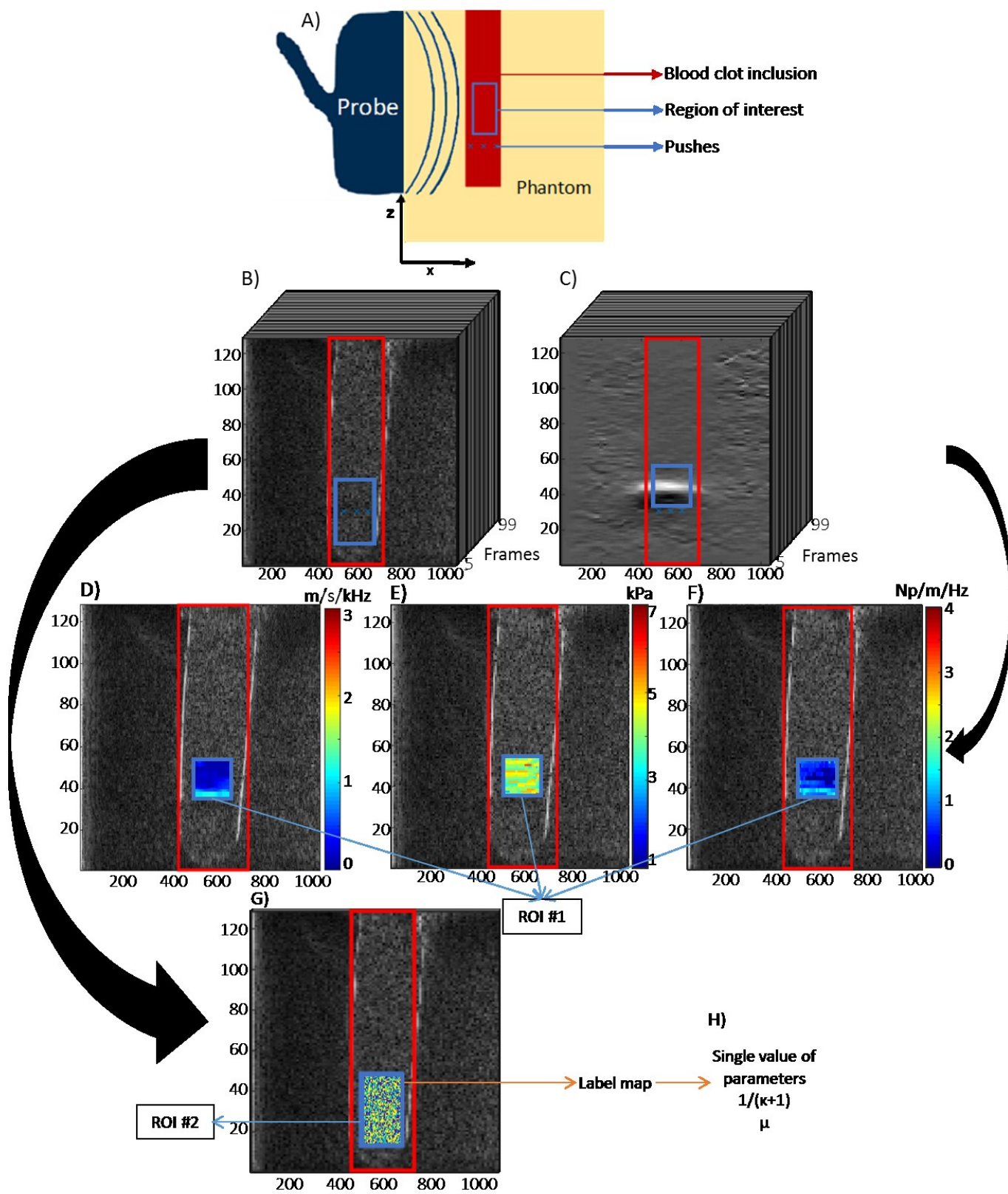


Figure 23. – Post processing steps with the second clot of pig #9 as an example. A schematic version of the acquisitions is presented in panel A. The ROI is shown for display only; the ROIs used are ROI #1 in panels C to F and ROI #2 in panels B and G. Panel B represents echo envelope maps (B-mode display) and panel C is showing particle velocity maps; images are displayed at frame number 10 (i.e., 2.5 ms), where the propagation of shear waves is visible. Ultrasound radiation pressure pushes are represented by blue crosses in panels A, B and C, ROIs by blue rectangles, and the clot position by red rectangles. Panels D, E and F represent SW parameters overlaid on the B-mode background. Panel G corresponds to the labeled map, on which HKD parameters were computed (H) overlaid on the B-mode image for display. Units are in pixels and time frames, the x-axis goes from 0 to 1000 pixels (i.e., 0 to 3.62 cm), the z-axis ranges from 0 to 128 (i.e., 3.56 cm), and frames are displayed from 5 to 99 (i.e., 1.3 to 24.8 ms).

The analysis of the echo envelope statistics was performed on ultrasound compression waves. To avoid SW propagation in processed data, the last 30 frames of each acquisition were used to derive HKD parameters. Echo envelopes were averaged over the 10 acquisitions at each four-minute time point during clot formation. A new ROI (ROI #2, 150 × 50 pixels or 0.5 × 1.2 cm) centered within the clot and with its central axis corresponding to the pushes' location was selected (**Figure 23** G and H). As in Destrempes *et al.*¹⁵², prior to the estimation of HKD parameters, pixels in the ROI #2 were classified with an unsupervised method into 3 labels. The estimation of the HK distribution of each label assumes that the sample is drawn from a single distribution. However, the selected ROI may contain different HK distributions corresponding to different tissue characteristics. To obtain a global value of $1/(\kappa+1)$ and μ over the three labels in the ROI, weighted sums of parameters were computed according to equations 3 and 4 of Destrempes *et al.*¹⁵².

6.3.5 Statistical analysis

A one-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measures and multiple *post hoc* pairwise comparisons (Tukey test) was performed to analyze the effect of treatment (i.e., no treatment and treatment at 20 or 60 minutes) on blood clot mass loss. Linear mixed models (LMM)

(independent variables: time and treatment condition) were used to confirm the impact of independent variables on SW elasticity, SW dispersion, SW attenuation, and HKD parameters. To account for repeated data acquisitions over the pigs, a random intercept was included in the LMM. Linear regression coefficients were assessed to quantify the effect (*i.e.*, if it is an increase, positive value, or decrease, negative value). The statistical significance level was fixed at $p < 0.05$.

6.4 Results:

The weight loss between blood before pouring it in the gel inclusion (before $t = 0$ min) and the final clot formation considered in this study (after $t = 100$ min) is plotted in **Figure 24**. The repeated ANOVA showed a general effect of treatment ($p < 0.001$) with a significant increase between untreated and treated pig blood clots at 20 ($p < 0.005$) and 60 minutes ($p < 0.003$).

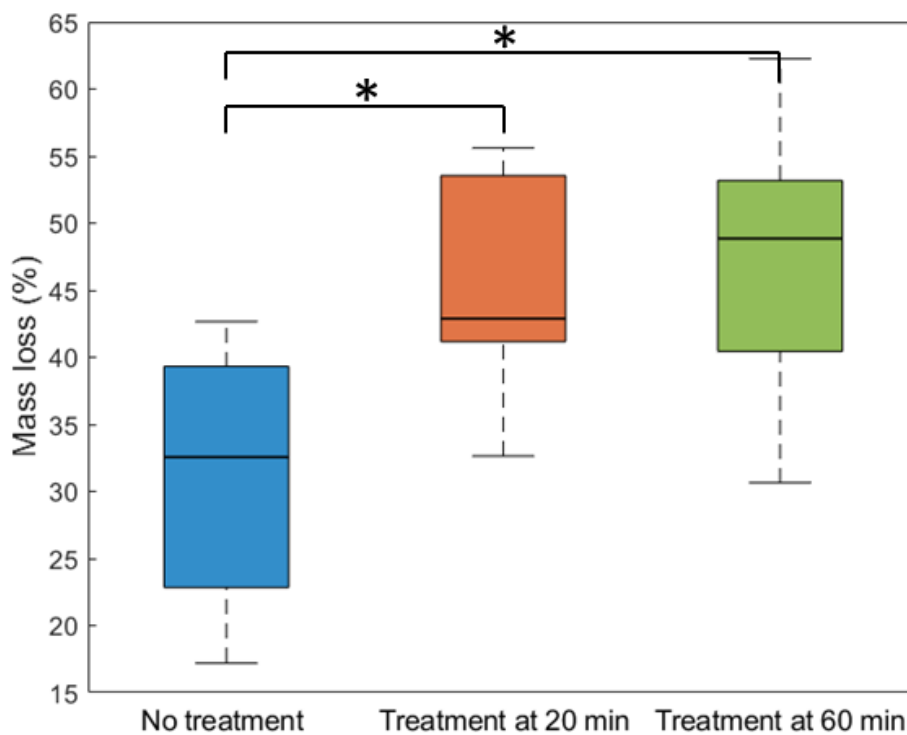


Figure 24. – Mass loss for different treatment conditions; there are $n = 10$ clots per each condition. ANOVA with repeated measures showed a significant difference of the treatment between untreated clots and treated ones ($p < 0.001$). Symbol * indicates a significant difference computed with pairwise comparisons with $p < 0.005$.

Mechanical properties characterized by the Young's modulus, SW dispersion, and SW attenuation are plotted over 100 minutes of coagulation and three different treatment conditions in **Figure 25**. The variability between pigs is displayed by the standard deviation. The LMM confirmed a significant effect of time on the Young's modulus ($p < 0.001$) with a linear regression coefficient of 0.0016 (*i.e.*, an increase over time, **Figure 25 A**). Treatment conditions effected the Young's modulus ($p < 0.001$) when comparing no treatment and both treated groups (with linear regression coefficients of -0.056 and -0.042 for clots treated at 20 minutes and 60 minutes, respectively; *i.e.*, decreases over time).

No statistically significant effect of time was observed for SW dispersion (**Figure 25 B**). A significant treatment effect was found ($p < 0.001$) for rt-PA added at 60 minutes versus untreated samples (linear regression coefficient of $-8.2e^{-5}$; *i.e.*, a decrease with treatment). Significant reductions over time were noticed for SW attenuation ($p < 0.001$, **Figure 25 C**), and the linear regression coefficient was -0.045 (*i.e.*, a decrease over time). A significant effect was found between untreated clots and clots treated at 20 minutes ($p < 0.031$), and the linear regression coefficient was 0.57 (*i.e.*, an increase with treatment).

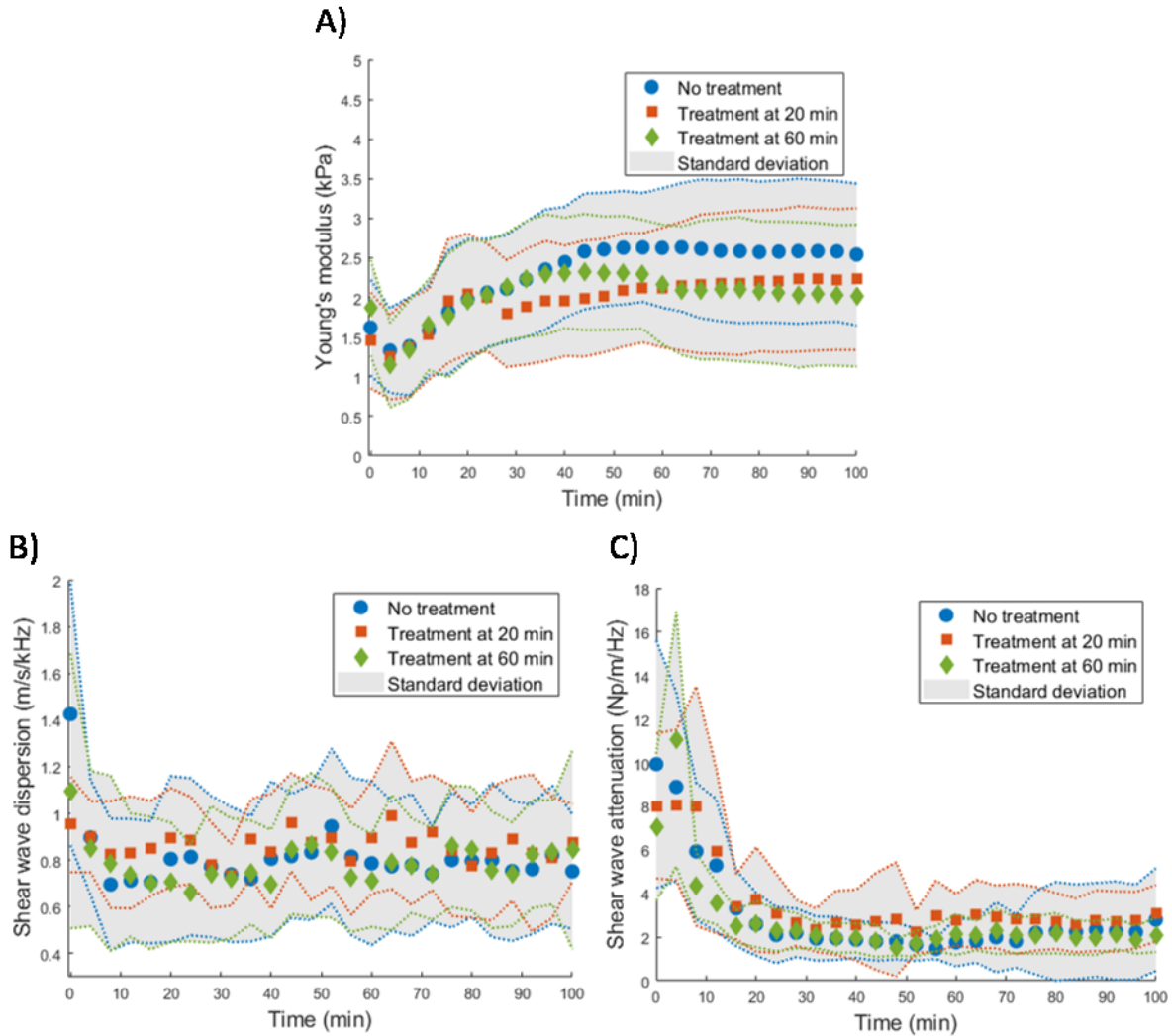


Figure 25. – Shear wave elastography parameters. The Young's elasticity modulus is displayed in panel A, the shear wave dispersion in panel B, and the shear wave attenuation in panel C, over time and for different treatment conditions. The linear mixed model showed a statistically significant effect of time on the Young's modulus ($p < 0.001$). Differences were also noticed between untreated and both treatment conditions ($p < 0.001$). A statistically significant effect of treatment was observed for shear wave dispersion between untreated clots and clots treated at 60 min ($p < 0.001$). Significant reductions over time were noticed for shear wave attenuation ($p < 0.001$), and the treatment at 20 minutes impacted this metric ($p < 0.031$). A total of 10 porcine blood samples split into 3 clots each were used, so that for each curve $n=10$. The mean \pm standard deviation over the different samples are plotted in gray.

As seen in **Figure 26 A**, no time or treatment effect was found for HKD parameter $1/(\kappa+1)$. Parameter μ varied over time ($p < 0.032$, **Figure 26 B**), with a linear regression coefficient of $-1.2e^3$ (*i.e.*, a decrease with time). Significant differences were found for μ between untreated samples and clots treated at 20 minutes ($p < 0.001$, with a linear regression coefficient of $-1.5e^5$), and 60 minutes ($p < 0.02$, with a linear regression coefficient of $-0.99e^5$). Negative values of regression coefficients signify reductions of μ with treatments at both time points.

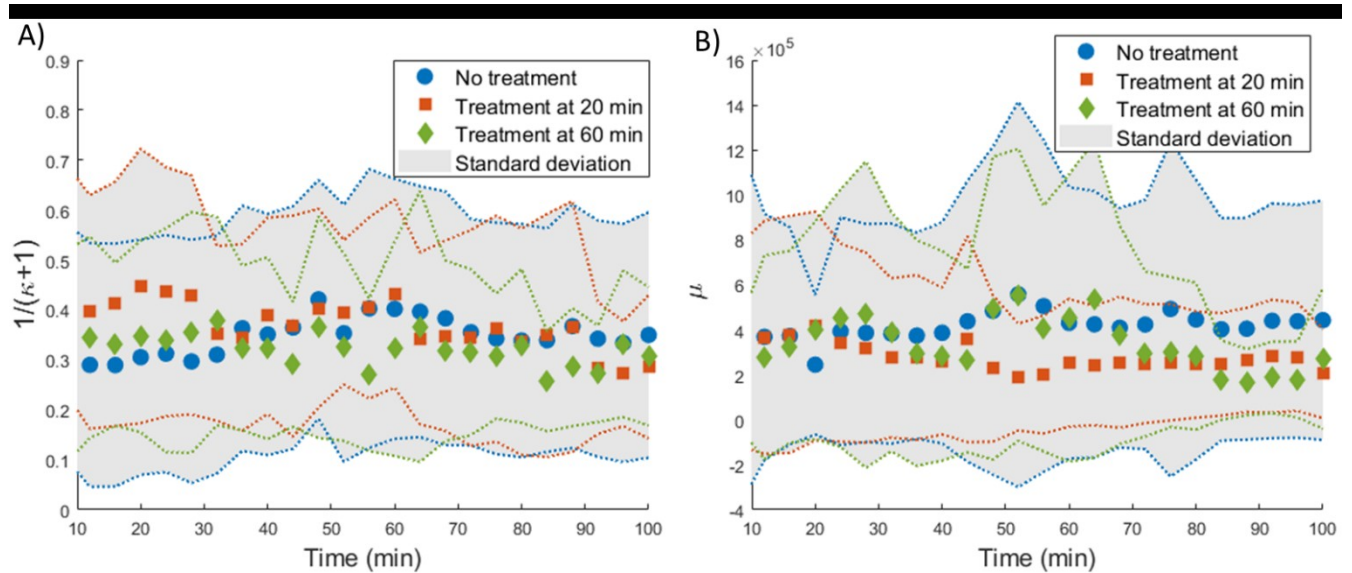


Figure 26. – Homodyne K-distribution parameters over time and for different treatment conditions. Panel A represents the diffuse-to-total signal power ratio $1/(\kappa+1)$, and panel B corresponds to the intensity of the echo envelope μ . The linear mixed model confirmed a time effect for μ ($p < 0.032$). This parameter also differed between untreated clots and clots treated at 20 and 60 minutes ($p < 0.001$ and $p < 0.02$). A total of 10 porcine blood samples split into 3 clots each were used, so that for each curve $n=10$. The mean \pm standard deviation over the different samples are plotted in gray color.

6.5 Discussion:

The age of a clot, reflected by its Young's modulus, is decisive in the choice of treatment ³⁵. Internal bleeding is one of the side effects of treatment, so it is important to be able to quickly attest on its effectiveness. The aim of this study was to investigate mechanical and acoustic properties of treated and untreated blood clots to characterize an effect of treatment non-

invasively. Ultrasound parameters used for the characterization were the Young's elasticity modulus, the SW dispersion, the SW attenuation, and two HKD parameters, which depend on acoustical and geometric properties of clot scatterers. However, HKD parameters are also affected by ultrasound system's settings, which were fixed in this work for all acquisitions. The rt-PA treatment was administered at two different time points to see an effect according to the blood clot maturation duration.

Clot weights were measured before pouring them in inclusion phantoms, and after 100 minutes of coagulation for untreated samples and two rt-PA treatment conditions. The action of rt-PA is to activate the transformation of plasminogen, which is present in the plasma, into plasmin. The plasmin degrades the fibrin strands, breaking the matrix that holds the red blood cells and platelets in place ²⁵¹. *In vitro* studies have used the weight loss as a means of characterizing the impact of treatment on blood clots ^{45,50,252-254}. This effect was shown in **Figure 24**, where treated clots had lost significantly more mass over time than untreated ones. One would expect that clots treated at 20 minutes would have lost more weight than those treated at 60 minutes. However, in our study, the time at which rt-PA was injected had no significant effect on the weight loss. In our design, no additional plasma was added to the clot, so the only plasminogen available for activation was that present in the sample to form the clot. This plasminogen limitation could explain the lack of difference in mass loss between clots treated at 20 and 60 minutes.

Mercado-Shekar *et al.* showed that highly retracted clots had higher Young's modulus and were losing less mass with rt-PA treatment ⁴⁵. We expected that by breaking fibrin strands, the clot would become less dense and its Young's modulus would decrease. In two previous studies ^{213,214}, the Young's modulus was evaluated for different treatment conditions without showing any statistical effect. The first study consisted of blood clot elastograms measured at 3 time points (day 0, day 7 and day 30) *in vivo*. This condition gave to the clot more fibrin to continue its evolution. In addition, the treatment (heparin and oral anticoagulant) used in our prior work was an anticoagulant that does not lyse the thrombus directly. The second study performed elastography *ex vivo* on excised thrombi. Extracted clots were cut and different pieces were immersed in plasma at 37° C or in plasma and rt-PA at the same temperature (the bath duration

was not specified). Clots were embedded in phantoms and elastography was performed. The non-statistically significant effect of the treatment on the Young's modulus in their study could be explained by the age of clots (more than 10 days in general), because clots do not differ significantly in composition *in vitro* after 10 days^{168,222}. In the case of the present study, significant effects of the treatment on elasticity were found between the 2 treatment conditions and untreated clots. The significant increase in the Young's modulus with clotting time is known in the literature^{46,48,50,51}, and was confirmed in our study.

As the clot forms, it becomes denser and its matrix is reinforced with fibrin strands. Our hypothesis was that by destroying these fibrin strands, the treatment would increase the clot viscosity assessed either using the SW dispersion or SW attenuation. Lower SW dispersion values for clots treated at 60 minutes does not follow our hypothesis. However, the SW attenuation increasing with treatment when given at 20 minutes is emphasizing the importance of an early detection and treatment of blood clots. The SW dispersion and SW attenuation have already been reported in a previous *in vitro* study²⁴⁸, and significant decreases were noticed over time for both parameters. Similar results were observed here for SW attenuation. Notice that the ROI selection for SW attenuation computation was made to minimize spectral resonance effects, which was recommended in our prior report²⁴⁸.

HKD parameters are usually computed on compression wave echo envelopes. Here, SWs were generated and compressional waves were used to track SW displacements. To avoid SW motion during HKD parameter assessments, we observed SW displacement maps at different time points, as in **Figure 27**. After 10 minutes of coagulation, SWs were no longer present in ROI #2 over the last 30 frames (**Figure 27 B**). Consequently, results in **Figure 26** ignored the first 10 minutes of coagulation to avoid SW motion.

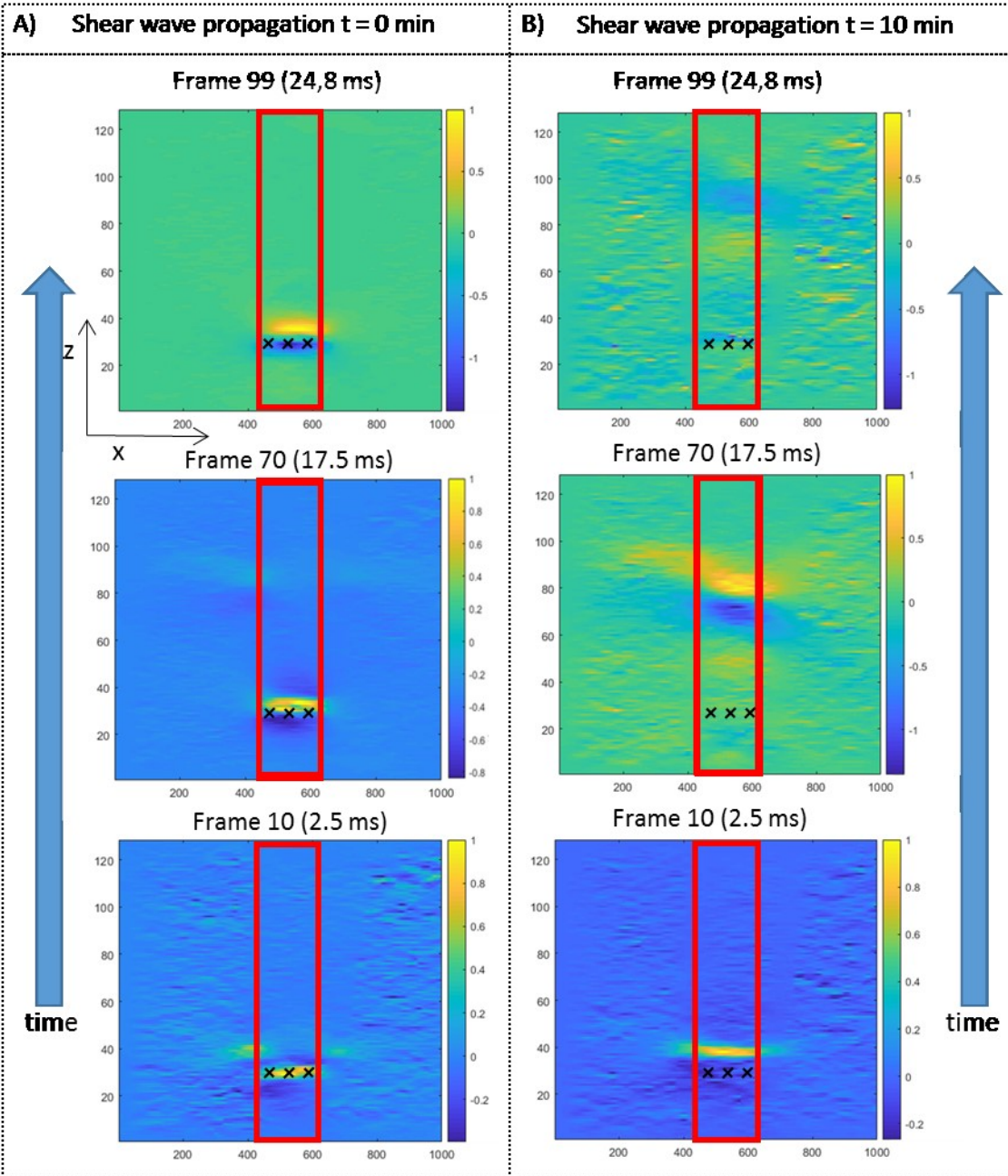


Figure 27. – Velocity maps at different times for pig #9 as an example; color bars represent the normalized shear wave speed amplitude in m/s. Panel A corresponds to velocity maps just after pouring the blood into the gel phantom inclusion; shear waves (characterized by high and low speed amplitudes) do not propagate far from the pushes' locations ($z = 32$ pixels). Blue arrows indicate the shear wave's propagation direction and time increased with frames going from 10 to 99. After 10 minutes of coagulation (panel B), shear waves

propagated faster and disappeared from the image at frame 99. Red rectangles correspond to the position of the clot. Directional filtering was applied.

The main ultrasound scatterers in blood clots are red blood cells and fibrin strands^{255,256}. The HKD diffuse-to-total signal power ratio $1/(\kappa+1)$ of a medium containing loosely structured scatterers should have a high value. In a previous report²¹³, an increase in $1/(\kappa+1)$ between clots treated with anticoagulant for 7 and 30 days was found *in vivo*. Here, measurements were taken for 100 minutes, not days, as clots *in vitro* would degrade after a few days. The treatment had no significant effect on the structure of scatterers measured with $1/(\kappa+1)$.

On the other hand, the average intensity of the echo envelope μ is a measure of echogenicity. Studies have shown that the intensity of echoes increased with clotting⁴⁴, and that dense fibrin clots were more echogenic than loose fibrin ones⁴³. We expected that μ would increase with time as fibrin strands are forming but we observed the opposite (likely because of the effect of treatments since the behavior of μ for untreated clots seems to indicate an increase). The decrease of μ with treatment as fibrin strands are broken by rt-PA was anticipated. Indeed, we observed lower values of μ for clots treated at 20 or 60 minutes versus untreated ones.

Limitations:

Part of the variability in results is due to the variability between individual pigs. Checking blood coagulation conditions with ROTEM tests could have enabled us to reduce or put into perspective this variability.

The amount of plasminogen (used for clot lysis) available is limited by the volume of blood in each sample. Greater treatment effects could have been achieved by adding plasma or plasminogen during the experiment.

The elastography sequence was performed on the Verasonics V1 scanner. If the sequence had been modified to include a section dedicated solely to calculating HKD parameters with compounding, it would have been possible to obtain the evolution of these parameters at all acquisition times.

The diameter of the *in vitro* clots in this study was 12 mm, the size of a clot completely obstructing the vena cava. However, *in vivo*, clots do not always completely obstruct a vein, and may be present in smaller veins, thus favoring shear wave reflection and resonance phenomena. The position and size of the ROI were selected to limit the effects of reflections and resonance, but other approaches, such as guided waves ²⁵⁷, could have been explored to address these phenomena.

In this work, clots are considered homogeneous and isotropic. If we wanted to address heterogeneous or anisotropy, a solution would have been to look at the clots at different locations in order to test their homogeneity, as was done by Lui *et al.* ¹⁶⁸, or to change the orientation of the probe in order to test the isotropy of the clots ^{82,258}.

6.6 Conclusion:

The monitoring of clot aging reflected by changes in mechanical or structural properties has the potential to be determined by ultrasound means. In this *in vitro* study, the evolution of blood clots over 100 minutes and the effect of rt-PA treatment could be demonstrated, which may be helpful to detect lytic resistance. The Young's modulus of blood clots decreased significantly with treatment, making it an interesting parameter for patient monitoring. The SW dispersion was sensitive to late treatment whereas SW attenuation was modified by the early treatment and evolved with time. The analysis of the speckle statistics with the HDK parameter μ also decreased with treatment; it has thus the potential of being used as a complement to SW viscoelastography measures.

Conflict of interest: All authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements: This study was financed by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (#2022-03729).

Chapitre 7 : Discussion et conclusion

7.1 Discussion générale

Dans cette thèse, nous avons cherché à améliorer les connaissances existantes sur les propriétés des caillots sanguins. Le risque de développer des syndromes post thrombotiques après une TEV est de 40% ²⁵⁹ et le risque de récurrence de thrombus est de 25% dans les 5 ans ³⁷. Les thrombus traités dans leur phase aiguë, c'est-à-dire dans les premiers jours de leur formation sont plus sensible à la lyse ²⁶⁰. Cela se comprend en considérant leur composition qui est encore majoritairement constituée de brins de fibrine, de plaquettes et de globules rouges. Les traitements actuels agissent sur la dégradation des brins de fibrine (en utilisant la réponse naturelle du corps ou avec des rt-PA) et sont donc particulièrement efficace pour de jeunes thrombus. Cependant, en vieillissant le thrombus change et du collagène se forme le rendant de plus en plus résistant à la lyse ⁹. Ce vieillissement est également caractérisé par sa rigidité, qui en fait un paramètre prometteur dans l'étude des caillots.

La rigidité avec le module d'Young, la DOC, l'AOC ainsi que des paramètres d'ultrasons statistiques ont été étudiés dans cette thèse afin d'améliorer la caractérisation des caillots. Si le traitement et sa durée sont le plus souvent dépendants de la position (*i.e.*, si c'est une TVP, EP ou un AVC) et l'âge du caillot, on pourrait supposer que dans le futur, sa caractérisation mécanique et ultrasonore influencerait également ces choix. Le fait d'avoir une idée quantitative des propriétés des caillots pourrait permettre une uniformisation des durées de prescription et des doses d'anticoagulants.

Les travaux de recherche effectués se sont basés sur plusieurs hypothèses concernant la formation de caillots sanguins veineux.

Formulation des hypothèses

Le corps possède son propre moyen pour lyser un caillot avec la libération de t-PA stocké dans l'endothélium. Cependant, le processus peut être long et les caillots peuvent rester plusieurs mois dans l'organisme avant d'être dissous ⁹. Les traitements par anticoagulants ont pour but d'empêcher l'évolution des caillots en bloquant l'activation d'un des facteurs de la cascade de

coagulation ^{16,18}. De tels traitements devraient donc empêcher l'augmentation du module d'Young et de l'intensité du signal rétrodiffusé au cours du temps.

Les paramètres liés à la distribution homodyne K étaient plus exploratoires car moins facilement reliés à la biologie des caillots. Ces paramètres dépendent de la géométrie et de l'intensité des rétrodiffuseurs ultrasonores. Il a été montré que les principaux réflecteurs d'ondes ultrasonores dans les caillots sont les globules rouges et les brins de fibrine ⁴³. Lors d'un traitement aux anticoagulants, on s'attendait donc à ce que l'intensité du signal stagne puis diminue avec le temps (avec la diminution des composés du caillot).

Lors de la formation d'un caillot, le sang passe d'un état liquide à un gel voir un solide. Dans nos hypothèses de recherche, nous avons suggéré que la densification du caillot et l'extraction du plasma liquide risquaient de diminuer l'atténuation de l'onde de cisaillement qui perdrait sûrement moins d'amplitude qu'en traversant un caillot poreux semi-liquide. On s'attend à ce que la DOC reflétant la partie visqueuse du caillot au même titre que son atténuation diminue également au cours de la formation et de la densification du caillot. L'arrangement des diffuseurs pourrait devenir plus cohérent avec la coagulation mais aucune étude préalable ne nous permet de le confirmer. Concernant le calcul de l'AOC, une hypothèse ayant motivé la sélection de différentes ROI est que les phénomènes de résonance n'auraient probablement pas le temps de survenir si on plaçait la ROI proche de la zone des « poussées » acoustiques et centrée dans le caillot. C'est cette position qui a été choisie pour notre troisième étude de ce travail.

L'utilisation de rt-PA lyse directement le caillot et est souvent employé pour des cas graves d'EP ou d'AVC. On s'attendait à ce que ce traitement, ayant un effet immédiat, agisse également rapidement sur les propriétés du caillot. En effet, on s'attend à ce que la destruction du maillage de brins de fibrine amène à une diminution de la densité et sans doute une diminution du module d'Young. Pour les mêmes raisons, on s'attendait également à une augmentation de la DOC et de l'AOC lors de la dissolution. L'intensité de la rétrodiffusion exprimée à l'aide du modèle homodyne K devrait diminuer avec l'utilisation de thrombolytiques, le caillot perdant ses composants échogènes.

Récapitulatifs des hypothèses/résultats attendus, numérotées de H1 à H8 :

- Diminution ou stagnation (si le temps est trop court) du module d'Young en cas de prise d'anticoagulant, **H1**
- Diminution ou stagnation (si le temps est trop court) de l'intensité du signal (paramètre μ de la modélisation HKD) en cas de prise d'anticoagulant, **H2**
- La résonance sera minimale dans une ROI proche des « poussées » acoustiques, **H3**
- La DOC du caillot diminue avec le temps, **H4**
- L'AOC du caillot diminue avec le temps, **H5**
- Diminution du module d'Young avec traitement au rt-PA, **H6**
- Augmentation de la DOC avec traitement au rt-PA, **H7**
- Augmentation de l'AOC avec traitement au rt-PA, **H8**
- Diminution de l'échogénicité (paramètre μ de la modélisation HKD) avec traitement au rt-PA, **H9**

7.1.1 Première étude

La première étude s'est intéressée au module d'Young et aux paramètres homodyne K chez des patients présentant des TVP *in vivo*. Les patients étaient sous anticoagulants et aucune différence significative du module d'Young n'a été relevée entre le jour 0, le jour 7 et le jour 30. Il est possible que plus de temps soit nécessaire afin d'observer la diminution évoquée dans nos hypothèses. Les paramètres homodyne K liés à l'arrangement des diffuseurs ont montré une désorganisation entre le jour 0 et le jour 7 ce qui pourrait correspondre à des risques plus élevés d'EP. Cependant, une étude plus poussée sur la signification de ces paramètres est nécessaire afin de les lier à l'arrangement des diffuseurs et à l'arrangement des cellules/composés du caillot. L'intensité du signal rétrodiffusé (paramètre μ) a augmenté significativement entre le jour 0 et le jour 30 montrant que les rétrodiffuseurs sont toujours présents et augmentent malgré l'usage d'anticoagulants.

Dans cette étude, nous avons vu qu'avec un traitement aux anticoagulants on n'observait pas de différence significative du module d'Young au cours du temps mais que certains paramètres HKD avaient significativement changés. Ces paramètres HKD ont donc été utilisés dans la troisième étude de cette thèse afin d'attester l'effet du traitement. Le paramètre $1/\alpha$ n'a pas été gardé pour la dernière étude après discussion avec les co-auteurs car son calcul est moins précis que les autres paramètres et son interprétation plus complexe.

7.1.2 Seconde étude

Dans notre seconde étude, nous nous sommes intéressés à la DOC, à l'AOC ainsi qu'aux phénomènes de résonances liés à la géométrie du caillot. La présence de résonances peut se caractériser par un spectre d'amplitude comportant plusieurs pics. Des paramètres peuvent être extraits de ces pics comme la largeur à mi-hauteur du premier pic, sa position en fréquence ou encore la distance moyenne entre les différents pics. Si ces paramètres ont pu être analysés et reliés à l'élasticité du caillot, la présence de pics multiples n'est pas compatible avec le calcul de l'AOC. Cependant, l'étude de ce coefficient dans plusieurs régions d'intérêt a permis de montrer que les phénomènes de résonance n'ont pas encore lieu proche de la génération des « poussées » acoustiques. La DOC et l'AOC ainsi calculées ont montré une diminution au cours de la coagulation. Nous avons vu que le calcul de l'AOC était réalisable sous certaines conditions.

7.1.3 Troisième étude

La dernière étude s'est intéressée aux effets du traitement sur les paramètres mécaniques et ultrasonores : soit le module d'Young, la DOC, l'AOC et les paramètres de la distribution homodyne K. La caractérisation des caillots est importante pour leur prise en charge et attester que l'effet des traitements pourrait permettre de : *i*) mieux contrôler leur dose et la durée d'administration afin de minimiser les effets secondaires des traitements ; *ii*) détecter les patients résistants aux traitements. Les différents paramètres ont été relevés au cours de la coagulation du caillot *in vitro* ayant subi une des trois conditions de traitement suivante : *i*) pas de traitement ; *ii*) un traitement au rt-PA après 20 minutes de coagulation ; et *iii*) un traitement au rt-PA après 60 minutes de coagulation. Le module d'Young a diminué significativement entre les caillots traités (à 20 et 60 minutes) et ceux non traités. La DOC a montré une différence significative entre

les caillots traités à 60 minutes et ceux non traités. L'AOC a révélé une augmentation significative pour les caillots traités à 20 minutes par rapports à ceux non traités. Le paramètre HKD μ a diminué significativement entre les caillots traités et ceux non traités. Ces résultats s'inscrivent dans les hypothèses formulées si ce n'est que la DOC n'a pas augmenté entre les caillots traités et non traités. Les méthodes de calcul de l'AOC sont encore en développement et il serait intéressant de recalculer ce paramètre avec des méthodes plus robustes prenant en compte la géométrie des caillots.

7.1.4 Hypothèses vs résultats

L'hypothèse **H1** n'a pas vraiment été confirmée car on s'attendait à ce que 30 jours soient suffisants pour voir des changements dans l'élasticité des caillots *in vivo*. L'hypothèse **H2** n'a pas été validée, l'augmentation du paramètre μ montre que le caillot est loin d'être dissout au 30^{ème} jour. Les hypothèses **H3**, **H4** et **H5** ont pu être confirmées dans la seconde étude. Celles **H6**, **H8** et **H9** ont été confirmées dans la troisième étude, mais pas **H7** où les effets significatifs du traitement sur la DOC n'ont pas eu la direction escomptée (une diminution au lieu d'une augmentation).

7.2 Originalité des travaux

7.2.1 Élasticité *in vivo*

Une nouveauté de cette étude réside dans le calcul du module d'Young et des paramètres HKD *in vivo* chez l'humain au cours du temps. Cela a été possible grâce à la collaboration d'une équipe clinique à Grenoble qui a réalisé les acquisitions sur les patients et partagé les données. Plusieurs études s'intéressant au module d'Young pendant l'évolution du caillot *in vitro* avec du sang animal ou humain et *in vivo* chez l'animal avaient déjà été réalisées. Ces études obtiennent des résultats différents des nôtres, probablement du fait de la prise d'anticoagulants obligatoire dans le contexte clinique de notre étude.

7.2.2 Dispersion de l'onde de cisaillement

La DOC n'est pas nouveau et a déjà été étudié dans le cadre de caillots sanguins ^{13,215,223}. Cependant, ces travaux utilisaient la DOC comme un outil pour calculer la viscosité et non comme

paramètre indépendant. La dispersion a déjà montré des résultats encourageant dans la caractérisation de la stéatose du foie ^{95,261,262} et sa récente disponibilité sur des échographes cliniques en fait un paramètre de choix pour de futures études. La nouveauté ici a été de reporter la DOC au cours de la formation du caillot et l'effet du rt-PA sur la DOC.

7.2.3 Atténuation de l'onde de cisaillement

Une des originalités principales de cette thèse est le calcul de l'AOC pour caractériser le caillot. En calculant ce coefficient on prend en compte la partie visqueuse du caillot pouvant refléter un état liquide ou poreux. La diminution significative de ce paramètre pendant la coagulation en fait, au même titre que le module d'Young, un potentiel marqueur de l'âge des caillots. Une autre originalité a été de trouver où et comment calculer ce paramètre dans le cas d'inclusions cylindriques. L'augmentation significative de ce paramètre pour les caillots traités à 20 minutes contre ceux non traités en fait un potentiel marqueur de l'effet de traitement thrombolytique.

7.2.4 Effet du traitement sur l'élasticité

À notre connaissance, nous sommes les premiers à reporter l'effet de la prise de rt-PA pendant la coagulation sur les différents paramètres mécaniques. Plusieurs études se sont intéressées à l'effet de la rigidité du caillot sur sa sensibilité à la lyse, montrant que les caillots plus rigides y étaient moins sensibles. La diminution de la rigidité du caillot après injection d'urokinase directement dans le caillot a été étudié par Bernal *et al.* ¹⁰⁷. Cependant, les conditions de notre étude sont plus proches des conditions *in vivo* et l'ajout de l'effet du paramètre HKD μ avec le traitement est aussi un nouveau résultat pouvant être utiles cliniquement.

7.2.5 Paramètres homodyne K et caillots sanguins

L'utilisation des paramètres HKD pour la caractérisation de tissus biologiques est assez récente et aucune étude n'avait regardé ces paramètres dans le cas de caillots. Les résultats novateurs sont : l'augmentation du paramètre μ (l'intensité du signal rétrodiffusé) et la diminution de $1/(\kappa+1)$ (l'arrangement des rétrodiffuseurs) pour des caillots *in vivo* au cours du temps chez des patients sous anticoagulants; la diminution de μ dans des caillots *in vitro* avec prise de traitement.

7.3 Travaux futurs

7.3.1 Atténuation de l'onde de cisaillement

Les travaux futurs sur ce paramètre pourraient s'intéresser à développer de nouveaux algorithmes robustes aux résonances. Une des idées (décrite en annexe) pour cela, est d'utiliser des approximations gamma pour chacun des pics multiples du spectre d'amplitude. Cependant, cette méthode ne suit pas les hypothèses de la méthode FS. L'étude de l'AOC sur une durée de coagulation plus longue (plus de 100 minutes) *in vivo* serait intéressante pour savoir si, comme le module d'Young, ce coefficient pourrait permettre de différencier les thrombus aigus des bénins.

7.3.2 Effet du traitement sur les propriétés mécaniques et acoustiques

Des travaux futurs pourraient chercher à confirmer les résultats obtenus sur l'effet du traitement avec différentes doses de rt-PA pour voir comment le module d'Young, la DOC, l'AOC et le paramètre μ sont affectés. De plus, un changement de la mise en œuvre de l'expérience afin d'alimenter le caillot en plasma pourrait être intéressant. Avec une telle configuration, on pourrait potentiellement voir plus de différences entre les caillots traités à 20 minutes et ceux traités à 60 minutes. Une étude clinique pourrait effectuer une élastographie avant et après la prise d'anticoagulants chez des patients présentant des TVP. À terme, le but pourrait être d'avoir une dose de traitement proportionnelle à l'élasticité ou à l'AOC du caillot. De plus, avec un suivi en élastographie, on pourrait voir si la dose est suffisante pour faire diminuer l'élasticité du caillot, son AOC ou μ , associées à une destruction de ce dernier.

7.3.3 Paramètres homodyne K

Ces paramètres servent à décrire l'arrangement et l'intensité des diffuseurs. Des études centrées sur les liens entre les éléments biologiques du tissu imagé et ces paramètres permettraient des discussions et applications plus poussées. Plusieurs pathologies comme la fibrose et la stéatose du foie sont complexes à catégoriser sans biopsie et des paramètres pouvant exprimer un arrangement biologique pourraient être déterminants dans ces diagnostics. Dans le cadre de caillots sanguins, savoir si l'arrangement des éléments rétrodiffusant les ultrasons correspond à un arrangement biologique particulier serait une avancée intéressante. De plus, des classes

d'appartenance des pixels des images HKD sont calculées en amont des paramètres, classes qui pourraient potentiellement servir à différencier les différents éléments figurés du sang.

7.4 Conclusion générale

Cette thèse a permis d'identifier de nouveaux marqueurs permettant de caractériser l'évolution de caillots *in vitro* et *in vivo*. Il a également été montré une diminution du module d'Young et du paramètre μ de la distribution HKD (associé à l'échogénicité) en fonction du traitement, ainsi qu'une augmentation de l'atténuation de l'onde de cisaillement pour les caillots traités rapidement. Ces paramètres ont donc un potentiel pour attester de l'efficacité du traitement. Cette thèse a eu pour but d'agir comme une nouvelle pierre apposée sur un cairn afin d'orienter de futurs chercheurs et étudiants vers une meilleure compréhension et prise en charge des caillots sanguins.

Références bibliographiques

1. Heit JA. Epidemiology of venous thromboembolism. *Nat Rev Cardiol* 2015; 12: 464–474.
2. Wolberg AS, Aleman MM, Leiderman K, Machlus KR. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited. *Anesth Analg* 2012; 114: 275–285.
3. Smith SA, Travers RJ, Morrissey JH. How it all starts: initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2015; 50: 326–336.
4. Schenone M, Furie BC, Furie B. The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol* 2004; 11: 272–277.
5. Wolberg AS, Campbell RA. Thrombin generation, fibrin clot formation and hemostasis. *Transfus Apher Sci* 2008; 38: 15–23.
6. Chernysh IN, Nagaswami C, Kosolapova S, et al. The distinctive structure and composition of arterial and venous thrombi and pulmonary emboli. *Sci Rep* 2020; 10: 1–12.
7. Kupis RW, Goldman-mazur S, Polak M, Ząbczyk M, Undas A. Faster fibrin clot degradation characterizes patients with central pulmonary embolism at a low risk of recurrent peripheral embolism. *Sci Rep* 2019; 9: 1–8.
8. Durmaz F, Gultekin MA. Efficacy of shear wave elastography in the differentiation of acute and subacute deep venous thrombosis. *Ultrasound Q* 2021; 37: 168–172.
9. Czaplicki C, Albadawi H, Partovi S, et al. Can thrombus age guide thrombolytic therapy? *Cardiovasc Diagn Ther* 2017; 7: S186–S196.
10. Stanford SN, Sabra A, D'Silva L, et al. The changes in clot microstructure in patients with ischaemic stroke and the effects of therapeutic intervention: a prospective observational study. *BMC Neurol* 2015; 15: 1–8.
11. Wells PS, Ithaddadene R, Reilly A, Forgie MA. Diagnosis of venous thromboembolism: 20 years of progress. *Ann Intern Med* 2018; 168: 131–140.

12. Santini P, Esposto G, Ainora ME, et al. Ultrasound elastography to assess age of deep vein thrombosis : a systematic review. *Diagn Interv Imaging* 2023; 13: 2075.
13. Bernal M, Gennisson JL, Flaud P, Tanter M. Correlation between classical rheometry and supersonic shear wave imaging in blood clots. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 2123–2136.
14. Shaydakov M, Sigmon D, Blebea J. Thromboelastography.
15. Yeh CH, Hogg K, Weitz JI. Overview of the new oral anticoagulants: opportunities and challenges. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35: 1056–1065.
16. Black SA, Cohen AT. Anticoagulation strategies for venous thromboembolism: moving towards a personalised approach. *Thromb Haemost* 2015; 114: 660–669.
17. Sant'Anna RT, Leiria TL, Nascimento T, et al. Meta-analysis of continuous oral anticoagulants versus heparin bridging in patients undergoing CIED surgery: reappraisal after the BRUISE study. *Pacing Clin Electrophysiol* 2015; 38: 417–423.
18. Mekaj YH, Mekaj AY, Duci SB, Miftari EI. New oral anticoagulants: their advantages and disadvantages compared with vitamin K antagonists in the prevention and treatment of patients with thromboembolic events. *Ther Clin Risk Manag* 2015; 11: 967–977.
19. Alexandrov A V., Molina CA, Grotta JC, et al. Ultrasound-enhanced systemic thrombolysis for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2004; 351: 2170–2178.
20. Eggers J. Sonothrombolysis for treatment of acute ischemic stroke: current evidence and new developments. *Perspect Med* 2012; 1–12: 14–20.
21. Petit B, Gaud E, Colevret D, et al. In vitro sonothrombolysis of human blood clots with BR38 microbubbles. *Ultrasound Med Biol* 2012; 38: 1222–1233.
22. Brown AT, Flores R, Hamilton E, et al. Microbubbles improve sonothrombolysis in vitro and decrease hemorrhage in vivo in a rabbit stroke model. *Invest Radiol* 2011; 46: 202–207.
23. Bader KB, Bouchoux G, Holland CK. Sonothrombolysis. *Ther Ultrasound* 2016; 339–362.
24. Nederhoed JH, Tjaberinga M, Otten RHJ, et al. Therapeutic use of microbubbles and

- ultrasound in acute peripheral arterial thrombosis: a systematic review. *Ultrasound Med Biol*. Epub ahead of print 2021. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.06.001.
25. Hendley SA, Paul JD, Maxwell AD, et al. Clot degradation under the action of histotripsy bubble activity and a lytic drug. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2021; 68: 2942–2952.
 26. Sheikov N, McDannold N, Vykhodtseva N, Jolesz F, Hynynen K. Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles. *Ultrasound Med Biol* 2004; 30: 979–989.
 27. Mears S, Alonso A. Ultrasound, microbubbles and the blood-brain barrier. *Prog Biophys Mol Biol* 2007; 93: 354–362.
 28. Vykhodtseva N, McDannold N, Hynynen K. Progress and problems in the application of focused ultrasound for blood-brain barrier disruption. *Ultrasonics* 2008; 48: 279–296.
 29. Song KH, Harvey BK, Borden MA. State-of-the-art of microbubble-assisted blood-brain barrier disruption. *Theranostics* 2018; 8: 4393–4408.
 30. Morihara R, Yamashita T, Osakada Y, et al. Efficacy and safety of spot heating and ultrasound irradiation on in vitro and in vivo thrombolysis models. *J Cereb Blood Flow Metab* 2022; 0271678X2210791.
 31. Wells P, Anderson D. The diagnosis and treatment of venous thromboembolism. *Hematol 2013, Am Soc Hematol Educ Progr B* 2013; 2013: 457–463.
 32. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2015; 13: 98–105.
 33. Sasikumar S, Ilayakumar P, Jayanth V, et al. Management of acute deep vein thrombosis - anticoagulation and beyond. *Univ J Surg Surg Spec*; 7.
 34. Bilbao JI, Martínez-Cuesta A, Urtasun F, Cosín O. Complications of embolization. *Semin Intervent Radiol* 2006; 23: 126–142.

35. Wakefield TW. Treatment options for venous thrombosis. *J Vasc Surg* 2000; 31: 613–620.
36. Graham GD. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke in clinical practice: a meta-analysis of safety data. *Stroke* 2003; 34: 2847–2850.
37. Prandoni P, Lensing AWA, Cogo A, et al. The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1996; 125: 1–7.
38. Kueh YK, Ee BK, Teoh PC. Resistance to oral anticoagulant therapy - case report and review of literature. *Singapore Med J* 1982; 24: 114–115.
39. O'Reilly RA. The second reported kindred with hereditary resistance to oral anticoagulant drugs. *N Engl J Med* 1970; 282: 1448–1451.
40. Dunn EJ, Philippou H, Ariëns RAS, Grant PJ. Molecular mechanisms involved in the resistance of fibrin to clot lysis by plasmin in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2006; 1071–1080.
41. Undas A. Prothrombotic fibrin clot phenotype in patients with deep vein thrombosis and pulmonary embolism : a new risk. *Biomed Res Int*; 2017. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1155/2017/8196256.
42. Bradley WG. MR appearance of hemorrhage in the brain. *Radiology* 1993; 189: 15–26.
43. Sigel B, Feleppa EJ, Swami V, et al. Ultrasonic tissue characterization of blood clots. *Surg Clin North Am* 1990; 70: 13–29.
44. Huang CC, Wang SH, Tsui PH. Detection of blood coagulation and clot formation using quantitative ultrasonic parameters. *Ultrasound Med Biol* 2005; 31: 1567–1573.
45. Mercado-Shekhar KP, Kleven RT, Aponte Rivera H, et al. Effect of clot stiffness on recombinant tissue plasminogen activator lytic susceptibility in vitro. *Ultrasound Med Biol* 2018; 44: 2710–2727.
46. Gennisson JL, Lerouge S, Cloutier G. Assessment by transient elastography of the viscoelastic properties of blood during clotting. *Ultrasound Med Biol* 2006; 32: 1529–1537.

47. Schmitt C, Hadj Henni A, Cloutier G. Characterization of blood clot viscoelasticity by dynamic ultrasound elastography and modeling of the rheological behavior. *J Biomech* 2011; 44: 622–629.
48. Mfoumou E, Tripette J, Blostein M, Cloutier G. Time-dependent hardening of blood clots quantitatively measured in vivo with shear-wave ultrasound imaging in a rabbit model of venous thrombosis. *Thromb Res* 2014; 133: 265–271.
49. Bhatt M, Montagnon E, Destremes F, et al. Acoustic radiation force induced resonance elastography of coagulating blood: theoretical viscoelasticity modeling and ex vivo experimentation. *Phys Med Biol* 2018; 63: 065018.
50. Zemzemi C, Phillips M, Vela DC, et al. Effect of thrombin and incubation time on porcine whole blood clot elasticity and rt-PA susceptibility. *Ultrasound Med Biol* 2022; 48: 1567–1578.
51. Rayes A, Zhang J, Lu G, et al. Estimating thrombus elasticity by shear wave elastography to evaluate ultrasound thrombolysis for thrombus with different stiffness. *IEEE Trans Biomed Eng* 2023; 70: 135–143.
52. Garcia D, Le Tarnec L, Muth S, et al. Stolt's f-k migration for plane wave ultrasound imaging. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2013; 60: 1853–1867.
53. Chan VW., Perlas A. *Basics of ultrasound imaging*. 2011.
54. Indimath S, Fiorentini S, Bøklepp BR, et al. Effect of bubble size on ultrasound backscatter from bubble clouds in the context of gas kick detection in boreholes. *Sci Rep* 2023; 13: 1–13.
55. Hoskins PR. Measurement of arterial blood flow by Doppler ultrasound. *Clin Phys Physiol Meas* 1990; 11: 1–26.
56. Atkinson P, Wells PNT. Pulse Doppler ultrasound and its clinical application. *Yale J Biol Med* 1977; 50: 367–373.
57. Naredo E, Monteagudo I. Doppler techniques. *Clin Exp Rheumatol* 2014; 32: S12-19.

58. Nightingale K, Soo MS, Nightingale R, Trahey G. Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration of clinical feasibility. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 227–235.
59. Matsumura T, Tamano S, Shinomura R, et al. Diagnostic results for breast disease by real-time elasticity imaging system. *Proc - IEEE Ultrason Symp* 2004; 2: 1484–1487.
60. Umemoto T, Ueno E, Matsumura T, et al. Ex vivo and in vivo assessment of the non-linearity of elasticity properties of breast tissues for quantitative strain elastography. *Ultrasound Med Biol* 2014; 40: 1755–1768.
61. Maurice RL, Ohayon J, Frétigny Y, et al. Noninvasive vascular elastography: theoretical framework. *IEEE Trans Med Imaging* 2004; 23: 164–180.
62. Cardinal MHR, Heusinkveld MHG, Qin Z, et al. Carotid artery plaque vulnerability assessment using noninvasive ultrasound elastography: validation with MRI. *Am J Roentgenol* 2017; 209: 142–151.
63. El Jalbout R, Cloutier G, Roy-Cardinal MH, et al. The value of non-invasive vascular elastography (NIVE) in detecting early vascular changes in overweight and obese children. *Eur Radiol* 2019; 29: 3854–3861.
64. Fromageau J, Lerouge S, Maurice RL, Soulez G, Cloutier G. Noninvasive vascular ultrasound elastography applied to the characterization of experimental aneurysms and follow-up after endovascular repair. *Phys Med Biol* 2008; 53: 6475–6490.
65. Girard M, Roy Cardinal MH, Chassé M, et al. Regional pleural strain measurements during mechanical ventilation using ultrasound elastography: a randomized, crossover, proof of concept physiologic study. *Front Med* 2022; 9: 935482.
66. De Korte CL, Pasterkamp G, Van Der Steen AFW, Woutman HA, Bom N. Characterization of plaque components with intravascular ultrasound elastography in human femoral and coronary arteries in vitro. *Circulation* 2000; 102: 617–623.
67. Deleaval F, Bouvier A, Finet G, et al. The Intravascular ultrasound elasticity-palpography technique revisited: a reliable tool for the invivo detection of vulnerable coronary

- atherosclerotic plaques. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 1469–1481.
68. Gómez A, Tacheau A, Finet G, et al. Intraluminal ultrasonic palpation imaging technique revisited for anisotropic characterization of healthy and atherosclerotic coronary arteries: a feasibility study. *Ultrasound Med Biol* 2019; 45: 35–49.
 69. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J* 2006; 27: 2588–2605.
 70. Messas E, Pernot M, Couade M. Arterial wall elasticity: state of the art and future prospects. *Diagn Interv Imaging* 2013; 94: 561–569.
 71. Bruno C, Minniti S, Bucci A, Pozzi Mucelli R. ARFI: from basic principles to clinical applications in diffuse chronic disease—a review. *Insights Imaging* 2016; 7: 735–746.
 72. Boursier J, Isselin G, Fouchard-Hubert I, et al. Acoustic radiation force impulse: a new ultrasonographic technology for the widespread noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1074–1084.
 73. Nightingale K. Acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging: a review. *Curr Med Imaging Rev* 2011; 7: 328–339.
 74. Parker KJ, Ormachea J, Hah Z. Group versus phase velocity of shear waves in soft tissues. *Ultrason Imaging* 2018; 40: 343–356.
 75. Li H, Flé G, Bhatt M, et al. Viscoelasticity imaging of biological tissues and single cells using shear wave propagation. *Front Phys* 2021; 9: 666192.
 76. Deffieux T, Montaldo G, Tanter M, Fink M. Shear wave spectroscopy for in vivo quantification of human soft tissues visco-elasticity. *IEEE Trans Med Imaging* 2009; 28: 313–322.
 77. Alleyne D, Cawley P. A two-dimensional Fourier transform method for the measurement of propagating multimode signals. *J Acoust Soc Am* 1991; 89: 1159–1168.
 78. De Ledinghen V, Vergniol J. Transient elastography (FibroScan). *Gastroenterol Clin Biol*

2008; 32: 58–67.

79. Hadj Henni A, Schmitt C, Cloutier G. Shear wave induced resonance elastography of soft heterogeneous media. *J Biomech* 2010; 43: 1488–1493.
80. Hadj Henni A, Schmitt C, Trop I, Cloutier G. Shear wave induced resonance elastography of spherical masses with polarized torsional waves. *Appl Phys Lett* 2012; 100: 1–6.
81. Ferraioli G, Tinelli C, Lissandrin R, et al. Point shear wave elastography method for assessing liver stiffness. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4787–4796.
82. Gennisson JL, Deffieux T, Macé E, et al. Viscoelastic and anisotropic mechanical properties of in vivo muscle tissue assessed by supersonic shear imaging. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 789–801.
83. Gennisson JL, Deffieux T, Fink M, Tanter M. Ultrasound elastography: principles and techniques. *Diagn Interv Imaging* 2013; 94: 487–495.
84. Li GY, Zheng Y, Jiang YX, Zhang Z, Cao Y. Guided wave elastography of layered soft tissues. *Acta Biomater* 2019; 84: 293–304.
85. Torres J, Faris IH, Callejas A, et al. Torsional wave elastography to assess the mechanical properties of the cornea. *Sci Rep* 2022; 1–11.
86. Timoshenko SP, Goodier JN. Theory of elasticity, international student edition. *KOGAKUSHA Co* 1970; Ltd: 444.
87. Fung Y C. Biomechanics: mechanical properties of living tissue. *Springer Sci Bus Media* 2013; 1–23.
88. Doyley MM. Model-based elastography: a survey of approaches to the inverse elasticity problem. *Phys Med Biol* 2012; 57: R35.
89. Van Houten EEW, Kiga MI, Weaver JB, Kennedy FE, Paulsen KD. Three-dimensional subzone-based reconstruction algorithm for MR elastography. *Magn Reson Med An Off J Int Soc Magn Reson Med* 2001; 45: 827–837.

90. Van Houten EEW, Doyley MM, Kennedy FE, Weaver JB, Paulsen KD. Initial in vivo experience with steady-state subzone-based MR elastography of the human breast. *J Magn Reson Imaging An Off J Int Soc Magn Reson Med* 2003; 17: 72–85.
91. Barr RG. Shear wave liver elastography. *Abdom Radiol* 2018; 43: 800–807.
92. Ferraioli G, Parekh P, Levitov AB, Filice C. Shear wave elastography for evaluation of liver fibrosis. *J Ultrasound Med* 2014; 33: 197–203.
93. Bota S, Sporea I, Şirli R, et al. Factors that influence the correlation of acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography with liver fibrosis. *Med Ultrason* 2011; 13: 135–140.
94. Taru MG, Neamti L, Taru V, et al. How to identify advanced fibrosis in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) using ultrasound elastography—A review of the literature and proposed multistep approach. *Diagnostics* 2023; 13: 788.
95. Yazdani L, Rafati I, Gesnik M, et al. Ultrasound shear wave attenuation imaging for grading liver steatosis in volunteers and patients with non-alcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Ultrasound Med Biol* 2023; 49: 2264–2272.
96. Luo J, Cao Y, Nian W, et al. Benefit of shear-wave elastography in the differential diagnosis of breast lesion: a diagnostic meta-analysis. *Med Ultrason* 2018; 20: 43–49.
97. Youk JH, Gweon HM, Son EJ. Shear-wave elastography in breast ultrasonography: the state of the art. *Ultrasonography* 2017; 36: 300–309.
98. Liu B, Zheng Y, Huang G, et al. Breast lesions: quantitative diagnosis using ultrasound shear wave elastography—a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Med Biol* 2016; 42: 835–847.
99. Swan KZ, Nielsen VE, Bonnema SJ. Evaluation of thyroid nodules by shear wave elastography: a review of current knowledge. *J Endocrinol Invest* 2021; 44: 2043–2056.
100. Sang L, Wang XM, Xu DY, Cai YF. Accuracy of shear wave elastography for the diagnosis of prostate cancer: a meta-analysis. *Sci Rep* 2017; 7: 1–8.

101. Gandhi J, Zaidi S, Shah J, Joshi G, Khan SA. The evolving role of shear wave elastography in the diagnosis and treatment of prostate cancer. *Ultrasound Q* 2018; 34: 245–249.
102. Payne C, Watt P, Cercignani M, Webborn N. Reproducibility of shear wave elastography measures of the Achilles tendon. *Skeletal Radiol* 2018; 47: 779–784.
103. Mbroh J, Tünnerhoff J, Poli K, et al. Review article shear wave elastography for the assessment of carotid plaque vulnerability : a systematic review. *Acta Neurol Scand*; 2023.
104. Weisel JW. The mechanical properties of fibrin for basic scientists and clinicians. *Biophys Chem* 2004; 112: 267–276.
105. Undas A. Fibrin clot properties and their modulation in thrombotic disorders. *Thromb Haemost* 2014; 112: 32–42.
106. Huang CC, Chen PY, Shih CC. Estimating the viscoelastic modulus of a thrombus using an ultrasonic shear-wave approach. *Med Phys* 2013; 40: 1–7.
107. Bernal M, Gennisson JL, Flaud P, Tanter M. Shear wave elastography quantification of blood elasticity during clotting. *Ultrasound Med Biol* 2012; 38: 2218–2228.
108. Aslan A, Barutca H, Ayaz E, et al. Is real-time elastography helpful to differentiate acute from subacute deep venous thrombosis? A preliminary study. *J Clin Ultrasound* 2018; 46: 116–121.
109. Mumoli N, Mastroiacovo D, Giorgi-Pierfranceschi M, et al. Ultrasound elastography is useful to distinguish acute and chronic deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 2018; 16: 2482–2491.
110. Catheline S, Gennisson J-L, Delon G, et al. Measurement of viscoelastic properties of homogeneous soft solid using transient elastography: an inverse problem approach. *J Acoust Soc Am* 2004; 116: 3734–3741.
111. Vappou J, Maleke C, Konofagou EE. Quantitative viscoelastic parameters measured by harmonic motion imaging. *Phys Med Biol* 2009; 54: 3579–3594.

112. Schmitt C, Hadj Henni A, Cloutier G. Ultrasound dynamic micro-elastography applied to the viscoelastic characterization of soft tissues and arterial walls. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 1492–1503.
113. Kazemirad S, Bernard S, Hybois S, Tang A, Cloutier G. Ultrasound shear wave viscoelastography: model-independent quantification of the complex shear modulus. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2016; 63: 1399–1408.
114. Mitri FG, Urban MW, Fatemi M, Greenleaf JF. Shear wave dispersion ultrasonic vibrometry for measuring prostate shear stiffness and viscosity: an in vitro pilot study. *IEEE Trans Biomed Eng* 2011; 58: 235–242.
115. Millonig G, Friedrich S, Adolf S, et al. Liver stiffness is directly influenced by central venous pressure. *J Hepatol* 2010; 52: 206–210.
116. Deffieux T, Gennisson JL, Bousquet L, et al. Investigating liver stiffness and viscosity for fibrosis, steatosis and activity staging using shear wave elastography. *J Hepatol* 2015; 62: 317–324.
117. Muntean D, Lenghel M, Ciurea A, Dudea S. Viscosity Plane-wave UltraSound (ViPLUS) in the assessment of parotid and submandibular glands in healthy subjects - preliminary results. *Med Ultrason* 2022; 24: 300–304.
118. Petea-Balea DR, Solomon C, Muntean DD, et al. Viscosity Plane-Wave UltraSound (Vi PLUS) in the evaluation of thyroid gland in healthy volunteers—a preliminary study. *Diagnostics* 2022; 12: 2474.
119. Qiu Y, Sridhar M, Tsou JK, Lindfors KK, Insana MF. Ultrasonic viscoelasticity imaging of nonpalpable breast tumors: preliminary results. *Acad Radiol* 2008; 15: 1526–1533.
120. Bernal M, Chammings F, Couade M, et al. In vivo quantification of the nonlinear shear modulus in breast lesions: feasibility study. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2016; 63: 101–109.
121. Kumar V, Denis M, Gregory A, et al. Viscoelastic parameters as discriminators of breast

- masses: initial human study results. *PLoS One* 2018; 13: e0205717.
122. Bayat M, Nabavizadeh A, Kumar V, et al. Automated in vivo sub-hertz analysis of viscoelasticity (SAVE) for evaluation of breast lesions. *IEEE Trans Biomed Eng* 2018; 65: 2237–2247.
 123. Hoyt K, Castaneda B, Zhanga M, et al. Tissue elasticity properties as biomarkers for prostate cancer. *Cancer Biomarkers* 2008; 4: 213–225.
 124. Zhang M, Nigwekar P, Castaneda B, et al. Quantitative characterization of viscoelastic properties of human prostate correlated with histology. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34: 1033–1042.
 125. Rouze NC, Wang MH, Palmeri ML, Nightingale KR. Parameters affecting the resolution and accuracy of 2-D quantitative shear wave images. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2012; 59: 1729–1740.
 126. Bernard S, Kazemirad S, Cloutier G. A frequency-shift method to measure shear-wave attenuation in soft tissues. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2017; 64: 514–524.
 127. Quan Y, Harris JM. Seismic attenuation tomography using the frequency shift method. *Geophysics* 1997; 62: 895–905.
 128. Kijanka P, Urban MW. Two-point frequency shift method for shear wave attenuation measurement. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2019; 67: 483–496.
 129. Yazdani L, Bhatt M, Rafati I, Tang A, Cloutier G. The revisited frequency-shift method for shear wave attenuation computation and imaging. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2022; 69: 2061–2074.
 130. Kijanka P, Urban MW. Improved two-point frequency shift power method for measurement of shear wave attenuation. *Ultrasonics* 2022; 124: 106735.
 131. Nenadic IZ, Qiang B, Urban MW, et al. Attenuation measuring ultrasound shearwave elastography and in vivo application in post-transplant liver patients. *Phys Med Biol* 2017; 62: 484–500.

132. Barry CT, Mills B, Hah Z, et al. Shear wave dispersion measures liver steatosis. *Ultrasound Med Biol* 2012; 38: 175–182.
133. W. Urban M, Chen S, Fatemi M. A review of shearwave dispersion ultrasound vibrometry (SDUV) and its applications. *Curr Med Imaging Rev* 2012; 8: 27–36.
134. Chen S, Fatemi M, Greenleaf JF. Quantifying elasticity and viscosity from measurement of shear wave speed dispersion. *J Acoust Soc Am* 2004; 115: 2781–2785.
135. Chen S, Urban MW, Pislaru C, et al. Shearwave dispersion ultrasound vibrometry (SDUV) for measuring tissue elasticity and viscosity. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2009; 56: 55–62.
136. Ormachea J, Parker KJ, Barr RG. An initial study of complete 2D shear wave dispersion images using a reverberant shear wave field. *Phys Med Biol* 2019; 64: 145009.
137. Brum J, Bernal M, Gennisson JL, Tanter M. In vivo evaluation of the elastic anisotropy of the human Achilles tendon using shear wave dispersion analysis. *Phys Med Biol* 2014; 59: 505–523.
138. Parker KJ, Partin A, Rubens DJ. What do we know about shear wave dispersion in normal and steatotic livers? *Ultrasound Med Biol* 2015; 41: 1481–1487.
139. Sugimoto K, Fuminori M, Hisashi O, et al. Clinical utilization of shear wave dispersion imaging in diffuse liver disease. *Ultrasonography* 2019; 39: 3–10.
140. Zhang X, Zheng R, Jin J, et al. US shear-wave elastography dispersion for characterization of chronic liver disease. *Radiology* 2022; 212609.
141. Amioka N, Takaya Y, Nakamura K, Kondo M. Impact of shear wave dispersion slope analysis for assessing the severity of myocarditis. *Sci Rep* 2022; 12: 8776.
142. Rice SO. Mathematical analysis of random noise. *Bell Syst Tech J* 1945; 24: 46–156.
143. Nakagami M. *The m-distribution—A General formula of intensity distribution of rapid fading*. PERGAMON PRESS INC. Epub ahead of print 1960. DOI: 10.1016/b978-0-08-

009306-2.50005-4.

144. Shankar PM, Dumane VA, Reid JM, et al. Classification of ultrasonic B-mode images of breast masses using Nakagami distribution. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2001; 48: 569–580.
145. Zhang S, Zhou F, Wan M, et al. Feasibility of using Nakagami distribution in evaluating the formation of ultrasound-induced thermal lesions. *J Acoust Soc Am* 2012; 131: 4836–4844.
146. Rangraz P, Behnam H, Tavakkoli J. Nakagami imaging for detecting thermal lesions induced by high-intensity focused ultrasound in tissue. *Proc Inst Mech Eng Part H J Eng Med* 2014; 228: 19–26.
147. Shankar PM, Reid JM, Ortega H, Piccoli CW, Goldberg BB. Use of non-Rayleigh statistics for the identification of tumors in ultrasonic B-scans of the breast. *IEEE Trans Med Imaging* 1993; 12: 687–692.
148. Lord ARD. The use of the Hankel transform in statistics I. General theory and examples. *Biometrika* 1954; 41: 44–55.
149. Nakagami M. Study on the resultant amplitude of many vibrations whose phase and amplitudes are at random (II). *J Inst Electr Commun Eng* 1940; 202: 23–32.
150. Destrempes F, Cloutier G. A critical review and uniformized representation of statistical distributions modeling the ultrasound echo envelope. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 1037–1051.
151. Dutt V, Greenleaf JF. Ultrasound echo envelope analysis using a homodyned K distribution signal model. *Ultrasonic Imaging* 1994; 16: 265–287.
152. Destrempes F, Franceschini E, Yu FTH, Cloutier G. Unifying concepts of statistical and spectral quantitative ultrasound techniques. *IEEE Trans Med Imaging* 2016; 35: 488–500.
153. Roy-Cardinal MH, Destrempes F, Soulez G, Cloutier G. Assessment of carotid artery plaque components with machine learning classification using homodyned-K parametric maps and elastograms. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2019; 66: 493–504.

154. Destrempes F, Cloutier G. Statistical modeling of ultrasound signals related to the packing factor of wave scattering phenomena for structural characterization. *J Acoust Soc Am* 2021; 150: 3544–3556.
155. Tsai YW, Zhou Z, Gong CSA, et al. Ultrasound detection of liver fibrosis in individuals with hepatic steatosis using the homodyned K distribution. *Ultrasound Med Biol* 2021; 47: 84–94.
156. Destrempes F, Gesnik M, Chayer B, et al. Quantitative ultrasound, elastography, and machine learning for assessment of steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic liver disease. *PLoS One* 2022; 17: 1–21.
157. Tang A, Destrempes F, Kazemirad S, et al. Quantitative ultrasound and machine learning for assessment of steatohepatitis in a rat model. *Eur Radiol* 2019; 29: 2175–2184.
158. Oelze ML, O'Brien WD, Blue JP, Zachary JF. Differentiation and characterization of rat mammary fibroadenomas and 4T1 mouse carcinomas using quantitative ultrasound imaging. *IEEE Trans Med Imaging* 2004; 23: 764–771.
159. Oelze ML, Zachary JF. Examination of cancer in mouse models using high-frequency quantitative ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2006; 32: 1639–1648.
160. Destrempes F, Trop I, Allard L, et al. Added value of quantitative ultrasound and machine learning in BI-RADS 4–5 assessment of solid breast lesions. *Ultrasound Med Biol* 2019; 46: 436–444.
161. Oelze ML, Mamou J. Review of quantitative ultrasound: envelope statistics and backscatter coefficient imaging and contributions to diagnostic ultrasound. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2016; 63: 336–351.
162. Pan FS, Tian WS, Luo J, et al. Added value of two-dimensional shear wave elastography to ultrasonography for staging common femoral vein thrombi. *Med Ultrason* 2017; 19: 51–58.
163. White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 2003; 107: I–4.

164. Scarvelis D, Wells PS. Diagnosis and treatment of deep-vein thrombosis. *Cmaj* 2006; 175: 1087–1092.
165. Baglin T, Luddington R, Brown K, Baglin C. Incidence of recurrent venous thromboembolism in relation to clinical and thrombophilic risk factors: prospective cohort study. *Lancet* 2003; 362: 523–526.
166. Rodger MA, Kahn SR, Wells PS, et al. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *Cmaj* 2008; 179: 417–426.
167. Emelianov SY, Chen X, O'Donnell M, et al. Triplex ultrasound: elasticity imaging to age deep venous thrombosis. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 757–767.
168. Liu X, Li N, Wen C. Effect of pathological heterogeneity on shear wave elasticity imaging in the staging of deep venous thrombosis. *PLoS One* 2017; 12: e0179103.
169. Rubin JM, Xie H, Kim K, et al. Sonographic elasticity imaging of acute and chronic deep venous thrombosis in humans. *J Ultrasound Med* 2006; 25: 1179–1186.
170. Yi X, Wei X, Wang Y, et al. Role of real-time elastography in assessing the stage of thrombus. *Int Angiol* 2017; 36: 59–63.
171. Sutton JT, Ivancevich NM, Perrin SR, Vela DC, Holland CK. Clot retraction affects the extent of ultrasound-enhanced thrombolysis in an ex vivo porcine thrombosis model. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 813–24.
172. Shung KP, Sigelmann RA, Schmer G. Ultrasonic measurement of blood coagulation time. *IEEE Trans Biomed Eng* 1975; 334–337.
173. Voleišis A, Kažys R, Mažeika L, et al. Ultrasonic method for the whole blood coagulation analysis. *Ultrasonics* 2002; 40: 101–107.
174. Jacobs JE, Malinka A V., Haque P, Jhabvala MD. Ultrasound spectroscopy applied to blood coagulation studies. *Ultrasonics* 1976; 14: 84–90.

175. Calor-Filho MM, Machado JC. Measurement of the ultrasonic attenuation coefficient of human blood plasma during clotting in the frequency range of 8 to 22 MHz. *Ultrasound Med Biol* 2006; 32: 1055–1064.
176. Voleisis A, Kazys R, Voleisiene B, Sliteris R, Mazeika L. Ultrasonic method for monitoring the clotting process during whole blood coagulation. *Ultrasonics* 2017; 78: 146–151.
177. Fang J, Tsui PH. Evaluation of thrombolysis by using ultrasonic imaging: an in vitro study. *Sci Rep* 2015; 5: 11669.
178. Fang J, Chen CK, Peng JY, et al. Changes in backscattered ultrasonic envelope statistics as a function of thrombus age: an invitro study. *Ultrasound Med Biol* 2015; 41: 498–508.
179. Dutt V, Greenleaf JF. Ultrasound echo envelope analysis using a homodyned K distribution signal model. *Ultrason Imaging* 1994; 16: 265–287.
180. Trop I, Destrempes F, El Khoury M, et al. The added value of statistical modeling of backscatter properties in the management of breast lesions at US. *Radiology* 2015; 275: 666–674.
181. Destrempes F, Meunier J, Giroux MF, Soulez G, Cloutier G. Segmentation of plaques in sequences of ultrasonic B-mode images of carotid arteries based on motion estimation and a bayesian model. *IEEE Trans Biomed Eng* 2011; 58: 2202–2211.
182. Destrempes F, Porée J, Cloutier G. Estimation method of the homodyned K-distribution based on the mean intensity and two log-moments. *SIAM J Imaging Sci* 2013; 6: 1499–1530.
183. Christos S, Naples R. Anticoagulation reversal and treatment strategies in major bleeding : update 2016. *West J Emerg Med* 2016; 17: 264–270.
184. Hendley SA, Dimov A, Bhargava A, et al. Composition and thrombolytic susceptibility of ex vivo venous thromboembolism.
185. Shah GA, Nair CH, Dhall DP. Physiological studies on fibrin network structure. *Thromb Res* 1985; 40: 181–188.

186. Ryan EA, Mockros LF, Weisel JW, Lorand L. Structural origins of fibrin clot rheology. *Biophys J* 1999; 77: 2813–2826.
187. Hruska DP, Oelze ML. Improved parameter estimates based on the homodyned K distribution. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2009; 56: 2471–2481.
188. Kolecki R V., Sigel B, Justin J, et al. Determining the acuteness and stability of deep venous thrombosis by ultrasonic tissue characterization. *J Vasc Surg* 1995; 21: 976–984.
189. Onur MR, Poyraz AK, Ucak EE, et al. Semiquantitative strain elastography of liver masses. *J Ultrasound Med* 2012; 31: 1061–1067.
190. Ophir J, Cespedes I, Ponnekanti H, Yazdi Y, LI X. Elastography : a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason Imaging* 1991; 13: 111–134.
191. Varghese T. Quasi-static ultrasound elastography. *Ultrasound Clin* 2009; 4: 323–338.
192. Grajo JR, Barr RG. Strain elastography for prediction of breast cancer tumor grades. *J Ultrasound Med* 2014; 33: 129–134.
193. Carlsen JF, Ewertsen C, Lönn L, Nielsen MB. Strain elastography ultrasound: an overview with emphasis on breast cancer diagnosis. *Diagnostics* 2013; 3: 117–125.
194. Sigrist RMS, Liao J, Kaffas A El, Chammas MC, Willmann JK. Ultrasound elastography : review of techniques and clinical applications. *Theranostics* 2017; 7: 1303–1329.
195. Ozturk A, Grajo JR, Dhyani M, Anthony BW, Samir AE. Principles of ultrasound elastography. *Abdom Radiol* 2018; 43: 773–785.
196. Evans A, Whelehan P, Thomson K, et al. Quantitative shear wave ultrasound elastography: initial experience in solid breast masses. *Breast Cancer Res* 2010; 12: 1–11.
197. Durmaz F, Gultekin MA. Efficacy of shear wave elastography in the differentiation of acute and subacute deep venous thrombosis. *Ultrasound Q* 2021; 37: 168–172.
198. Zaleska-Dorobisz U, Kaczorowski K, Pawluś A, Puchalska A, Inglot M. Ultrasound elastography - review of techniques and its clinical applications. *Adv Clin Exp Med* 2014;

- 23: 645–655.
199. Schmitt C, Montagnon E, Henni AH, Qi S, Cloutier G. Shear wave induced resonance elastography of venous thrombi: a proof-of-concept. *IEEE Trans Med Imaging* 2013; 32: 565–577.
 200. Schmitt C, Soulez G, Maurice RL, Giroux MF, Cloutier G. Noninvasive vascular elastography: toward a complementary characterization tool of atherosclerosis in carotid arteries. *Ultrasound Med Biol* 2007; 33: 1841–1858.
 201. Cloutier G, Cardinal MHR, Ju Y, et al. Carotid plaque vulnerability assessment using ultrasound elastography and echogenicity analysis. *Am J Roentgenol* 2018; 211: 847–855.
 202. Marais L, Pernot M, Khettab H, et al. Arterial stiffness assessment by shear wave elastography and ultrafast pulse wave imaging: comparison with reference techniques in normotensives and hypertensives. *Ultrasound Med Biol* 2019; 45: 758–772.
 203. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705–1713.
 204. Bercoff J, Tanter M, Fink M. Supersonic shear imaging : a new technique for soft tissue elasticity mapping. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2004; 51: 396–409.
 205. Eby SF, Song P, Chen S, et al. Validation of shear wave elastography in skeletal muscle. *J Biomech* 2013; 46: 2381–2387.
 206. Li GY, Cao Y. Mechanics of ultrasound elastography. *Proc R Soc A Math Phys Eng Sci* 2017; 473: 20160841.
 207. Deffieux T, Gennisson JL, Bercoff J, Tanter M. On the effects of reflected waves in transient shear wave elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2011; 58: 2032–2035.
 208. Lipman SL, Rouze NC, Palmeri ML, Nightingale KR. Evaluating the improvement in shear wave speed image quality using multidimensional directional filters in the presence of reflection artifacts. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2016; 63: 1049–1063.

209. Lipman SL, Rouze NC, Palmeri ML, Nightingale KR. Impact of acoustic radiation force excitation geometry on shear wave dispersion and attenuation estimates. *Ultrasound Med Biol* 2018; 44: 897–908.
210. Parker KJ, Ormachea J, Zvietcovich F, Castaneda B. Reverberant shear wave fields and estimation of tissue properties. *Phys Med Biol* 2017; 62: 1046–1061.
211. Nightingale K, McAleavey S, Trahey G. Shear-wave generation using acoustic radiation force: in vivo and ex vivo results. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1715–1723.
212. Cetinic I, Lange C De, Simr Y, et al. Ultrasound shear wave elastography , shear wave dispersion and attenuation imaging of pediatric liver disease with histological correlation. *Children* 2022; 9: 692.
213. Bosio G, Zenati N, Destrempe F, et al. Shear wave elastography and quantitative ultrasound as biomarkers to characterize deep vein thrombosis in vivo. *J Ultrasound Med* 2022; 41: 1807–1816.
214. Hendley SA, Dimov A, Bhargava A, et al. Assessment of histological characteristics, imaging markers, and rt-PA susceptibility of ex vivo venous thrombi. *Sci Rep* 2021; 11: 22805.
215. Huang CC, Chen PY, Shih CC. Estimating the viscoelastic modulus of a thrombus using an ultrasonic shear-wave approach. *Med Phys*; 40. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1118/1.4794493.
216. Liu HC, Abbasi M, Ding YH, et al. Characterizing blood clots using acoustic radiation force optical coherence elastography and ultrasound shear wave elastography. *Phys Med Biol* 2021; 66: 035013.
217. Li N, Tous C, Dimov IP, et al. Quantification and 3D localization of magnetically navigated superparamagnetic particles using MRI in phantom and swine chemoembolization models. *IEEE Trans Biomed Eng* 2022; 69: 2616–2627.
218. Tozaki M, Saito M, Joo C, et al. Ultrasonographic tissue quantification of the breast using acoustic radiation force impulse technology: phantom study and clinical application. *Jpn J*

Radiol 2011; 29: 598–603.

219. Ouared A, Montagnon E, Kazemirad S, et al. Frequency adaptation for enhanced radiation force amplitude in dynamic elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2015; 62: 1453–1466.
220. Loupas T, Powers JT, Gill RW. An axial velocity estimator for ultrasound blood flow imaging, based on a full evaluation of the doppler equation by means of a two-dimensional autocorrelation approach. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 1995; 42: 672–688.
221. Deffieux T, Montaldo G, Tanter M, Fink M. Shear wave spectroscopy for in vivo quantification of human soft tissues visco-elasticity. *IEEE Trans Med Imaging* 2009; 28: 313–322.
222. Xie H, Kim K, Aglyamov SR, et al. Staging deep venous thrombosis using ultrasound elasticity imaging: animal model. *Ultrasound Med Biol* 2004; 30: 1385–1396.
223. Liu H-C, Abbasi M, Ding YH, et al. Characterizing blood clots using acoustic radiation force optical coherence elastography and ultrasound shear wave elastography. *Phys Med Biol* 2021; 66: 035013.
224. Bosson JL, Riachi M, Pichot O, Michoud E. Diameters of acute proximal and distal deep venous thrombosis of the lower limbs: proposed reference values of ultrasonography. *Int Angiol* 1998; 17: 260–267.
225. Tutwiler V, Litvinov RI, Lozhkin AP, et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood* 2016; 127: 149–159.
226. Risman RA, Abdelhamid A, Weisel JW, Bannish BE, Tutwiler V. Effects of clot contraction on clot degradation: a mathematical and experimental approach. *Biophys J* 2022; 121: 3271–3285.
227. Carr ME. Development of platelet contractile force as a research and clinical measure of platelet function. *Cell Biochem Biophys* 2003; 38: 55–78.

228. Cines DB, Lebedeva T, Nagaswami C, et al. Clot contraction: compression of erythrocytes into tightly packed polyhedra and redistribution of platelets and fibrin. *Blood* 2014; 123: 1596–1603.
229. Blackstock DT, Atchley AA. Fundamentals of physical acoustics. *J Acoust Soc Am* 2001; 109: 1274–1276.
230. Lee WN, Chang EJH, Guo Y, Wang Y. Experimental investigation of guided wave imaging in thin soft media under various coupling conditions. *Ultrasound Med Biol* 2018; 44: 2821–2837.
231. Næss I, Christiansen S, Romundstad P, et al. Incidence and mortality of venous thrombosis : a population-based study. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 692–699.
232. Huang W, Goldberg RJ, Anderson FA, Kiefe CI, Spencer FA. Secular trends in occurrence of acute venous thromboembolism: the Worcester VTE study (1985-2009). *Am J Med* 2014; 127: 829–839.
233. Witt DM, Nieuwlaat R, Clark NP, et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: optimal management of anticoagulation therapy. *Blood Adv* 2018; 2: 3257–3291.
234. Ansell J, Hirsh J, Dalen J, et al. Managing oral anticoagulant. *Chest* 2001; 101: 22S-38S.
235. Schwarb H, Tsakiris DA. New direct oral anticoagulants (DOAC) and their use today. *Dent J* 2016; 4: 1–11.
236. Boer C, Meesters MI, Veerhoek D, Vonk ABA. Anticoagulant and side-effects of protamine in cardiac surgery: a narrative review. *Br J Anaesth* 2018; 120: 914–927.
237. Gurman P, Miranda OR, Nathan A, et al. Recombinant tissue plasminogen activators (rtPA): a review. *Clin Pharmacol Ther* 2015; 97: 274–285.
238. Van Es N, Coppens M, Schulman S, Middeldorp S, Büller HR. Direct oral anticoagulants compared with vitamin K antagonists for acute venous thromboembolism: evidence from phase 3 trials. *Blood* 2014; 124: 1968–1975.

239. Ensor J, Riley RD, Moore D, et al. Systematic review of prognostic models for recurrent venous thromboembolism (VTE) post-treatment of first unprovoked VTE. *BMJ Open* 2016; 6: e011190.
240. Wells PS, Tritschler T, Kraaijpoel N, Le Gal G. Venous thromboembolism: advances in diagnosis and treatment. *JAMA* 2018; 320: 1583–1594.
241. Kearon C, Kahn SR, Agnelli G, et al. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th edition). *Chest* 2008; 133: 454S-545S.
242. Evans VJ, Lawrence M, Whitley J, et al. The treatment effect of rivaroxaban on clot characteristics in patients who present acutely with first time deep vein thrombosis. *Clin Hemorheol Microcirc* 2022; 80: 139–151.
243. Cohen AT, Lip GY, De Caterina R, et al. State of play and future direction with NOACs: an expert consensus. *Vascul Pharmacol* 2018; 106: 9–21.
244. Horsti J, Uppa H, Vilpo JA. Poor agreement among prothrombin time international normalized ratio methods: comparison of seven commercial reagents. *Clin Chem* 2005; 51: 553–560.
245. Dorgalaleh A, Favaloro EJ, Bahraini M, Rad F. Standardization of prothrombin time/international normalized ratio (PT/INR). *Int J Lab Hematol* 2021; 43: 21–28.
246. Barnes GD, Kanthi Y, Froehlich JB. Venous thromboembolism: predicting recurrence and the need for extended anticoagulation. *Vasc Med (United Kingdom)* 2015; 20: 143–152.
247. Rayes A, Zhang J, Lu G, et al. Estimating thrombus elasticity by shear wave elastography to evaluate ultrasound thrombolysis for thrombus with different stiffness. *IEEE Trans Biomed Eng* 2023; 70: 135–143.
248. Bosio G, Yazdani L, Roy-Cardinal M-H, Cloutier G. Resonance, velocity, dispersion, and attenuation of ultrasound-induced shear wave propagation in blood clot in vitro models. *J Ultrasound Med* 2023; Under second review.

249. Tanter M, Bercoff J, Athanasiou A, et al. Quantitative assessment of breast lesion viscoelasticity: initial clinical results using supersonic shear imaging. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34: 1373–1386.
250. Parker KJ, Partin A, Rubens DJ. What do we know about shear wave dispersion in normal and steatotic livers? *Ultrasound Med Biol* 2015; 41: 1481–1487.
251. Hébert M, Lesept F, Vivien D, Macrez R. The story of an exceptional serine protease, tissue-type plasminogen activator (tPA). *Rev Neurol (Paris)* 2016; 172: 186–197.
252. Roessler FC, Ohlrich M, Marxsen JH, et al. The platelet-rich plasma clot: a standardized in-vitro clot formation protocol for investigations of sonothrombolysis under physiological flows. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011; 22: 407–415.
253. Hendley SA, Paul JD, Maxwell AD, et al. Clot degradation under the action of histotripsy bubble activity and a lytic drug. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2021; 68: 2942–2952.
254. Zeng Z, Christodoulides A, Alves NJ. Real-time tracking of fibrinolysis under constant wall shear and various pulsatile flows in an in-vitro thrombolysis model. *Bioeng Transl Med* 2023; 8: e10511.
255. Sigel B, Coelho JCU, Spigos DG, et al. Ultrasonography of blood during stasis and coagulation. *Invest Radiol* 1981; 16: 71–76.
256. Coelho JCU, Sigel B, Ryva JC, Machi J, Renigers SA. B-mode sonography of blood clots. *J Clin Ultrasound* 1982; 10: 323–327.
257. Cui H, Zhang B, Ji S. Propagation characteristics of guided waves in a rod surrounded by an infinite solid medium. *Acoust Phys* 2010; 56: 412–421.
258. Chen YL, Gao Y, Chang C, et al. Ultrasound shear wave elastography of breast lesions: correlation of anisotropy with clinical and histopathological findings. *Cancer Imaging* 2018; 18: 1–11.
259. Suat İ, Özgökçe M, Özkaçmaz S, Dünder İ, Türko E. Comparison of medical treatment

efficiency with shear wave elastography values of thrombus in patients with lower extremity deep vein thrombosis. *Ultrasound Q*. Epub ahead of print 2023. DOI: 10.1097/RUQ.0000000000000643.

260. Wang C, Wang L, Zhang Y, Chen M. A novel approach for assessing the progression of deep venous thrombosis by area of venous thrombus in ultrasonic elastography. *Clin Appl Thromb* 2014; 20: 311–317.
261. Ormachea J, Parker KJ. Comprehensive viscoelastic characterization of tissues and the inter-relationship of shear wave (group and phase) velocity, attenuation and dispersion. *Ultrasound Med Biol* 2020; 46: 3448–3459.
262. Fetzer DT, Pierce TT, Robbin ML, et al. US quantification of liver fat: past, present, and future. *Radiographics* 2023; 43: e220178.

Annexes

Annexe A : auteur et co-auteur d'articles scientifiques pendant cette thèse

Le premier article publié dans le cadre de cette thèse correspond au chapitre 4 : G. Bosio, N. Zenati, F. Destrempe, B. Chayer, G. Pernod, and G. Cloutier, "Shear wave elastography and quantitative ultrasound as biomarkers to characterize deep vein thrombosis in vivo," *J. Ultrasound Med.*, vol. 41, no. 7, pp. 1807–1816, 2022.

Le second article (correspondant au chapitre 5) est maintenant publié en ligne : G. Bosio, L. Yazdani, M.-H. Roy-Cardinal, and G. Cloutier, "Resonance, velocity, dispersion, and attenuation of ultrasound-induced shear wave propagation in blood clot in vitro models," *J. Ultrasound Med.*, 2023.

Le troisième article, correspondant au chapitre 6 à reçu un commentaire mineur et sera probablement publié début 2024 sous la référence : Effect of rt-PA on shear wave mechanical assessment and quantitative ultrasound properties of blood clot kinetics *in vitro*, dans *J. Ultrasound Med.*, 2024.

Dans le cadre de cette thèse, j'ai également participé à la rédaction d'un article de synthèse en tant que co-auteur. Ci-dessous le paragraphe de ma contribution ainsi qu'un tableau auquel j'ai participé et dont j'ai supervisé la création.

L'article est : H. Li *et al.*, "Viscoelasticity imaging of biological tissues and single cells using shear wave propagation," *Front. Phys.*, vol. 9, p. 666192, 2021.

Applications

A few examples of ultrasound shear wave viscoelasticity imaging applications are presented next. The reader may refer to recent review papers on this subject for other examples [117–119]. The focus below is on the liver and breast as those organs were largely investigated in clinical studies using SWE.

Liver

Liver fibrosis occurs when an abnormal large amount of liver tissue becomes scarred. It can lead to cirrhosis, its long-term

sequel, and further evolve as hepatocellular carcinoma [120]. Liver fibrosis can be differentiated into 5 categories, from F0 for a normal liver to F4 for cirrhosis; these categories have been obtained by biopsy intervention, which is the gold standard for liver classification. However, liver biopsy is invasive, could lead to bleeding or worse outcomes, and even death [121], and because a small amount of tissues is taken, it is not always representative of the full liver due to sampling errors [118, 122]. Fibrosis is one pathology known to increase liver stiffness [69, 123–126] along with inflammation, edema, congestion and extra hepatic cholestasis [64, 127, 128]. Shear wave elastography was mainly used to classify fibrosis based on liver elasticity using different cutoff values. This imaging method is accurate to assess liver fibrosis of stage 2 and higher [69, 123, 129–131], has a good repeatability [132], and may allow to diminish the number of biopsy [133]. Yet the impact of steatosis on liver stiffness is uncertain [88, 134–136]. To overcome this, some teams proposed investigating viscous properties. If no clear consensus is reached yet, a few studies showed promising results based on shear wave dispersion and attenuation to assess steatosis stages [88, 137] or necroinflammation [138, 139]. Shear wave elastography presents some limitations for liver imaging, such as difficult measurements in obese patients, and confounding impact of factors such as inflammation, which can increase liver stiffness or change the liver stiffness threshold for classification. In addition to fibrosis assessment and classification, SWE was also proven useful to follow patients with chronic liver disease [65]. An example of a liver SWE image is given in **Figure 3**.

Breast

Shear wave elastography is used to help identify breast cancers, since it has been shown that malignant tissues appear stiffer than its healthy counterpart [140–142]. X-ray mammography, MR imaging and ultrasonography are used to detect tissue lesions or to classify suspicious masses into different categories, typically classification 0 for incomplete data to 6 for histologically proven malignancy. Nonetheless, excluding the expensive MR imaging method, these approaches have poor specificity and mammography often find false negative results in dense breasts [143]. Category 4, which corresponds to suspicion for malignant tissues, has a degree of certainty varying from 2 to 95% to assess malignancy proven by biopsy, and has a cancer detection rate of 10–30% [144]. Shear wave elastography allowed improving breast lesion characterization [145–148], and reducing the number of unnecessary invasive biopsy due to the improvement in specificity [148–150]. Elasticity parameters such as the maximum or mean Young modulus E within the lesion, and in surrounding tissues, are used to separate benign from malignant masses. Recent works investigated viscosity behavior using the shear viscosity [151], linear dispersion slope [152], and storage and loss moduli [153] to differentiate malignant from benign tissues. Ultrasound data on the viscous behavior of breast lesions are scarce but may prove to be of clinical value in the future. Some studies investigated the use of SWE as a tool to monitor cancer treatment performance [154], with a decrease in malignant mass elasticity during treatment, or for early prediction of therapy successes [155, 156], with a better treatment response for softer tumors. **Figure 4** gives examples of Young's modulus elasticity maps of breast lesions.

Other Applications

Although SWE has targeted mainly the liver and breast, other organs and techniques have been developed. Prostate cancers [158], thyroid cancer nodules [159], and blood clot characterization [160] have been investigated, to name a few examples, with the Young's modulus as the descriptive mechanical parameter. If the assumption of an isotropic medium is generally accepted for most organs, it is not the case for muscles and tendons. Anisotropic and transversely isotropic models using shear waves have been recently investigated [24, 161, 162], some other teams explored viscoelastic properties using different probe orientations [109, 163–165]. A non-exhaustive list of SWE clinical applications can be found in **Table 2**.

TABLE 2 | An overview of main applications and viscoelastic properties in ultrasound SWE.

	Generation of SW			Viscoelastic parameters						Rheological model	
	Mechanical pushes	Focused acoustic beams		Elasticity (Young's modulus)	Viscosity	Shear modulus	Shear wave speed		Shear wave dispersion		Shear wave attenuation
		TE	ARFI				SSI	Group velocity			
Liver	[61, 65] [69, 118]	[69, 118] [126, 130]	[69, 88] [132, 138]	[125, 127] [130, 132]	[139]		[88, 126] [416]	[88] [118]	[88] [137]	[88] [138]	
	[125, 127] [126, 137]	[61, 416] [131, 135]	[61, 416] [135, 152]	[126, 416] [133, 135]			[135] [129]	[137] [138]	[138] [152]	[152] [139]	
	[135, 416] [131, 133] [128] [64] [124]	[129]	[134, 139]	[128, 134] [64, 65]				[152] [139]	[139]		
Breast	[140]	[146] [151] [157]	[152, 157] [147, 154] [145, 156] [142, 148] [149, 150] [155, 417] [418]	[140, 152] [146, 157] [147, 154] [145, 156] [142, 148] [149, 150] [155, 417] [418]	[151]	[151]	[140] [146] [147] [142] [148] [418] [157]	[152] [151]	[152]	[152] (power law) [151]	
Thyroid		[419, 420] [159, 421] [422, 423]	[159, 424] [367, 425] [426, 427]	[419, 421] [423, 424] [367, 425] [426, 427] [428, 429] [430]		[428]	[420] [159] [422] [429]				
Muscle		[163]	[109, 164] [431, 432]			[109, 164] [431, 432]	[109] [164, 431] [432]	[163] [109]		[109]	
Tendon	[434]		[435] [436] [165]	[435] [436]			[435] [436] [165]	[434]		[434]	
Blood clot	[66] [438]	[81]	[439] [440]	[439] [440]	[66] [81]	[438] [81]	[439] [440]	[66] [81]	[66]	[66] [438] [81]	
Prostate		[441]	[442–445] [446, 447]	[442, 443] [445, 446] [447]		[444]	[441, 442] [443, 444] [445, 446] [447]				

Je suis également co-auteur de l'article de conférence : L. Yazdani, M. Bhatt, G. Bosio, and G. Cloutier, "Improved frequency-shift method for shear wave attenuation computation," *IEEE Int. Ultrason. Symp. IUS*, vol. 2020-Sept, pp. 1–4, 2020.

Ma contribution a été de fournir des données de mes expériences qui ont été utilisées pour cet article.

Annexe B : conférences réalisées pendant ma thèse

Au cours de cette thèse, j'ai pu participer à de nombreuses présentations : concours (ma thèse en 180s), journée universitaire (JU du centre de recherche du CHUM 2022), communications scientifiques (midi conférence, organisé par le comité étudiant du CrCHUM 2021 et 2023, présentation à mon ancienne université) et congrès internationaux (ASA 2019 oral, IUS IEEE 2022 poster, LAFCUS 2021 et 2023 oral). Dans cette annexe seulement le poster à IEEE IUS est affiché car le support visuel s'y prête bien.

Resonance of shear wave propagation in blood clots *in vitro*

Guillaume Bosio^{1,2}, Manish Bhatt^{1,3}, Guy Cloutier^{1,2,4}

¹Laboratory of Biorheology and Medical Ultrasonics, University of Montreal Hospital Research Center (CRCHUM), Montreal, QC, Canada; ²Institute of Biomedical Engineering, University of Montreal, Montreal, QC, Canada; ³Department of Electronics and Electrical Engineering, IIT Guwahati, Guwahati, India; ⁴Department of Radiology, Radio-oncology and Nuclear Medicine, University of Montreal, Montreal, QC, Canada.

Background

- Shear wave elastography is an ultrasonic technique that calculates the Young's modulus (also called elastic modulus) based on shear wave speed propagation
- Shear wave resonance elastography is an elastography technique using the amplitude spectrum and a simulated lookup table to compute Young's modulus and viscoelasticity in cylindrical blood clots [1]
- However, this method is dependent of the lookup table and characterise only a small portion of the clot
- Linear attenuation of the shear wave has undergone recent developments and could be a good parameter to help characterise blood clots [2-4]
- Attenuation techniques use the spectral domain which can be disturbed by resonance phenomena
- Precise characterization of blood clots could improve their management

Objectives

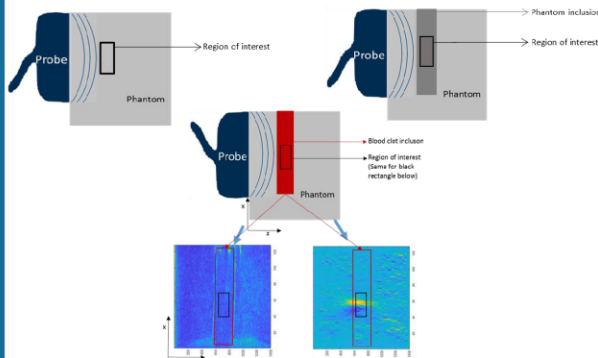
- Investigate the effect of resonance on amplitude spectra from blood clots
- Study the amplitude spectrum parameters and their link with blood clot properties
- See the impact of the resonance phenomenon on linear attenuation computation

Method

Acquisitions

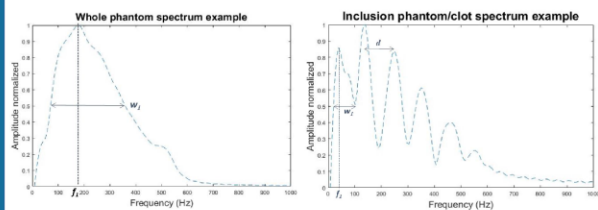
Three different experiments :

- Shear wave elastography of a whole phantom
- Shear wave elastography of an inclusion phantom (surrounded by a harder phantom)
- Shear wave elastography of a blood clot inclusion (surrounded by a harder phantom)



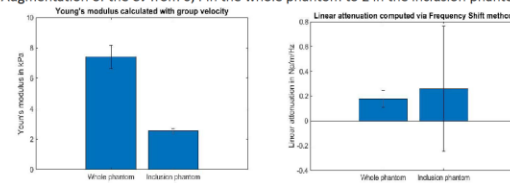
Amplitude spectra

- The amplitude spectrum is obtained by taking the Fourier transform on the amplitude displacement
- Frequency and width of the first peak f_1 and w_1 have been explored with simulations [1].
- We will add d , the distance between peaks to f_1 and w_1 to characterize the amplitude spectrum
- Amplitude spectra from whole phantom present only one peak, whereas the inclusion phantom and the blood clot's inclusion present multiple frequency peaks. Our hypothesis is that the phenomenon is due to resonance inside inclusions



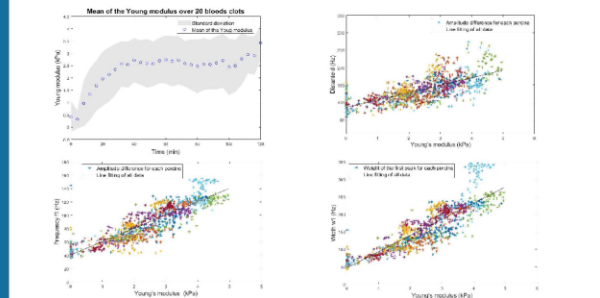
Results on phantoms

- Comparison of the whole phantom vs. the inclusion phantom to see the effect of resonance on the accuracy of elasticity and attenuation calculations
- Accuracy is attested by the coefficient of variation Cv , the ration between the standard deviation and the mean value
- No clear effect to be seen on Young's modulus ($Cv : 0,1$ vs. $0,06$)
- Augmentation of the Cv from $0,4$ in the whole phantom to 2 in the inclusion phantom



Results blood clots

- 20 blood clots were made and measured during a two-hour period
- The Young's modulus was computed over time and showed an increase
- Parameters on amplitude spectrum f_1 , w_1 and d showed a linear increase with the Young's modulus ($p < 0,0001$ using a mixed model effect)



Discussion and conclusion

- Amplitude spectra with multiple peaks could be observed in Hadj's study [5] with the use of an external vibrator to generate the shear waves
- The Young's modulus is calculated via the group velocity of the shear waves. This speed does not depend on the frequency, so it seems logical that the calculation of the Young's modulus is not influenced by the resonance
- The impact of resonance on the shear wave linear attenuation coefficient may complicate its use in cylindrical inclusions
- The Young's modulus of blood clots increases over time as found in other studies [6-7]
- Parameter f_1 and w_1 increase with the increase in elasticity, as found in simulations [1]
- Inclusions, such as blood clots, show **multiple peak** amplitude spectra. Our hypothesis is that this is due to **resonance** phenomena.
- The resonance allows to relate **the spectrum parameter** and the elasticity of the clot.
- The resonance **complicates the calculation of the shear wave attenuation** (via methods that used the amplitude spectrum).

Reference

- [1] M. Bhatt, E. Montagnon, F. Destremes, B. Chayer, S. Kazemirad, and G. Cloutier, "Acoustic radiation force induced resonance elastography of coagulating blood: Theoretical viscoelasticity modeling and ex vivo experimentation," *Phys. Med. Biol.*, vol. 63, no. 6, p. 065016, 2018.
- [2] S. Bernard, S. Kazemirad, and G. Cloutier, "A frequency-shift method to measure shear-wave attenuation in soft tissues," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 64, no. 3, pp. 514-524, 2017.
- [3] I. Z. Nenadic, et al., "Attenuation measuring ultrasound shearwave elastography and in vivo application in post-transplant liver patients," *Phys. Med. Biol.*, vol. 62, no. 2, pp. 484-500, 2017.
- [4] [1] L. Yazdani, M. Bhatt, I. Rafati, A. Tang, and G. Cloutier, "The revisited frequency-shift method for shear wave attenuation computation and imaging," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 69, no. 6, pp. 2061-2074, 2022.
- [5] A. Hadj Henni, C. Schmitt, and G. Cloutier, "Shear wave induced resonance elastography of soft heterogeneous media," *J. Biomechanics*, vol. 43, no. 8, pp. 1488-1493, 2010.
- [6] J. L. Gennisson, S. Lerouge, and G. Cloutier, "Assessment by transient elastography of the viscoelastic properties of blood during clotting," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 32, no. 10, pp. 1529-1537, 2006.
- [7] E. Mfoumou, J. Tripette, M. Blostein, and G. Cloutier, "Time-dependent hardening of blood clots quantitatively measured in vivo with shear-wave ultrasound imaging in a rabbit model of venous thrombosis," *Thromb. Res.*, vol. 133, no. 2, pp. 265-271, 2014.

Annexe C : méthode multimodale FS

Dans cette thèse, une des options pour calculer l'atténuation de l'onde de cisaillement lors de résonances a été d'essayer d'approximer chaque pic comme une distribution gamma. Pour cela, un modèle dérivé de la méthode FS a été conçu selon le principe suivant (avec François Destrempes et Marie-Hélène Roy Cardinal) :

La méthode R-FS transpose la carte des vitesses dans le domaine des fréquences et suppose que le spectre d'amplitude de chaque pixel est une distribution gamma à un pic. Les paramètres de forme et de taux de la distribution gamma sont ensuite obtenus par un ajustement de la fonction gamma. Le coefficient d'atténuation est alors obtenu comme la pente du paramètre de taux de l'ajustement gamma en fonction de la distance. Cependant, dans le cas d'une inclusion molle, les spectres d'amplitude des ondes de cisaillement peuvent présenter des pics multiples, comme à la **Figure 28**. Par conséquent, les modifications suivantes ont été apportées à la méthode R-FS afin de prendre en compte les pics de fréquence de résonances multiples ; la nouvelle méthode est appelée R-FS multimodale (MMR-FS).

La méthode MMR-FS consiste à : *i*) identifier les quelques premiers pics du spectre d'amplitude, et *ii*) ajuster une distribution gamma doublement tronquée (DTGD) autour de chaque pic indépendamment des autres pics. La fonction Matlab "findpeaks" a été utilisée pour identifier les pics (c'est-à-dire les maximums locaux) qui présentaient une largeur d'au moins 2 % de la largeur spectrale totale (~35 Hz) et une amplitude d'au moins 10 % de l'amplitude maximale.

En outre, la méthode d'estimation du DTGD proposée est basée sur le mode (c'est-à-dire l'abscisse du pic considéré) et le second moment de l'amplitude, calculés sur l'intervalle allant du pic à la "position du pic à mi-hauteur sur sa droite" (qui a été renvoyée par la fonction Matlab). Le choix de l'intervalle proposé a permis d'assurer la convergence de l'algorithme, qui consiste en une recherche binaire de la valeur théorique du second moment, tout en conservant la valeur observée du mode. Deux exemples de spectres d'amplitude (l'un avec un seul mode et l'autre avec plusieurs modes) et les ajustements obtenus avec la méthode R-FS ou la méthode MMR-FS proposée sont présentés à la **Figure 28**. Dans le cas des spectres d'amplitude multimodaux, les différents paramètres de taux correspondant aux trois premiers pics ont été pris en compte

individuellement, ce qui donne trois valeurs d'atténuation des ondes de cisailment, alors que le cas d'un seul pic ne donnerait qu'une seule valeur.

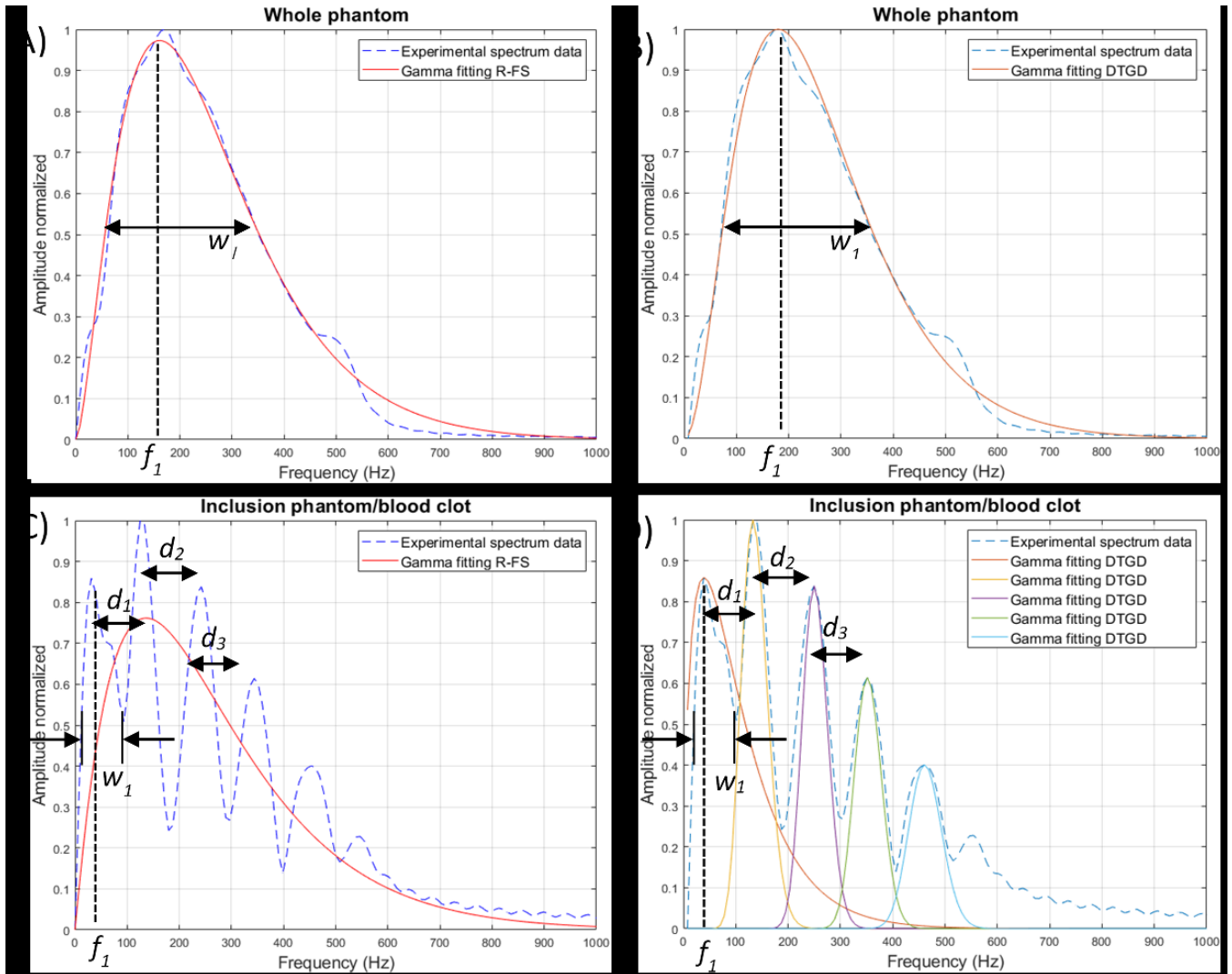


Figure 28. – Exemple de spectres d'amplitude de déplacement. (A) Spectre d'amplitude d'un seul pic ajusté par la méthode des moindres carrés, celle utilisée dans la méthode originale de décalage de fréquence revisitée. (B) Ajustement des pics de résonance, effectué par la distribution gamma doublement tronquée. (C) La même méthode d'ajustement qu'en A a été appliquée à un spectre d'amplitude à pics multiples. (D) Un spectre d'amplitude à pics multiples a été ajusté avec l'algorithme DTGD. Le paramètre f_1 correspond à la fréquence

du premier pic. Le paramètre w_1 correspond à la largeur du premier pic. Le paramètre d est la moyenne entre d_1 , d_2 et d_3 (s'il y a suffisamment de pics).

Cependant, les suppositions faites par la méthode FS ne sont plus valables ici, et les résultats obtenus ne sont donc pas consistents. Ces travaux ont été rajouté en annexe car l'utilisation de la distribution gamma doublement tronquée afin d'approximer plusieurs pics est originale même si elle n'a pas été utile dans le cas précis de cette thèse.