



HAL
open science

Détection de la Cavitation Inertielle des Microbulles d'Agent de Contraste Ultrasonore dans un Fantôme de Flux Capillaire

Mathieu D. Santin, Dan A. King, Sara Jafari, Josquin Foiret, Sylvain Hauptert, W. D. O'Brien, Jr., S. L. Bridal

► **To cite this version:**

Mathieu D. Santin, Dan A. King, Sara Jafari, Josquin Foiret, Sylvain Hauptert, et al.. Détection de la Cavitation Inertielle des Microbulles d'Agent de Contraste Ultrasonore dans un Fantôme de Flux Capillaire. 10ème Congrès Français d'Acoustique, Apr 2010, Lyon, France. hal-00542588

HAL Id: hal-00542588

<https://hal.science/hal-00542588>

Submitted on 3 Dec 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

10ème Congrès Français d'Acoustique

Lyon, 12-16 Avril 2010

Détection de la cavitation inertielle des microbulles d'agent de contraste ultrasonore dans un fantôme de flux capillaire

M. D. Santin^{1,2}, D. A. King^{3,4}, S. Jafari^{1,2}, J. Foiret^{1,2}, S. Haupt^{1,2}, W.D. O'Brien, Jr.^{3,4}, S. L. Bridal^{1,2}

¹UPMC Univ Paris 06, UMR 7623, LIP, F-75005, Paris, France

²CNRS, UMR 7623, Laboratoire d'Imagerie Paramétrique, F-75006, Paris, France

³Bioacoustics Research Laboratory, Department of Electrical and Computer Engineering, University of Illinois, 405 North Mathews, Urbana, IL 61801 USA

⁴Department of Mechanical Science and Engineering, University of Illinois, 1206 W. Green St., Urbana, IL 61801 USA

Il a été montré que les pics de pression large bande détectés après insonification (post-excitation) de microbulles isolées sont liés à la destruction et la cavitation inertielle de ces microbulles. Cette étude a permis d'analyser la réponse post-excitation de microbulles de l'agent expérimental BR14 (Bracco Research SA - Genève) ainsi que de Definity dans un capillaire (diamètre interne 180 μm) en fonction du flux. Le détecteur passif de cavitation utilisé consiste en un émetteur de 2,25MHz (5 cycles) et de deux récepteurs à 5 et 15 MHz alignés confocalemment sur le capillaire. La zone confocale est observée par le biais d'un microscope. Lorsqu'elles sont immobiles, les microbulles ont tendance à remonter vers le haut du capillaire. Par contre, lorsqu'elles sont dans un flux, les turbulences vont les éloigner de la paroi. Des microbulles uniques (N=5) de BR14 ont tout d'abord été isolées et maintenues immobiles dans la zone confocale puis soumises à des impulsions ultrasonores. La réponse obtenue (13,0 MHz) aux pics de pression de raréfaction de 0,4 à 1,8 MPa n'a pas permis de mettre en évidence de signaux post-excitation. Par la suite la vitesse du flux a été modifiée (5 à 400 mm/s) et un nombre de réponses de microbulles uniques a été alors acquis (N>10 pour chaque vitesse) lorsqu'elles ont été soumises à une impulsion ultrasonore (0,6 MPa). Le pourcentage de réponses présentant un signal post-excitation a augmenté avec la vitesse du flux pour atteindre un plateau autour de 100 mm/s. Les vitesses de flux ainsi que la fréquence de répétition des tirs sont telles que les microbulles ont été renouvelées entre chaque tir. Le fait que les signaux post-excitation sont observés plus fréquemment sur des microbulles en mouvement indique que la cavitation inertielle est potentiellement réduite dans des réseaux de capillaires à flux lent.

1 Introduction

L'imagerie ultrasonore de la *fonction microvasculaire* (flux < 1 mm/s dans des vaisseaux < 50 μm de diamètre) a été rendue faisable par le développement d'agents de contraste échographique. Ce sont des microbulles stabilisées qui sont administrées par voie intravasculaire afin d'augmenter l'intensité des échos ultrasonores dans des zones vascularisées. Elles ont la capacité unique de pouvoir être détruites par ultrasons. Des systèmes d'imagerie clinique (< 20 MHz) permettent une détection non linéaire et spécifique des agents de contraste.[1] Il est donc possible d'utiliser des modèles cinétiques originaux basés sur la destruction locale des microbulles par le faisceau ultrasonore afin d'estimer des paramètres de perfusion tissulaire à partir des séquences d'imagerie de contraste [2-5].

Des approches thérapeutiques multiples ont été mises en place en utilisant l'interaction unique entre l'onde et la microbulle de contraste ultrasonore. Certaines applications thérapeutiques telles que la destruction des caillots sanguins [6] et la livraison par activation acoustique d'un médicament encapsulé dans la microbulle [7, 8] utilisent les ultrasons afin de rompre cette microbulle de contraste. Des études précliniques chez l'animal ont démontré la faisabilité d'une telle approche [7, 9, 10].

Un effet thérapeutique peut aussi être obtenu, pour certaines applications, simplement en mettant des microbulles de contraste en oscillation forte – sans rupture. C'est le cas pour l'augmentation de la sonoporation de

l'ADN dans des cellules [11] et l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique au passage des médicaments [12]. Pour de telles applications, il est de plus préférable de limiter la rupture des microbulles car un trop grand nombre d'évènement de rupture peut provoquer un fort taux de mortalité cellulaire. Les mécanismes de l'effet thérapeutique sans rupture des microbulles ne sont pas encore complètement élucidés. Il a été démontré que l'oscillation mécanique des microbulles contre la membrane cellulaire peut modifier le transfert transmembranaire [13]. Il a également été démontré que lorsque des microbulles de contraste sont au stade de forte oscillation, appelée "cavitation inertielle" [14], un effet d'échauffement est obtenu [15].

Afin de contrôler l'effet thérapeutique induit par l'interaction ultrasons/microbulles, il est nécessaire d'utiliser des techniques non-invasives permettant de contrôler le niveau d'oscillation des microbulles. La technique de « détection passive de cavitation » est la technique standard de recherche utilisée pour cet objectif. La détection passive de cavitation (DPC) permet d'évaluer le niveau d'émission acoustique large bande d'un ensemble de microbulles de contraste en oscillation. Ce niveau est corrélé à l'effet thérapeutique des microbulles [11, 12, 15]. Nous avons démontré - par modélisation et expérimentation en DPC – que seule une microbulle rompue et en cavitation inertielle répond avec une émission large bande après la fin de l'excitation acoustique (signal de post-excitation) [16, 17]. Il a également été démontré dans la littérature que lorsqu'une microbulle est proche d'une paroi, l'amplitude

de sa réponse acoustique est fortement réduite [18]. Les techniques de détection et de modélisation de la cavitation des microbulles pourraient, dans l'avenir, aider à maîtriser leur action thérapeutique dans les situations rencontrées *in vivo*.

Dans cette étude, nous avons utilisé un système de DPC ainsi qu'un fantôme de flux capillaire afin de détecter la réponse post-excitation d'une microbulle de contraste pendant son déplacement contrôlé dans un tubulaire mimant un vaisseau capillaire.

2 Matériels et Méthodes

2.1 Fantôme de flux capillaire

Le fantôme de flux consiste en une fibre creuse en cellulose de $200 \mu\text{m}$ de diamètre externe (MWCO, Spectrum Labs Inc., Rancho Dominguez, CA, USA) et de $180 \mu\text{m}$ de diamètre interne. Cette fibre, optiquement et acoustiquement transparente, est tendue, sous l'objectif d'un microscope (Z16 APO macroscope, Leica, Bannockburn, IL, USA) dans une cuve de Plexiglas contenant de l'eau filtrée et dégazée entre 20 et 24°C . Un objectif grossissant 20X (Leica Achroplan 100X, NA = 0.42) couplé au zoom de 9,2X a permis un grossissement total de 184X, suffisant pour l'observation des microbulles de contraste, jusqu'à $\sim 0,4 \mu\text{m}$ de rayon. Ce système de microscopie autorise une distance de travail de 20 mm . Une source halogène continue à forte intensité (250 Watts, Techni-Quip Inc., Eastlake, OH) a été utilisée afin d'éclairer la fibre en transmission.

Une caméra CCD à faible temps d'exposition (LH 509 ULL, France) est placée sur le microscope. (temps d'exposition $\leq 100 \text{ ns}$). La fréquence d'acquisition maximum des images est de 25Hz . Les images reçues par la caméra sont ensuite enregistrées au moyen d'une carte d'acquisition (Matrox Meteor-II, Matrox imaging, Canada) et stockées sur PC.

Une des extrémités de la fibre est connectée à une seringue de microinjection. L'ensemble est monté sur une table d'isolation anti-vibration (07 OTI 031, Melles Griot Ltd, UK). Afin de contrôler le débit du flux (de 5 à 400 mm/s) de l'agent de contraste, un pousse-seringue électronique (11 Plus Serynge Pump, Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA) a été utilisé.

2.2 Détecteur passif de cavitation

Afin de permettre l'alignement confocal des transducteurs sur la fibre de cellulose, un support de sonde a été fixé à une platine à déplacement micrométrique autorisant trois degrés de liberté en translation suivant les axes O_x , O_y et O_z , tels que décrits sur la Figure 1. La Figure 2 présente une vue d'ensemble du système.

Un transducteur de fréquence nominale $2,25 \text{ MHz}$ (Technisonic, ILD-0206-GP, diamètre de l'élément $1,9 \text{ cm}$, distance focale : $5,1 \text{ cm}$) a été utilisé en émission. Un générateur de fonction arbitraire (Agilent, 33250A, Thousand Oaks, CA, USA) a été utilisé pour créer l'impulsion ultrasonore. Cette impulsion a ensuite été amplifiée par un amplificateur de puissance Ritec GA-2500A Gated RF Amplifier (Warwick, USA) à gain maximal de 70 dB . A l'aide d'un hydrophone calibré (ONDA, HGL-0400, ONDA, Sunnyvale, CA, USA), la

pression à la focale transmise par le transducteur utilisé en émission a été mesurée pour l'ensemble des réglages utilisés pendant l'étude.

Un autre transducteur de fréquence centrale de 13 MHz (fréquence nominale de 15 MHz , Technisonic, ISL-1504-VHR, diamètre de l'élément $1,9 \text{ cm}$, distance focale : $5,1 \text{ cm}$) a été utilisé en réception. Les signaux reçus ont ensuite été amplifiés par un récepteur large bande ($0,1$ à $50,0 \text{ MHz}$ à -6 dB), à gain variable de -15 à 64 dB (Ritec Broadband Receiver BR-640A, Warwick, USA) puis ont été enregistrés via un oscilloscope numérique (6051A, Lecroy Inc. Chestnut Ridge, NY). Toute la chaîne de mesure est contrôlée par un logiciel développé au laboratoire sous LabView (National Instruments, Austin, TX). Ce détecteur passif de cavitation permet ainsi l'excitation des microbulles dans la zone confocale à $2,25 \text{ MHz}$ et la détection passive de leur réponse acoustique autour de 13 MHz .

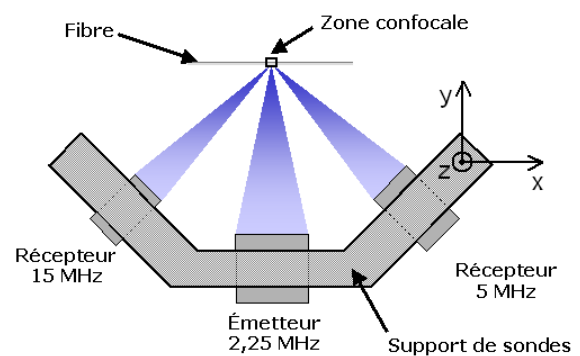


Figure 1 : Schéma représentant le support des transducteurs et leur alignement sur la fibre de cellulose. Seuls les transducteurs de 13 MHz (15 MHz , nominale) et de $2,25 \text{ MHz}$ ont été utilisés dans les mesures présentés dans ce travail. Néanmoins, le transducteur à 5 MHz a été nécessaire pour s'assurer un alignement initial des faisceaux.

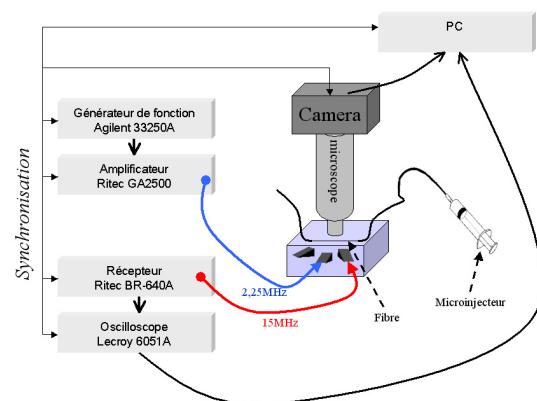


Figure 2 : Schéma présentant le détecteur passif de cavitation couplé à un microscope permettant l'observation des microbulles isolées dans la fibre de cellulose.

2.2 Microbulles

Des microbulles de l'agent expérimental BR14 (Bracco Research SA – Genève) et de l'agent de contraste Definity™ (Bristol-Myers Squibb Medical Imaging Inc., New York) ont été utilisées. Nous avons travaillé avec des solutions d'agents de contraste diluées de sorte qu'en moyenne, une seule microbulle soit présente dans le volume confocal étudié.

2.2 Acquisition des données

Le détecteur passif de cavitation a été utilisé avec une impulsion d'excitation à 2,3MHz de 5 cycles pour l'ensemble des acquisitions.

Microbulles isolées et immobilisées dans la zone focale.

Le pic de pression de raréfaction a été fixé entre 0,4 et 1,8 MPa. Chaque acquisition consiste en deux images digitales enregistrées par la camera, l'une avant et l'autre après l'insonification ainsi que le signal radiofréquence détecté par le récepteur (5000 points échantillonnés à 250MHz sur 8 bits). Seules les réponses acoustiques présentant un rapport signal sur bruit d'au moins 6 dB ont été retenues (N = 5).

Microbulles en faible dilution dans un flux.

La vitesse de flux a été fixée de 5 à 400 mm/s. Le pic de pression de raréfaction des impulsions a été fixé à 0,6 MPa durant l'acquisition et la fréquence de répétition (4Hz) a été suffisante pour que le volume de microbulles insonifiées dans le capillaire soit renouvelé entre deux tirs ultrasonores consécutifs. Une centaine de réponses détectées par le récepteur (5000 points échantillonnés à 250 MHz sur 8 bits) ont été acquises pour chaque vitesse de flux et chaque type de microbulle. Seules les réponses acoustiques présentant un rapport signal à bruit d'au moins 6dB ont été retenues (N ≥ 10 pour chaque vitesse de flux et chaque type de microbulle).

3 Résultats

3.1 Microbulles isolées et immobiles de BR14

Des microbulles de BR14 ont été isolées et maintenues immobiles dans la zone focale. L'observation de chaque microbulle sous microscopie avant et après insonification (pics de pression de raréfaction de 0,4 à 1,8 MPa) a permis de confirmer ou non sa destruction. La Figure 3 montre un exemple de réponse acoustique reçue pour une des microbulles. L'impulsion acoustique a été faite à forte pression de raréfaction (1,8 MPa). La Figure 4 montre un deuxième exemple de réponse obtenue pour une pression de raréfaction de 1,0 MPa. Sur les réponses acoustiques de microbulles détruites (N=5), il est difficile d'observer un signal post-excitation. Aucune réponse acoustique acquise dans ces conditions n'a permis de mettre en évidence de signaux post-excitation.

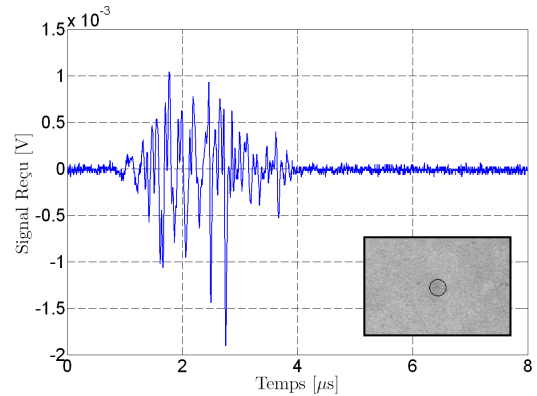


Figure 3 : Signal reçu à 13 MHz d'une microbulle de BR14. Photo : $R_0=1,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$, la microbulle est présente avant mais pas après l'insonification (5 cycles ; 2,3MHz, pic de pression de raréfaction = 1,8MPa). Le léger pic en fin de la réponse acoustique peut potentiellement être une émission post-excitation, mais ce signal n'est pas clairement séparé de la réponse principale.

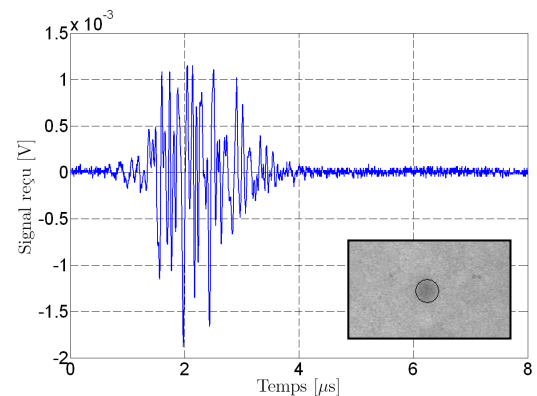


Figure 4 : Signal reçu à 13 MHz d'une microbulle de BR14. Photo : $R_0=2,0 \pm 0,5 \mu\text{m}$, la microbulle est présente avant mais pas après l'insonification (5 cycles ; 2,3MHz, pic de pression de raréfaction = 1,0MPa). Aucun signal post-excitation n'a été mis en évidence.

3.2 Microbulles isolées en mouvement

La Figure 5 présente des exemples de signaux classés dans le groupe "signaux avec réponse post-excitation" pour Definity® et BR14. La Figure 6 présente des exemples de signaux classés comme ne contenant qu'une réponse principale et pas de signal post-excitation pour Definity® et BR14. Les résultats du calcul de pourcentage d'occurrence de signal post-excitation en fonction de la vitesse de flux sont représentés sur la Figure 7. On observe sur cette figure que le pourcentage de signaux post-excitation augmente pour chaque agent de contraste jusqu'à une valeur plateau. Les vitesses de flux à partir desquelles les valeurs plateau sont atteintes sont d'approximativement 50mm/s pour Definity® et 100mm/s pour BR14.

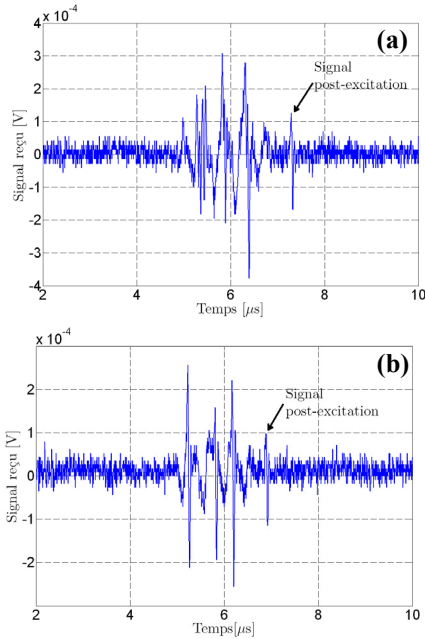


Figure 5 : Signaux émis par des microbulles de contraste isolées se déplaçant dans un flux de 100mm/s . L'impulsion d'excitation est à $2,3\text{MHz}$ (5 cycles avec pression de raréfaction de $0,6\text{MPa}$), récepteur de 13MHz . (a) Signal classé comme étant une réponse avec post-excitation pour Definity[®]. (b) Signal classé comme étant une réponse avec post-excitation pour BR14.

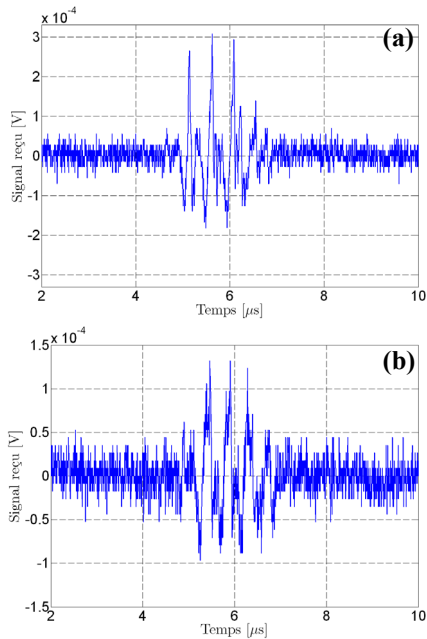


Figure 6 : Signaux émis par des microbulles de contraste isolées se déplaçant dans un flux de 100mm/s . L'impulsion d'excitation est à $2,3\text{MHz}$ (5 cycles avec pression de raréfaction de $0,6\text{MPa}$), récepteur de 13MHz . (a) Signal classé comme étant une réponse sans post-excitation pour Definity[®]. (b) Signal classé comme étant une réponse sans post-excitation pour BR14.

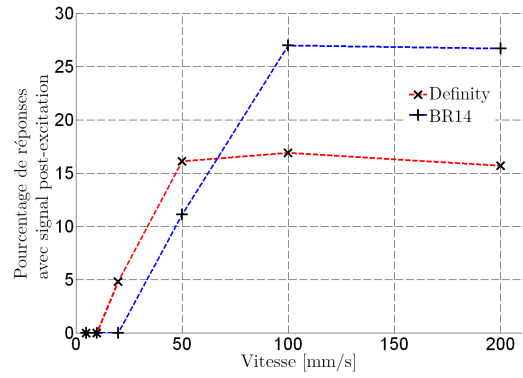


Figure 7 : Pourcentage de réponses de microbulles isolées présentant un signal post-excitation en fonction de la vitesse du flux dans la fibre. L'impulsion d'excitation est à $2,3\text{MHz}$ (5 cycles avec pression de raréfaction de $0,6\text{MPa}$), récepteur de 13MHz . Le nombre de signaux identifiés pour l'estimation de chaque pourcentage a varié entre 10 et 100.

4 Discussion

Nous avons observé que les microbulles isolées et immobiles dans la fibre de cellulose (sans flux) de notre détecteur passif de cavitation ne présentaient pas d'émissions post-excitation claires même lorsque leur destruction a pu être confirmée par observation au microscope. Nous avons constaté que pendant la mise en place des microbulles – lorsque les microbulles ont été en déplacement à faible flux – que les signaux acoustiques observés ont alors été de plus forte amplitude, avec parfois des signaux post-excitation. Ainsi, nous avons choisi d'étudier la variation de la réponse d'un agent de contraste en fonction de la vitesse de déplacement dans le tubulaire. Pour des vitesses de déplacement modérées à fortes, nous avons pu observer des microbulles présentant des signaux post-excitation similaires à ceux observés précédemment [16, 17]. Néanmoins, même si la dilution permet l'insonification d'une microbulle isolée, le fait de travailler sur un flux de microbulles nous prive de l'information relative à la taille initiale de la microbulle. De même nous avons perdu la confirmation optique de destruction de la microbulle de contraste. On peut toutefois supposer que la gamme de taille des microbulles étudiées a été la même que lors du travail sur une microbulle isolée sous le champ du microscope (c'est à dire d'approximativement de $0,5$ à $5\mu\text{m}$ en rayon), les dilutions et temps de manipulations ayant été du même ordre.

Afin d'évaluer la nature du déplacement des microbulles de contraste dans la fibre, nous avons observé le déplacement des microbulles à l'intérieur de la fibre lorsque le flux a été ajusté à la vitesse minimale (5mm/s). En observant les images acquises par notre caméra à 4 images/s, nous avons pu suivre le déplacement selon l'axe du flux de fluide de plusieurs microbulles entre plusieurs images consécutives. La vitesse de déplacement le long de l'axe du tubulaire a pu être évaluée pour certaines microbulles à $0,05 \pm 0,05\text{mm/s}$. Il semble donc que lorsque le flux est très lent, les microbulles peuvent avoir le temps nécessaire afin de remonter vers le haut de la fibre, et que leur déplacement apparaît donc comme étant ralenti par rapport à la vitesse moyenne du fluide dans la fibre. Ces observations sont étayées du fait que le nombre de Reynolds d'un écoulement d'eau à 5mm/s dans une fibre

de 180µm de diamètre est égal à 0,9. On peut donc considérer que l'on est dans le cadre d'un écoulement laminaire, ce qui justifie le fait que la vitesse d'écoulement soit diminuée à mesure que l'on se rapproche de la paroi.

A partir de ces observations indirectes, il semble que, à faible flux, les microbulles puissent se rapprocher de la paroi du capillaire et leur déplacement peut être ralenti par rapport aux déplacements du flux volumétrique de fluide. Cela peut avoir deux types d'influences importantes sur la réponse acoustique des microbulles. Premièrement, il est établi [18] que la proximité d'une microbulle par rapport à une paroi peut réduire l'amplitude de ses oscillations. Deuxièmement, même si la vitesse de flux minimale utilisée dans ces expérimentations a été choisie afin que la totalité de fluide dans la zone confocale soit renouvelée entre chaque tir ultrasonore, les microbulles sur la périphérie du flux laminaire peuvent rester dans la zone d'insonification lors de plusieurs tirs consécutifs. Ainsi, nous avons pu conclure qu'à faible vitesse, la totalité du volume de microbulles dans la zone interrogée par l'impulsion ultrasonore n'a pu être totalement renouvelée en agents de contraste entre deux tirs.

Pour les solutions de microbulles à fortement diluées, l'observation des signaux post-excitation a pu être reliée à la vitesse du flux. La situation de l'insonification des microbulles de contraste dans le flux lent d'une petite fibre est similaire à celle rencontrée dans la microcirculation pendant l'imagerie de contraste fonctionnelle. Le fait que les signaux post-excitation soient observés plus fréquemment sur des microbulles en mouvement indique que la cavitation inertielle est potentiellement réduite dans des réseaux de capillaires à flux lent.

Remerciements

Ce travail a reçu le soutien du projet de Coopération en Ingénierie Biomédicale entre l'Université d'Illinois à Urbana-Champaign (UIUC) et le Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), France. Les auteurs remercient tout particulièrement Michel Schneider et Bracco Research SA, Genève, pour nous avoir fourni des flacons de l'agent expérimental BR14. Les auteurs remercient également l'Agence Nationale de la Recherche, ANR-05-BLAN-0236 projet ACUVA et l' U.S. National Institutes of Health Grant R37EB02641 pour leur soutien à ce projet.

Références

- [1] Correas J.M., Bridal S.L., Lesavre A., Méjean A., Claudon M., Hélénon O., "Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance, and artifacts," *European Radiology*, 1, 1316 (2001).
- [2] Eyding J, Wilkening W., Reckhardt M., et al, "Contrast burst depletion imaging (CODIM): a new imaging procedure and analysis method for semiquantitative ultrasonic perfusion imaging," *Stroke*, 34, 77 (2003).
- [3] Krix M., Kiessling F., Farhan N., Schmidt K., Hoffend J., Delorme S., "A multivessel model describing replenishment kinetics of ultrasound contrast agent for quantification of tissue perfusion," *Ultrasound Med Biol*, 29, 1421 (2003).
- [4] Wei K., Jayaweera A., Firoozan S., Linka A., Skyba D., Kaul S., "Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion," *Circulation* 97, 473 (1998).
- [5] Wei K., Le E., Bin J., Coggins M., Thorpe J., Kaul S., "Quantification of renal blood flow with contrast-enhanced ultrasound," *J Am Coll Cardiol*, 37, 1135 (2001).
- [6] Takeucki H., Ogunyankin K., Pandian N. G., et al., "Enhanced visualization of intravascular and left atrial appendage thrombus with the use of a thrombus-targeting ultrasonographic contrast agent (MRX-408A1): In vivo experimental echocardiographic studies", *J. Am. Soc. Echocardiog*, 12, 1015 (1999).
- [7] Klibanov A. L., "Microbubble contrast agents - Targeted ultrasound imaging and ultrasound-assisted drug-delivery applications", *Invest. Radiol.* 41, 354 (2006).
- [8] Kheirrolomoom A., Dayton P. A., Lum A. F. H., et al., "Acoustically-active microbubbles conjugated to liposomes: Characterization of a proposed drug delivery vehicle", *J. Control. Release* 118, 275 (2007).
- [9] Kobulnik J., Kuliszewski M.A., Stewart D.J., Lindner J.R., Leong-Poi H., "Comparison of gene delivery techniques for therapeutic angiogenesis ultrasound-mediated destruction of carrier microbubbles versus direct intramuscular injection", *J Am Coll Cardiol*, 27, 1735 (2009).
- [10] Korpanty G., Chen S., Shohet R.V., et al., "Targeting of VEGF-mediated angiogenesis to rat myocardium using ultrasonic destruction of microbubbles", *Gene Ther.* 12, 1305 (2005).
- [11] Lai C.-Y., Wu C.-H., Chen C.-C, Li P.-C. "Quantitative relations of acoustic inertial cavitation with sonoporation and cell viability", *Ultrasound Med. Biol.* 32, 1931 (2006).
- [12] McDannold N., Vykhodtseva N., Hynynen K. "Targeted disruption of the blood-brain barrier with focused ultrasound: association with cavitation activity", *Phys. Med. Biol.* 51, 793 (2006).
- [13] Tran T.A., Le Guennec J.Y., Bougnoux P., Tranquart F., Bouakaz A. "Characterization of cell membrane response to ultrasound activated microbubbles" *IEEE Trans Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, 55, 44 (2008).
- [14] Ferrara K., Pollard R. and Borden M., "Ultrasound microbubble contrast agents: Fundamentals and application to gene and drug delivery", *Annu Rev Biomed Eng*, 9, 415 (2007).
- [15] Coussios C. C., Farny C. H., Ter Haar G., Roy R. A., "Role of acoustic cavitation in the delivery and monitoring of cancer treatment by high-intensity focused ultrasound (HIFU)", *International Journal of Hyperthermia*, 23, 327 (2007).
- [16] Ammi A., Cleveland R.O., Mamou J., Wang G., Bridal S.L., O'Brien W. D. ; Jr. "Ultrasonic contrast

agent shell rupture detected by inertial cavitation and rebound signals”, *IEEE Trans Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, 53, 126 (2006).

- [17] Santin M., King D., Foiret J., Haak A., O’Brien W.O.; Jr., Bridal S.L., “Encapsulated contrast microbubble oscillation and response associated with post-excitation broadband pressure peaks,” *J Acoust Soc Am*, 127, 1156-1164 (2010).
- [18] Garbin V. Cojoc D., Ferrari E., Di Fabrizio E., Overvelde L.J., van der Meer S.M., de Jong N., Lohse D., Versluis M. “Changes in microbubble dynamics near a boundary revealed by combined optical micromanipulation and high-speed imaging.” *Appl. Phys. Lett.* 90, 114103 (2007).