



HAL
open science

Implémentation des Séquences d'Imagerie Non Linéaire de Contraste dans un Prototype Programmable à Haute Fréquence

Sara Jafari, C. L. Jounet, S. L. Bridal

► **To cite this version:**

Sara Jafari, C. L. Jounet, S. L. Bridal. Implémentation des Séquences d'Imagerie Non Linéaire de Contraste dans un Prototype Programmable à Haute Fréquence. 10ème Congrès Français d'Acoustique, Apr 2010, Lyon, France. hal-00542591

HAL Id: hal-00542591

<https://hal.science/hal-00542591>

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.

Implémentation des Séquences d'Imagerie Non Linéaire de Contraste dans un Prototype Programmable à Haute Fréquence

S. Jafari^{1,2}, C. Jounet^{1,2}, 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

Un système d'échographie haute fréquence a été développé pour l'imagerie ultrasonore chez la souris. Ce système large bande, permet la programmation de la forme d'onde à l'émission, l'acquisition des données radiofréquence (RF) et l'affichage d'images en temps réel. La flexibilité du système est un atout majeur pour l'implémentation des nouvelles méthodes d'imagerie. Nous y avons implémenté (sous MATLAB et C++) trois séquences d'imagerie : une séquence d'imagerie linéaire (impulsion conventionnelle) et deux séquences nonlinéaires pour la détection spécifique des agents de contraste ultrasonore (pulse-inversion, PI, [1] et multi-pulse inversion, MPI, [2]). Des acquisitions *in vitro* ont été effectuées en utilisant un transducteur mono-élément avec une fréquence centrale de 32 MHz focalisé sur un réflecteur plan situé dans une cellule remplie de liquide. Une série de mesures de référence a été réalisée pour chaque séquence dans la cellule remplie d'eau dégazée. Ensuite, des mesures ont été répétées avec la cellule remplie d'une solution de SonoVue (SonoVue®, 10 mg/ml). Pour chaque série des données, le spectre de puissance moyen a été calculé à partir de la transformée de Fourier de 256 signaux RF pour une fenêtre temporelle : 1) centrée sur l'écho du réflecteur plan et 2) dans la solution (réponse des microbulles de contraste). L'intensité à la fréquence fondamentale de l'écho du réflecteur linéaire a été réduite de 22 dB et 28 dB pour les séquences PI et MPI, respectivement, par rapport à l'intensité mesurée en imagerie linéaire. L'intensité de la réponse des microbulles de contraste à la deuxième harmonique est respectivement de 6dB et 8dB au-dessus de la valeur de référence pour les séquences PI et MPI, respectivement. Ces résultats représentent la première étape vers la sélection et l'implémentation des séquences d'imagerie nonlinéaires, pour application à l'imagerie de contraste chez la souris avec notre prototype.

1 Introduction

Les agents de contraste échographiques sont des microbulles stabilisées qui sont administrées par voie intravasculaire afin d'augmenter l'intensité des échos ultrasonores dans des zones vascularisées. Des systèmes d'imagerie clinique (< 20 MHz) permettent une détection non linéaire et spécifique des agents de contraste [1, 2, 3]. L'échographie avec injection d'agents de contraste rend ainsi possible une évaluation du flux microvasculaire (flux < 1 mm/s dans des vaisseaux < 50 µm de diamètre) et peut permettre la détection des modifications fonctionnelles qui apparaissent avant la survenue des modifications morphologiques [4-7].

Au sein des techniques d'imagerie fonctionnelle actuellement disponibles, l'échographie avec injection d'agents de contraste est peu coûteuse, accessible et non toxique. Cette modalité présente un intérêt pour l'évaluation de la néovascularisation tumorale et pour la mise en place de nouvelles techniques de thérapie ciblée avec particules expérimentales de contraste ultrasonore.

Plusieurs études expérimentales ont démontré la possibilité de détecter la réponse acoustique des microbulles en échographie haute fréquence par la variation de la texture sur l'image lors la prise de contraste [8], la cartographie de perfusion [9,10] ou la détection de la réponse sous-harmonique ou harmonique [11-13]. Cependant, la fiabilité des informations quantitatives dérivées de ces évaluations reste à démontrer. Ainsi, la mise au point de techniques non linéaires et les meilleurs choix

pour la détection spécifique du signal issu de l'agent de contraste à haute fréquence sont toujours recherchés.

Nous travaillons sur des différentes séquences de tir et de traitement du signal avec un prototype programmable d'échographie haute fréquence. L'objectif est la détection de la réponse non linéaire du contraste aux hautes fréquences. Ce projet combine une approche d'instrumentation, de programmation des séquences et de l'expérimentation *in vitro* afin d'identifier la sensibilité et les limitations des différentes approches d'imagerie de contraste à haute fréquence.

2 Matériels et Méthodes

2.1 Système haute fréquence programmable

Le prototype, ProtoHF, présenté en Figure 1, se compose d'un bloc moteur où est fixé le transducteur, d'une carte de contrôle moteur, d'une carte d'émission – réception des signaux acoustiques et d'une carte de contrôle d'acquisition gérant les deux autres cartes [14]. Cette dernière carte est reliée à un PC via un bus Firewire (IEEE 1394).

L'électronique d'émission et de réception des signaux ultrasonores présente les caractéristiques suivantes : émission d'impulsions de courte durée, réception sur une large bande de fréquence, filtrage, exportation rapide des données acquises vers l'ordinateur pour leur affichage. Les signaux d'émission peuvent être modifiés. L'ensemble de la chaîne d'acquisition est entièrement programmable.

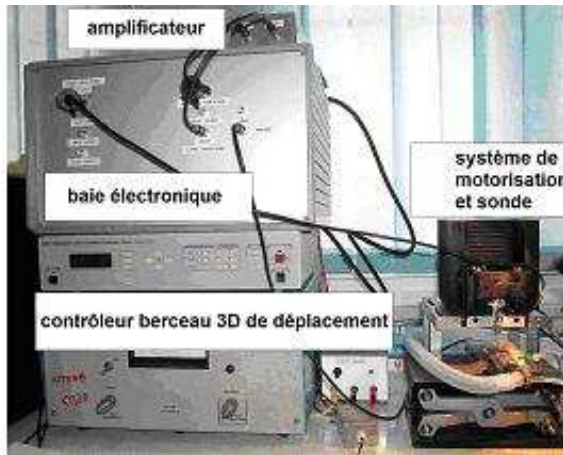


Figure 1 : Photographie présentant le prototype.

Les opérations permettant la prise de l'enveloppe du signal rétrodiffusé et son codage sur une échelle de gris ont été intégrées à l'électronique pour assurer un affichage de l'image en temps réel. La chaîne d'acquisition est prévue pour permettre l'enregistrement du signal RF avant le post-traitement. Ainsi, le système ProtoHF fournit une plateforme d'échographie modulaire, très flexible et très large bande permettant le développement de nouvelles séquences d'imagerie HF.

Dans ce travail toutes les mesures ont été effectuées avec un transducteur mono-élément de lithium Niobate (LiNb) focalisé de fréquence centrale de 32 MHz, de bande passante à -6 dB de 59% et de distance focale de 8 mm.

2.2 Séquences d'Imagerie

Des séquences d'imagerie ultrasonore non linéaire ont été mises au point afin d'augmenter la détectabilité des microbulles de contraste [1, 2]. A l'aide de telles séquences le rapport du signal provenant de l'agent de contraste sur le signal provenant des tissus peut être augmenté. Nous avons programmé une séquence linéaire et deux séquences non linéaires sur le ProtoHF. Pour toutes les séquences, les impulsions gaussiennes de forme d'un burst avec des fréquences centrale de 20 MHz et de 31 MHz ont été utilisées. Les séquences à l'émission et le principe de traitement des signaux reçus sont décrits dans les sections suivantes.

- Séquence d'imagerie conventionnelle (linéaire)

Dans ce mode d'imagerie la même fréquence est utilisée en émission et en réception. Des impulsions d'émission identiques (I_1, I_2, \dots, I_n) sont envoyées à intervalles réguliers comme le montre la Figure 2.

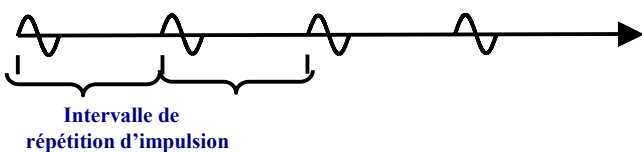


Figure 2 : Schéma d'une séquence d'émission pour l'imagerie linéaire. Une série des impulsions (I_1, I_2, \dots, I_n) est envoyée à intervalles réguliers. Après chaque émission, un signal radiofréquence, P_n , est reçu et traité afin d'évaluer l'intensité des échos sur la ligne de tir.

Cette méthode d'imagerie ne permet pas de détection très sensible des microbulles de contraste dans la microvascularisation.

- Séquence de Pulse inversion [1]

Cette séquence d'imagerie repose sur la différence de comportement entre une microbulle soumise à une impulsion avec une première phase de compression positive et une microbulle soumise à une impulsion avec une première phase de décompression négative. Elle permet de séparer la composante harmonique de la réponse acoustique des microbulles sans faire intervenir de filtrage.

La séquence d'Inversion de Phase dans sa forme la plus simple consiste en l'envoi consécutif de deux impulsions identiques mais de phase inversée. Ce type de séquence est présenté schématiquement dans la Figure 3.

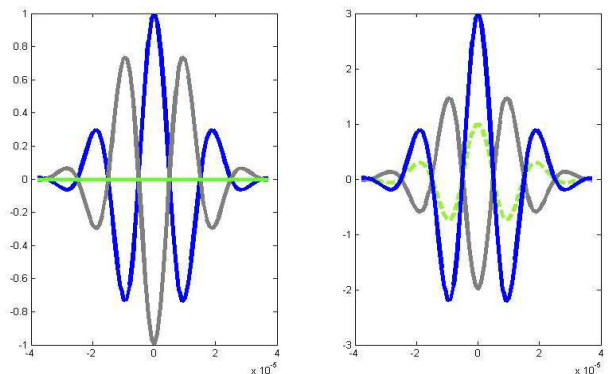
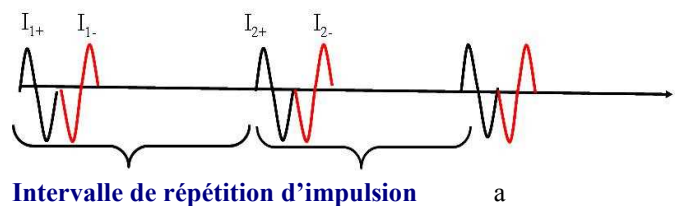


Figure 3 : Schéma d'une séquence PI.

a) Une série d'impulsions est envoyée avec une inversion de phase entre chaque pair des signaux émis.

b) Réception des échos P_1 (courbe grise) et P_2 (courbe bleue) d'un milieu linéaire : la somme des échos (ligne verte) s'annule. c) Réception des échos P_1 (courbe grise) et P_2 (courbe bleue) d'un milieu non linéaire : la somme des échos (courbe verte) provenant des milieux non linéaire ne s'annulent pas

Pour un milieu linéaire, la réponse de la deuxième impulsion est une copie inversée de la réponse de la première impulsion et la somme des deux échos est égale à zéro. Pour un milieu non linéaire, comme un nuage de microbulles de gaz, la 2^{ème} réponse n'est pas l'opposée de la 1^{ère}. La somme des deux signaux reçus dépend du degré de non linéarité du milieu. Il a été démontré que ce type de séquence peut permettre de détecter la réponse non linéaire des microbulles de contraste à faible pression acoustique (faible index mécanique, IM) [1]. La détection de la réponse non linéaire des microbulles de contraste à faible pression acoustique permet de minimiser la destruction acoustique des microbulles et de minimiser la non linéarité de la propagation de l'onde acoustique dans le milieu.

Dans une séquence d'inversion de phase, la somme des échos est donnée par :

$$\sum_{i=1}^n (P_{2i-1} + P_{2i}) \quad (1)$$

ou P_{2i-1} et P_{2i} sont les réponses des impulsions à phases différentes.

i : le nombre d'impulsion.

n : le nombre des acquisitions effectués pour une séquence.

- Séquence de Multi-pulse inversion (MPI)

La séquence d'Inversion de Phase Multiple consiste en l'application de plusieurs paires d'impulsions transmises en inversion de phase afin d'augmenter le rapport signal sur bruit de la détection et de minimiser les artefacts détectables dus aux mouvements du transducteur ou de l'objet à imager. En MPI, même s'il y a un petit mouvement entre l'émission des impulsions, l'annulation de la réponse linéaire est optimale si la réponse à la deuxième impulsion est ajoutée à la moyenne des deux impulsions voisines de polarités opposées. Des exemples des telles séquences sont présentés dans la Figure 4.

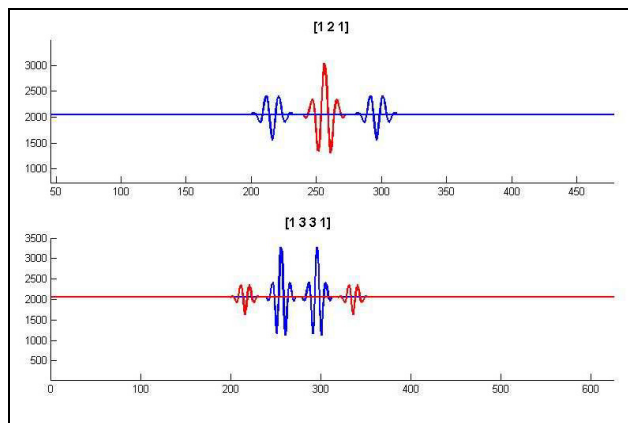


Figure 4 : Schéma présentant deux séquences d'inversion de phase multiple avec $a_i=1$ et $b=1$ (c.f. Equation 2). a) trois impulsions [1 2 1], b) quatre impulsions [1 3 3 1]

Les signaux reçus suite à une série des trois émissions en inversion de phase multiples sont traités comme décrit dans l'équation 2:

$$\sum_{i=1}^n a_i (P_{b(i-1)+1} + 2P_{b(i-1)+2} + 2P_{b(i-1)+3}) \quad (2)$$

ou

a_i est le coefficient de pondération et

b est le facteur qui indique l'espacement entre les groupes d'impulsions voisins de [1, 2, 1].

Dans ce travail nous avons appliqué la séquence MPI avec 3 émissions [1, 2, 1] en considérant le coefficient de pondération et le facteur de l'espacement égale à 1. (Figure 4 a)

2.3 Cellule pour la mesure de l'écho sur un réflecteur plan

La première série d'acquisition a été effectuée sur un réflecteur plan en acier situé dans une cellule remplie de fluide (Figure 5). Une série de mesures de référence a été réalisée pour chaque séquence dans la cellule remplie d'eau dégazée. Ensuite, des mesures ont été répétées avec la cellule remplie d'une solution de Sonovue (SonoVue®, 10 mg/ml). Le transducteur a été placé dans l'eau à une distance de 8mm de la plaque avec l'axe de propagation acoustique perpendiculaire à la plaque. Les signaux RF d'une fenêtre temporelle : 1) centrée sur l'écho du réflecteur plan et 2) dans la solution (réponse des microbulles de contraste) ont été traités comme décrit pour les trois séquences.

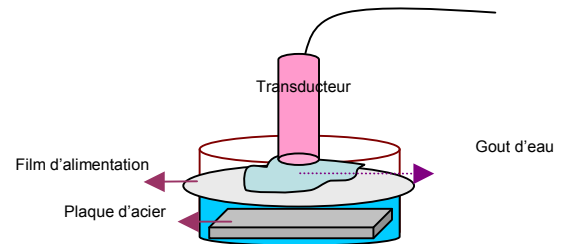


Figure 5 : Cellule remplie de fluide avec un réflecteur plan.

2.4 Fantôme de flux capillaire

Le fantôme de flux est une fibre creuse en cellulose de 200 μm de diamètre externe (MWCO, Spectrum Labs Inc., Rancho Dominguez, CA, USA) et de 180 μm de diamètre interne. Cette fibre, optiquement et acoustiquement transparente, est tendue, sous l'objectif d'un microscope (Z16 APO microscope, Leica, Bannockburn, IL, USA) dans une cuve de Plexiglas contenant de l'eau filtrée et dégazée entre 20 et 24°C.

Une extrémité 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 400mm/s) de l'agent de contraste, un pousse-seringue électronique (11 Plus Serynge Pump, Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA) a été utilisé. Cette configuration est présentée schématiquement dans la Figure 6.

La distance entre le transducteur et la fibre est de 8mm. Des mesures ont été effectuées dans le fantôme de flux capillaire lorsque la fibre a été remplie soit de l'eau déminéralisée soit d'une solution de microbulles de contraste. Les signaux reçus, correspondant à l'écho des parois de la fibre de cellulose et des échos provenant de la solution à l'intérieur de la fibre de cellulose, ont été sélectionnés avec une fenêtre temporelle pour le traitement.

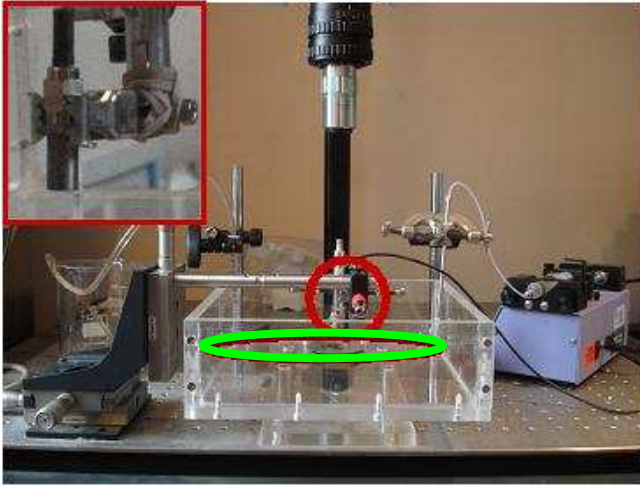


Figure 6 : Photographie du système de mesure et du fantôme de flux. Le cercle vert délimite l'axe longitudinal de la fibre de fantôme de flux. Le cercle rouge montre la position du transducteur. Le rectangle rouge présente une photographie du transducteur à un plus fort niveau de grossissement.

2.5 Microbulles

L'agent de contraste Sonovue® (Bracco Research Inc., Switzerland) a été utilisé dans cette étude. Une solution de Sonovue® contient au maximum 5×10^8 bulles par millilitre de solution. Le rayon moyen des microbulles varie entre 1,0 et 4,5 μm ; 95 % des microbulles ont un rayon inférieur à 5,0 μm et leur rayon maximal est de 10,0 μm ([15] et données fabricant).

2.6 Acquisition et traitement des données

Pour chaque série de mesure, nous avons effectué trois séquences différentes :

- 1) une séquence linéaire : une série d'impulsions burst de forme sinusoïdale modulées par une gaussienne.
- 2) une séquence d'inversion de phase (PI) $[1, -1] * [1, 1]$ et
- 3) une séquence d'inversion de phase multiple (MPI) avec les coefficients $[1 - 2 - 1]$.

Les signaux radiofréquence (RF) reçus sont enregistrés à une fréquence d'échantillonnage de 200 MHz. Nous avons choisi une fréquence de répétition d'impulsion (PRF) de 16 kHz.

Les signaux RF ont été acquis et filtrés. Ensuite les signaux RF des séquences nonlinéaires ont été traités (Equations 2 et 3). Sur ces signaux obtenus, le spectre de puissance sur une fenêtre temporelle d'intérêt a été calculé pour chaque ligne d'acquisition. Pour chaque série de séquence et chaque configuration pour l'acquisition des données, la moyenne du spectre de puissance a été calculée pour 256 lignes RF. Les résultats obtenus sont présentés dans la partie suivante.

3 Résultats

3.1 Suppression de la réponse linéaire

Les résultats obtenus avec des séquences linéaires, PI et MPI sur un réflecteur plan en acier et sur un fantôme de flux contenant la solution de Sonovue® sont présentées dans cette partie.

La Figure 7 montre la moyenne des spectres obtenus sur une plaque d'acier mise dans l'eau déminéralisée. Ces calculs ont été effectués sur les données acquises avec une séquence linéaire (ligne bleue) et une séquence PI (ligne noire). L'intensité spectrale à la fréquence fondamentale (20 MHz) est réduite de 18 dB avec la séquence PI.

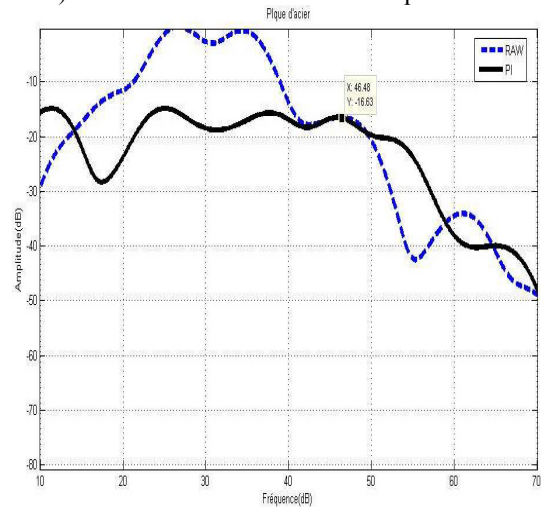


Figure 7 : Moyenne des spectres calculée sur les échos d'un réflecteur plan avec une séquence PI (en noir) et une séquence linéaire (en bleu). La fréquence d'émission est de 20 MHz.

3.2 Intensité de Contraste

- Dans la cellule de mesure remplie de contraste

La Figure 8 montre la moyenne des spectres des échos provenant des microbulles dans la cellule de mesure. Les données ont été acquises avec les séquences linéaire (ligne en pointillée bleu), PI (ligne rouge) et MPI (ligne en pointillée noir). Une diminution de l'intensité de la réponse à la fréquence fondamentale est de 20 dB et 28 dB pour les séquences PI et MPI, respectivement. La fréquence d'excitation des microbulles est de 32 MHz.

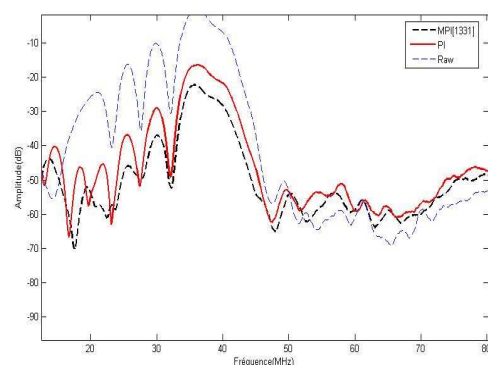


Figure 8 : Réponse spectral moyenne dans la cellule de mesure remplie des microbulles de contraste obtenus par une séquence PI (rouge), MPI (ligne en pointillée noir) par rapport au spectre obtenue d'une séquence linéaire (ligne en pointillée bleu). La fréquence d'émission est de 32 MHz.

- Dans le fantôme de flux capillaire

Afin de minimiser l'amplitude des échos de la fibre de cellulose, l'angle du transducteur a été ajusté à 15° par rapport à l'axe longitudinal de la fibre. (Figure 9).

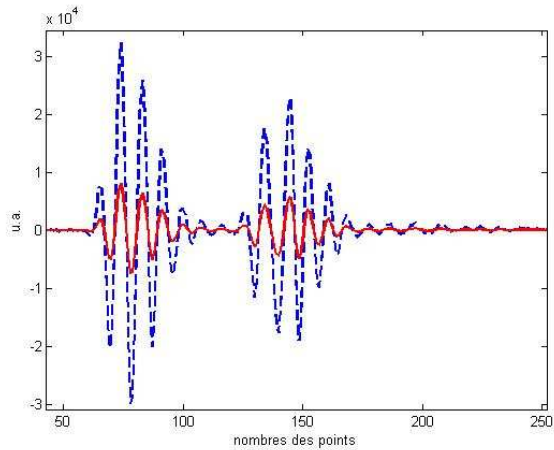


Figure 9 : Echos des deux parois de fibre de cellulose obtenu avec une fréquence d'émission de 20MHz. La courbe bleue montre les parois de tube lorsque la position de transducteur est perpendiculaire par rapport à la direction de tube. La courbe rouge correspondre aux échos reçus quand le transducteur est fait un angle de 15° avec l'axe longitudinal de la fibre.

Les résultats obtenus d'une solution des microbulles de Sonovue dans le fantôme de flux (flux de 60 ml/min) sont comparés pour les différentes séquences dans la Figure 10.

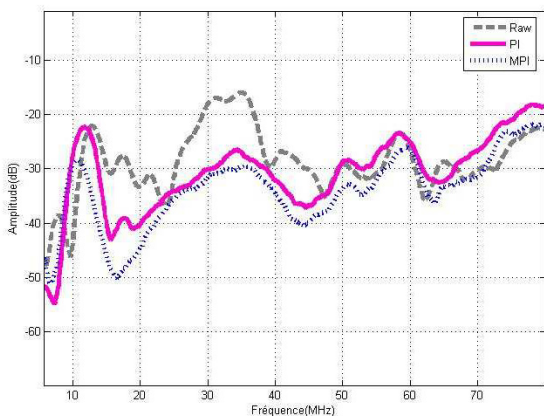


Figure 10 : Réponse spectrale obtenu d'une solution de Sonovue dans le fantôme de flux avec un débit de flux de 60 ml/min. Les réponses moyennes obtenues avec la séquence linéaire (ligne en pointillée gris), PI (ligne rose) et MPI (ligne en pointillée bleu) sont présentées. La fréquence d'émission est de 31MHz.

Nous observons une diminution de l'ordre de 10 dB de l'intensité de la réponse à la fréquence fondamentale pour la séquence PI par rapport à la séquence linéaire. Une réduction de 12 dB de l'intensité à la fréquence fondamentale est obtenue avec la séquence MPI. La réponse harmonique est en dehors de la bande passante du transducteur et donc n'a pas pu être évalué avec cette fréquence d'émission.

Les séries de mesures linéaires et en PI ont été répétées sur le fantôme de flux avec une fréquence d'émission de 20 MHz. La Figure 11 montre les réponses spectrales moyennes obtenues. Le niveau du deuxième harmonique est du même ordre pour la séquence PI (ligne rouge) et la séquence linéaire (ligne pointillé bleu). Par contre,

l'intensité de la réponse autour la fréquence fondamentale est réduite de l'ordre de 20dB avec la séquence PI.

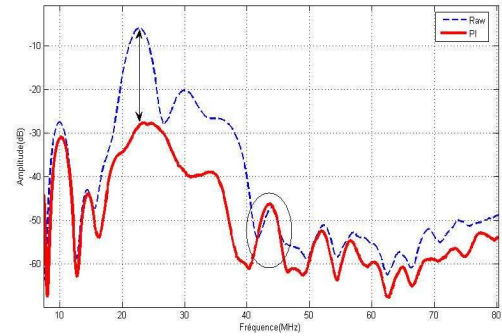


Figure 11 : Réponse spectrale obtenu d'une solution de Sonovue dans le fantôme de flux avec un débit de flux de 60 ml/min. Les réponses moyennes obtenues avec la séquence linéaire (ligne en pointillée bleu), PI (ligne rouge) sont présentées. La fréquence d'émission est de 20MHz.

4 Discussion

Les résultats obtenus (Figures 8 et 10) montrent que l'application de la séquence MPI avec trois impulsions augmente le niveau de la suppression de la fréquence fondamentale en comparaison avec la séquence PI [1,1]. Ainsi, cette séquence pourra permettre d'améliorer la sensibilité du deuxième harmonique et du sous harmonique et aussi d'améliorer la détection des microbulles. Les séquences MPI sont utiles en imagerie de contraste en particulier quand on n'utilise pas des bandes de fréquences distinctes pour séparer le signal des tissus du signal des microbulles.

L'implémentation et la comparaison des techniques d'imagerie de contraste à haute fréquence a permis de mettre en place plusieurs séquences qui peuvent être utilisées par la suite pour l'imagerie chez la souris. Ces séquences peuvent être testées pour l'imagerie de contraste avec des microbulles ou nanocapsules (agent de contraste expérimental). La très bonne résolution spatiale de ce système permettra la discrimination des tumeurs et l'évaluation de leur flux à un stade plus précoce que celui donné précédemment par le système d'imagerie clinique. Ceci est d'un intérêt majeur pour l'évaluation de l'évolution des modèles tumoraux chez la souris et dans les zones proximales chez l'homme. L'acquisition de signaux radiofréquences par le prototype est également d'un grand intérêt pour l'évaluation et le développement d'outils quantitatifs de mesure de la concentration d'agents de contraste.

Références

- [1] Simpson D.H., Chin C.T., Burns P.N., "Pulse inversion Doppler: a new method for detecting nonlinear echoes from microbubble contrast agents", *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control.*, 46, 372-382 (1999).
- [2] Frijlink M.E., Goertz D.E., de Jong N., van der Steen A.F. "Pulse inversion sequences for mechanically scanned transducers", *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control.*, 55, 2154-2163 (2008).
- [3] M. Correas, S.L. Bridal, A. Lesavre, A. Méjean, M. Claudon, O. Hélénon, "Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance, and artifacts," *European Radiology*, vol 11, pp 1316, 2001.
- [4] M. Blomley, R. Eckersley, "Functional ultrasound methods in oncological imaging," *Eur J Cancer*, vol 38, pp 2108, 2002.
- [5] A. Broumas, R. Pollard, S. Bloch, E. Wisner, S. Griffey, K. Ferrara, "Contrast-enhanced computed tomography and ultrasound for the evaluation of tumor blood flow". *Invest Radiol*, vol 40, pp 134, 2005.
- [6] F. Forsberg, R. Ro, M. Potoczek, et al, "Assessment of angiogenesis: implications for ultrasound imaging," *Ultrasonics*, vol 42 pp 325, 2004.
- [7] C. Krogias, T Postert, S. Meves, W. Wilkening, H. Przuntek, J. Eyding, "Semiquantitative analysis of ultrasonic cerebral perfusion imaging," *Ultrasound Med Biol*, vol 31, pp 1007, 2005.
- [8] Y. Shaked, A. Ciarrocchi, M. Franco, et al., "Therapy-induced acute recruitment of circulating endothelial progenitor cells to tumors," *Science*, vol 313, pp 1785, 2006.
- [9] B. French, Y. Li, A. Klibanov, Z. Yang, J. Hossack, "3D perfusion mapping in post-infarct mice using myocardial contrast echocardiography," *Ultrasound Med Biol*, vol 32, pp 805, 2006.
- [10] B. Kaufmann, M. Lankford, C. Behm, et al., "High-resolution myocardial perfusion in mice with high-frequency echocardiographic detection of a depot contrast agent," *J of Am Society of Echo*, vol 20, pp 136, 2007.
- [11] D. Goertz, M. Frijlink, N. de Jong, A.F. van der Steen, "High frequency nonlinear scattering from a micrometer to submicrometer sized lipid encapsulated contrast agent," *Ultrasound Med Biol*, vol 32, pp 569, 2006.
- [12] D. Goertz, A. Needles, P.N. Burns, F.S. Foster, "High-frequency, nonlinear flow imaging of microbubble contrast agents," *IEEE Trans Ultrason Ferroelect Freq Cont*, vol 52, pp 495, 2005.
- [13] J. Ketterling, J. Mamou, J. Allen, O. Aristizabal, R. Williamson, D.E. Turnbull, "Excitation of polymer-shelled contrast agents with high-frequency ultrasound," *J Acoust Soc Am*, vol 121, pp EL48, 2007.
- [14] Bosisio MR, Hasquenoph JM, Sandrin L, Laugier P, Bridal SL, Sylvain Y, "Real-time chirp-coded imaging with a programmable ultrasound biomicroscope," *IEEE Trans on Biomedical Engineering*, sous presse, 2010.
- [15] Bouakaz, A. and N. de Jong, WFUMB safety symposium on echo-contrast agents: Nature and types of ultrasound contrast agents. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 2007. 33(2): p. 187-196.