



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELÉCTRICA
SECCIÓN DE BIOELECTRÓNICA

Apertura de la barrera hematoencefálica en ratas con ultrasonido focalizado (FUS) para la administración de fármacos experimentales para el tratamiento de Parkinson

Tesis que presenta

Victor Hugo Contreras Machado

para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias

en la Especialidad de

Ingeniería Eléctrica

Director de la Tesis: Dr. Lorenzo Leija Salas

Dedicatoria

A mi familia y a mi futura familia

Agradecimiento

A mis padres por el apoyo, cariño y comprensión

A mis hermanos por el apoyo y por soportar la ausencia

A Isabel por el apoyo, cariño y por aguantarme tanto en la lejanía

A mi otra madre la Maestra Socorro Aguayo, y a la familia Lara Aguayo por el apoyo y cariño que me han brindado

Al Dr. Lorenzo Leija Salas por darme su apoyo, confianza y creer en mi al abrirme las puertas en su grupo de trabajo

Al Dr. Arturo Vera Hernández por sus consejos, confianza, apoyo y por recibirme en su grupo de trabajo

A mi sinodal el Dr. Mario Ibrahín Gutiérrez por los consejos, por transmitir su conocimiento, su experiencia, por la confianza y por su amistad

Al auxiliar de investigación M. en C. Rubén Pérez Valladares por su apoyo en las mediciones realizadas a lo largo de este trabajo, por sus consejos para realizar las mediciones, por las enseñanzas y por todo el apoyo a lo largo de mi estancia.

Al auxiliar M. en C. José Hugo Zepeda Peralta por sus consejos para realizar lo experimental y el apoyo para realizar las mediciones.

A mis compañeros de laboratorio por sus consejos, sobre todo a Daniel Hernández, por su apoyo en la etapa final de mi proyecto y a los que ya no están en el laboratorio, sobre todo a Raquel y Sagid por transmitir parte de su conocimiento

A mis compañeros de generación sobre todo a Moisés por los buenos momentos y a Ilse por escucharme

Finalmente, gracias a Abril Robles, Jaime Lara y Nancy Angel por ser mi otra familia en esta gran ciudad

Agradecimientos especiales:

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados CINVESTAV, por ofrecerme la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría en Ciencias con Especialidad en Ingeniería Eléctrica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haberme brindado la beca número 336517 con la cual pude realizar y concluir mis estudios de Maestría.

Resumen

En la actualidad existen algunas enfermedades neurodegenerativas las cuales son difíciles de erradicar, como el Parkinson, ésta es una enfermedad crónica degenerativa que afecta al sistema nervioso central (SNC) y se estima que afecta a 6.5 millones de personas a nivel mundial. En México, se ha observado en la última década, que este trastorno afecta a personas cada vez más jóvenes, a partir de los 40 años. En el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN) se ha estado investigando un fármaco para tratar la enfermedad del Parkinson. Esta investigación desarrollada por el departamento de fisiología, ha dado resultados positivos para el tratamiento del Parkinson. En este trabajo de tesis, se pretende ayudar a focalizar la administración del fármaco, esto con la ayuda del ultrasonido focalizado (FUS) en pruebas con ratas.

Con el FUS se pretende generar aperturas en la barrera hematoencefálica (BHE) en una zona puntual del SNC, con el fin de generar cambios en la permeabilidad de la BHE para que el fármaco logre atravesar dicha membrana. La BHE es el reto principal para los tratamientos de enfermedades neurodegenerativas y tratamientos contra el cáncer a nivel cerebral, debido a que no permite el paso de moléculas con cargas positivas y es selectiva al tamaño de las mismas dejando pasar a las moléculas pequeñas, esto con el fin de mantener en equilibrio las cargas entre las neuronas y evitando el paso de agentes extraños y neurotóxicos.

Con la apertura de la BHE, se puede llegar a potenciar la efectividad del fármaco contra el Parkinson, con métodos no invasivos como el ultrasonido y con cambios fisiológicos reversibles como es la apertura en la BHE. El resultado planeado es utilizar métodos no invasivos como el FUS gracias a los fenómenos generados como es el incremento de temperatura hasta llegar a la hipertermia.

Abstract

There are some neurodegenerative diseases which are difficult to eradicate, such as Parkinson's disease, which is a chronic degenerative disease that affects the central nervous system (CNS) and is estimated to affect 6.5 million of people worldwide. In Mexico, it has been observed in the last, decade that this disorder affects increasingly younger people, from the age of 40 onwards. The Department of Physiology, Biophysics and Neurosciences of the Center for Research and Advanced Studies of the IPN (CINVESTAV-IPN) has been investigating a drug to treat Parkinson's disease. This research work, developed by the Department of Physiology, has given positive results for the treatment of Parkinson's. In this thesis, the intended objective was to help focus the administration of the drug, with the help of focused ultrasound (FUS) in tests with rats.

The FUS is intended to generate openings in the blood brain barrier (BBB) in a punctual/precise/localized area of the CNS, with the purpose of generating changes in the permeability of the BBB so that the drug can cross the membrane. The BBB is the main challenge for treatments against neurodegenerative diseases and treatments against cancer at the brain level, because it does not allow the passage of molecules with positive charges and is size selective towards them, letting only small molecules pass, this with the objective of maintaining the balance between the charges in the neurons and preventing the passage of strange and/or neurotoxic agents.

With opening of the BBB, the effectiveness of the anti-Parkinson drug can be enhanced with non-invasive methods such as ultrasound generating reversible physiological changes such as openings in the BBB. The planned result is to use non-invasive methods like the FUS thanks to the phenomena generated, as it is the increase of temperature until reaching hyperthermia that triggers the opening of the BBB.

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Organización de la tesis	2
2. Marco Teórico	4
2.1. Ultrasonido	4
2.1.1. Movimiento de onda	7
2.1.2. Ondas longitudinales y transversales	7
2.1.3. Fuente de ultrasonido	7
2.1.4. Material del transductor	8
2.1.5. Ultrasonido focalizado	9
2.1.6. <i>Phantoms</i>	10
2.2. Modelado mediante método de elementos finitos (FEM)	10
2.2.1. COMSOL Multiphysics	12
2.3. Barrera hematoencefálica	12
2.3.1. Apertura de la BHE	14
3. Estado del Arte	15
4. Planteamiento del Proyecto	18
4.1. Definición del problema	18
4.2. Justificación de la tesis	19
4.3. Objetivos de la tesis	20
4.3.1. Objetivo general	20
4.3.2. Objetivos específicos	20

5. Desarrollo	22
5.1. Selección de transductor FUS	22
5.2. Extracción de los cráneos de rata	23
5.3. Caracterización del transductor	24
5.3.1. Materiales para la medición de la frecuencia de resonancia	25
5.3.2. Medición de la frecuencia de resonancia del transductor FUS	25
5.3.3. Equipo para la medición de SWR	26
5.3.4. Medición del SWR del transductor FUS	27
5.3.5. Equipo y material para las mediciones del campo acústico	28
5.3.6. Medición del campo acústico del transductor FUS	29
5.4. Modelado mediante método de elemento finito FEM	31
5.4.1. Modelado de campo acústico	31
5.4.1.1. Geometría	31
5.4.1.2. Condiciones para el modelado de presión acústica	31
5.4.1.3. Malla	35
5.4.1.4. Propiedades mecánicas y eléctricas de los materiales	35
5.4.1.5. Estudios en FEM para el modelado de presión acústica	36
5.4.2. Modelado de patrón de calentamiento	37
5.4.2.1. Condiciones para el módulo de biocalentamiento	39
5.4.2.2. Estudio en el módulo de biocalentamiento	40
5.4.3. Modelado para la optimización del cono	40
5.5. <i>Phantom de cerebro con propiedades acústicas</i>	42
5.5.1. Materiales y equipo para la preparación del <i>phantom</i>	42
5.5.2. Modo de preparación	42
5.5.3. Medición de las propiedades del <i>phantom</i>	43
5.5.3.1. Medición de la densidad	43
5.5.3.2. Equipo para la medición de la velocidad de propagación	44
5.5.3.3. Medición de la velocidad de propagación	45
5.5.3.4. Materiales para la medición de la atenuación	46
5.5.3.5. Medición de la atenuación	47

5.6.	Pruebas para la propuesta de un protocolo de excitación del FUS	48
5.6.1.	Material y equipo para determinar el protocolo de excitación	48
5.6.2.	Pruebas de temperatura en <i>phantom</i>	49
5.7.	Pruebas <i>in vivo</i>	50
5.7.1.	Configuración del equipo de excitación	50
5.7.1.1.	Control del generador de funciones mediante GPIB/USB	51
5.7.2.	Materiales y equipos para el procedimiento de las ratas.	52
5.7.3.	Procedimiento general para las ratas	52
5.7.4.	Prueba en rata control	54
5.7.4.1.	Prueba control para la aplicación del FUS	55
5.7.4.2.	Prueba control para la administración del EB	55
5.7.5.	Pruebas <i>in vivo</i> para generar la apertura y cierre de la BHE	56
5.7.5.1.	Experimentos <i>in vivo</i> para generar la apertura de la BHE	56
5.7.5.2.	Experimentos <i>in vivo</i> para generar el cierre de la BHE	56
6.	Resultados y Discusión	58
6.1.	Caracterización del transductor	58
6.1.1.	Resultados de las mediciones de SWR	58
6.1.2.	Resultados de las mediciones de frecuencia de resonancia	59
6.2.	Resultados del modelado con FEM y sus respectivas mediciones	60
6.2.1.	Malla	61
6.2.2.	Resultados del modelado de campo acústico contra las mediciones	61
6.2.2.1.	Patrón de campo acústico en agua	62
6.2.2.2.	Patrón de campo acústico con cráneo	63
6.2.3.	Resultado del modelado de patrón de calentamiento simulado	65
6.3.	Resultados del diseño de los conos para la aplicación del FUS	66
6.4.	Resultados de las propiedades del simulador de tejido <i>Phantom</i>	68
6.4.1.	Medición de la densidad	69
6.4.2.	Medición de la velocidad de propagación	70
6.4.3.	Medición de la atenuación	71

6.5. Resultados de las pruebas para el protocolo de excitación	73
6.6. Resultados de las pruebas <i>in vivo</i>	75
6.6.1. Resultados de las pruebas en ratas control	77
6.6.2. Resultados de las pruebas <i>in vivo</i> para la apertura de la BHE . . .	77
6.6.3. Resultados de las pruebas <i>in vivo</i> para el cierre de la BHE	78
7. Conclusiones y Perspectivas	81
7.1. Conclusiones	81
7.2. Perspectivas para el trabajo futuro	84
8. Productos Obtenidos	85
8.1. Artículo en Revista Indexada	85
8.2. Congresos Internacionales	85

Índice de figuras

2.1. Estructura de un transductor focalizado.	9
2.2. Estructura anatómica de la barrera hematoencefálica.	13
5.1. Transductor para Ultrasonido Focalizado, en el lado izquierdo se muestra la cara frontal del transductor (PZT).	23
5.2. Cráneo de rata Wistar, del lado izquierdo se muestra el cráneo extraído comparado con una ilustración de un cráneo.	25
5.3. Configuración del sistema para la medición de la frecuencia de resonancia. . . .	26
5.4. Panel frontal del analizador de impedancia (Agilent Technologies [®] , 4294A). . . .	26
5.5. Equipo de calibración para el analizador de redes, en el orden en que se conectan los dispositivos de calibración, (1) Short, (2) Open, (3) Load.	27
5.6. Configuración del sistema de medición del SWR.	28
5.7. Configuración del sistema de medición de campo acústico.	29
5.8. Arreglo para la medición del campo acústico a través del cráneo de rata.	30
5.9. Geometría axisimétrica propuesta para el modelado del transductor, (1) indica el eje axial simétrico, (2) muestra un contorno rígido (housing), (3) señala contornos de distinta impedancia acústica y (4) indica el PZT.	32
5.10. Geometría 2D axisimétrica con la adición del cráneo de rata.	37
5.11. Geometría axisimétrica para la optimización del cono. (1) Indica la pared del cono y (2) señala al housing.	41
5.12. <i>Phantom</i> en forma cilíndrica con reflectores inmersos.	44
5.13. Configuración del sistema para la medición de la velocidad de propagación. . . .	45
5.14. Caja para la medición de la velocidad de propagación.	46

5.15. Señal de los ecos.	47
5.16. Configuración para el sistema de atenuación.	48
5.17. Sistema empleado para la obtención del protocolo de excitación.	50
5.18. Sistema de control de los generadores de funciones.	51
5.19. Administración de la anestesia en la zona intraperitoneal.	53
5.20. Zona afeitada de la rata para la eliminación de exceso de pelo en la zona del procedimiento.	53
5.21. Montaje de la rata en el estereotáxico, incisión realizada para la aplicación de FUS.	54
5.22. Inyección de EB vía intravenosa (vena caudal).	55
5.23. Cerebro de rata extraído, la zona A es la que se removió para la colocación del cerebro en el vibratomo.	57
6.1. Mediciones de SWR en un barrido de frecuencias en diferentes medios.	59
6.2. Mediciones de SWR en gel para ultrasonido y en el <i>phantom</i>	60
6.3. Frecuencia de resonancia medida en agua y en aire.	61
6.4. Comparación de las mediciones de presión acústica medida contra las simula- das, en el lado derecho se muestra el campo acústico medido en el plano YZ y a la izquierda se muestran la presión medida y simulada en el eje X tanto como en el Y.	62
6.5. Comparación de la geometría y presión acústica generada entre el patrón me- dido (izquierda) y el simulado (derecha).	63
6.6. Comparación de las mediciones de presión acústica a través del cráneo de rata, medida contra las simuladas , en el lado derecho se muestra el campo acústico medido en el plano XZ y a la izquierda se muestran la presión medida y simulada en los tres ejes.	65
6.7. Patrón de campo acústico (lado izquierdo) medido y (lado derecho) simulado en el plano YZ después del cráneo.	66
6.8. Patrón de campo acústico medido en el plano XY, (lado izquierdo) sin cráneo a 20 mm en Z y (lado derecho) con cráneo a 19 mm en Z.	67

6.9. Patrón de calentamiento simulado a diferentes tiempos.	68
6.10. Diseño geométrico del cono a partir de los resultados en FEM.	69
6.11. Conos de TPU impresos en 3D con diferentes densidades.	69
6.12. Grafica de presión acústica en el eje Z del transductor en conjunto con los diferentes conos.	70
6.13. Velocidad de propagación obtenida del <i>phantom</i> al 16 %.	71
6.14. Atenuación obtenida de las mediciones de dos muestras de <i>phantom</i> al 16%.	72
6.15. Gráfica de tiempo de exposición contra temperatura de una señal de 2 W y ciclo útil de 50 %.	73
6.16. Gráficas de temperatura de tres pruebas con distintos ciclos de trabajo en tiem- pos de exposición de 3 min para 3T2 y 3T3, y 2 min para 3T1.	74
6.17. Gráfica de temperatura obtenida contra diferentes potencias, mediciones obte- nidas en pruebas con ratas.	75
6.18. Mediciones de temperatura cuando se emplearon versiones del protocolo J28 en una rata a una potencia de 2W.	76
6.19. Cortes de la rata control para las pruebas de apertura de la BHE. (A) Cráneo de la rata con tinción EB, (B-J) Cortes de 600 micras que van de la parte anterior a la posterior del cerebro en el orden alfabético.	78
6.20. Apertura de la BHE, (1) cerebro de la rata vista superior que indica la posición de cada corte de A a I, (A-I) Cortes coronales de 600 micras realizados en la zona de aplicación del FUS.	79
6.21. Cortes de cerebro de ratas a diferentes horas de la administración de EB pos- teriores a la aplicación del FUS.	80

Índice de tablas

2.1. Tipos de ondas	8
5.1. Propiedades del material PZT	24
5.2. Propiedades mecánicas y eléctricas de los materiales.	36
5.3. Propiedades térmicas y acústicas del tejido cerebral.	40
5.4. Configuraciones de los materiales e impresión de los conos.	42
5.5. Proporciones para la elaboración de los <i>phantoms</i>	43
6.1. Resultados de la densidad del <i>phantom</i> a diferentes proporciones.	69

Capítulo 1

Introducción

La enfermedad del Parkinson es un desorden cerebral neurodegenerativo que progresa lentamente en la mayoría de las personas. Muchos de los síntomas toman años en desarrollarse, y estas personas viven por años con la enfermedad. La frecuencia de la enfermedad del Parkinson en Europa es de aproximadamente 1 persona por cada 1,000 habitantes, por lo cual se estima que hay 6,5 millones de personas afectadas en el mundo. A pesar de que las estadísticas no son exactas, la Secretaría de Salud en México ha estimado sobre la base de los datos obtenidos en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, que existen al menos 500,000 pacientes con Enfermedad de Parkinson en el país, situando la prevalencia de la enfermedad en un rango de media a baja: 50-100 por cada 100,000 habitantes, prevalencia similar a la de los países orientales. Lo anterior no escapa a la similitud que se presenta con otras enfermedades en México y con algunos países orientales, posiblemente por el origen genético que comparten ambas poblaciones.

El trastorno del movimiento en los enfermos de Parkinson, se caracteriza por la pérdida de neuronas productoras de dopamina en áreas específicas del cerebro de forma crónica y progresiva. Cada día es más frecuente observar que se manifiesta en personas que oscilan entre los 40 y 65 años, aunque hay casos en los que se presenta en rangos de menor edad, lo que se conoce como Parkinson juvenil [1].

En el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, se han estado desarrollando una terapia génica, la cual es introducida al Sistema Nervioso

Central (SNC) a través de nanovectores, los resultados que arroja esta terapia génica se han estado analizando. Esta terapia promete eliminar la enfermedad del Parkinson de raíz, además no se han mostrado efectos secundarios en ratas a los 6 meses de haber suministrado el fármaco [2].

Para que las enfermedades del sistema nervioso central sean tratadas de manera no invasiva, es obligatorio el transporte de agentes terapéuticos a través del sistema vascular especializado que es el revestimiento de los microvasos cerebrales. Este revestimiento es llamado barrera hematoencefálica (BHE), la cual está constituida de células endoteliales conectadas entre sí por una estrecha unión, al igual que astrocitos, neuronas, microglia y pericitos [3]. La BHE es una barrera metabólica y física, la cual restringe el paso de moléculas al cerebro [4]. Por otra parte, se ha demostrado que con el incremento de temperatura (hipertermia), la barrera hematoencefálica tiene cambios en la permeabilidad, lo cual permite el paso de moléculas de tamaños que normalmente están restringido por la BHE. Para ésta tesis que proponemos, se plantea generar una permeabilidad en la barrera hematoencefálica de manera no invasiva y reversible, se propone para lograr este efecto calentar la BHE con Ultrasonido Focalizado (FUS).

Uno de los métodos clásicos más utilizados para observar cambios en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica es el uso de métodos de tinción con azul de Evans (EB), debido a que éste tiene un tamaño molecular, el cual no le permite atravesar la BHE en su estado fisiológico normal. De tal manera que cuando la BHE es alterada, en este caso se provocaría calentamiento con el FUS, el azul de Evans pasaría por la BHE y se retornaría esta permeabilidad al cabo de algunas horas después de la inactivación del FUS.

1.1. Organización de la tesis

En esta tesis se propone un protocolo para generar una apertura temporal en la barrera hematoencefálica mediante hipertermia provocada con ultrasonido focalizado (FUS) en pequeñas especies (ratas Wistar), con el objetivo de aplicar esta técnica experimental para tratar enfermedades neurodegenerativas con nuevos fármacos, en

este caso es un fármaco en reciente investigación, enfocado a tratar la enfermedad del Parkinson. Para realizar esta tarea, se llevó a cabo desde la investigación de los efectos de la hipertermia para la generación de respuesta inflamatoria en los vasos de la BHE, lo cual logra una disrupción en la barrera BHE, así como también, la caracterización de un transductor de ultrasonido focalizado, donde se obtuvieron datos como su frecuencia de resonancia, razón de onda estacionaria (SWR) y campo acústico. También, se desarrollaron simuladores de tejidos (*Phantoms*), con propiedades acústicas similares a las del cerebro. Otro de los pasos importantes para el desarrollo del protocolo de aplicación, fueron las pruebas realizadas en el *phantom* de cerebro, con el propósito de obtener un protocolo de excitación para el transductor de ultrasonido focalizado, que lograra un incremento de temperatura controlado en una zona específica del cerebro. La parte de las pruebas en ratas, fue realizada en conjunto con el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, bajo un protocolo aprobado por el comité para realizar los procedimientos de uso de animales (protocolo # 162-15). Estas pruebas fueron realizadas en 40 ratas a las cuales se les realizaron diferentes procedimientos que se detallan en la metodología de esta tesis, como la caracterización del transductor, mediciones en phantom, diseño de cono, simulación computacional mediante FEM, pruebas para el desarrollo de un protocolo de excitación tanto en phantom como en pruebas *in vivo* y finalmente pruebas *in vivo* para comprobar la apertura y cierre de la BHE.

Otro de los capítulos de esta tesis muestra los resultados obtenidos en cada una de las metodologías realizadas y una conclusión general, así como también una conclusión particular para cada objetivo específico, a las cuales se llegó a través del desarrollo y resultados obtenidos de este proyecto. Finalmente, se en el capítulo 8, se presentan los productos obtenidos que surgieron a partir de este trabajo de investigación.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1. Ultrasonido

El ultrasonido (US) se define como una energía mecánica en forma de ondas, generalmente longitudinales, que se generan por la vibración de un cuerpo y son propagadas por un medio material, las cuales tienen un rango de frecuencias que va de los 20 kHz hasta los 500 MHz, superando a la del rango audible por el humano: 20,000 ciclos/segundo o 20 kilohercios (20 KHz). Los parámetros más utilizados en US son: frecuencia, velocidad de propagación, atenuación, impedancia acústica y ciclo de trabajo o ciclo útil. A continuación, se describen brevemente cada una de estos parámetros.

Frecuencia (f): en una onda de acústica que consiste en el número de ciclos o de cambios de presión que ocurren en un segundo. La frecuencia se cuantifica en ciclos por segundo o Hercios. La frecuencia está determinada por la fuente emisora del sonido. Las frecuencias que se utilizan en medicina para fines de diagnóstico clínico, están comprendidas en el rango de 1 a 30 MHz. Las frecuencias altas 30 MHz se usan para estructuras superficiales; por ejemplo, para valorar la piel, ojos y estructuras vasculares por vía de cateterización [5]; para fines experimentales en ultrasonido focalizado para apertura de BHE se usan frecuencias de 1 a 10 MHz[6, 7].

Velocidad de propagación (c): es la velocidad en la que el sonido viaja a través de un tejido y se considera en promedio de 1,540 m/s para los tejidos blandos. La velocidad de propagación del sonido varía dependiendo del tipo y características del material

por el cual se propaga. Los factores que determinan la velocidad del sonido a través de una sustancia son la densidad (ρ) y el módulo de compresibilidad (B) Ec. 2.1, que se refieren a la cantidad y distancia de las moléculas respectivamente o la resistencia de un material a ser comprimido, la velocidad es inversamente proporcional a la compresibilidad, lo que significa que, en los tejidos más compresibles, las moléculas están muy separadas, por lo que transmiten el sonido más lentamente. Por lo tanto, los materiales con mayor densidad y menor compresibilidad, transmitirán el sonido a una mayor velocidad. Esta velocidad varía en cada tejido, en el aire la velocidad de propagación es tan lenta que las estructuras que lo contienen no pueden ser evaluadas por ultrasonido [9].

$$c = \sqrt{\frac{B}{\rho}} \quad (2.1)$$

Atenuación: mientras las ondas ultrasónicas se propagan a través de los diferentes tejidos, la energía ultrasónica reduce su amplitud e intensidad progresivamente en función de la distancia y puede ser secundaria a la absorción o dispersión, el grado de atenuación de una onda de sonido en un tejido o medio se da comúnmente en decibelios por centímetro (dB/cm) y es conocido como coeficiente de atenuación (α), aunque también se puede representar en neperios por metro (Np/m). La absorción es una fuente importante de atenuación que involucra la transformación de la energía mecánica en calor; mientras que la dispersión consiste en la desviación de la dirección de propagación de la energía. Los líquidos son considerados como no atenuadores; el hueso es un importante atenuador mediante absorción y dispersión de la energía, mientras que el aire absorbe de forma potente y dispersa la energía en todas las direcciones [5, 9]. Otro factor importante que hay que tener en cuenta es la dependencia de la atenuación con respecto a la frecuencia, donde a mayor frecuencia, el coeficiente de atenuación aumenta proporcionalmente. Por lo tanto, cuando se tiene el incremento de la frecuencia y la atenuación la profundidad de penetración en un tejido disminuye, y esto dificulta el diagnóstico o tratamiento en estructuras anatómicas profundas.

Impedancia acústica (Z): es una propiedad importante de los tejidos que influye en

la amplitud los ecos reflejados, indicando cuan fácil es la propagación de las ondas acústicas en un medio. La impedancia característica está dada por la Ec. 2.2.

$$Z = \rho c \quad (2.2)$$

donde ρ es la densidad y c es la velocidad del sonido.

Ciclo útil o ciclo de trabajo (CD): es un modo de emisión del ultrasonido, considerado modo pulsado, es la modulación de una onda, a la frecuencia de repetición fija con una señal cuadrada, variando el ancho del pulso. La relación que existe entre el tiempo en que la señal se encuentra en estado activo (τ) y el periodo de la misma (T) Ec. 2.3. Otros parámetros que hay que considerar son la longitud de onda, intensidad acústica y la presión acústica.

$$CD = \frac{\tau}{T} \quad (2.3)$$

Longitud de onda (λ): es la distancia que hay entre dos picos de la onda durante un ciclo completo de la onda. La longitud de onda acústica depende de la frecuencia, y de la velocidad propagación del sonido en un medio.

Presión acústica (p): es una cuantificación acústica utilizada frecuentemente para medir la amplitud de una onda. Cuando la fuente de sonido vibra, la onda de presión viaja en el medio generando compresión y rarefacción en las moléculas del medio, provocando cambios de densidad, a esta presión se le denomina presión acústica y puede ser medida en pascales (Pa).

Intensidad acústica (I): se define como la cantidad de trabajo por unidad de área. Físicamente se define como el producto de la presión acústica y la velocidad de partícula instantánea, entonces la intensidad acústica instantánea está dada por la Ec. 2.4.

$$I = \langle p_i v_i \rangle \quad (2.4)$$

donde p_i es la presión acústica instantánea y v_i es la velocidad de partícula instantánea, ambas dentro de un promedio temporal [8].

2.1.1. Movimiento de onda

Indica que el sonido viaja en forma de onda. Una onda es una perturbación en movimiento coordinado a una velocidad fija a través de un medio. Las ondas acústicas viajan muy rápido generalmente, esto depende del medio, no produce cambios visibles en el medio. Las ondas acústicas viajan en el aire a una velocidad que depende de la presión y la temperatura, típicamente la velocidad del sonido en el aire es aproximadamente de 330 m/s. Una onda transporta energía a través de un medio sin paso real de moléculas y partículas del medio. Después del movimiento de la onda a través del medio, las partículas regresan a su posición normal.

2.1.2. Ondas longitudinales y transversales

Las ondas acústicas que viajan en un tejido son ondas longitudinales. Las fuentes de sonido actúan como un pistón, vibrando atrás y adelante. Las ondas se desplazan en dirección a la fuente más o menos paralela a la dirección de propagación. Otro tipo de ondas mecánicas son posibles en algunos medios, por ejemplo, las vibraciones transversales u ondas shear que pueden ser transmitidas a través de materiales sólidos. Estas se caracterizan por vibración de partículas perpendiculares a la dirección de propagación [9]. Las ondas trasversales pueden propagarse fácilmente a través de algunos materiales sólidos, tales como el acero y el hueso. Sin embargo, las ondas transversales no viajan efectivamente a través de tejidos bandos. Existen otras formas de propagación de onda, las cuales no son consideradas de gran importancia en el ultrasonido médico, tales como las que se muestran en la Tabla 2.1.

2.1.3. Fuente de ultrasonido

Un transductor de ultrasonido genera ondas acústicas por conversión de energía magnética, térmica o eléctrica en energía mecánica. La técnica más eficiente para ultrasonido de uso médico es la utilización de transductores de efecto piezoeléctricos, el efecto piezoeléctrico consiste en aplicar un estrés mecánico a un cristal de cuarzo (o

Tabla 2.1: Tipos de ondas

Tipo de onda	Característica
Superficie (Rayleigh)	Órbita elíptica - modo simétrico
Ondas de plato - Lamb	Componente perpendicular a la superficie (onda extensional)
Ondas de plato - Love	Paralelas a la capa del plano, perpendiculares a la dirección de onda
Stoneley (Leaky Rayleigh)	Onda guiada a lo largo de la interface
Sezawa	Modo antisimétrico

material piezoeléctrico), el cual se transforma en energía eléctrica que viaja a través del cuarzo y viceversa, en respuesta a un impulso eléctrico, este vibra como un pistón, produciendo ondas acústicas en un tejido con el cual es puesto en contacto. Los transductores piezoeléctricos pueden ser hechos para vibrar en una alta frecuencia necesaria en una examinación de ultrasonido [10].

2.1.4. Material del transductor

Por muchos años, la cerámica ferroeléctrica zirconato titanato de bario (PZT) ha sido el material transductor estándar para el ultrasonido médico, debido a su alta eficiencia de conversión electromecánica y bajas pérdidas intrínsecas. Una de las desventajas del PZT es su alta impedancia eléctrica y la presencia de modos laterales [9].

Algunas características y estructuras que hay que considerar de los transductores piezoeléctricos son la frecuencia de resonancia, capa de acoplamiento y material de refuerzo (backing). La frecuencia de resonancia de un transductor piezoeléctrico es aquella en la cual la conversión de energía es transformada de manera más eficiente, que está determinada principalmente por el espesor del elemento piezoeléctrico. El backing en algunos transductores juegan un papel muy importante en el amortiguamiento (damping), también sirve para aumentar el ancho de banda del transductor, gracias a la reducción de elementos de vibración. La capa de acoplamiento provee una eficiente transmisión de las ondas acústicas que van del elemento piezoeléctrico al tejido o medio, aumentando la sensibilidad para detectar ecos demasiado tenues,

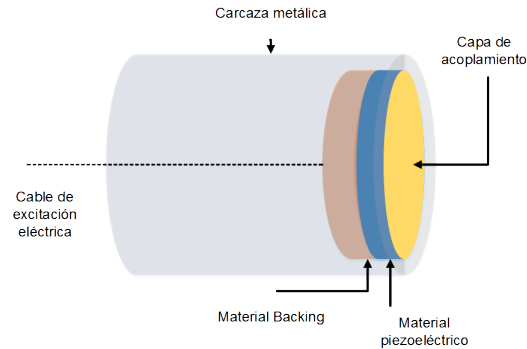


Figura 2.1: Estructura de un transductor focalizado.

acoplando la diferencia de impedancia acústica (ver Figura 2.1). El damping es un elemento que normalmente va detrás del material piezoeléctrico y limita la duración de la vibración, haciendo decrecer la amplitud de la onda de ultrasonido con respecto al tiempo o distancia.

2.1.5. Ultrasonido focalizado

Para focalizar la energía acústica existen transductores mono-elemento, los cuales pueden focalizar la energía en un punto o área pequeña mediante un lente acústico o un piezoeléctrico cóncavo, también existen arreglos de transductores que mediante el arreglo de fases pueden focalizar un haz ultrasónico, se necesita solamente aplicar retardos de tiempo a cada uno de los elementos para formar el haz a la distancia de focalización deseada.

El ultrasonido focalizado (FUS) es una tecnología que permite el uso de ondas ultrasónicas utilizadas para imagenología, este es un método que focaliza el ultrasonido para generar calor en el tejido o punto específico sin dañar áreas circundantes. La energía es absorbida por el tejido y convertida en calor y puede ser usualmente para ablación de tejidos o hipertermia. Las características geométricas que hay que considerar de los transductores focalizados mono-elemento fueron descritas por O'Neil [11]. Donde el diámetro, el radio de apertura y la concavidad son factores que se tiene que considerar para determinar la distancia focal.

Cuando el ultrasonido focalizado pasa a través de un tejido, parte de la energía es

absorbida y convertida a calor. Esto genera un incremento de temperatura con magnitud en función de las propiedades físicas del tejido o medio de propagación, algunas de estas pueden ser la absorción, densidad y calor específico. También, las propiedades del ultrasonido como la frecuencia, tiempo de exposición e intensidad acústica son factores que determinan el incremento de temperatura[12]. Debido a estos parámetros, el ultrasonido focalizado es generalmente agrupado en dos categorías; hipertermia por ultrasonido, en la cual el tejido es expuesto por un tiempo prolongado que va de 10 a 60 min a un nivel de intensidad bajo, generando una elevación de temperatura que se mantiene dentro de los 41 a 45 °C, y la cirugía por ultrasonido focalizado es una exposición corta de entre los 0.1 a 30 s induciendo daños irreversibles en el tejido, la zona focal llega a alcanzar de los 70 a 90 °C, esta técnica también es conocida como ablación por ultrasonido [13].

2.1.6. *Phantoms*

Los *phantoms* son imitadores o simuladores de tejidos biológicos hechos con diferentes materiales. Las características o propiedades que son de importancia para el ultrasonido son la velocidad de propagación del sonido, la atenuación y la densidad. Aunque también es importante en estudios como el que se plantea en este proyecto, reproducir propiedades térmicas similares a las del tejido que se desea imitar.

2.2. Modelado mediante método de elementos finitos (FEM)

El método de elementos finitos es un método numérico para la resolución de ecuaciones diferenciales, utilizado en diversos problemas de ingeniería y física.

El método se basa en dividir el cuerpo, estructura o dominio (medio continuo) sobre el que están definidas ciertas ecuaciones integrales que caracterizan el comportamiento físico del problema, en una serie de subdominios no intersectantes entre sí denominados elementos finitos. El conjunto de elementos finitos forma una partición

del dominio también llamada discretización.

Dentro de cada elemento se distinguen una serie de puntos representativos llamados nodos. Dos nodos son adyacentes sí pertenecen al mismo elemento finito, además, un nodo sobre la frontera de un elemento finito puede pertenecer a varios elementos. El conjunto de nodos considerando sus relaciones de adyacencia se conoce como malla. Los cálculos se realizan sobre una malla o discretización creada a partir del dominio con programas generadores de mallas, en una etapa previa a los cálculos que se denomina preproceso. De acuerdo con estas relaciones de adyacencia o conectividad se relaciona el valor de un conjunto de variables incógnitas definidas en cada nodo y denominadas grados de libertad. El conjunto de relaciones entre el valor de una determinada variable entre los nodos se puede escribir en forma de sistema de ecuaciones lineales (o linealizadas), la matriz de dicho sistema de ecuaciones se llama matriz de rigidez del sistema. El número de ecuaciones de dicho sistema es proporcional al número de nodos. Típicamente, el método del elemento finito se programa computacionalmente para calcular el campo de desplazamientos y, posteriormente, a través de relaciones cinemáticas y constitutivas, las deformaciones y tensiones respectivamente, cuando se trata de un problema de mecánica de sólidos deformables o más generalmente un problema de mecánica del medio continuo. El método de los elementos finitos es muy usado debido a su generalidad y a la facilidad de introducir dominios de cálculo complejos (en dos o tres dimensiones).

Además, el método es fácilmente adaptable a problemas de difusión del calor, de mecánica de fluidos para calcular campos de velocidades y presiones, o de campo electromagnético. Dada la imposibilidad práctica de encontrar la solución analítica de estos problemas, con frecuencia, en la práctica ingenieril, los métodos numéricos y, en particular, los elementos finitos se convierten en la única alternativa práctica de cálculo. Una importante propiedad del método es la convergencia, si se consideran particiones de elementos finitos sucesivamente más finas, la solución numérica calculada converge rápidamente hacia la solución exacta del sistema de ecuaciones.

2.2.1. COMSOL Multiphysics

Casi todos los fenómenos que incluyen cambios en tiempo o espacio causan descripciones con ecuaciones parciales diferenciales (PDE en inglés). Muy pocas PDE tienen soluciones analíticas y para la mayoría de los problemas de modelado se utilizan herramientas numéricas para la solución.

COMSOL Multiphysics es una herramienta basada en FEM que permite resolver grupos de PDE enlazadas entre sí (problemas multifísica) para la optimización de diseños y de prototipos virtuales, lo que nos permite, entre otras cosas, entender mejor los factores que afectan al problema y los procesos que intervienen en éste, determinar las variaciones en los parámetros que pueden afectar el funcionamiento de equipos modelados, y reducir gastos debido a la disminución del trabajo experimental.

En COMSOL, fácilmente se pueden solucionar los sistemas no-lineales mediante el acoplamiento de PDE's de sistemas independientes para solucionarlos con FEM. Además, el resultado final tiene un alto grado de flexibilidad y tiene capacidades de post-procesamiento con múltiples variables y con posibilidades de definir sus interrelaciones. No obstante, según la complejidad del sistema a modelar, se incrementarán los requerimientos computacionales mínimos.

El software controla el análisis de elemento finito junto con un mallado adaptativo. Modelos en 2D, 3D y variantes axisimétricos están disponibles para la mayoría de los modos de aplicación. En combinación con los instrumentos del programa se pueden usar datos medidos experimentalmente para modelar de forma más real el comportamiento del sistema.

2.3. Barrera hematoencefálica

La barrera hematoencefálica (BHE) es una estructura morfológica que está formada por células del endotelio vascular. Otros componentes celulares secundarios que apoyan a la BHE son los pericitos que se encuentran en la lámina basal abluminal, los astrocitos perivasculares cuyas prolongaciones forman pies terminales alrededor

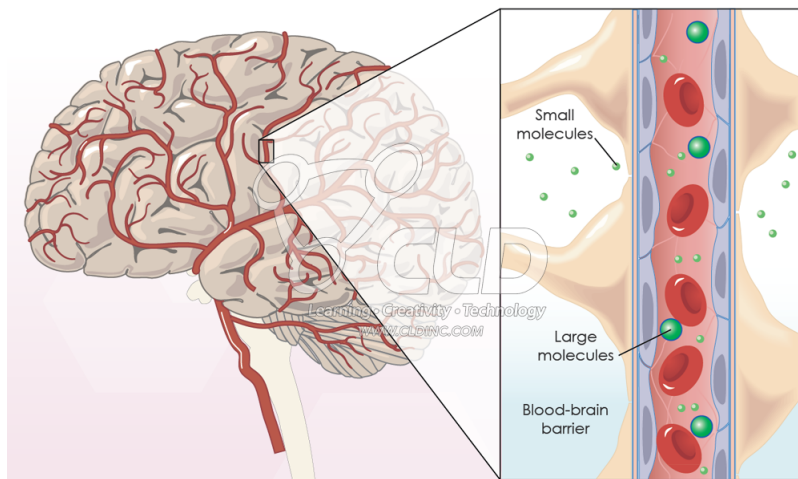


Figura 2.2: Estructura anatómica de la barrera hematoencefálica.

de los capilares, la lámina basal de la pared capilar y la microglía. El endotelio de los capilares cerebrales que forman la BHE se caracteriza porque cada borde celular está íntimamente unido a la célula adyacente, sella de ese modo la hendidura intercelular lo que hace impermeable a la pared interna del capilar cerebral.

La BHE regula el intercambio entre la sangre circulante y el tejido nervioso. La BHE es un sistema de difusión, esencial para el buen funcionamiento del sistema nervioso central (SNC). La BHE como sistema de difusión restringe el acceso al parénquima nervioso de un sinnúmero de compuestos que circulan en la sangre.

En resumen, tres funciones importantes se hallan implícitas en la BHE:

- Protege al cerebro de los compuestos y las moléculas circulantes en la corriente sanguínea gracias a las bien consolidadas uniones estrechas del endotelio de los capilares cerebrales, lo cual permite que sólo el oxígeno, la glucosa, aminoácidos y otros nutrientes esenciales crucen la BHE.
- Transporte selectivo desde la red capilar al parénquima cerebral, por medio de transporte facilitado como ocurre con la glucosa, o bien por difusión activa que depende del ATP.
- La BHE metaboliza o modifica elementos de la sangre hacia el tejido nervioso y viceversa.

2.3.1. Apertura de la BHE

Muchas enfermedades afectan la efectividad en la permeabilidad de la BHE, haciendo que sustancias que normalmente no entran al cerebro logran atravesar la BHE. La inflamación de la membrana del cerebro (meningitis), edema, anoxia, hipertensión y radiación ionizante han mostrado cambios inducidos en la BHE, incrementando la permeabilidad de sustancias al cerebro. Esto se puede observar con radiomarcadores, inmunohistoquímica, o métodos clásicos de tinción como el azul de Evans (EB), utilizado para demostrar cambios en la permeabilidad de la BHE. Normalmente el EB no entra al cerebro, cuando el cerebro se tiñe de azul indica una ruptura en áreas de la BHE.

Se ha demostrado que los cambios de permeabilidad en la BHE también están asociados al aumento de temperatura al grado de hipertermia. La importancia de generar una apertura temporal en la BHE es con el propósito de administrar fármacos de manera focalizada en regiones del cerebro de manera no invasiva y reversible.

Desde el descubrimiento de la BHE por Paul Ehrlich, se han estado utilizando diversos trazadores exógenos para estudiar la permeabilidad de la BHE a moléculas circulantes en la sangre en distintas condiciones fisiológicas y patológicas, entre los trazadores exógenos más utilizados están los colorantes vitales, como el azul de Evans y el azul trípano. En condiciones fisiológicas se sabe que el azul de Evans administrado por vía intracardiaca o intravenosa se acumula en todos los órganos del cuerpo excepto el SNC, debido a la existencia de la BHE [14].

Capítulo 3

Estado del Arte

La apertura en la barrera hematoencefálica mediante hipertermia tuvo sus primeras apariciones reportadas en 1994 por Ikeda *et al* [15], donde se realizaron estudios aumentando la temperatura de los perros en un rango de 42 a 46 °C, demostrando que el EB pasaba a través de la BHE, en tiempos de exposición de 15 a 60 min. En 1996 Ohmoto [16] observó en una investigación de distribución de temperatura en ratas, generaba cambios histológicos con respecto a la disrupción de la BHE consecuentes a la hipertermia en un rango de 37 a 45 °C. Todas estas investigaciones sobre la apertura del a BHE mediante el incremento de temperatura fueron realizadas con radiaciones electromagnéticas RF, luego al inicio del siglo XXI se realizaron investigaciones sobre los efectos de los medios de contraste para ultrasonido en conjunto con radiación ultrasónica [17], en donde se proponen utilizar las microburbujas como un acarreador para la liberación focalizada de fármacos, llevando en su interior genes o fármacos.

Posteriormente, se ha demostrado que el ultrasonido focalizado (FUS) en conjunto con medios de contraste para ultrasonido (microburbujas) comerciales como Definity®, Optison®, o Sonovue®, los cuales son administrados por vía intravenosa, pueden abrir exitosamente la BHE de manera no invasiva, local y reversiblemente [18, 19, 20, 21].

A pesar de que el mecanismo de FUS para generar la apertura de la BHE se desconoce en gran parte, se ha estado observando que ciertos parámetros como la frecuencia [6, 7], la frecuencia de repetición del pulso [22, 23, 24], el tiempo de aplicación [7, 25], el tamaño de las microburbujas [26, 27, 28, 29], y el ancho del pulso [22, 23, 24];

son factores que afectan directamente en la apertura en la BHE. Como se puede observar, hay una gran cantidad de estudios sobre el tema de apertura de BHE a través del método no invasivo que es el HIFU en conjunto con las microburbujas. Estas investigaciones se han venido dando desde hace 15 años en universidades de Estados Unidos y Canadá, las cuales prometen buenos resultados a futuro.

Otros estudios discuten que el ultrasonido focalizado por sí solo no es lo suficientemente eficiente, ya que no se genera una permeabilidad en la membrada como lo que se logra con la misma potencia de excitación para un tratamiento que combina las UCA y el FUS [30]. Por otra parte, se menciona que se puede generar una apertura en la barrera hematoencefálica producidas por hipertermia, aunque se menciona que está asociado al daño tisular generado por la temperatura [31].

Lo que no se tiene registrado en la literatura es generar apertura en la BHE a partir del fenómeno fisiológico que es la inflamación, debido a que muchos agentes inflamatorios incrementan ambas cosas, la permisividad endotelial y el diámetro del vaso, juntos contribuyen a una significativa fuga que se da a través de la BHE. Tomando en cuenta esto, lo que se propone hacer es elevar la temperatura a 42 °C, sin generar daños tisulares por calentamiento, con el propósito de abrir la BHE y demostrar que la apertura de la BHE es reversible después de algunas horas. Los protocolos existentes para la aplicación del FUS sin el uso de UCA dependen de cada aplicador de FUS.

Trabajo previo del laboratorio LAREMUS

En el laboratorio LAREMUS el ultrasonido focalizado para generación de hipertermia se ha estado utilizando desde el año 2010, aunque por otra parte el ultrasonido para hipertermia no focalizado ya se investigaba con anterioridad. Lo que no se tenía registrado eran las pruebas *in vivo* para generar disrupción de la BHE específicamente. Otro de los desarrollos importantes en el laboratorio fue la propuesta de emplear los modelos computacionales basadas en FEM para obtener datos sobre los fenómenos acústico y térmico, así como la interacción de éste en estructuras biológicas [8].

Hasta la fecha en el laboratorio no se ha desarrollado protocolos de aplicación

para generar hipertermia mediante ultrasonido focalizado en pruebas in vivo, por lo cual no se ha demostrado la disrupción de membranas para la liberación de fármacos controlada mediante esta técnica. Éste es el tema que se desarrolla en esta tesis, describiendo las experiencias y resultados que se tienen abordando este reto de abrir de manera controlada y reversible la BHE.

Capítulo 4

Planteamiento del Proyecto

4.1. Definición del problema

La mayoría de los desórdenes neuronales y trastornos neurodegenerativos como el Parkinson son difíciles de tratar debido a la impermeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE), en el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV se ha desarrollado un vector para suministrar el fármaco para el tratamiento del Parkinson, para mejorar la eficiencia de este fármaco se requiere la permeabilidad de la BHC del SNC donde actúa el fármaco. Actualmente se realizan estudios para generar apertura en la BHC de manera no invasiva y reversible para que así los fármacos actúen puntualmente en zonas específicas del cerebro.

- Cada transductor es diferente ya que hay variaciones en su fabricación que afectan su respuesta en cuanto a la generación del campo acústico.
- El modelado computacional del ultrasonido focalizado en conjunto con tejidos biológicos como el cráneo de una rata, para el transductor propuesto, no se ha realizado.
- El acoplamiento entre el transductor de ultrasonido focalizado y el tejido biológico, requiere un medio de propagación que tenga propiedades acústicas cercanas a las del agua para no tener pérdidas de energía y cada transductor requiere un cono de acoplamiento personalizado.

- No existen pruebas de calentamiento mediante ultrasonido focalizado en *phantoms* y tejido *ex vivo* (cráneo), en las cuales se puedan emplear para el desarrollo de protocolos de aplicación de ultrasonido focalizado para generar una hipertermia controlada.

4.2. Justificación de la tesis

Aunque ha estado creciendo la investigación sobre la permeabilidad de la barrera hematoencefálica con técnicas no invasivas como el ultrasonido focalizado en conjunto con medios de contraste para ultrasonido. Pocos estudios mencionan las contraindicaciones del uso de los medios de contraste para ultrasonido para la disrupción de membranas, las reacciones adversas más frecuentes tras el uso de UCA en ensayos clínicos son dolor de cabeza, náuseas y/o vómitos, sensación de calor o enrojecimiento y mareos. En reportes postcomercialización: Se informó de posibles paros cardíacos y otras reacciones adversas graves, pero no mortales. La mayoría de estas reacciones incluyeron síntomas cardiopulmonares y signos tales como paro cardíaco o respiratorio, hipotensión, arritmias supraventriculares y ventriculares, dificultad respiratoria o disminución de la oxigenación. Los informes también identificaron reacciones neurológicas (pérdida de conciencia o convulsiones), así como reacciones anafilácticas [32]. Por lo que es importante destacar que en este trabajo de tesis se plantea el no uso de los medios de contraste para ultrasonido, generando un resultado similar al de la combinación de FUS y UCA.

La falta de información que existe sobre el uso de ultrasonido focalizado como única herramienta para generar cambio en la BHE de manera reversible, focalizada y no invasiva. Esto da la propuesta de este trabajo de investigación, en el cual se obtendrían resultados que demuestren la viabilidad de la hipertermia mediante el ultrasonido focalizado en tiempos de exposición menores a 10 min.

Finalmente, el uso de esta terapia de hipertermia mediante ultrasonido focalizado en pequeñas especies dentro del CINVESTAV, puede llegar a abrir nichos de investigación sobre el análisis de terapias génicas focalizadas en regiones específicas del

cerebro como la nigra.

4.3. Objetivos de la tesis

4.3.1. Objetivo general

Implementar un protocolo de generacion de hipertermia con ultrasonido focalizado (FUS) en conjunto con un sistema de posicionamiento 3D, para inducir la apertura reversible en la barrera hematoencefálica (BHE) en ratas con el propósito de administrar fármacos experimentales.

4.3.2. Objetivos específicos

- Modelar el campo acústico del transductor propuesto mediante FEM, para observar los cambios del patrón de campo acústico al interactuar con una interface ósea.
- Modelar el patrón de calentamiento generado por la radiación ultrasónica mediante FEM al interactuar con una interface ósea.
- Aplicar un protocolo para la caracterización acústica y eléctrica del transductor de FUS.
- Adquirir los patrones de radiación acústica que se generan a través de un cráneo de rata.
- Elaborar y caracterizar simuladores de tejidos biológicos con propiedades acústicas similares a las del cerebro.
- Diseñar un cono con una geometría apta para aplicación de FUS a través de FEM.
- Construir el cono propuesto con distintos materiales para la aplicación FUS mediante impresión en 3D.

- Caracterizar de manera acústica el transductor FUS en conjunto con el cono de acoplamiento.
- Desarrollar un protocolo de excitación para generar un calentamiento controlado con FUS.
- Implementar el protocolo de excitación del FUS en experimentos *in vivo* en ratas, para determinar la generación de apertura y cierre de la BHE mediante hipertermia.

Capítulo 5

Desarrollo

En esta sección se describe el proceso que se siguió para el desarrollo de esta tesis, con el fin de dar a conocer los métodos, materiales y procedimientos que se utilizaron para llevar a cabo las pruebas *in vivo*. Como la caracterización del FUS, simulaciones computacionales mediante FEM, el diseño de un protocolo en simuladores de propiedades acústicas de cerebro (*phantoms*) y el procedimiento para la aplicación de FUS en pruebas *in vivo*.

5.1. Selección de transductor FUS

El transductor de FUS fue seleccionado a partir del estudio del estado del arte, el cual nos da indicios de qué frecuencia es adecuada utilizar para este tipo de aplicaciones. En los artículos recientes nos indican un rango de frecuencias utilizadas de 1 a 2.5 MHz y la teoría de radiación ultrasónica menciona que la atenuación en un tejido blando depende de la frecuencia del ultrasonido, lo cual es importante en este tipo de estudios. La frecuencia es, precisamente, lo que define a los ultrasonidos y los distingue de los sonidos. La frecuencia está muy directamente relacionada con la absorción y la atenuación del haz, de forma que, a mayor frecuencia, el ultrasonido se absorbe más rápidamente [9].

Se utilizan frecuencias de 0.5 a 1 MHz para tratar estructuras profundas y para las frecuencias más altas, de 2 hasta 3 MHz, para tratar piel y tejido subcutáneo. Uno de



Figura 5.1: Transductor para Ultrasonido Focalizado, en el lado izquierdo se muestra la cara frontal del transductor (PZT).

los inconvenientes de utilizar bajas frecuencias es que se pierde resolución, debido a la longitud de onda, la cual se obtiene dividiendo la velocidad de propagación de la onda entre la frecuencia. Por lo anterior, en nuestra investigación se seleccionó un transductor de 2 MHz (Figura 5.1), de la empresa Onda Corporation[®] 2-20-20/4, el cual está basado en una geometría esférica con el propósito de focalizar la energía en un punto. Dicho transductor tiene las siguientes características tanto acústicas como las propias del material, dadas por el fabricante, tiene un diámetro de 20 mm, una concavidad de 2.7 mm, un punto focal de 20 mm, una frecuencia de resonancia de 2 MHz, un espesor de 1.02 mm; el material es piezoeléctrico zirconato titanato de plomo considerado duro (Exelis[®], EC-67) [33], sus propiedades físicas están dadas en la Tabla 5.1.

5.2. Extracción de los cráneos de rata

Se llevó a cabo la extracción de los cráneos de ratas Wistar de un peso de entre los 300 g a los 350 g, en total fueron 8 especímenes. El procedimiento utilizado para la extracción del cráneo fue el siguiente: primeramente, se sacrificó a la rata en una cámara gas de CO_2 hasta provocar un paro cardiopulmonar; luego de esto se cortó la cabeza completa con ayuda de una guillotina para rata, seguido de esto se removió el cuero del animal hasta tener descubierto el cráneo de la rata; con la ayuda de pinzas y tijeras

Tabla 5.1: Propiedades del material PZT

TITANATO ZIRCONATO DE PLOMO "RÍGIDO"[33]		
<i>Propiedad</i>	<i>Valor</i>	<i>Unidad</i>
Espesor	1.02	mm
Densidad	7500	$\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Módulo de Young	9.3×10^{10}	$\frac{\text{N}}{\text{m}^2}$
Propiedades Eléctricas (Matriz de acoplamiento Orden: xx, yy, zz, yz, xz, xy)		
d_{15}	362×10^{-12}	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$
d_{31}	-107×10^{-12}	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$
d_{33}	241×10^{-12}	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$
Constantes Elásticas (Matriz de cumplimiento Orden: xx, yy, zz, yz, xz, xy)		
S_{11}^E	10.8×10^{-12}	$\frac{1}{\text{Pa}}$
S_{12}^E	-3.6×10^{-12}	$\frac{1}{\text{Pa}}$
S_{33}^E	13.7×10^{-12}	$\frac{1}{\text{Pa}}$

de disección se le removió el músculo y tejido restante de la parte externa del cráneo, dejando solamente el tejido blando de la parte interna del cráneo. Posteriormente, se colocó dicho cráneo en una jaula de malla fina y se colocó cerca de un hormiguero. Las hormigas realizaron el trabajo de remoción del tejido blando situado en la parte interna del cráneo y el tejido blando que estaba fuertemente adherido a la superficie externa del cráneo. Luego de esto, se colocó el cráneo en agua a temperatura ambiente junto con detergente común aproximadamente 6 horas. Posterior a esto, se conservó el cráneo a temperatura ambiente y sin luz, hasta ser utilizado para pruebas posteriores, en la Figura 5.2, se muestra una ilustración del cráneo que se esperaba obtener.

5.3. Caracterización del transductor

La caracterización del transductor FUS consiste en medir las características tanto eléctricas como acústicas, con el fin de saber cómo trabaja el transductor y tomar en cuenta cada una de las propiedades del transductor. En este caso se midió un transductor de la empresa Onda Corporation[®], la cual está basada en una geometría esférica para generar FUS.

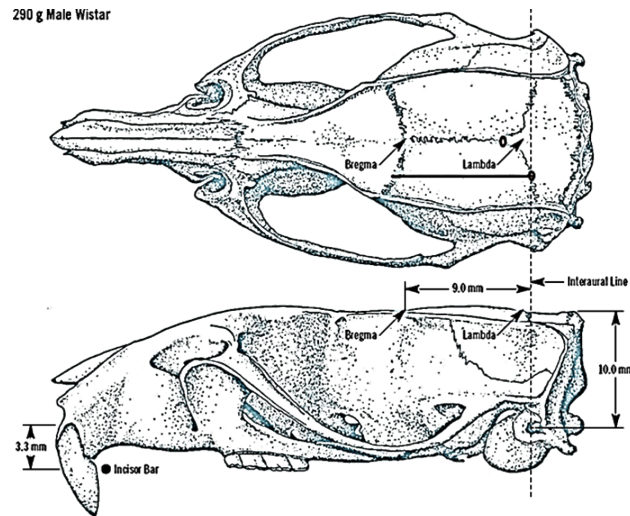


Figura 5.2: Cráneo de rata Wistar, del lado izquierdo se muestra el cráneo extraído comparado con una ilustración de un cráneo.

5.3.1. Materiales para la medición de la frecuencia de resonancia

Para la medición de la frecuencia de resonancia se utilizaron los siguientes equipos:

- Analizador de impedancia (Agilent Technologies® 4294A).
- Sonda de impedancia (Agilent Technologies® 42941A).
- Acoplador de impedancia (Onda Corporation®, ColImpedance Matching Network 2-20-20/4).
- Transductor FUS (Onda Corporation® Transducer 2-20-20/4).

5.3.2. Medición de la frecuencia de resonancia del transductor FUS

Las mediciones de frecuencia de resonancia se llevaron a cabo mediante un analizador de impedancia. A través de una sonda de impedancia, la cual se conectó directamente a las entradas del analizador de impedancia. Luego, a la sonda de impedancia se le conectó una red de acoplamiento de impedancia dado por el fabricante del transductor Onda Corporation®, el cual es diseñado específicamente para cada transductor. Posteriormente se conectó el transductor. El sistema completo se puede observar en la Figura 5.3.

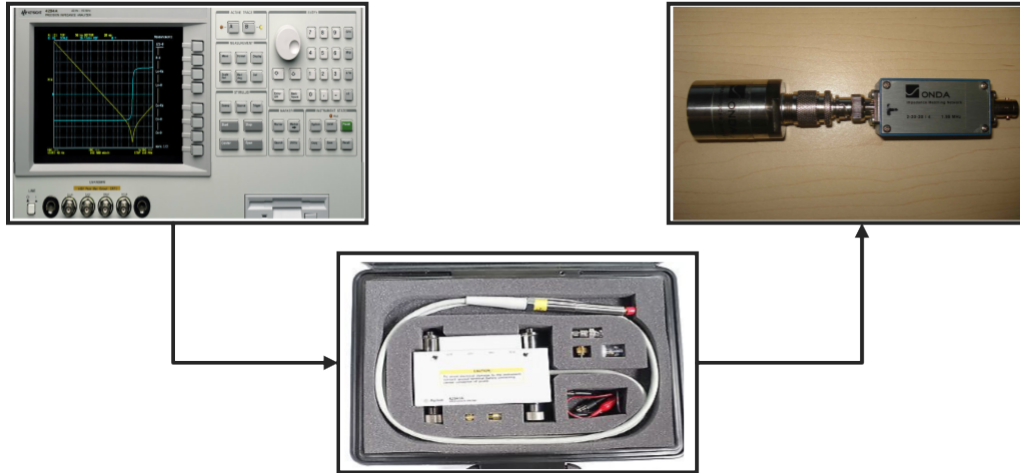


Figura 5.3: Configuración del sistema para la medición de la frecuencia de resonancia.

Teniendo todo esto debidamente conectado se procedió a configurar el analizador de impedancia, al cual se le estableció un rango de medición que va de 1.95 MHz a 2.00 MHz, debido a que la frecuencia de a la que trabaja el transductor se encuentra dentro de ese rango. Luego se configuró el equipo para que midiera impedancia real e imaginaria, presionando el botón *meas* en el panel “measurement”, ver Figura 5.4.

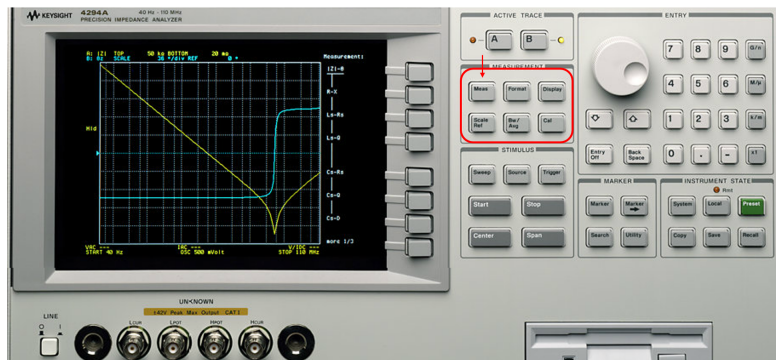


Figura 5.4: Panel frontal del analizador de impedancia (Agilent Technologies[®], 4294A).

5.3.3. Equipo para la medición de SWR

La siguiente lista contiene los equipos y materiales que se utilizaron para las mediciones del SWR del transductor de FUS.

- Analizador de redes (Agilent Technologies[®], E5071B ENA Series).

- Set de calibración del para el analizador de redes (Agilent Technologies[®], 85033E)

El transductor al cual se le realizaron las mediciones es el descrito anteriormente. Algunos adaptadores para los conectores de los equipos fueron empleados.

5.3.4. Medición del SWR del transductor FUS

Las mediciones del SWR fueron realizadas con ayuda del analizador de redes, el cual fue configurado en un rango de frecuencias de medición de 1.8 MHz a 2.1 MHz debido a que, según el fabricante del transductor, la frecuencia de trabajo del transductor es de 1.965 MHz. Primero se conectaron las cargas de calibración en el orden que indica el analizador de redes como se muestra en la Figura 5.5. Seguidamente, al tener realizada la calibración se procedió a conectar el transductor junto con su acoplador de impedancia. El transductor se colocó en dos medios diferentes: el primero de ellos fue el aire para determinar el SWR en aire y el segundo agua destilada. El sistema de medición se puede apreciar en la Figura 5.6. La medición de SWR se realiza con el fin de conocer el acoplamiento que existe entre la línea de transmisión y la carga. La relación de onda estacionaria nos da a conocer parámetros importantes, debido a esta relación se conoce la potencia reflejada que se tiene en un sistema, en este caso de un transductor FUS.



Figura 5.5: Equipo de calibración para el analizador de redes, en el orden en que se conectan los dispositivos de calibración, (1) Short, (2) Open, (3) Load.

En el caso de que el SWR sea 1.0, esto quiere decir que la potencia reflejada es el 0.0% y es benéfico para nuestro sistema porque asegura no tener daños por altas potencias en nuestros componentes eléctricos, además de garantizar una buena transmisión de la energía hacia el sistema; el SWR igual a 1.0 indica un excelente acoplamiento entre sistemas. En el caso contrario, SWR mayor a 3.0, esto indica que no se tiene un buen acoplamiento entre nuestro sistema y que la potencia reflejada es mayor a 25% y puede llegar a dañar nuestro sistema de excitación o transmisión.

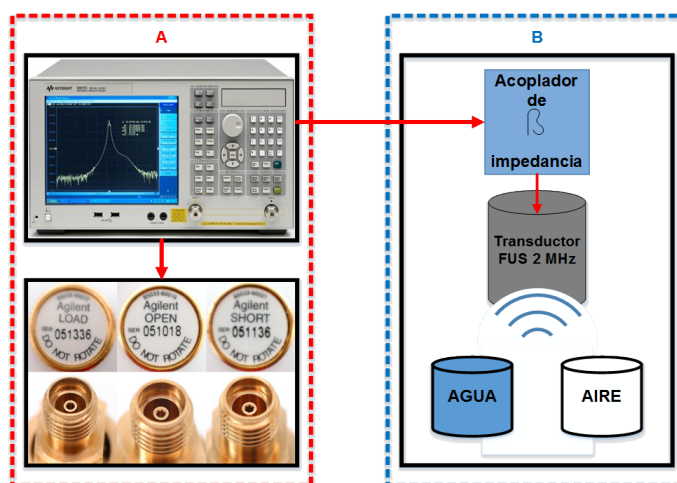


Figura 5.6: Configuración del sistema de medición del SWR.

Las mediciones de SWR se realizaron en dos medios distintos.

5.3.5. Equipo y material para las mediciones del campo acústico

Para llevar a cabo las mediciones del campo acústico se utilizaron los siguientes equipos:

- Hidrófono de banda ancha (Onda Corporation[®], HNP-1000)
- Preamplificador (Onda Corporation[®], AH-2010)
- Osciloscopio (Tektronix[®], TDS-420)
- Sistema de posicionamiento automático 3D (Velmex[®], VP9000)
- Cable GPIB/GPIB (National Instruments[®])

- Generador de funciones (Array[®], 3400A)

También se utilizó un software Scan 3.40 (Onda Corporation[®]), el cual se empleó para obtener los patrones del campo acústico en distintos planos y ejes. Para el procesamiento de los datos obtenidos se utilizó un ordenador persona con un procesador Core i7 y una memoria RAM de 8 GHz.

5.3.6. Medición del campo acústico del transductor FUS

La medición del campo acústico del transductor se registró con ayuda del hidrófono de banda ancha, éste a su vez se conectó al preamplificador; la salida de éste se conectó al osciloscopio, el cual se conectó a través del cable GPIB a un ordenador. Dicho ordenador cuenta con un programa dado por el fabricante del hidrófono llamado Scan 3.40, con el cual se obtienen los voltajes RMS y pico-pico en cada punto en el cual este situado el hidrófono.

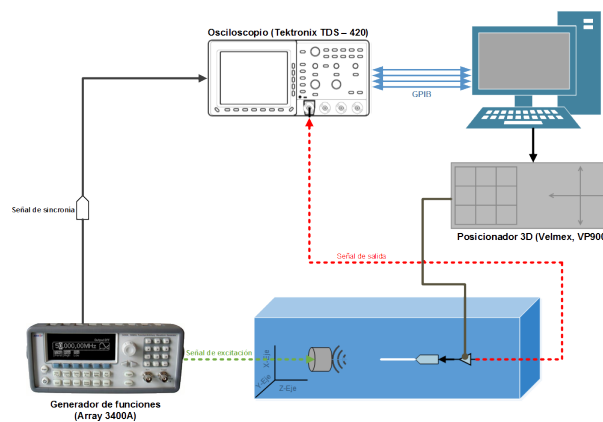


Figura 5.7: Configuración del sistema de medición de campo acústico.

Las presiones pueden ser registradas en tres planos ortogonales, por medio del sistema de posicionamiento automático 3D, el cual es controlado de manera manual para determinar el punto de inicio de la medición y posteriormente el programa Scan 3.40 controla de manera automática el sistema de posicionamiento con el fin de obtener la presión acústica en matrices o planos. El programa Scan 3.40 da la posibilidad de variar la distancia de los pasos en los diferentes ejes y el tamaño de la ventana

de medición, con esto se puede variar la resolución espacial en cada plano. Una característica del preamplificador es que es resistente al agua, por lo cual se sumerge junto con el hidrófono en un contenedor lleno de agua desgasificada y bidestilada, con el objetivo de tener mediciones controladas con las cuales se puedan comparar las simulaciones en FEM. La señal que se le aplicó al transductor fue una ráfaga de 100 ciclos de una frecuencia de 1.965 MHz a una frecuencia de ráfaga de 10 Hz, con un potencial de $10 V_{pp}$ mediante el generador de funciones. Véase la configuración del sistema de medición en la Figura 5.7.



Figura 5.8: Arreglo para la medición del campo acústico a través del cráneo de rata.

Las mediciones del campo acústico se realizaron en varios planos y ejes. Primero, se realizó un barrido tanto en el eje X como en el eje Y para determinar la posición central a la que se encontraba el foco. Estas mediciones se realizaron a 2 mm del housing y fueron realizadas a lo largo del diámetro del transductor (23 mm contando parte del housing), con una resolución espacial de 0.6369 mm. Luego de tener centrado el foco tanto en el eje X como en el Y, se procedió a realizar un barrido en el eje Z para determinar la distancia a la que se encontraba el foco. Las mediciones para el eje Z se realizaron 1 mm a partir del housing hasta los 40 mm, con una resolución espacial de 1 mm. Teniendo ubicado el foco se realizaron las mediciones en los planos XY y YZ. El plano XY con una dimensión de 1.8x1.8 mm, otra de 15x15 mm y una más de 1.4x1.4 mm (esta última para las mediciones del campo acústico que pasa a través del cráneo) a una resolución espacial de 0.1 mm. Y para el plano YZ como para el XZ se tomaron 3 diferentes patrones de campo acústico, el primero de 26x40 mm, el cual iniciaba en 1 mm a partir del housing con una resolución de 1 mm, el segundo de 2x8 mm a 11 mm a partir del housing con una resolución de 0.1 mm para Y y X y en Z de 0.5 mm. Por último, un plano de 2x8 mm a 12 mm de housing con una resolución de 0.1 en Y y X y

en Z de 0.5 mm. A este último plano se le agregó el cráneo cortado de una rata como se aprecia en la Figura 5.8.

Para las mediciones del campo acústico con el cono se realizaron solamente mediciones en el eje Z a 1 mm a partir del housing hasta los 40 mm a una resolución espacial de 1 mm. Y un plano YZ a 12 mm del housin de 15x10 mm a una resolución espacial de 1 mm para el eje Z y para el eje Y de 0.5 mm. Estos planos y ejes se realizaron para los 4 conos que se describirán más adelante.

5.4. Modelado mediante método de elemento finito FEM

Gracias al FEM es posible obtener modelos aproximados a fenómenos físicos reales como el caso del campo acústico, a través del uso de ecuaciones de onda expresada en notación tensorial. Debido a la relación que hay entre este tipo de ecuaciones se pueden resolver problemas en el área general de acústica, interacción acústica-estructural, aeroacústica, termoacústica, presión, ondas elásticas en diversos materiales y vibraciones.

5.4.1. Modelado de campo acústico

5.4.1.1. Geometría

El transductor simulado en este trabajo es de un modelo de la compañía Onda Corporation[®], el cual está basado en una geometría esférica con profundidad focal de 20 mm a partir de la curvatura del piezoeléctrico; consta de un radio de 10 mm y una concavidad de 3 mm. La geometría se puede ver en la Figura 5.1. Para la simulación en FEM se tomó en cuenta la carcasa (*housing*) y la geometría que se muestra en la Figura 5.9, la cual está basada en una geometría axisimétrica.

5.4.1.2. Condiciones para el modelado de presión acústica

1. Estudio dependiente del tiempo

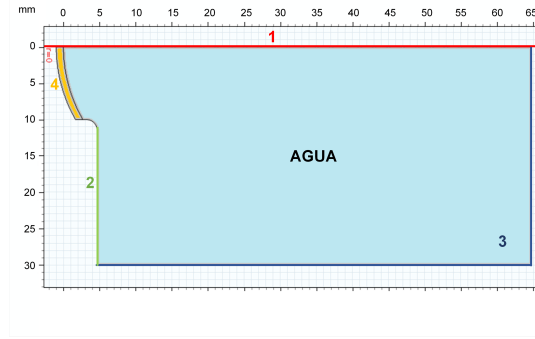


Figura 5.9: Geometría axisimétrica propuesta para el modelado del transductor, (1) indica el eje axial simétrico, (2) muestra un contorno rígido (housing), (3) señala contornos de distinta impedancia acústica y (4) indica el PZT.

Usando el estudio dependiente del tiempo para el modelado del fenómeno acústico transitorio en un fluido estacionario y para resolver la ecuación de onda Ec. 5.1.

$$\frac{1}{\rho c^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} + \nabla \cdot \left(-\frac{1}{\rho} (\nabla p - \mathbf{q}_d) \right) = \mathbf{Q}_m, \quad (5.1)$$

donde la presión acústica, $p = p(\mathbf{x}, t)$, c es la velocidad del sonido y ρ denota la densidad, mientras que \mathbf{q}_d y \mathbf{Q}_m son fuentes dipolo y monopolo, respectivamente. La densidad y la velocidad del sonido ambas pueden ser no constantes en el espacio.

Este estudio es utilizado para calcular la variación de presión cuando se modela la propagación de ondas acústicas en fluidos en condiciones en reposo predeterminadas. Esto es adecuado para simulaciones dependientes del tiempo con campos y fuentes arbitrarias dependientes del tiempo.

- Eje axisimétrico: Se puede apreciar en línea roja marcada con el número 1 en la Figura 5.9, dicho eje marca los contornos donde solo existe una condición para la simetría axial.
- Impedancia: El número 3 indica las líneas azules en la Figura 5.9, las cuales son un contorno que se considera con una impedancia a partir de las propiedades del agua; éste es un contorno de impedancia diferente. Esta condición es una generalización de los contornos rígidos y suaves, la cual tiene una densidad de 1000 kg/m^3 , y una velocidad de propagación del ultrasonido en el medio de 1500

m/s, ésta es cercana a la velocidad de propagación del sonido en el agua a 25 °C [5].

En la presión acústica, la interfaz transitoria utilizando un estudio dependiente del tiempo, la condición de contorno de impedancia es la Ec. 5.2.

$$-\mathbf{n} \cdot \left(-\frac{1}{\rho_0} (\nabla p_t - \mathbf{q}_d) \right) = \frac{1}{Z_i} \frac{\partial p_t}{\partial t}, \quad (5.2)$$

donde Z_i es la impedancia acústica de entrada específica de un dominio externo y eso se mide $Pa \cdot s/m$ – una presión dividida por la velocidad. Para un punto de vista físico. La impedancia acústica de entrada es la razón entre la presión local y velocidad normal local de la partícula. La impedancia acústica específica Z_i es relacionada a la impedancia acústica Z_{ac} (relación de la tasa de presión y flujo) y la impedancia mecánica Z_{mech} (relación de fuerza y velocidad) a través del área A del contorno, de acuerdo a la Ec.5.3.

$$Z_{mech} = AZ_i = A^2 Z_{ac}. \quad (5.3)$$

- Contorno rígido: Se consideró el contorno indicado por el número 2 de la Figura 5.9 como un contorno rígido o pared, el cual es un contorno en el que la componente normal de la aceleración es cero Ec. 5.4.

$$-\mathbf{n} \cdot \left(-\frac{1}{\rho_0} (\nabla p - \mathbf{q}_d) \right) = 0. \quad (5.4)$$

- Presión: Indicado con el número 4 en la Figura 5.9, la cual es una condición de contorno que actúa como una fuente de presión en el contorno, eso quiere decir que una constante de presión acústica p_0 es especificada y mantenida en el contorno; $p = p_0$. En el dominio de la frecuencia, p_0 es la amplitud de una fuente de presión armónica.

1. Estudio en el dominio de la frecuencia

El estudio en dominio de la frecuencia se usa para calcular la respuesta de un modelo lineal o linealizado sometido a excitación harmónica en una o varias frecuencias. Para

el estudio en dominio de la frecuencia o tiempo-harmónico, es utilizada la ecuación de Helmholtz no homogénea presentada en la Ec. 5.5.

$$\nabla \left(-\frac{1}{\rho_c} (\nabla p_t - \mathbf{q}_d) \right) - \frac{k_{eq}^2 p_t}{\rho_c} = Q_m, \quad (5.5)$$

donde k_{eq} es la ecuación del número de onda Ec. 5.6 para una geometría 2D axisimétrica, contiene tanto la onda ordinaria número k , así como fuera de plano y contribuciones circunferenciales. Teniendo en cuenta que la presión aquí es la presión total p_t , la cual es la suma de un posible campo de presión de fondo p_b y el campo de dispersión p_s . Esto permite la formulación de las ecuaciones para un denominado campo de dispersión. Si no presenta campo de fondo $p_t = p_s = p$. En esta ecuación $p = p(\mathbf{x}, \omega) = p(\mathbf{x})e^{i\omega t}$.

$$k_{eq}^2 = \left(\frac{\omega}{c_c} \right)^2 - \left(\frac{m}{r} \right)^2, \quad (5.6)$$

donde m denota el número de onda circunferencial, c_c es el componente complejo de la velocidad del sonido en un medio, r es la coordenada radial y ω es la frecuencia angular. A continuación, se describen las condiciones de contorno para este estudio.

Para resolver el estudio de la presión acústica, en el dominio de la frecuencia propuesto en una geometría 2D axisimétrica en coordenadas cilíndricas, se utiliza la ecuación homogénea de Helmholtz Ec. 5.7.

$$\frac{\partial}{\partial r} \left[-\frac{r}{\rho_c} \left(\frac{\partial p}{\partial r} \right) \right] + r \frac{\partial}{\partial z} \left[-\frac{1}{\rho_c} \left(\frac{\partial p}{\partial z} \right) \right] - \left[\left(\frac{\omega}{c_c} \right)^2 \right] \frac{rp}{\rho_c} = 0, \quad (5.7)$$

donde r y z son las coordenadas radial y axial, respectivamente, p es la presión acústica, y ω es la frecuencia angular. La densidad ρ_c , y la velocidad del sonido c_c , son valores complejos para tener en cuenta para las propiedades de amortiguamiento de los materiales.

- Impedancia: es una generalización de las condiciones de contorno rígido y blando, denotada en la Ec. 5.8. A diferencia de la Ec. 5.2, ésta no depende del tiempo si no de una frecuencia harmónica o un barrido de frecuencias.

$$-\mathbf{n} \cdot \left(-\frac{1}{\rho_0} (\nabla p_t - \mathbf{q}_d) \right) = -\frac{i\omega p_t}{Z_i}. \quad (5.8)$$

- Presión: crea una condición de contorno que actúa con una fuente de presión en el contorno, lo que significa que una presión acústica constante p_0 , es especificada y mantenida en el contorno; $p = p_0$. En el dominio de la frecuencia, p_0 es la amplitud de una fuente de presión harmónica.
- Las condiciones de contorno tales como el eje de simetría axial o eje axisimétrico y contorno rígido son iguales para los dos estudios, tanto para el dependiente del tiempo como el de dominio en frecuencia [34, 35, 36, 37].

5.4.1.3. Malla

La malla que se propone para este estudio se obtuvo a partir de un análisis de convergencia determinado por las siguientes ecuaciones:

$$MS = \frac{\lambda}{E_\lambda}, \quad (5.9)$$

donde c es la velocidad de propagación del sonido en un medio, f es la frecuencia del ultrasonido, λ es la longitud de la onda en el medio, E_λ es el número de elementos por longitud de onda y MS es el tamaño máximo de la malla. Marburg [38] propone una E_λ de 2 para obtener el tamaño ideal de la malla, el cual está directamente relacionado con el teorema de muestreo de Shannon, este teorema es importante principalmente para resolver problemas de acústica y vibración. La geometría de la malla que se utilizó fue triangular, debido a que la geometría del modelo presenta contornos curvos, y la malla con geometría rectangular no se puede adaptar a este tipo de contornos.

5.4.1.4. Propiedades mecánicas y eléctricas de los materiales

En la Tabla 5.2 se especifica las propiedades de cada uno de los materiales. En el caso del tejido óseo se tomaron propiedades de tejido óseo humano, debido a la falta de información de las propiedades acústicas del tejido óseo en ratas. Las propiedades

de la cerámica se obtuvieron de la hoja de datos proporcionada por el fabricante. Las propiedades del agua están definidas por defecto en el simulador.

Tabla 5.2: Propiedades mecánicas y eléctricas de los materiales.

TITANATO ZIRCONATO DE PLOMO "RÍGIDO"		
<i>Propiedad</i>	<i>Valor</i>	<i>Unidad</i>
Espesor	1	mm
Densidad	7500	$\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Módulo de Young	9.3×10^{10}	$\frac{\text{N}}{\text{m}^2}$
Matriz de acoplamiento (Orden: xx, yy, zz, yz, xz, xy)		
d_{15}	362×10^{-12}	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$
d_{31}	-107×10^{-12}	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$
d_{33}	241×10^{-12}	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$
Matriz de cumplimiento (Orden: xx, yy, zz, yz, xz, xy)		
S_{11}^E	10.8×10^{-12}	$\frac{1}{\text{Pa}}$
S_{12}^E	-3.6×10^{-12}	$\frac{1}{\text{Pa}}$
S_{33}^E	13.7×10^{-12}	$\frac{1}{\text{Pa}}$
TEJIDO ÓSEO "HUMANO"[45]		
Densidad	1908	$\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Velocidad de sonido	3514	$\frac{\text{m}}{\text{s}}$
Capacidad calorífica	1313	$\frac{\text{J}}{\text{kg} \cdot \text{K}}$
Conductividad térmica	0.32	$\frac{\text{W}}{\text{m} \cdot \text{K}}$

5.4.1.5. Estudios en FEM para el modelado de presión acústica

Los estudios que se llevaron a cabo en FEM fueron los siguientes: análisis en frecuencia con el propósito de obtener el patrón del campo acústico total, otro de ellos fue un estudio dependiente del tiempo para ver como viajaban las ondas acústicas en el medio, con lo cual se estimuló con una señal pulsada de $50.9 \mu\text{s}$ en estado alto que contiene a su vez una sinodal de 1.965 MHz (100 ciclos) y en estado bajo un tiempo de 99.94 ms, para obtener una frecuencia de 10 Hz.

A su vez se realizó un estudio multifísica para obtener la frecuencia de resonancia del transductor simulado y compararlo con los resultados obtenidos en las mediciones. También se agregó a la geometría de ambos estudios, una forma curva con un grosor de 1 mm, con el fin de simular la parte superior del cráneo de una rata, las propiedades de esta geometría se pueden observar en la Tabla 5.2 y dicha geometría se puede

apreciar en la Figura 5.10.

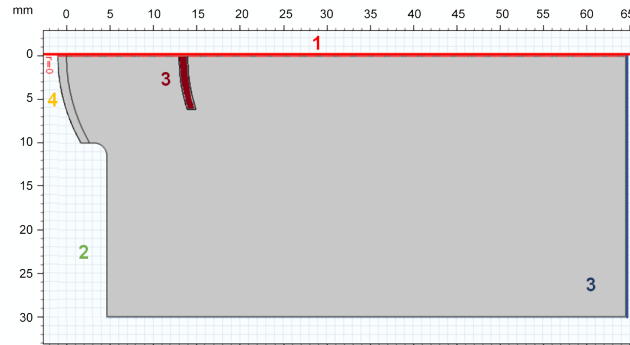


Figura 5.10: Geometría 2D axisimétrica con la adición del cráneo de rata.

Para obtener las dimensiones del cráneo de rata primero se extrajo el cráneo de una rata con un peso aproximado de entre 200 g y 300 g, el cual se obtuvo por métodos naturales para mantener lo más integro el tejido óseo. Posteriormente, se midió el espesor y concavidad de la parte superior del cráneo.

5.4.2. Modelado de patrón de calentamiento

Para obtener el patrón de calentamiento producido con ultrasonido, se utilizó el módulo de transferencia biocalentamiento, el cual es utilizado para modelar la transferencia de calor por conducción, convección y radiación. La ecuación de temperatura definida en los dominios de tejido biológico corresponde a la forma diferencial de la ley de Fourier con contribuciones predefinidas para fuentes de biocalentamiento. Además, modelos de daño tisular integral pueden ser incluidos, basado en un umbral de temperatura o un modelo de absorción de energía. La ecuación de Pennes para la conductividad de la transferencia de calor utilizando esta aproximación se observa en la Ec. 5.10.

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} + \nabla \cdot (-k \nabla T) = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + Q_{met}, \quad (5.10)$$

Las ecuaciones de biocalentamiento y la física correspondiente en la interfaz de transferencia de calor. Éstas son usadas para modelos de transferencia de calor dentro

de tejido biológico. Esta función utiliza la aproximación de Pennes para representar las fuentes de calor de metabolismo y perfusión sanguínea. Insertando la fuente de calor volumétrica acústica en la ecuación de biocalentamiento de Pennes para el modelo de transferencia de calor entre del tejido biológico se puede observar en la Ec. 5.11.

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} + \nabla \cdot (-k \nabla T) = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + Q_{met}, \quad (5.11)$$

donde la densidad ρ , la capacidad calorífica en una presión constante C_p , y la conductividad térmica k son las propiedades térmicas del tejido. Así como también T es la temperatura, C_b es el calor específico de la sangre, ω_b es la razón de perfusión sanguínea, T_b es la temperatura de la sangre, Q es la fuente de calor (la absorción de energía ultrasónica calculada de la Ec. 5.12) y Q_{met} es la fuente de calor metabólico. Para un problema de estado estacionario la temperatura no cambia con el tiempo y el primer término desaparece.

Utilizando la Ec. 5.7, que involucra la suposición de que la propagación de onda acústica es lineal y también la amplitud de la onda shear en el dominio del tejido son más pequeñas que aquellas de la presión acústicas, los efectos no lineales y las ondas shear son también despreciables.

Dado el campo de presión acústica, el campo de la intensidad acústica es fácilmente derivable y la fuente de calor Q para simulaciones térmicas, dado en el límite de la onda plana, es calculada con la Ec. 5.12.

$$Q = 2\alpha_{ABS} I = 2\alpha_{ABS} \left| \text{Re} \left(\frac{1}{2} p \mathbf{v} \right) \right|, \quad (5.12)$$

donde α_{ABS} es el coeficiente de absorción acústica, I es la magnitud de intensidad acústica, p es la presión acústica y \mathbf{v} es el vector velocidad de la partícula acústica. La intensidad es una variable derivable donde la magnitud puede ser obtenida del estudio para el cálculo de la presión acústica y Q es fácilmente calculado una vez que el campo acústico es resuelto [39, 40].

5.4.2.1. Condiciones para el módulo de bioalentamiento

- Bioalentamiento: es un dominio que proporciona los términos de fuente que representan la perfusión sanguínea y el metabolismo para el modelo de transferencia de calor en un tejido biológico, utilizando la ecuación de bioalentamiento Ec. 5.13.

$$Q_{bio} = \rho_b C_b \omega_b (T_b - T) + Q_{met}. \quad (5.13)$$

Insertando la fuente de calor en el volumen acústico dentro de la ecuación de bioalentamiento de Pennes, para modelar la transferencia de calor entre el tejido biológico, está dado por la Ec. 5.14.

$$\rho C_p \mathbf{u} \cdot \nabla T + \nabla \cdot \mathbf{q} = Q + Q_{bio}, \quad (5.14)$$

donde \mathbf{u} es un vector de velocidad. La conductividad térmica k_g describe la relación entre el vector de flujo de calor \mathbf{q} y el gradiente de temperatura $\nabla_T T$ en la Ec. 5.15, la cual es la ley de Fourier de la conducción térmica.

$$\mathbf{q} = -k_g \nabla_T T. \quad (5.15)$$

- Fuente de calor: describe la generación de calor entre el dominio, se puede expresar una temperatura alta o una temperatura baja con valores positivos o negativos, respectivamente. En una condición de dominio, se puede introducir una función que dependa del tiempo, o enlazar una física como la presión acústica en este caso, con el propósito de pasar la energía ultrasónica a fuente de calor y observar el comportamiento del patrón de calentamiento en el tiempo a una frecuencia determinada. Para este caso en particular se introdujo en la fuente de calor general Q_0 la Ec. 5.16, donde $Step\left(t \left[\frac{1}{s}\right] - 1\right)$ representa una función escalón que va de 1 a 0.

$$Q_0 = I_{RMS} \cdot 2 \cdot \alpha_{ABS} \cdot Step \left(t \left[\frac{1}{s} \right] - 1 \right). \quad (5.16)$$

- Temperatura: es una condición de contorno, la cual se utiliza para especificar la temperatura en algún contorno de la geometría. La temperatura prescrita T_0 puede ser especificada con valores diferentes para cada contorno y es expresada en °K.

5.4.2.2. Estudio en el módulo de biocalentamiento

Se llevó a cabo un estudio basado en la geometría de la Figura 5.10, el cual tiene como propósito la obtención de un patrón de calentamiento, obtenido de la relación de la radiación ultrasónica y la ecuación de Pennes. Con el objetivo de ver la forma y alcance del patrón de calentamiento, se realizó en la geometría que tiene integrado un cráneo como en el del estudio de presión acústica, con la diferencia de que en este estudio no se simuló en agua sino en un material con propiedades térmicas y acústicas obtenidas en [45], dichas propiedades se muestran en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3: Propiedades térmicas y acústicas del tejido cerebral.

PROPIEDADES TÉRMICAS [45]		
Propiedad	Valor	Unidad
Capacidad calorífica	3630	J/kg/°C
Conductividad Térmica	0.51	W/m/°C
Razón de generación de calor	1.37	W/kg
PROPIEDADES ACÚSTICAS		
Densidad	1046	kg/m ³
Velocidad de propagación	1546.3	m/s
Constante de atenuación a 2 MHz	16.7514	Np/m

5.4.3. Modelado para la optimización del cono

Para obtener la optimización en la geometría del cono se realizó un estudio en el dominio de la frecuencia, como el que se presenta en la sección 5.4.1, con la diferencia que en este estudio se le agregó un contorno que simulaba la pared interna del cono,

a dicho contorno se le dio una distancia que va desde el housing hasta los 14 mm a partir de la cara del piezoeléctrico, como se muestra en la Figura 5.11.

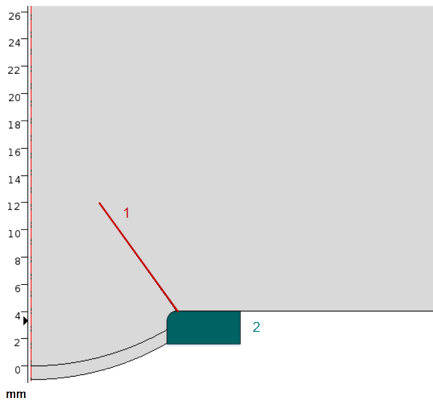


Figura 5.11: Geometría axisimétrica para la optimización del cono. (1) Indica la pared del cono y (2) señala al housing.

El número 1 en la Figura 5.11, indica la parte más distal del cono. A dicho punto se le agregó un barrido paramétrico con el fin de ir recorriendo la inclinación del cono. A este contorno se le realizó un estudio de presión, para evaluar cuál es la inclinación con mejor respuesta, en el sentido de la afección que tenga dicha pared sobre la deformación del campo acústico.

Posterior a tener los resultados, se procedió a pasar la geometría con mejor respuesta a un archivo “stl” (STereo Lithography por sus siglas en inglés), el cual se exportó a un software SolidWorks®. Luego de tener el archivo stl como un croquis en 2D, se realizó una revolución de 360° para obtener la geometría del cono en 3D. Por último, se exportó la geometría 3D igualmente en formato stl para ser utilizado en un programa de licencia libre llamado Cura® 15.04.6. En este programa se configura el archivo stl en los aspectos de impresión en 3D, tales como grosor de las paredes, relleno, temperatura de extrusor, densidad del material, entre otras. Las impresiones fueron realizadas en una impresora 3D AirWolf HD2x.

Al final de configurar aspectos de la impresión en 3D, se procedió a imprimir conos con distintas configuraciones y materiales, las cuales se muestran en la Tabla 5.4.

Tabla 5.4: Configuraciones de los materiales e impresión de los conos.

# Cono	Material	Grosor de la pared [mm]	Densidad [%]	Dirección de Impresión
1	TPU	0.5	30	Posteroanterior
2	TPU	0.5	15	Posteroanterior
3	TPU	1	15	Anteroposterior
4	TPU	1	15	Posteroanterior

5.5. *Phantom de cerebro con propiedades acústicas*

Este imitador de tejido se realizó con el objetivo de realizar pruebas con el FUS, y con ello tener un protocolo de aplicación para las pruebas *in vivo*. Antes de esto se realizaron mediciones para corroborar las propiedades del *phantom*.

5.5.1. Materiales y equipo para la preparación del *phantom*

Los materiales empleados para la preparación de *phantom* de cerebro son los que se enlistan a continuación.

- Gelatina de piel bovina (Gelatin from bovine skin, gel strength 225 g Bloom Type B, Sigma Aldrich®)
- Etilenglicol (Ethylene Glycol, anhydrous 99.8 %, Sigma Aldrich®)

Los equipos utilizados para la preparación del *phantom* son los siguientes.

- Balanza (American Weigh Scales®, AWS-201)
- Termoagitador (Felisa®, FE 311I)
- Termómetro digital (Hanna®, HI 935002)

5.5.2. Modo de preparación

Para elaborar el simulador de propiedades acústicas de cerebro (*Phantom*) se realizó la siguiente metodología: se pesó la gelatina de piel bovina con ayuda de una balanza y determinando el volumen de etilenglicol se midió con una pipeta volumétrica, las proporciones se muestran en la Tabla 5.5.

Tabla 5.5: Proporciones para la elaboración de los *phantoms*.

<i>Phantom</i>	Gelatina de piel bovina %
A	10
B	14
C	16

Posteriormente se procedió a colocar el etilenglicol en un vaso de precipitado, el cual a su vez fue colocado sobre un termoagitador a una temperatura de 100 °C y a una velocidad de rotación de agitación de 100 RPM en conjunto con una barra agitadora. El etilenglicol se mantuvo en el termoagitador hasta alcanzar una temperatura de 85 °C, la cual fue monitoreada con un termómetro digital. Al alcanzar los 85 °C temperatura, la plancha se apagó, manteniendo la velocidad de rotación de agitación constante, inmediatamente, la gelatina se vertió lentamente, con el fin de no generar grumos en la mezcla. Una vez que se obtuvo una mezcla homogénea y una temperatura de la mezcla de 40 °C se procedió a colocar la mezcla en el recipiente que se deseaba, la preparación de este imitador de tejido de cerebro fue tomada de [41].

5.5.3. Medición de las propiedades del *phantom*

Las mediciones de las propiedades fueron realizadas para ver la aproximación de las propiedades medidas con las reportadas en la literatura, y con ello determinar si el *phantom* era apropiado para las pruebas posteriores con el FUS.

5.5.3.1. Medición de la densidad

La densidad del material se midió de dos maneras diferentes, la primera de ellas fue medir el volumen de la mezcla cuando ésta se encontraba en un estado líquido y consecuentemente al solidificarse se pesó en una balanza, y la densidad se calculó mediante la Ec. 5.17. El segundo método fue similar, se esperó a que la mezcla solidificara y mediante el desplazamiento de un volumen se obtuvo el volumen de la mezcla y se pesó de igual manera con una balanza. La densidad se calculó con la misma ecuación.

$$\rho = \frac{m}{V}. \quad (5.17)$$

5.5.3.2. Equipo para la medición de la velocidad de propagación

El equipo y materiales que se utilizaron para la elaboración consisten de la siguiente lista:

- Excitador de transductores ultrasónicos (*pulser*, LAREMUS)
- Transductor de inmersión de 3.5 MHz de cara plana con un diámetro de 14.36 mm (Olympus Panametrics[®], V382-SU)
- Transductor de inmersión de 2.25 MHz de cara plana con un diámetro de 8 mm (Staveley NDT Technologies[®], Harisonic 12C-0204-S)
- Osciloscopio (LeCroy[®], Wave Runner 6100A)
- Baño termostático (Tempunit[®], TU-20D Techne)
- Multímetro (Fluke[®] 289 termopar)

Otros elementos fueron utilizados para la alineación del transductor y los reflectores inmersos en la muestra. El arreglo de reflectores y *phantom* puede apreciarse en la Figura 5.12.

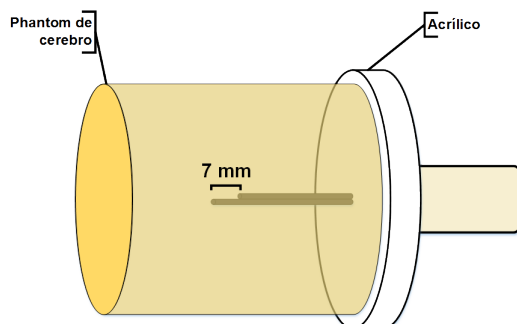


Figura 5.12: *Phantom* en forma cilíndrica con reflectores inmersos.

5.5.3.3. Medición de la velocidad de propagación

Las mediciones de la velocidad de propagación del ultrasonido en el tejido simulador de propiedades acústicas se realizaron mediante la técnica de pulso-eco, lo que significa que el mismo transductor que emite la señal de pulsos ultrasónicos es el mismo que la recibe. El excitador de transductores ultrasónicos se configuró a 100 V, que a su vez se conectó al transductor de inmersión. La señal de salida del transductor que viaja a través de un medio líquido en este caso agua bidestilada y desgasificada y a una distancia de 92.84 mm. A partir de la cerámica del transductor se encuentra otro material que es el *phantom*, el cual se colocó en un molde cilíndrico que a su vez tenía un reflector de ultrasonido el cual se muestra en la Figura 5.12. El pulser se conectó al osciloscopio, el cual se configuró a una tasa de muestreo de 5 GS/s. La señal de sincronía para el osciloscopio fue tomada el pulser y la señal de salida del pulser se conectó al canal 2 del osciloscopio con el fin de obtener los ecos reflejados por el reflector que se encontraba inmerso en el *phantom*. La configuración del sistema de medición se puede observar en la Figura 5.13.

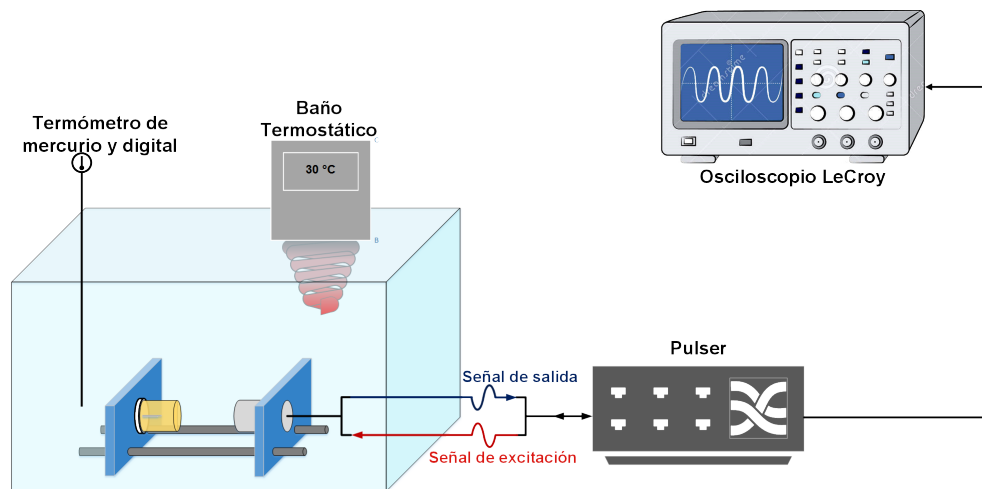


Figura 5.13: Configuración del sistema para la medición de la velocidad de propagación.

El conjunto del transductor, el *phantom* y los reflectores se encontraban inmersos en el agua bidestilada y desgasificada en el baño termostático, con el fin de tener controlada la temperatura e ir realizando un barrido en la temperatura de pasos de 2°C, todo esto con el objetivo de obtener la curva de la velocidad de propagación del

phantom. La temperatura del baño fue registrada con un termómetro de mercurio y el termómetro propio del baño termostático, mientras que la temperatura del *phantom* fue registrada con el termopar.

El arreglo de los reflectores se cambió para diferentes muestras de *phantom*, uno de ellos es el mostrado en la Figura 5.12 y el segundo fue un contenedor de acrílico como se muestra en la Figura 5.14.

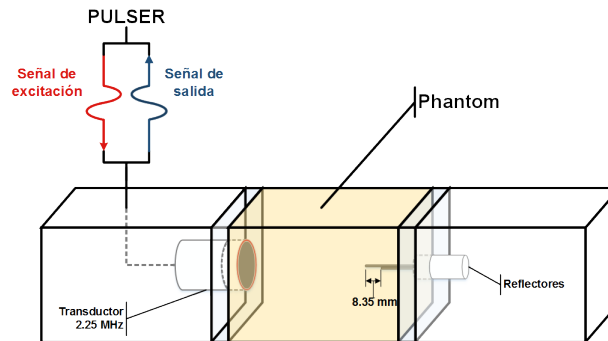


Figura 5.14: Caja para la medición de la velocidad de propagación.

La velocidad del sonido fue calculada con el tiempo de vuelo (TOF) que hay entre los picos máximos de los ecos

$$C_s = \frac{2 \cdot d}{TOF}, \quad (5.18)$$

donde C_s es la velocidad del sonido en la muestra, d es la distancia entre los reflectores, $TOF = t_2 - t_1$, Figura 5.15 [42].

5.5.3.4. Materiales para la medición de la atenuación

Para realizar las mediciones de atenuación se utilizaron los siguientes materiales:

- Osciloscopio (LeCroy Wave[®], Runner 6100A)
- Transductor de inmersión de 3.5 MHz de cara plana con un diámetro de 14 mm (Olympus Panametrics[®], V382-SU)
- Excitador de transductores ultrasónicos (*pulser*, LAREMUS)

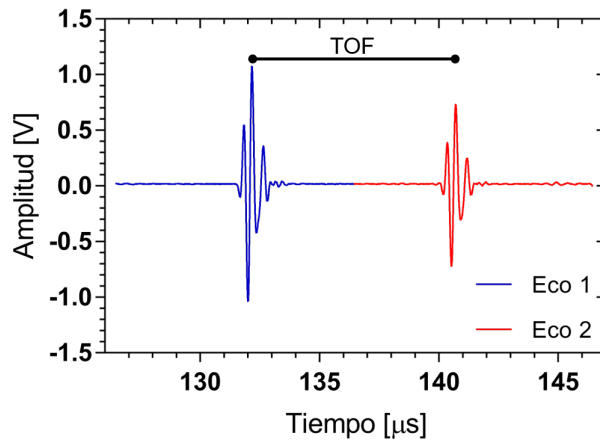


Figura 5.15: Señal de los ecos.

Para el procesamiento de los datos se utilizó un ordenador con un procesador i7 y una memoria RAM de 8 GB, así como el software Matlab para la programación.

5.5.3.5. Medición de la atenuación

Estas mediciones fueron realizadas con ayuda de un pulser, mismo utilizado para las mediciones de la velocidad de propagación. La técnica utilizada para esta medición fue la transmisión-recepción, la cual consiste de dos transductores de ultrasonido planos de 3.5 MHz, en el cual uno de ellos fue excitado con el pulser a 100 V y el otro se conectó directamente al osciloscopio. Primero se determinó la distancia entre las caras de los transductores midiendo el tiempo de vuelo que hay entre la señal emitida y la señal recibida, para ello el par de transductores se sumergieron en agua desgaseificada y bidestilada a una temperatura ambiente de 22.8°C. Luego de haber obtenido el tiempo entre las señales, se procedió a colocar una muestra de *phantom* al 16%, el cual contaba con un espesor de 90.86 mm, la señal se registró de la misma manera de transmisión-recepción. También se registró el eco de la señal emitida con ayuda del pulser, la cual se obtuvo con la técnica pulso-eco. Todo esto con el propósito de obtener la señal reflejada por la cara del *phantom* más cercana al emisor y la señal reflejada por la cara del *phantom* más lejana al emisor. Este arreglo se puede observar en la Figura 5.16.

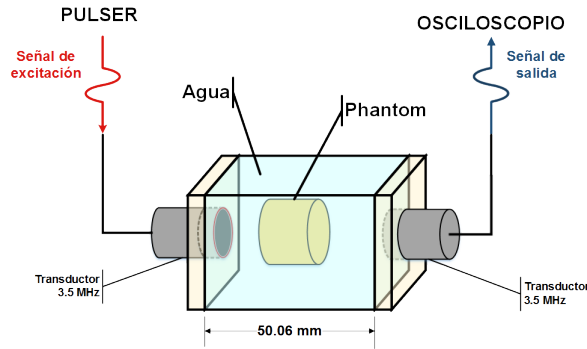


Figura 5.16: Configuración para el sistema de atenuación.

Para obtener los valores de la atenuación se utilizó el procesamiento descrito en [8]. Este método propone la medición de dos pulsos que se transmiten de un transductor a otro, así como también requiere el registro de dos pulsos reflejados, como se describe anteriormente. Las mediciones realizadas fueron en campo lejano el cual comenzaba a los 24.177 mm para el transductor de 2.25 MHz, el cual se colocó en la caja con una distancia de 50.06 mm entre los transductores.

5.6. Pruebas para la propuesta de un protocolo de excitación del FUS

Teniendo en cuenta las características medidas y simuladas del transductor, así como las propiedades medidas del *phantom* y el cráneo de rata, se partió de esto para generar el protocolo de excitación, a partir de la medición de la temperatura contra potencia de excitación, ciclo de trabajo (CD) y tiempo de exposición (TE) para las pruebas *in vivo* como se describe a continuación.

5.6.1. Material y equipo para determinar el protocolo de excitación

Los equipos utilizados para determinar el protocolo de excitación para las pruebas *in vivo* se realizaron mediante el siguiente equipo:

- Generador de funciones (Array[®], modelo 3400A)

- Generador de funcione (Tektronic[®], modelo AFG3021B)
- Amplificador de potencia (Amplifier Research[®], 500A250)
- Medidor de potencia (Amplifier Research[®], PM2002)
- Sonda termopar hipodérmica (Omega[®], Engineering, Inc)
- Tarjeta de adquisición (NI[®], cDAQ-9172 y 9211)
- Transductor (Descrito a lo largo de toda la metodología)
- Acoplador de impedancia del transductor (Mencionado anteriormente)
- *Phantom* de gelatina (al 16 % que se describió anteriormente)

Así como también se utilizó para estas pruebas uno de los cráneos extraídos previamente mencionados, el cual se cortó dejando únicamente la parte superior para medir la temperatura en el foco. Junto con el termopar se utilizó una interfaz (NI[®], LabView Signal Express) para ir monitoreando la temperatura a través de la tarjeta de adquisición.

5.6.2. Pruebas de temperatura en *phantom*

Se procedió a implementar un sistema de excitación para el transductor, el cual tenía etapas en las que se monitoreaban parámetros como la onda reflejada, el tiempo de duración, forma de onda con el osciloscopio y el medidor de potencia, como se muestra en la Figura 5.17. El sistema estaba configurado de la siguiente manera: primero se generaban señales con ayuda del osciloscopio 3400A, con una amplitud de -15 db a una frecuencia de 1.965 MHz. La señal obtenida era transmitida al amplificador de potencia, al cual se le variaba la potencia según la temperatura obtenida en el tiempo definido que fue de 5 min, con el objetivo de obtener 8 °C arriba de la temperatura inicial. Luego al transductor en conjunto con el acoplador de impedancia se les excitaba con la señal amplificada. Posteriormente, en el *phantom* al 16 % con un cráneo de rata inmerso, se les aplicaba el FUS. Dentro del *phantom* justo en el foco del

transductor se colocaba el termopar para monitorear las temperaturas obtenidas y con ello ir definiendo el ciclo de trabajo y la potencia para alcanzar los 8 °C en el tiempo propuesto.

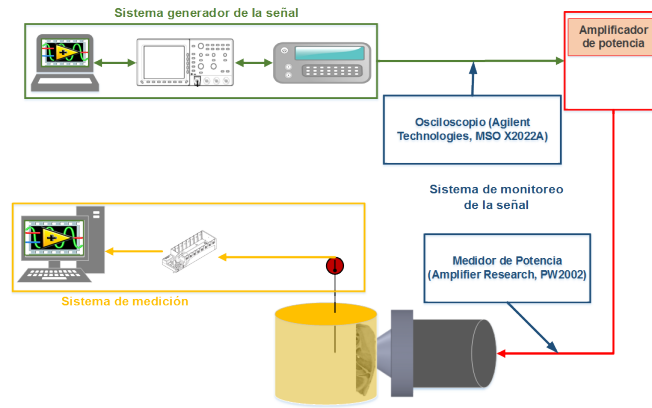


Figura 5.17: Sistema empleado para la obtención del protocolo de excitación.

5.7. Pruebas *in vivo*

Se realizaron con el fin de probar si el azul de Evans (Evans Blue EB, Sigma-Aldrich®) puede llegar a atravesar la BHE, con ayuda de un estímulo de FUS, el cual se propuso a partir de las pruebas posteriores en *phantoms*. Se eligió utilizar el EB debido a que este tiene un peso molecular de 960.81 g/mol, el cual es similar al del fármaco que se plante administrará a futuro.

5.7.1. Configuración del equipo de excitación

La excitación del transductor se dio gracias a dos generadores de funciones: uno de la marca Array modelo 3400A y otro Tektronic® modelo AFG3021B con el fin de tener una señal de 1.965 MHz modulada con una señal cuadrada de ciclo de trabajo variable, el generador de señales Tektronic fue controlado con un ordenador a través de un cable USB/GPIB (Agilent Technologies® modelo 82337B), con ayuda de LabView (National Instruments®), con el propósito de ir variando el ciclo de trabajo en lapsos definidos. El protocolo *J28* es un protocolo obtenido de pruebas en *phantoms* en los

cuales se elevaba la temperatura 8°C por encima de la temperatura inicial, este protocolo consiste en una señal base de 1.965 MHz sinusoidal, modulada con una señal cuadrada de 10 Hz, con un ciclo de trabajo inicial de 90 % durante un periodo de 10 ms, luego un ciclo de trabajo de 85 % durante 15 s, seguido de un ciclo de trabajo de 75 % durante 60 s, posteriormente un ciclo de trabajo de 65 % durante 90 s y finalmente un ciclo de trabajo de 55 % durante 120 s, obteniendo así un protocolo de 5 min. La señal de salida dada por estos equipos fue inyectada a un amplificador de potencia (Amplifier Research[®], modelo 500A250), con el fin de inyectar una señal a diferentes potencias, en este caso para la primera rata, el transductor se excitó con 2.5 W.

5.7.1.1. Control del generador de funciones mediante GPIB/USB

Para el control del generador de funciones Tektronic AFG3021A se utilizó una computadora con procesador i7 y una memoria RAM de 8 GB, la cual contaba con el software LabView (National Instruments). A través de este lenguaje de programación gráfico se implementó un código para controlar las características de señal, tales como tipo de onda, frecuencia, amplitud, ciclo de trabajo y duración de la señal, que se requería en el generador. El control del generador se dio a través un cable USB/GPIB (Agilent Technologies , 82357B). El generador de funciones Tektronic controla al generador de funciones Array, con el propósito de modular la señal senoidal de 1.965 MHz, véase Figura 5.18.

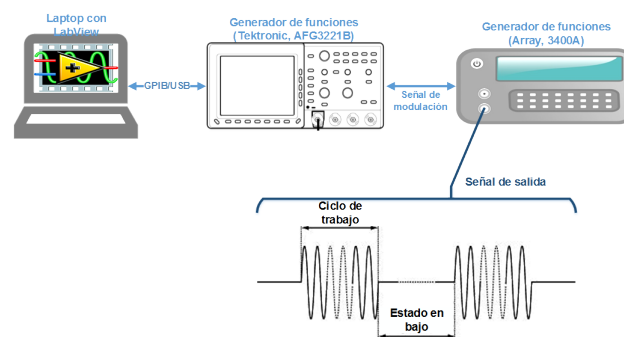


Figura 5.18: Sistema de control de los generadores de funciones.

5.7.2. Materiales y equipos para el procedimiento de las ratas.

Para el procedimiento de las ratas se utilizaron diferentes equipos los cuales se mencionan a continuación:

- Rasuradora para mascotas (Wahl[®], Clipper Pet)
- Estereotáxico para rata (Stoelting[®], 51600)
- Transductor de 2 MHz, previamente caracterizado (Onda Corporation[®], 2-20-20/4)
- Acoplador de impedancia (Onda Corporation[®], Impedance Matching)

así como también se utilizaron algunos químicos y fármacos que se encuentran en la siguiente lista:

- Anestesia la cual es una mezcla de Ketamina (2.64 mL) y Xilacina (0.99 mL)
- Lidocaína (Xylocaína[®], solución inyectable al 2 %)
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- Tinción azul de Evans (Sigma-Aldrich[®], Evans Blue)

5.7.3. Procedimiento general para las ratas

A continuación, se describe la metodología que se siguió para obtener los resultados de las pruebas *in vivo*. Los animales empleados en este trabajo fueron utilizados con la aprobación del comité institucional para uso y cuidado de animales, el comité aprobó los procedimientos de uso de animales (protocolo # 162-15).

Se realizaron las pruebas en ratas *Wistar* con un peso aproximado de entre los 200 a los 300 g, las cuales eran completamente sanas. A éstas se les monitoreo el peso a lo largo de los experimentos, con el fin de no salir del rango de peso. El rango de peso se podría considerar amplio, debido a que la parte anatómica sobre la cual trabajamos fue la cabeza. El rango de peso no mostró un aumento considerable de esta región.

Las ratas sometidas al FUS fueron anestesiada. La anestesia se administró por vía intraperitoneal, a las ratas se les inyectó una cantidad de 0.34 mL de anestesia, lo cual las mantenía anestesiadas por aproximadamente 1 hora.



Figura 5.19: Administración de la anestesia en la zona intraperitoneal.

Luego de que la rata quedó anestesiada, 5 min posteriores a la inyección, se utilizó la rasuradora para mascotas, para quitar el exceso de pelo de la parte dorsal del cráneo, Figura 5.20.

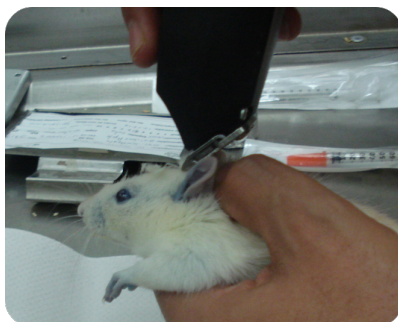


Figura 5.20: Zona afeitada de la rata para la eliminación de exceso de pelo en la zona del procedimiento.

Posteriormente, se colocó a la rata en el equipo estereotáxico para mantener a la rata fija y poder obtener coordenadas más precisas a la hora de aplicar el FUS, luego se le inyectó subcutáneamente 0.2 mL de Lidocaína con el objetivo de generar una coagulación en la zona subcutánea del cráneo al momento de realizar la incisión. La incisión fue de la parte anterior a la posterior con una longitud aproximada de 2 cm, véase Figura 5.21.

Después, a la rata se le humedeció el tejido óseo con una torunda empapada de H_2O_2 con el objetivo de resaltar las suturas del cráneo.

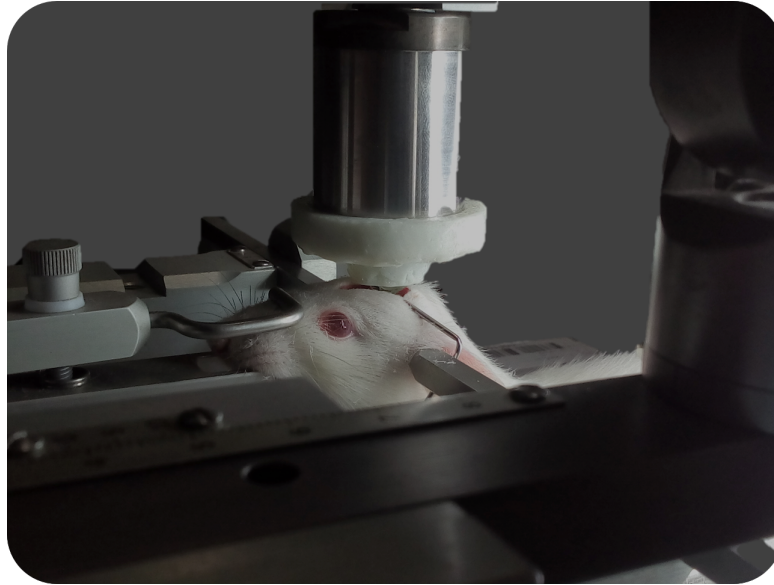


Figura 5.21: Montaje de la rata en el estereotáxico, incisión realizada para la aplicación de FUS.

Una vez localizando la sutura lambdaidea, que se toma como punto de referencia para situar a la sustancia nigra, se recorrió el transductor el cual se montó en el estereotáxico, 2 mm en el eje transversal y 2.1 mm en el eje anteroposterior a partir de la sutura lambdaidea. Teniendo todo esto, se procedió a colocar el cono de TPU diseñado gracias al FEM y con ayuda de SolidWorks® para mantener una interfase entre la cerámica del transductor y el cráneo de la rata, dicha interfase se dio gracias a que el cono estaba relleno de gel para ultrasonido. Se colocó el transductor, en conjunto con el acoplador de impedancia. Este transductor es el que se definió anteriormente, al cual se le realizó la caracterización y utilizó para las pruebas en *phantom* y determinar el protocolo J28.

5.7.4. Prueba en rata control

Las pruebas en ratas control se realizaron con el objetivo de tener certeza de los resultados en las pruebas consecuentes, por lo cual se realizaron dos pruebas para control. La primera prueba fue para la aplicación del FUS y la segunda prueba control fue la administración de la tinción azul de Evans (EB).

5.7.4.1. Prueba control para la aplicación del FUS

Para la rata control en la prueba de FUS se siguió la metodología general, a diferencia que en esta parte a la rata no se le administró tinción EB, con el fin de observar los cambios en el tejido cerebral al aplicarle FUS.

5.7.4.2. Prueba control para la administración del EB

Estas pruebas se realizaron con el propósito de observar si la cantidad de EB era la indicada, la vía de administración la adecuada, así como también, observar si el EB era capaz de atravesar la BHE por sí solo [43], sin un estímulo de FUS. Las pruebas consistieron en administrar EB a dos ratas, la primera de ellas con un peso de 250 g, a la cual se le inyectó el EB por vía intravenosa en la vena caudal, Figura 5.22. Y a la segunda rata con un peso de 240 g, se le administró el EB vía intraperitoneal, el procedimiento de inyección fue el mismo que se utilizó para la administración de anestesia, véase Figura 5.19. Posteriormente, se dejó el EB a las ratas por un lapso de 24 horas con el propósito de que recorriera todo el sistema circulatorio del animal y asegurarnos de que pasara por la zona donde se sitúa el cerebro. Posteriormente, las dos ratas fueron sacrificadas, se les extrajo el cerebro manteniéndolo intacto, y se le realizaron algunos cortes en una matriz. Se le tomaron fotografías del cerebro completo para observar si había EB en la corteza y luego se les tomaron fotografías a los cortes para observar si el EB había penetrado.

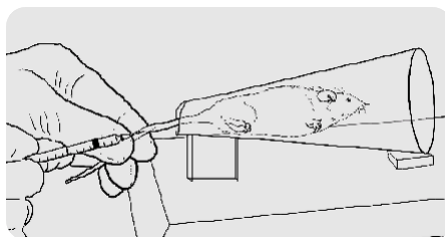


Figura 5.22: Inyección de EB vía intravenosa (vena caudal).

5.7.5. Pruebas *in vivo* para generar la apertura y cierre de la BHE

5.7.5.1. Experimentos *in vivo* para generar la apertura de la BHE

En las ratas, se realizó primero el procedimiento de administración del EB y éste se dejó 24 horas en circulación, procedimiento antes mencionado. Posteriormente, se llevó a cabo el procedimiento para la aplicación del FUS como se describió anteriormente. Cuando se tuvo a las ratas con EB y el FUS aplicados, se dejaron 24 horas más para procesar los cerebros y observar si se generó la apertura.

El proceso que se siguió para observar la apertura de la BHE fue el siguiente: primero se anestesió a la rata con pentobarbital (Pisabental[®], pentobarbital sódico al 6.3%) con una cantidad de entre 5 a 7 mL dependiendo del peso, luego de esto se procedió a extraer el cráneo cuidando siempre no dañarlo. Una vez teniendo el cerebro, éste se colocó en una solución PBS al 2% para mantener el cerebro fresco hasta tener los cortes, el PBS estaba en una tina con hielo para tener una temperatura cercana a los 4 °C. Se tomaron imágenes con ayuda de un microscopio (Leica[®]), al cual se le adaptó una cámara (Canon[®]) para tomar las fotografías. Finalmente se le realizaron cortes al cerebro, primero se le removió la parte del cerebelo, véase Figura 5.23. Luego de esto se colocó en una base magnética con pegamento (Kola Loka[®]), la base es parte del equipo vibratomo (Leica[®], VT1200s), el cual se empleó para realizar los cortes. Dichos cortes fueron realizados de la parte anterior a la posterior con un espesor de 600 μ m. Luego de tener los cortes se colocaron secuencialmente en un portaobjetos y se colocaron en el microscopio, luego se tomó la imagen con la cámara fotográfica.

5.7.5.2. Experimentos *in vivo* para generar el cierre de la BHE

Finalmente, para comprobar el cierre de la BHE, se realizó el mismo procedimiento solo que esta vez se aplicó primero el FUS y luego se administró el EB de la misma manera antes mencionada por vía intraperitoneal, a diferentes tiempos después del FUS. A la primera rata se le inyectó inmediatamente después de la aplicación del FUS, a las siguientes ratas a la 1, 6, 12, 24 y 48 horas después del FUS. El EB se les

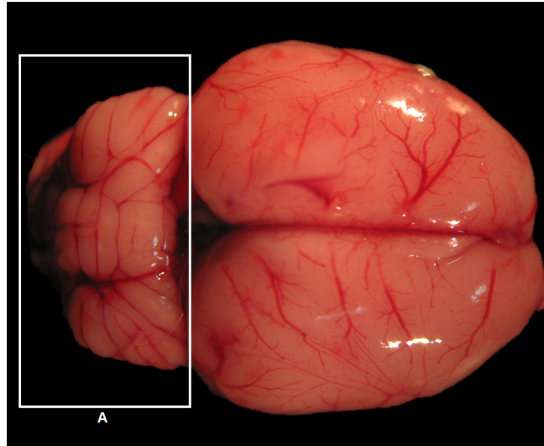


Figura 5.23: Cerebro de rata extraído, la zona A es la que se removió para la colocación del cerebro en el vibratomo.

dejó en circulación 24 horas y se procedió a sacrificarlas para observar los cortes, el procedimiento para los cortes y obtención de imágenes es el mismo que se mencionó anteriormente.

Capítulo 6

Resultados y Discusión

6.1. Caracterización del transductor

6.1.1. Resultados de las mediciones de SWR

El procedimiento para la medición del SWR se detalla en la sección 5.3.4. Los valores obtenidos de SWR fueron 1.15 en una frecuencia de 1.96 MHz en agua, 1.53 a una frecuencia de 1.98 MHz en aire, 1.00 a una frecuencia de 1.954 MHz en gel y 1.00 a una frecuencia de 1.96 MHz en el *phantom*. Lo cual demuestra que la frecuencia ideal para excitar el transductor es de 1.96 MHz. Y el *phantom* utilizado, nos da un acoplamiento cercano al del agua, por lo cual es bueno para realizar los experimentos para la determinación de un protocolo de excitación, debido a que no se tiene una potencia reflejada considerable. Las gráficas de las mediciones del SWR se muestran en las Fig. 6.1 y Fig. 6.2. en las cuales se puede apreciar el valor del SWR en un barrido de frecuencias que va de los 1.8 MHz a los 2.2 MHz.

El valor de SWR indica la cantidad de interferencia entre las ondas opuestas (incidente y reflejada); mientras el SWR sea menor, menor será la interferencia. Un SWR de 1 indica que no hay energía reflejada, por lo tanto, el SWR es un índice del acoplamiento eléctrico en un sistema. En la Figura 6.2, se puede observar el SWR medido en gel de ultrasonido y el *phantom* al 16% propuesto. El gel presentó un SWR de 1.0 a una frecuencia de 1.954 MHz, lo cual indica que la frecuencia de mejor acoplamiento

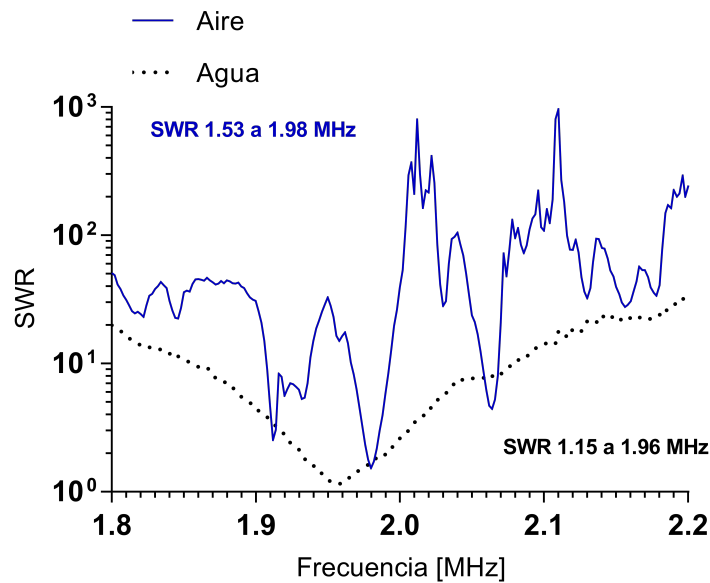


Figura 6.1: Mediciones de SWR en un barrido de frecuencias en diferentes medios.

para este medio es la mencionada. En el caso del *phantom* al 16% se obtuvo un SWR de 1.0 en una frecuencia de 1.96 MHz.

Por lo tanto, la frecuencia a la cual se debe aplicar el FUS es a 1.96 MHz ya que es donde nuestro sistema de excitación presenta un mejor acoplamiento.

6.1.2. Resultados de las mediciones de frecuencia de resonancia

Con el fin de conocer las propiedades eléctricas del transductor seleccionado, se siguió la metodología propuesta en la sección 5.3.2, la cual nos muestra el valor de la impedancia del transductor a lo largo de un barrido en frecuencia, en este caso de 100 kHz a 4 MHz. Estas mediciones se realizaron tanto en agua como en aire, con el acoplador de impedancia y sin él. Como se puede mostrar en las Figura 6.3, también se compararon las mediciones contra los resultados obtenidos de las simulaciones en FEM. La frecuencia de resonancia obtenida en las mediciones en agua fue de 1.89 MHz con una impedancia de 11.7059Ω y con el acoplador fue de 2.00 MHz con una impedancia de 29.8837Ω . También se puede ver en la Fig. 6.3 que a partir de 1 MHz presenta vibraciones de cizalla y radiales.

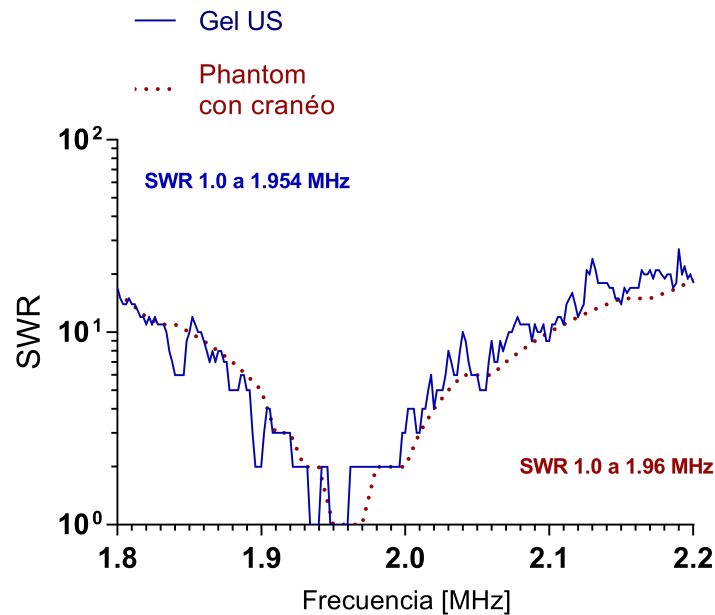


Figura 6.2: Mediciones de SWR en gel para ultrasonido y en el *phantom*.

En la Figura 6.3, también se muestra la respuesta de la impedancia en un barrido de frecuencias, la cual muestra, al igual que las mediciones, que la frecuencia de resonancia está en 1.89 MHz sin tomar en cuenta el acoplador, la diferencia es que hay una variación en el valor de la impedancia. Esto es debido a que alguna de las propiedades del material no es del valor que indica la hoja de datos del piezoeléctrico, pueden existir ligeras variaciones en las propiedades del material o hasta en la geometría. Finalmente, lo que se necesitaba obtener en estas mediciones y simulación, era una concordancia respecto a la frecuencia de resonancia.

6.2. Resultados del modelado con FEM y sus respectivas mediciones

En esta sección se discuten los resultados obtenidos mediante el modelado en FEM en comparación con las mediciones obtenidas para cada uno de los casos que se presentan.

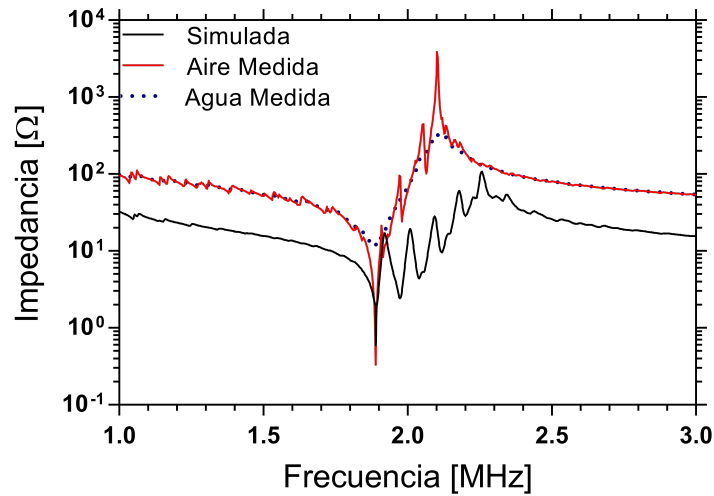


Figura 6.3: Frecuencia de resonancia medida en agua y en aire.

6.2.1. Malla

Primeramente se realizó un análisis de convergencia que se aplicó en el modelo para obtener la curva que determina el número de elementos por longitud de onda que valide los resultados que arroje la simulación, en este caso en particular la cantidad de elementos por longitud de onda que tuvieron un error menor al 1 % fue de 9 elementos, aplicando la Ec. 5.9 se obtuvo un tamaño máximo de malla de 0.08419 mm. La malla que se utilizó fue cuadrada debido a que se tiene una mejor resolución con un número menor de elementos y el tiempo de procesamiento computacional es menor que con una malla triangular, aunque se tengan la misma cantidad de elementos [44].

6.2.2. Resultados del modelado de campo acústico contra las mediciones

En el caso de la comparación de campo acústico medido y simulado se realizaron varias mediciones tanto agua como con el cráneo, tal y como se especificó en las secciones 5.3 y 5.4, que detallan las mediciones y la simulaciones respectivamente.

6.2.2.1. Patrón de campo acústico en agua

La presión acústica obtenida en el eje x y en y se puede observar en la Figura 6.4, la cual muestra la presión obtenida en las mediciones y la presión que se obtuvo en las simulaciones, mostrando así el valor que se obtuvo en ambos casos. Se puede observar que el eje x , a los 20 mm del eje z , la presión medida da un valor de 1.63 MPa contra el 1.57 MPa obtenido de la simulación, en ambos casos se obtuvo en el punto central del eje x que es a 0 mm. En el eje y , de igual manera se obtuvo un barrido tanto en la medición como en la simulación a los 20 mm del eje z , estos 20 mm del eje z son a partir de la concavidad del transductor. Así pues, se puede observar que en el eje y se presentó una presión de 1.62 MPa medida y 1.52 MPa en la simulación, ambos casos en el centro del eje y .

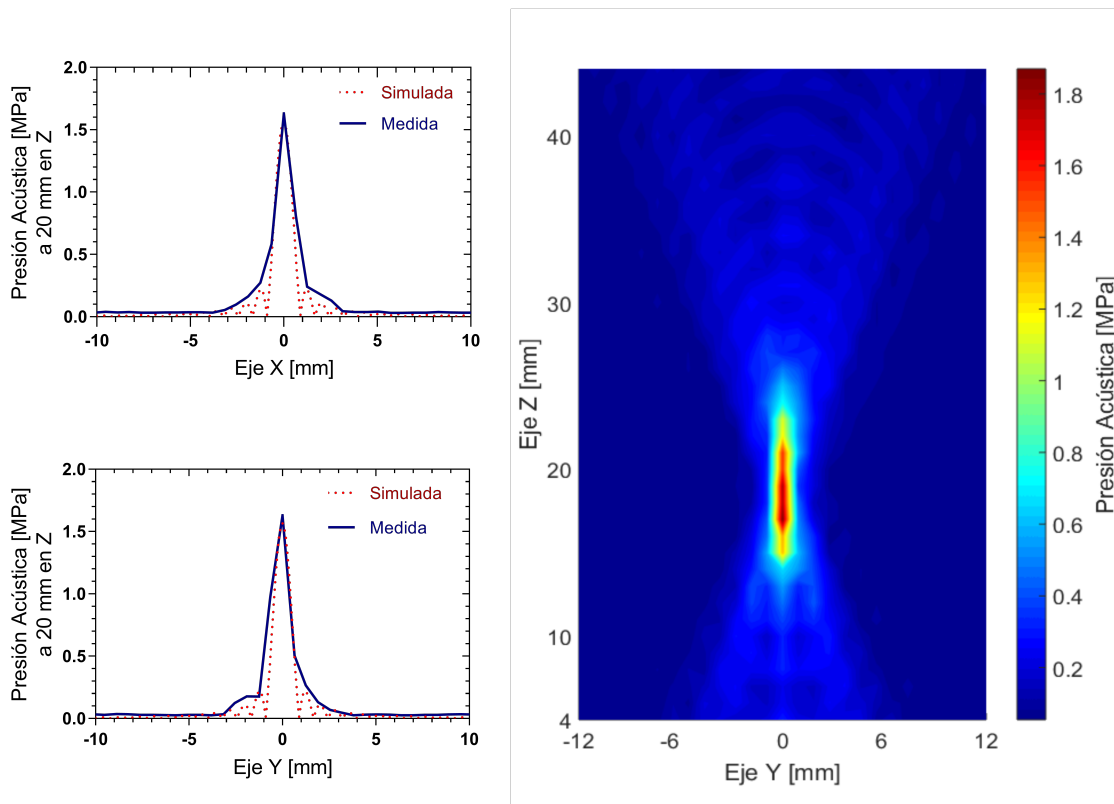


Figura 6.4: Comparación de las mediciones de presión acústica medida contra las simuladas, en el lado derecho se muestra el campo acústico medido en el plano YZ y a la izquierda se muestran la presión medida y simulada en el eje X tanto como en el Y.

En la Figura 6.4, también se puede apreciar el campo acústico en el plano yz ,

para tener una referencia de las mediciones del eje y . El valor de la presión acústica se obtuvo a partir de los valores en voltaje que dieron las mediciones, y fueron convertidas a MPa a partir de la sensibilidad del transductor, en conjunto con su amplificador que fue de $2.2 \mu\text{V}/\text{Pa}$.

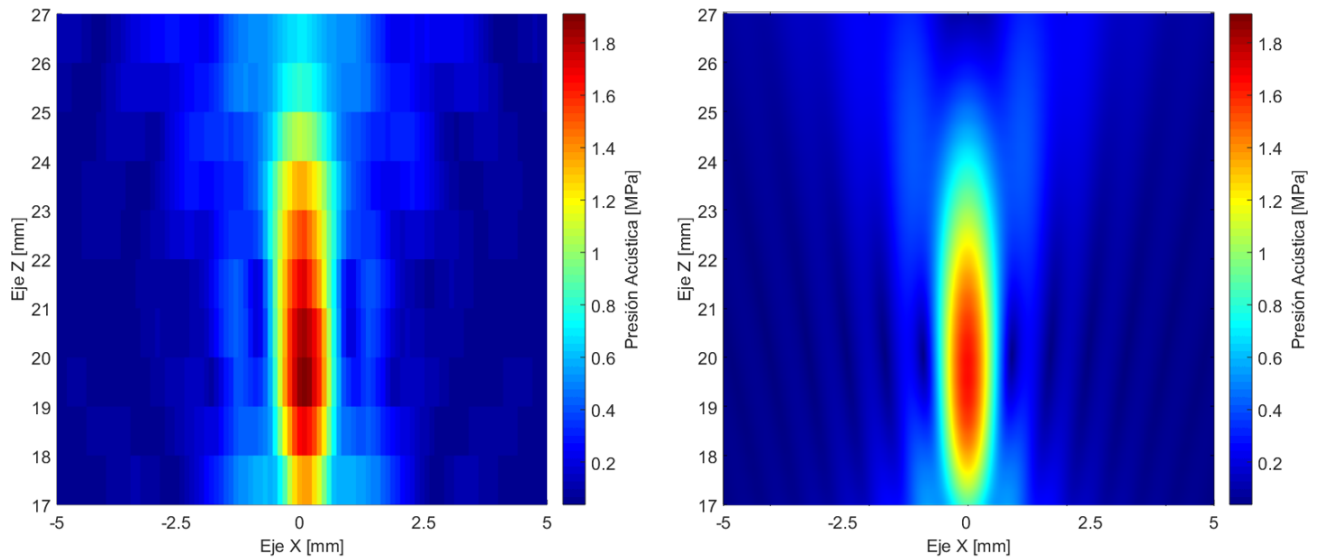


Figura 6.5: Comparación de la geometría y presión acústica generada entre el patrón medido (izquierda) y el simulado (derecha).

El plano xz , medido y simulado, se presenta en la Figura 6.5, donde se puede apreciar la distribución de presión en dicho eje, se observa que el punto de mayor presión del foco generado se encuentra a entre los 19 y 20 mm del eje z . El diámetro del foco también puede ser observado en esta imagen. Por tanto, se puede ver que la similitud de campo acústico en el foco y la aproximación de los valores de presión obtenidos en el modelo como en la simulación son cercanos entre sí, por lo cual se puede emplear para posteriores análisis como se presenta a continuación.

6.2.2.2. Patrón de campo acústico con cráneo

En el caso de la simulación con una geometría que simulaba al cráneo, se obtuvieron los siguientes resultados. En el eje z se presentó que la mayor presión se encontró a los 19.5 mm del eje z , tanto en la simulación como en la medición. En este caso las presiones máximas obtenidas en las mediciones difieren de la obtenidas en

la simulación, esto debido a la geometría irregular del cráneo en comparación con la geometría idealizada en la simulación, otro factor importante que puede variar el valor de la presión son las propiedades del material, para estas simulaciones se propusieron propiedades obtenidas de la literatura [45].

Para el caso del eje y , que se obtuvo a los 19 mm del eje z , se dio una diferencia de 0.176 MPa en los puntos de mayor presión tanto simulado como medido, siendo este último el de mejor presión acústica. Esto atribuido a lo mencionado en cuanto a las propiedades del material y la geometría irregular del cráneo real. Por último en el eje x se puede observar que la geometría irregular del cráneo afectó más a este eje debido a que el cráneo es alargado en el eje dorsoventral, y el eje x estaba alineado con la sutura sagital del cráneo en las mediciones, en el caso de la simulación el cráneo tenía una concavidad homogénea tanto en el eje x como en el y , debido a la geometría 2D asimétrica propuesta.

La deformación del foco se puede apreciar en la Figura 6.6, donde observa cómo la geometría irregular del cráneo afecta el patrón del campo acústico en las mediciones en comparación con las mediciones del mismo plano sin el cráneo. Otro punto importante es la atenuación de la presión acústica que se puede deducir de las mediciones del campo acústico medido. La presión acústica disminuyó un 66.27 % al colocar el cráneo entre el transductor y el sensor.

También se obtuvo un patrón acústico del foco (Figura 6.7) para compararlo con la simulación, en este caso se observa un patrón del foco deformado por las irregularidades del cráneo, aun así, se puede observar que la diferencia de presión acústica entre la simulación y la medición no difiere enormemente, así como el desplazamiento del foco a los 19 mm en el eje z . La diferencia de presiones que se dio fue de 0.15 MPa.

La mediciones realizadas en el plano xy que se muestran en la Figura 6.8, fueron obtenidas con el propósito de observar la deformación que generó el cráneo en comparación con las mediciones sin cráneo. También se puede observar que el foco se desplazó de los 20 mm a los 19 mm en el eje z , y la presión acústica medida disminuyó un 69.33 %.

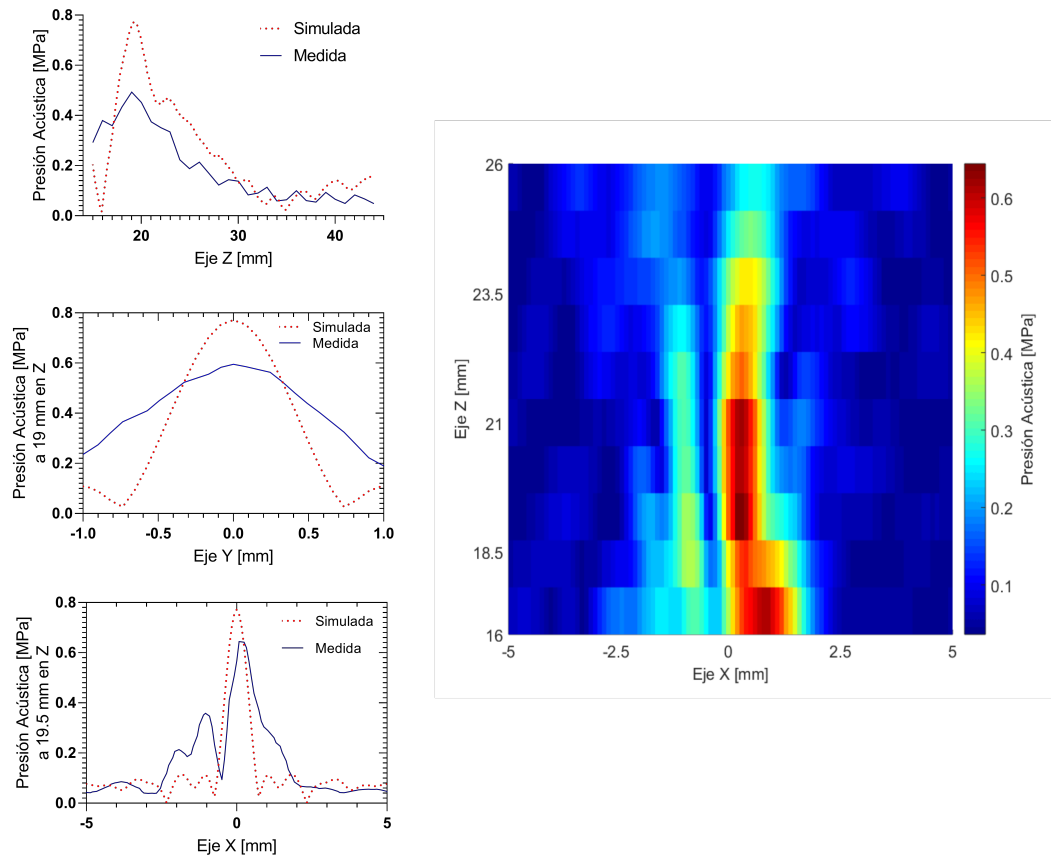


Figura 6.6: Comparación de las mediciones de presión acústica a través del cráneo de rata, medida contra las simuladas, en el lado derecho se muestra el campo acústico medido en el plano XZ y a la izquierda se muestran la presión medida y simulada en los tres ejes.

6.2.3. Resultado del modelado de patrón de calentamiento simulado

En las pruebas de la simulación del calentamiento se obtuvieron los patrones de radiación térmica mostrados en la Figura 6.9, con el objetivo de demostrar el patrón de calentamiento que se genera cuando se tienen estructuras rígidas como el cráneo; ésta se dio gracias a las ecuaciones de bioalentamiento descritas anteriormente en la sección 5.4.2. Todo esto con el objetivo de tener un acercamiento del patrón de calentamiento esperado en las pruebas *in vivo*.

No obstante, en este modelo, las variaciones de temperatura no se dieron como se esperaba debido a que no se presentó un modelo más completo en cuanto a es-

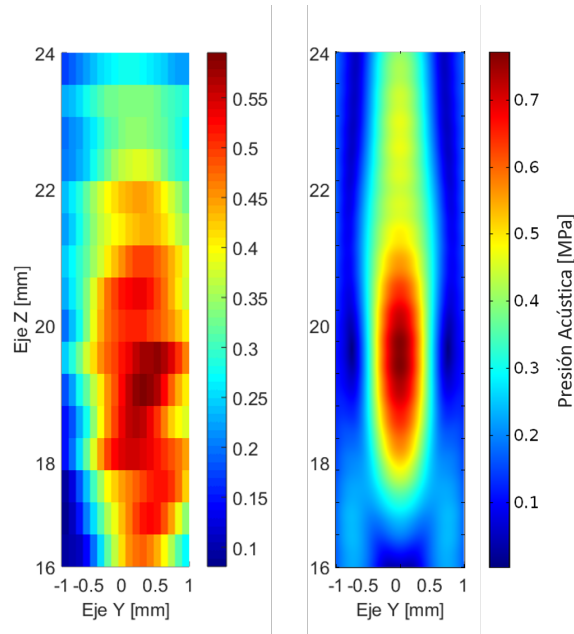


Figura 6.7: Patrón de campo acústico (lado izquierdo) medido y (lado derecho) simulado en el plano YZ después del cráneo.

estructuras anatómicas que pudieran afectar el calentamiento o absorción de energía, estructuras tales como el cerebro, meninges, redes vasculares, etc. El aporte de este resultado es tomar en cuenta dónde se espera tener mayor energía térmica, y qué patrón de radiación térmica se puede llegar a tener.

6.3. Resultados del diseño de los conos para la aplicación del FUS

Para el diseño del cono se realizaron simulaciones en las cuales se fue variando la inclinación de la pared interna del cono para observar la presión acústica en dicha pared. El resultado obtenido fue que entre más alejada la pared interna del cono y el campo acústico, no existen una afectación significativa en la generación del foco. Por lo cual, se diseñó con un diámetro interno de 12 mm en su parte anterior. Esta geometría no alteró la propagación del ultrasonido para la generación del foco.

Como resultado se obtuvo un plano del cual se partió para generar una geometría 3D, la geometría 3D se puede observar en la Figura 6.10, la cual muestra la geometría

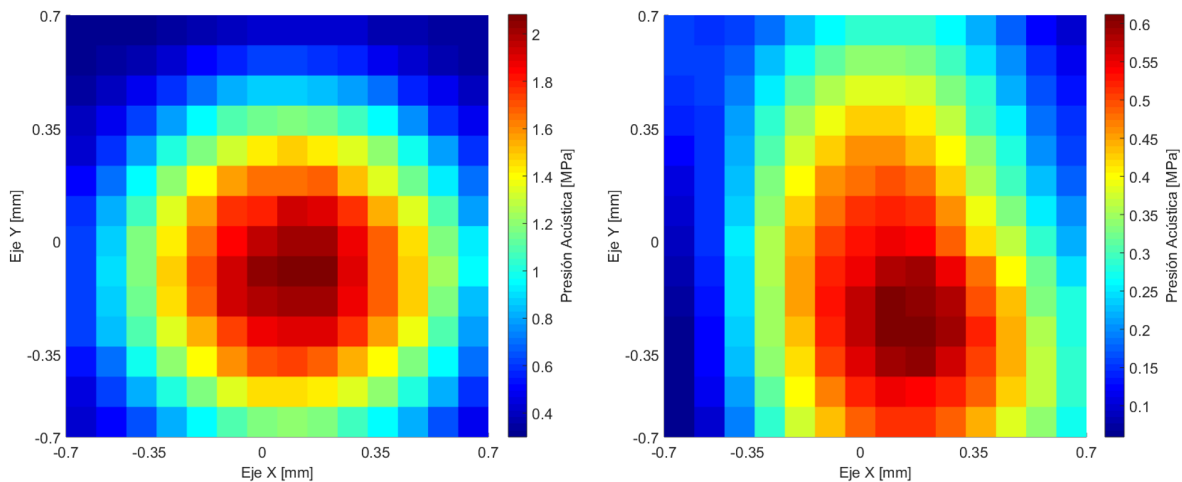


Figura 6.8: Patrón de campo acústico medido en el plano XY, (lado izquierdo) sin cráneo a 20 mm en Z y (lado derecho) con cráneo a 19 mm en Z.

del cono desde varias perspectivas.

Como consecuencia del diseño en 3D, se obtuvo una impresión en TPU en 3D. Este material fue elegido por sus propiedades elásticas. La Figura 6.11 muestra 3 diferentes impresiones de la misma geometría, pero con cambios en la densidad de impresión. La densidad de impresión dio a la estructura mayor flexibilidad entre menor densidad y viceversa. En la Figura 6.11 se muestra de menor densidad a mayor densidad siendo 1 el de menor densidad y 4 el de mayor densidad; los valores de la densidad se detallan en la sección 5.4.3.

Una vez que se obtuvieron los conos, se realizaron mediciones de presión acústica en el eje z, para observar si alguno de ellos afectaba la distancia focal o la presión acústica. Se realizaron mediciones colocando el cada uno de los conos en el traductor por el método de C-scan, luego se realizó un estudio para observar el error estándar de estas mediciones y se comparó con un promedio de 7 mediciones en el mismo eje sin el cono (véase la Figura 6.12), donde la línea azul es el promedio de las 7 mediciones sin cono, y los puntos con barras rojas son las mediciones con los 3 conos propuestos.

Debido a los resultados obtenidos con los conos se pudo observar que el uso de cualquiera de los 4 conos no afecta en la propagación del ultrasonido en la zona de interés, se utilizó el cono de menor densidad propuesto, ya que se manejaba más

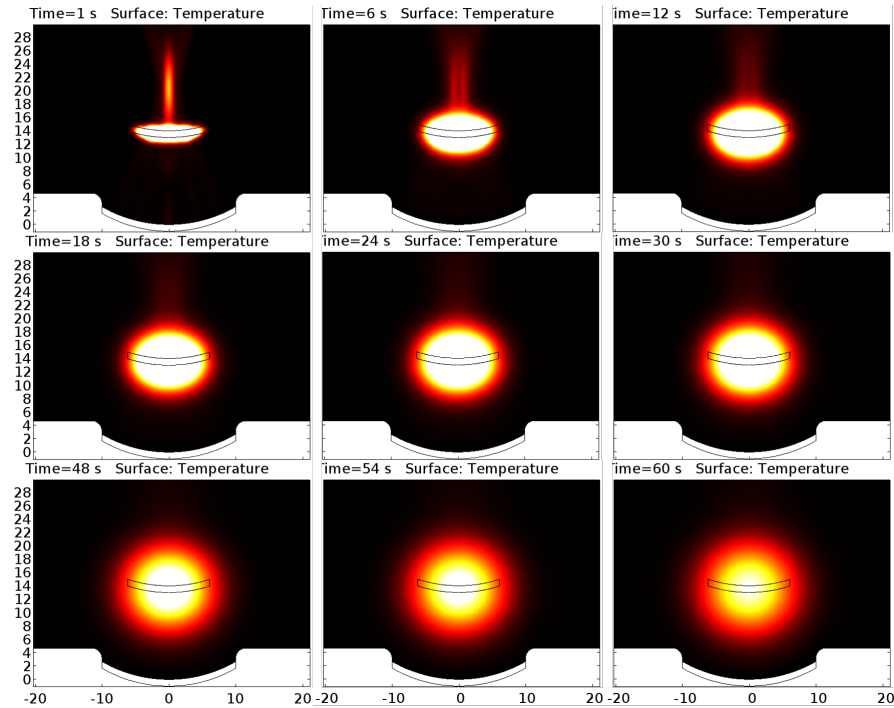


Figura 6.9: Patrón de calentamiento simulado a diferentes tiempos.

fácilmente en la colocación en el transductor, gracias a que contaba con una mejor flexibilidad que los demás conos.

6.4. Resultados de las propiedades del simulador de tejido *Phantom*

En esta sección se presentan los resultados obtenidos con las mediciones de las propiedades acústicas del *phantom* propuesto por [41], para simular una parte del tejido cerebral humano. Este *phantom* se eligió debido a que presenta propiedades térmicas semejantes a las del tejido nervioso humano. Estos *phantoms* fueron realizados con el objetivo de tener un tejido similar al cerebro de las ratas en cuanto a propiedades térmicas y acústicas, partiendo de este *phantom* se realizaron las pruebas para desarrollar un protocolo de excitación para las pruebas *in vivo*.

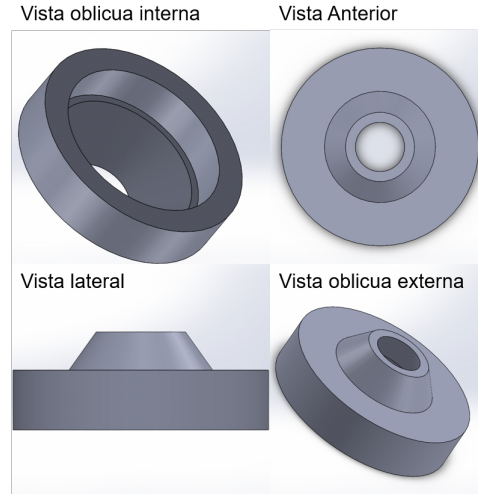


Figura 6.10: Diseño geométrico del cono a partir de los resultados en FEM.

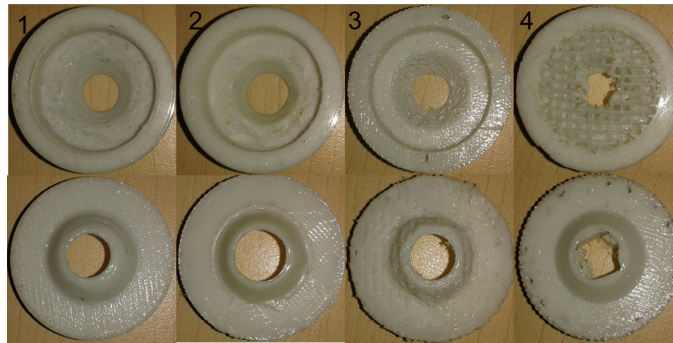


Figura 6.11: Conos de TPU impresos en 3D con diferentes densidades.

6.4.1. Medición de la densidad

En las mediciones de densidad del *phantom* a diferentes proporciones de gelatina, se muestran en la Tabla 6.1, donde se puede observar que el *phantom* con los valores más cercanos a los encontrados en la literatura [41, 45] es el *phantom* al 16%, el cual nos dio una densidad de 1.052 g/cm^3 . Los valores reportados en la literatura se encuentran en un rango de 1.050 a 1.030 g/cm^3 .

Tabla 6.1: Resultados de la densidad del *phantom* a diferentes proporciones.

% m/v de gelatina	Masa total	Volumen total	Densidad $\left[\frac{\text{g}}{\text{cm}^3}\right]$
10	22.56 g	20 mL	1.128
14	43.12 g	40 mL	1.078
16	15.77 g	15 mL	1.052

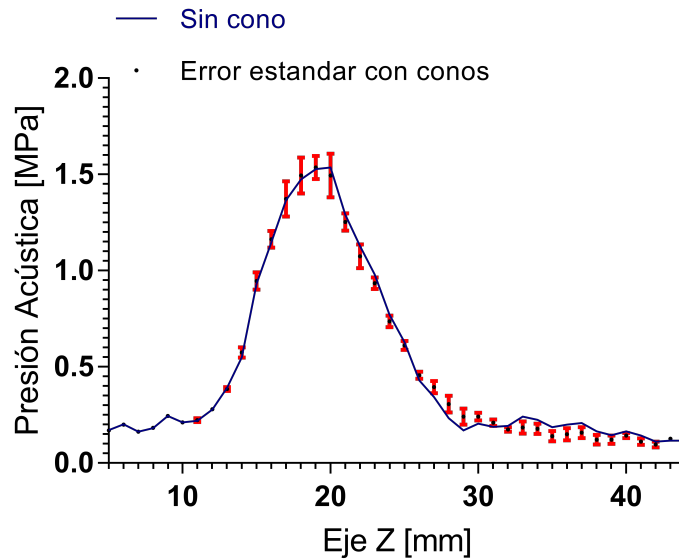


Figura 6.12: Grafica de presión acústica en el eje Z del transductor en conjunto con los diferentes conos.

Partiendo de estos resultados se tomaron en cuenta para las mediciones posteriores de la velocidad de propagación y de la atenuación del material. Una de las dificultades que presentaron los *phantoms* con densidad menor a 14 % es que se diluían en agua a temperaturas mayores a 35 °C.

6.4.2. Medición de la velocidad de propagación

En las mediciones de la velocidad de propagación se esperaba una velocidad de propagación de 1550 m/s, al igual que en las mediciones de densidad se utilizaron los *phantoms* en diferentes proporciones de gelatina. Uno de los retos fue que los *phantoms* de concentraciones menores a 14 % se diluían en el agua cuando se llegaba a una temperatura de 35 °C. Debido a esto sólo se presentan los resultados de las mediciones en el *phantom* al 16 %, ya que en esta concentración se podía trabajar en un rango más amplio de temperatura que llegaba hasta los 58 °C. Los resultados se pueden apreciar en la Figura 6.13, donde se puede observar la curva de la velocidad de propagación cuando se incrementa la temperatura.

En la Figura 6.13, se muestra que la tendencia de la velocidad de propagación es

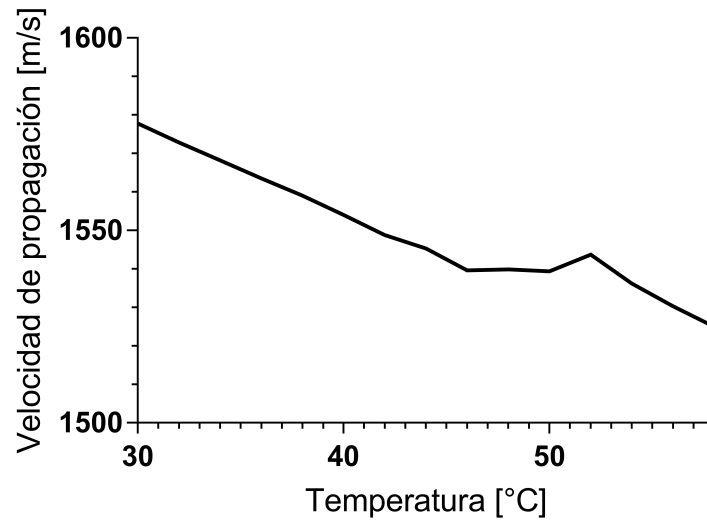


Figura 6.13: Velocidad de propagación obtenida del *phantom* al 16 %.

descendente al incrementar la temperatura. Estas pruebas se repitieron en 5 muestras a la misma concentración, solo el volumen varió. La gráfica tiene una tendencia similar a las reportadas en tejidos grasos. Esta gráfica difiere a la reportada en [41], la diferencia es que en ese trabajo se realizaron las mediciones en conjunto con otros simuladores de tejidos, lo que posiblemente alteró los resultados en las mediciones; otra de las causas es que se utilizaron metodologías distintas para la medición de la velocidad de propagación. Lo rescatable de esto es que el *phantom* presenta una velocidad de propagación similar a las reportadas en el rango que se pretende trabajar que es 1506 - 1573 m/s a un rango de temperaturas de 32 a 42 °C.

En el caso de nuestras mediciones, se realizaron con dos configuraciones distintas las cuales se describen en la sección 5.5, aún con la diferencia de los transductores utilizados, los valores de velocidad de propagación fueron muy cercanos, y la tendencia de la velocidad de propagación siempre fue descendente para las dos configuraciones.

6.4.3. Medición de la atenuación

La mediciones de atenuación dieron los resultados que se observan en la Figura 6.14, donde M1 es la atenuación medida en un *phantom* al 16 % de concentración de

gelatina, y las mediciones se realizaron con dos transductores planos de 3.5 MHz, en el caso de la M2 se realizaron las mediciones con dos transductores de 2.25 MHz. Como se puede apreciar, los resultados arrojados en las mediciones de atenuación son muy similares en el rango de frecuencias de 1 a 5 MHz. Estos transductores se describen en la sección 5.5.

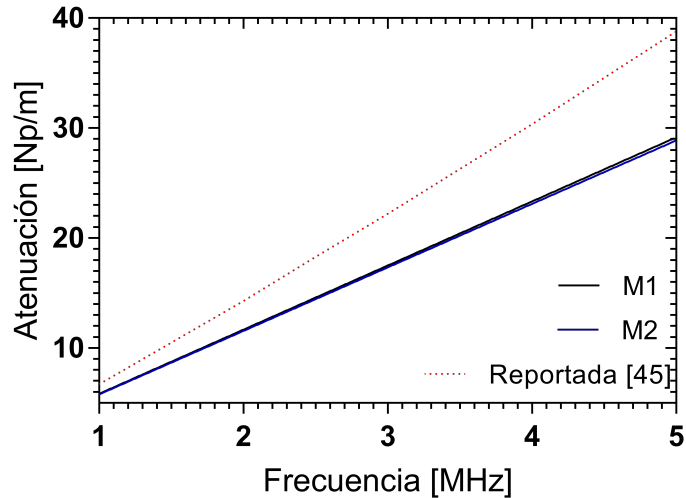


Figura 6.14: Atenuación obtenida de las mediciones de dos muestras de *phantom* al 16%.

Las mediciones de atenuación obtenidas son muy cercanas a las que se presentan en la literatura, la atenuación obtenida en la frecuencia de trabajo del transductor es de 11.7 Np/m contra 14.2 Np/m que se reporta en la literatura [45].

Gracias a los valores obtenidos de las propiedades acústicas del *phantom* al 16% y sus apegos a los valores reportados, su uso es viable para la determinación de un protocolo de excitación posterior a las pruebas *in vivo*, con ayuda de una interface ósea, en este caso se propuso el cráneo extraído de una rata, con el fin de tener una aproximación útil para el desarrollo de un protocolo de excitación.

6.5. Resultados de las pruebas para el protocolo de excitación

El protocolo de excitación se obtuvo gracias a las pruebas realizadas como se describe en la Sección 5.6, la primera prueba para la obtención de datos fue la medición de la temperatura en el foco que se situaba en el *phantom* en conjunto con el cráneo, en esta prueba lo que se esperaba era observar el tiempo que se tardaba en alcanzar un incremento de 8 °C deseados. Como se puede ver en la Figura 6.15, el tiempo que tardó en alcanzar el incremento de 8 °C fue de 120 s. A partir de estos resultados se optó por protocolos con tiempos mayores a 2 min. La característica de esta excitación es que el transductor tenía una potencia eléctrica de 2 W con una señal de 1.965 MHz modulada con una señal cuadrada a 50 % de ciclo útil. Para determinar la ubicación del foco en el *phantom* se utilizaron hojas de cristal líquido para asegurar la ubicación del foco. El termopar fue fijado con un sistema de acrílico armado en el laboratorio. Gracias a esto se pueden determinar los tiempos de exposición a los cuales se sometieron a las ratas, en la literatura indican un tiempo de exposición mayor a 2 min.

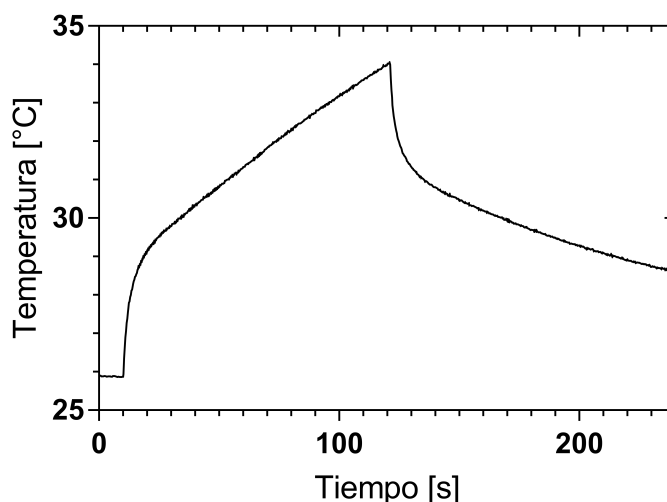


Figura 6.15: Gráfica de tiempo de exposición contra temperatura de una señal de 2 W y ciclo útil de 50%.

Otra de las pruebas realizadas fue para determinar el efecto del cambio del ciclo

de trabajo de la señal cuadrada, en donde se obtuvieron resultados como los que se muestran en la Figura 6.16, donde 3T1, 3T2 y 3T3 tuvieron una excitación de 3 W, en el caso de 3T1, el tiempo de exposición fue de 120 s. Esta señal comenzó con un ciclo útil de 95% que tuvo una duración de 20 s, luego el ciclo útil se cambió a 25%, se puede observar como la temperatura disminuyó rápidamente en el cambio de ciclo útil por lo cual se propuso el cambio gradual del ciclo útil.

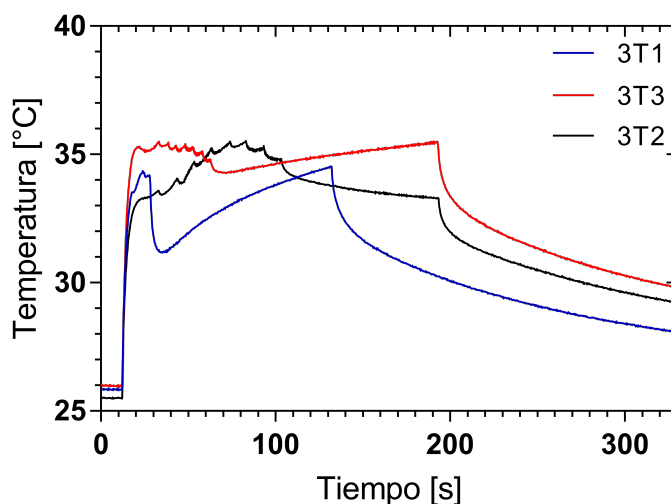


Figura 6.16: Gráficas de temperatura de tres pruebas con distintos ciclos de trabajo en tiempos de exposición de 3 min para 3T2 y 3T3, y 2 min para 3T1.

La excitación 3T2 y 3T3 fueron de un tiempo de exposición de 3 min, siendo 3T2 una excitación con un ciclo útil inicial de 99% con un tiempo de duración de 20 s, luego fue decrementándose el ciclo útil 10% cada 10 s hasta llegar a un ciclo de trabajo de 19% este último con una duración de 90 s. En el caso de 3T3, el ciclo útil inicio en 99% con una duración de 21 s, el cual también se decremento en pasos de 10% cada 5 s hasta llegar al 29% de ciclo útil con una duración de 120 s.

Con lo cual se puede observar que cuando el cambio de ciclo útil es abrupto, la temperatura disminuye rápidamente y tarda en retomar la temperatura más alta, como lo muestra la excitación 3T1. En cambio, como se puede apreciar en la 3T2, cuando el ciclo útil llega casi a cero, ya no existe el aumento, por el contrario, se da un decremento de la temperatura lo cual no nos asegura la estabilidad en una temperatura fija. En

cambio, en la excitación 3T3 se puede observar que cuando se llega a un ciclo de trabajo cercano al 30%, en el caso de 3 W, la temperatura se mantiene en un rango menor cercano a los 35 °C. Con esto, se puede proponer un protocolo el cual tenga variaciones controladas en el ciclo de trabajo teniendo elevaciones de temperaturas con un cierto control en un tiempo propuesto.

6.6. Resultados de las pruebas *in vivo*

Los resultados obtenidos en las pruebas *in vivo* sobre la medición de temperatura de en ratas como se describe en la Sección 5.7, se presentan en la Figura 6.17, donde se puede apreciar que el incremento de temperatura sobrepasa los 8 °C propuestos en el caso de la señal con 3 W, por lo que se descartó el protocolo con 3 W, por lo contrario, con la señal excitada a una potencia eléctrica de 2 W, no se logra incrementar la temperatura 8 °C, como se puede observar, la temperatura corporal de las ratas se encontró en un rango de 31 a 32 °C aproximadamente.

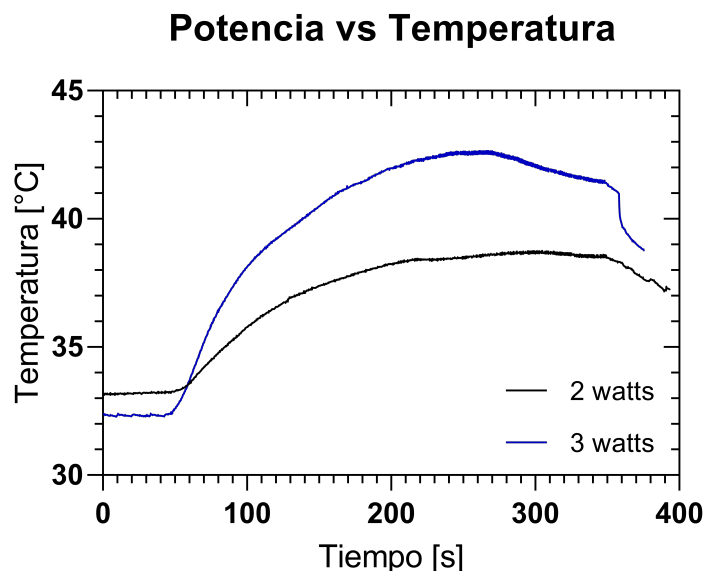


Figura 6.17: Gráfica de temperatura obtenida contra diferentes potencias, mediciones obtenidas en pruebas con ratas.

Tomando esto en cuenta, se propuso a tener un protocolo con excitación de 2 W

a un tiempo de exposición de 5 min y un ciclo útil variable, para obtener un aumento de temperatura con mayor control en las pruebas *in vivo*. Una de las desventajas de estas mediciones era la dificultad para colocar el termopar en el foco sin generar un daño grave al animal. Con los resultados de estas pruebas se propuso el protocolo J28 mencionado en la sección 5.7.1, donde se especifica la duración, el ciclo útil y el tiempo que dura cada uno de estos ciclos de trabajo. El protocolo J28 se propuso a partir de los resultados obtenidos para las variaciones iniciales de este protocolo, en la cual, la potencia de excitación fue de 2 W y el tiempo de exposición fue de 5 min. Las mediciones obtenidas en cada una de las variaciones se observan en la Figura 6.18.

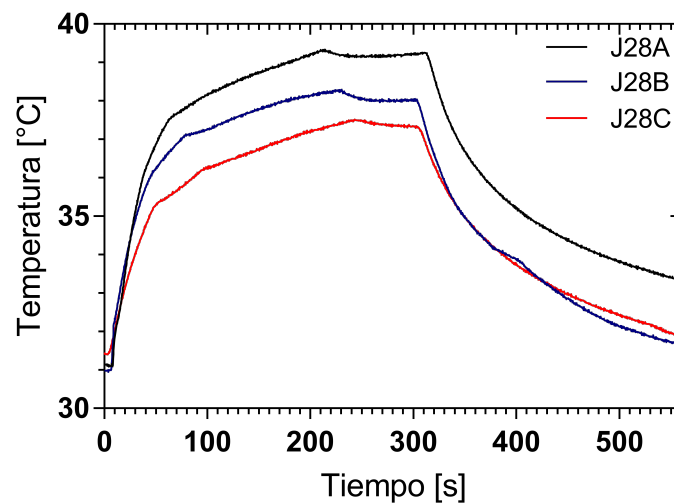


Figura 6.18: Mediciones de temperatura cuando se emplearon versiones del protocolo J28 en una rata a una potencia de 2W.

Se puede observar que la excitación J28C no alcanza a incrementar la temperatura los 8 °C requeridos, debido a su ciclo de útil inicial que fue de 80 % y concluyó en un ciclo útil de 55 %. Por otro lado, J28B alcanza a elevar la temperatura 7.3 °C con un ciclo útil inicial de 85 % con la diferencia de que los ciclos útiles se extienden más entre el ciclo útil inicial y el final de 55 %. Finalmente, J28A dio un aumento en la temperatura de 8.2 °C en su pico más alto dando lugar al protocolo J28 descrito anteriormente en la sección 5.7.1.

Gracias a estas mediciones *in vivo* se puede corroborar que se logró un incremento

de temperatura de 8 °C dentro de la cabeza de la rata. Teniendo el protocolo propuesto se dio inicio a las pruebas in vivo para generar la apertura de la BHE y observar si el cierre de la BHE es posible con este tratamiento, el cual difiere de la literatura, ya que en éste se pretende abrir la BHE con aumento de temperatura y no con presión acústica.

6.6.1. Resultados de las pruebas en ratas control

Los resultados de las pruebas control salieron según lo esperado, debido a que el EB se administró por dos vías distintas, una de ellas intraperitoneal y la otra por la vena caudal. El EB circuló por el sistema circulatorio hasta llegar a la zona de interés que es en la periferia del cerebro, como se puede observar en la Figura 6.19A. También se puede observar que el EB no atravesó la BHE debido a que el EB tiene un peso molecular de 960.81 g/mol. Estas pruebas control sirven para asegurar que el EB por si solo sin un estímulo de FUS no llega a atravesar la BHE. De lo contrario, el EB hubiese pintado la corteza cerebral o al interior del cerebro, ya que el EB es una molécula afín a la albumina. La albumina se encuentra principalmente en la sangre y todo lo que tenga una irrigación directa con la sangre se tiñe de azul.

Finalmente, se observó que el EB no tiñó el tejido cerebral, con esto se da pie para seguir con las pruebas que determinan si con un estímulo de FUS es posible abrir la BHE y hacer llegar el EB al interior del cerebro.

6.6.2. Resultados de las pruebas *in vivo* para la apertura de la BHE

Finalmente se realizaron las pruebas para determinar si la aplicación de FUS con una excitación controlada, para incrementar la temperatura 8 °C, genera una apertura en la BHE. Aplicando la metodología propuesta en la Sección 5.7, se obtuvieron resultados como los que se presentan en la Figura 6.20, donde se puede observar que el incremento de la temperatura de 8 °C mediante la aplicación del FUS con el protocolo

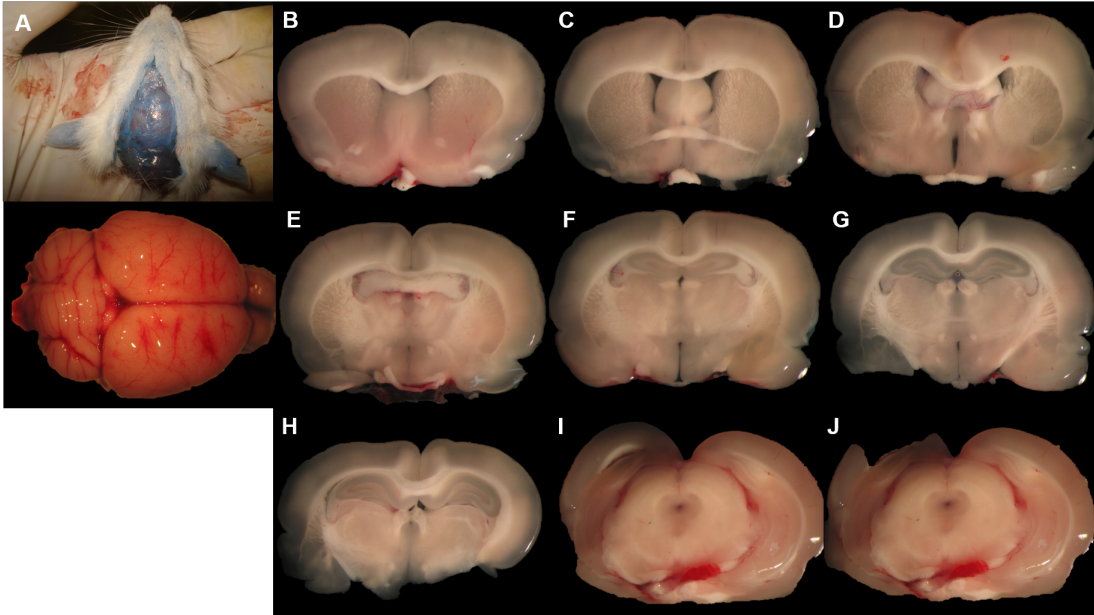


Figura 6.19: Cortes de la rata control para las pruebas de apertura de la BHE. (A) Cráneo de la rata con tinción EB, (B-J) Cortes de 600 micras que van de la parte anterior a la posterior del cerebro en el orden alfabético.

J28, se logra abrir la BHE, demostrado con la tinción de EB en la Figura 6.20 (mancha azul), donde se observa la entrada de EB al cerebro.

Para llegar a estos resultados, se realizaron pruebas en 30 ratas, donde se observó que el protocolo de excitación J28 tuvo un mejor control en el incremento de la temperatura, y las potencias eléctricas mayores a los 3 W dañaban de manera significativa el tejido cerebral del animal. A las ratas que se les aplicó el protocolo J28 a 2 W, mostraron una conducta normal en su motricidad después de la aplicación del FUS. Con esto se demuestra que es posible abrir la BHE con un estímulo de FUS que incremente la temperatura al menos 8 °C sin ayuda de la administración de las microburbujas.

6.6.3. Resultados de las pruebas *in vivo* para el cierre de la BHE

Otro de los objetivos importantes además de abrir la BHE era demostrar si esta permeabilidad era temporal o definitiva, por lo cual se realizaron pruebas en 2 ratas por cada hora propuesta, demostrando que la apertura de la BHE es reversible. La Figura 6.21, muestra el cerebro de las ratas en una vista superior, en 6 ratas distintas, con

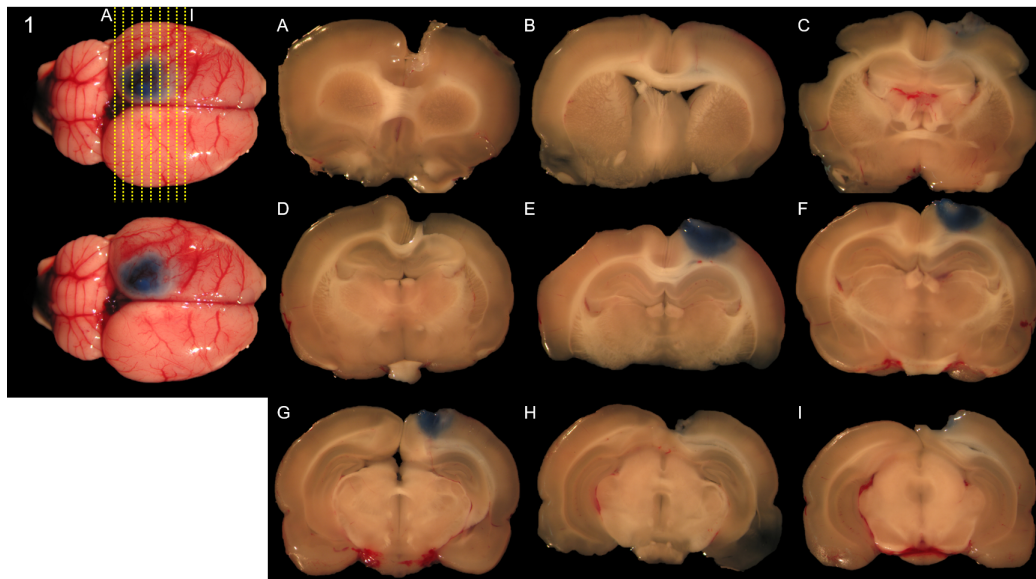


Figura 6.20: Apertura de la BHE, (1) cerebro de la rata vista superior que indica la posición de cada corte de A a I, (A-I) Cortes coronales de 600 micras realizados en la zona de aplicación del FUS.

un tiempo de espera diferente para la administración del EB posterior a la aplicación del FUS. Así como también, cortes para observar la zona interna teñida por el EB. Se observó que en las 12 horas posteriores a la aplicación del FUS el EB logró atravesar la BHE. Esto quiere decir que la barrera permanece abierta por lo menos 12 horas después de la aplicación del FUS. Y el cierre de la BHE se dio de manera gradual a lo largo de las 12 horas, como se puede observar en la rata de las 12 horas se logra apreciar un punto de EB en la corteza, pero en los cortes realizados; se observa que no logro penetrar más profundo.

Finalmente, a partir de las 12 horas se puede ver que el EB ya no logró atravesar la BHE debido a que esta membrana logró cerrarse nuevamente, después de una aplicación del FUS con el protocolo propuesto. Con esto, se demuestra la reversibilidad de la apertura de la BHE, cuando esta membrana se abre con un incremento de temperatura, lo cual, demuestra la viabilidad del uso de FUS para la apertura de la BHE para posibles tratamientos de enfermedades neurodegenerativas.



Figura 6.21: Cortes de cerebro de ratas a diferentes horas de la administración de EB posteriores a la aplicación del FUS.

Capítulo 7

Conclusiones y Perspectivas

7.1. Conclusiones

Los trabajos realizados hasta hoy por diversos grupos de investigación, han demostrado que la aplicación del ultrasonido focalizado, en conjunto con la administración de medios de contraste ultrasónicos, logran abrir la barrera hematoencefálica de manera reversible, dichos estudios han alcanzado al momento actual la aplicación de esta técnica en humanos, por otro lado no se menciona en la literatura al ultrasonido focalizado por sí solo como una herramienta viable para generar la apertura de la barrera hematoencefálica. Con este trabajo, en la descripción experimental, se ha demostrado que el uso del ultrasonido focalizado, puede ser empleado para generar un incremento en la temperatura de 8 °C, puede ser viable para generar una apertura reversible en la barrera hematoencefálica en zonas cercanas al cráneo, por este motivo, con esta técnica es viable para ser utilizada en el tratamiento de enfermedades cerebrales, a través de la administración de fármacos específicos. Aunque las pruebas realizadas en este laboratorio han sido en pequeñas especies, consideramos que los resultados son prometedores avances, en México no se ha reportado la aplicación de esta técnica por algún grupo de investigación.

Por otra parte, las interacciones que se dan en la aplicación del ultrasonido focalizado en tejidos biológicos no han sido comprobados de manera concreta, algunas son supuestas interacciones no demostradas, como en el caso de la terapia basada

en ultrasonido y medios de contraste ultrasónico, en la cual se desconoce cómo se dan las interacciones que generan la apertura de la barrera hematoencefálica, donde la mayoría de los investigadores tiene hipótesis de cómo se dan las interacciones, pero nadie asegura nada.

La elevación de temperatura mediante la aplicación de ultrasonido focalizado, sin el uso de medios de contraste ultrasónicos, ha dado resultados favorables en las pruebas realizadas durante esta investigación, siguiendo el protocolo descrito J28 a 2 W, sección 6.6.2 de esta tesis, es posible obtener resultados favorables en el supuesto de que se quieran realizar pruebas *in vivo* con fármacos experimentales en pequeñas especies. Gracias al apoyo del modelado computacional mediante el método de elemento finito, se logran observar aproximaciones de los comportamientos físicos que se dan en un entorno acústico, los cuales pueden ser multifísica, y obtener resultados aproximados dependiendo de la complejidad del modelo. Finalmente, se puede decir que el aumento de la temperatura, mediante el ultrasonido focalizado, es viable para posibles terapias génicas aplicadas en estructuras como el cerebro para pruebas en pequeñas especies.

- El modelado computacional mediante método de elemento finito, aplicado en esta tesis, aportó datos útiles en cuanto a las interacciones que se dan entre los fenómenos de acústica y materiales que simulan tejidos biológicos. Así como también, nos dan idea de los posibles resultados en cuanto al patrón de calentamiento inducido por radiaciones ultrasónicas.
- Las caracterizaciones acústicas y eléctricas del transductor nos ayudaron para el desarrollo del protocolo de excitación, gracias a las mediciones obtenidas, se conoce la manera en la cual el transductor trabaja de manera más óptima. Por otro lado, las características acústicas y eléctricas nos ayudan también a validar los modelos computacionales.
- En cuanto a los simuladores de propiedades acústicas *phantoms*, son útiles para el desarrollo de protocolos, por ejemplo, en el caso del desarrollo de un protocolo de excitación para elevar la temperatura de manera controlada, nos permite rea-

lizar pruebas sin tener un tejido biológico real, siempre y cuando las propiedades acústicas y térmicas sean aproximadas en lo posible a las propiedades del tejido.

- El modelado computacional dio para este trabajo resultados importantes para el diseño de geometrías para la construcción de conos, los cuales no afecten la propagación de la onda ultrasónica y alteren el patrón de campo acústico. Gracias a las simulaciones realizadas se obtuvieron conos, los cuales no afectaron el campo acústico y sirvieron también de guía visual en las pruebas *in vivo* para la aplicación del ultrasonido focalizado, así como también sirvieron para mantener un medio de acoplamiento (gel para ultrasonido) entre el transductor y la rata.
- Por otra parte, las pruebas y mediciones que se realizaron para desarrollar del protocolo de excitación se dieron gracias al trabajo anterior de caracterización acústica y térmica, modelado acústico y térmico, optimización de cono y desarrollo de *phantoms*, dando pie a la realización de los experimentos necesarios para el desarrollo de un protocolo de excitación que diera como resultado un incremento de temperatura controlado. Aun así, el monitoreo del SWR, tiempo de exposición y ciclo útil siempre estuvo presente, para asegurar la estabilidad del protocolo de aplicación y evitar posibles daños tanto al equipo como a los animales de experimentación.
- Finalmente, las pruebas *in vivo* son las que dieron mayor peso investigativo al trabajo desarrollado, gracias a estas pruebas se pudo demostrar que, con el aumento controlado de temperatura sin generar ablación, pueden lograr abrir la barrera hematoencefálica por tiempos de hasta 12 horas y se demostró también que es reversible la apertura de la membrana y demostrando que moléculas o vectores de fármacos experimentales con pesos moleculares cercanos a 960.8 g/mol, puedan ser administrados en zonas dentro del cerebro de manera no invasiva. No obstante, aún falta trabajo por realizar para lograr abrir la barrera hematoencefálica en zonas más profundas. Aunque falta trabajo por desarrollar y una mayor cantidad de pruebas para darle mayor veracidad a los resultados reportados en esta tesis.

7.2. Perspectivas para el trabajo futuro

La investigación y desarrollo de este trabajo no se detiene aquí, aunque se lograron avances considerables; estos resultados nos alientan a continuar en este camino para desarrollar nuevos protocolos de aplicación de ultrasonido focalizado en conjunto de medios de contraste ultrasónico, donde se utilice el fenómeno de presión para generar la apertura de la barrera hematoencefálica y no por incremento de temperatura, con el propósito de no generar daños por calentamiento y generar la apertura de manera focalizada y en zonas más profundas. Así como también realizar más pruebas *in vivo* y comprobación de resultados de manera cuantificable.

- En cuanto a la parte de modelado, el paso siguiente sería desarrollar modelos más completos en cuanto a las estructuras biológicas considerando las propiedades térmicas y acústicas que tiene cada una de las estructuras que afectan en la aplicación del ultrasonido focalizado. Otra cuestión, en cuanto al modelado computacional, es conjuntar el fenómeno físico del ultrasonido con medios de contraste para ultrasonido.
- En cuanto al desarrollo de *phantoms*, la tarea que sigue es implementar nuevos materiales para obtener una mejor respuesta en cuanto a la velocidad de propagación e intentar desarrollar *phantoms* con las propiedades acústicas y térmicas cercanas a las reales, pero agregando estructuras como el medio de contraste ultrasónico.
- En las pruebas *in vivo*, realizar una cantidad considerable de experimentos para obtener resultados con un soporte estadístico más completo, en cuanto a la cantidad de tinción que logra entrar a la zona en donde se aplica el ultrasonido focalizado y lograr focalizar el ultrasonido en la zona de interés, que es la sustancia nigra.

Capítulo 8

Productos Obtenidos

8.1. Artículo en Revista Indexada

R. Martínez-Valdez, M. **V. H. Contreras**, A. Vera, and L. Leija, “Sound speed measurement of chicken liver from 22°C to 60°C,” *Phys. Procedia*, vol. 70, pp. 1260–1263, 2015.

8.2. Congresos Internacionales

V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, M. I. Gutiérrez, L. Castellanos, and I. Bazán, “Simulation and Experimental Verification of the Acoustic Field Produced by an Annular Piezoelectric Array,” in *12th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE)*, 2015, pp. 4–7.

V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, and M. I. Gutiérrez, “Modeling of Acoustic Field Pattern in Rat’s Bone with a HIFU Transducer for medical experiments in delivery drugs in brain .,” *Pan Am. Heal. Care Exch.* 2016, 2016.

D. A. Hernández, **V. H. Contreras**, L. Leija, A. Vera, and M. I. Gutiérrez, “Modeling a Conical Applicator for High Intensity Focused Ultrasound with the Finite Element Method,” in *13th Int. Conf. Electr. Eng. Comput. Sci. Autom. Control*, no. 1, pp. 3-6, 2016.

Bibliografía

- [1] Secretaría de Salud, Diario Oficial de la Federación. *Ley General de Salud, Secretaría de Salud*, 26 de noviembre de 2015. Disponible en: www.salud.gob.mx.
- [2] D. Benjamín, M. Argüelles, and D. M. Fong, “Modernos caballos de Troya,” *Av. y Perspect.*, vol. 21, pp. 15–20, 2002.
- [3] L. L. Rubin and J. M. Staddon, “The cell biology of the blood–brain barrier,” *Annu. Rev. Neurosci.*, vol. 22, no. 1, pp. 11–28, Mar. 1999.
- [4] N. J. Abbott, L. Ronnback, and E. Hansson, “Astrocyte-endothelial interactions at the blood–brain barrier,” *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 7, no. 1, pp. 41–53, Ene. 2006.
- [5] C. Pineda, S. De, A. Bernal, R. Espinosa, C. Hernández, N. Marín, A. H. Peña, P. J. Rodríguez, and C. Solano, “Principios Físicos Básicos del Ultrasonido,” *Rev Chil Reum.*, vol. 25, no. 2, pp. 60–66, 2016.
- [6] N. McDannold, N. Vykhodtseva, and K. Hynynen, “Blood–brain barrier disruption induced by focused ultrasound and circulating preformed microbubbles appears to be characterized by the mechanical index,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 5, pp. 834–840, May. 2008.
- [7] K. F. Bing, G. P. Howles, Y. Qi, M. L. Palmeri, and K. R. Nightingale, “Blood–brain barrier (BBB) disruption using a diagnostic ultrasound scanner and Definity in mice,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 35, no. 8, pp. 1298–1308, Aug. 2009.
- [8] M. I. Gutiérrez, “Modelado del calentamiento de radiación acústica generada por equipos de fisioterapia ultrasónica, validación experimental en medios homogé-

- neos y diseño de la instrumentación,” CINVESTAV-IPN, Ingeniería Eléctrica, sec. Bioeléctronica, CDMX, 2015.
- [9] J. A. Zagzebski, *Essential of Ultrasound Physics*, Madison, Mosby, 1996, pp. 1-42.
- [10] J. D. Bronzino, “Ultrasound” en *The Biomedical Engineering*, ed, Hartford, USA, CRC Press, 1995, cap. 67, sec. 1, pp. 1077-1081.
- [11] H. T. O’Neil, “Theory of Focusing Radiators,” *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 237, no. 194, pp. 516–526, 2010.
- [12] R.L. Clarke and G. ter Haar, “Temperature Rise Recorded during Lesion Formation by High Intensity Focused Ultrasound,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 23, no. 2, pp. 299–306, 1997.
- [13] N.T. Sanghvi, K. Hynynen, and F.L. Lizzi, “New Developments in Therapeutic Ultrasound,” *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.*, vol. 15, no. 6, pp. 83–92, 1996.
- [14] E. Alfonso and G. G. Beatriz, “Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo,” vol. 9, no. 5, pp. 395–405, 2008.
- [15] N Ikeda et al., “Experimental study on thermal damage to dog normal brain,” *Int J Hyperthermia*, cap. 10, pp. 253–275, 1994.
- [16] Y. Ohmoto et al., “Sequential changes in cerebral blood flow, early neuropathological consequences and blood-brain barrier disruption following radiofrequency-induced localized hyperthermia in the rat”. *Int J Hyperthermia*, cap. 10, pp. 253-275, 1996.
- [17] K. Masamichi, *Electromagnetics in Biology*, 1st ed. Japón: Springer, 2006.
- [18] K. Hynynen, N. McDannold, N. Vykhodtseva, and F. A. Jolesz, “Noninvasive MR imaging guided focal opening of the blood–brain barrier in rabbits,” *Radiology*, vol. 220, no. 3, pp. 640–646, Sep. 2001.

- [19] J. J. Choi, M. Pernet, T. R. Brown, S. A. Small, and E. E. Konofagou, "Spatio-temporal analysis of molecular delivery through the blood–brain barrier using focused ultrasound," *Phys. Med. Biol.*, vol. 52, no. 18, pp. 5509–5530, Sep. 2007.
- [20] F.-Y. Yang, W.-M. Fu, R.-S. Yang, H.-C. Liou, K.-H. Kang, and W.-L. Lin, "Quantitative evaluation of focused ultrasound with a contrast agent on blood–brain barrier disruption," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 33, no. 9, pp. 1421–1427, Sep. 2007.
- [21] H.-L. Liu, Y.-Y. Wai, W.-S. Chen, J.-C. Chen, P.-H. Hsu, X.-Y. Wu, W.-C. Huang, T.-C. Yen, and J.-J. Wang, "Hemorrhage detection during focused-ultrasound induced blood–brain-barrier opening by using susceptibility-weighted magnetic resonance imaging," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 4, pp. 598–606, Abr. 2008.
- [22] N. McDannold, N. Vykhodtseva, and K. Hynynen, "Effects of acoustic parameters and ultrasound contrast agent dose on focused-ultrasound induced blood–brain barrier disruption," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 6, pp. 930–937, Jun. 2008.
- [23] J. J. Choi, K. Selert, Z. Gao, G. Samiotaki, B. Baseri, and E. E. Konofagou, "Noninvasive and localized blood–brain barrier disruption using focused ultrasound can be achieved at short pulse lengths and low pulse repetition frequencies," *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 31, no. 2, pp. 725–737, Feb. 2011.
- [24] J. J. Choi, K. Selert, F. Vlachos, A. Wong, and E. E. Konofagou, "Noninvasive and localized neuronal delivery using short ultrasonic pulses and microbubbles," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 108, no. 40, pp. 16539–16544, Oct. 2011.
- [25] R. Chopra, N. Vykhodtseva, and K. Hynynen, "Influence of exposure time and pressure amplitude on blood–brain-barrier opening using transcranial ultrasound exposures," *ACS Chem Neurosci*, vol. 1, no. 5, pp. 391–398, May 2010.
- [26] J. J. Choi, J. A. Feshitan, B. Baseri, S. Wang, Y.-S. Tung, M. A. Borden, and E. E. Konofagou, "Microbubble-size dependence of focused ultrasound-induced blood–brain barrier opening in mice in vivo," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 1, pp. 145–154, Jan. 2010.

- [27] F. Vlachos, Y.-S. Tung, and E. Konofagou, "Permeability dependence study of the focused ultrasound-induced blood–brain barrier opening at distinct pressures and microbubble diameters using DCE-MRI," *Magn. Reson. Med.*, vol. 66, no. 3, pp. 821–830, Sep. 2011.
- [28] G. Samiotaki, F. Vlachos, Y.-S. Tung, and E. E. Konofagou, "A quantitative pressure and microbubble-size dependence study of focused ultrasound-induced blood–brain barrier opening reversibility in vivo using MRI," *Magn. Reson. Med.*, vol. 67, no. 3, pp. 769–777, 2012.
- [29] Y.-S. Tung, F. Vlachos, J. A. Feshitan, M. A. Borden, and E. E. Konofagou, "The mechanism of interaction between focused ultrasound and microbubbles in blood–brain barrier opening in mice," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 130, no. 5, pp. 3059–3067, Nov. 2011.
- [30] F. Yang and W. Lin, "The effects of ultrasound on blood-brain barrier," *J. Biosci. Med.*, vol. 2013, no. October, pp. 10–13, 2013.
- [31] N. McDannold, N. Vykhodtseva, F. A. Jolesz, and K. Hynynen, "MRI Investigation of the Threshold for Thermally Induced Blood-Brain Barrier Disruption and Brain Tissue Damage in the Rabbit Brain," *Magn. Reson. Med.*, vol. 51, no. 5, pp. 913–923, 2004.
- [32] GE Healthcare, "Prescription Information Leaflet for Optison," 2012, 10 de noviembre de 2016, Disponible en: www3.gehealthcare.com/en/products/categories/contrast_media/optison
- [33] Exelis, "Electro-Ceramic Products and Material Specification," Salt Lake City, USA, 2013.
- [34] D. Givoli and B. Neta, "High-order Non-reflecting Boundary Scheme for Time-dependent Waves," *J. Comput. Phys.*, vol. 186, pp. 24–46, 2004.

- [35] A. Bayliss, M. Gunzburger, and E. Turkel, "Boundary Conditions for the Numerical Solution of Elliptic Equations in Exterior Regions," *SIAM J. Appl. Math.*, vol. 42, no. 2, pp. 430–451, 1982.
- [36] A.B. Bauer, "Impedance Theory and Measurements on Porous Acoustic Liners," *J. Aircr.*, vol. 14, pp. 720–728, 1977.
- [37] S. Temkin, *Elements of Acoustics*, *Acoustical Society of America*, 2001.
- [38] S. Marburg, "Discretization requirements: How many elements per wavelength are necessary?," in *Computational Acoustics of Noise Propagation in Fluids Finite and Boundary Element Methods*, Springer, Ed. Dresden, Germany, 2008, pp. 309–332.
- [39] A. Bejan, *Heat Transfer*, John Wiley & Sons, 1993.
- [40] S. Jacques, S. Rastegar, S. Thomsen, and M. Motamedi, "Nonlinear Finite-element Analysis The Role of Dynamic Changes in Blood Perfusion and Optical Properties in Laser Coagulation of Tissue," *IEEE J. Selected Topics in Quantum Electronics*, vol. 2, issue 4, pp. 922–933, 1996.
- [41] J. M. Martínez and B. J. Jarosz, "3D perfused brain phantom for interstitial ultrasound thermal therapy and imaging: design, construction and characterization.," *Phys. Med. Biol.*, vol. 60, no. 5, pp. 1879–900, 2015.
- [42] S. A. López-Haro, A. Vera, and L. Leija, "En Tejido Animal Empleando Reflectores Fijos," *Simp. Metrol. 2010*, pp. 1–7, 2010.
- [43] A. Manaenko, H. Chen, J. Kammer, J. H. Zhang, and J. Tang, "Comparison Evans Blue injection routes: Intravenous versus intraperitoneal, for measurement of blood-brain barrier in a mice hemorrhage model," *J. Neurosci. Methods*, vol. 195, no. 2, pp. 206–210, 2011.
- [44] V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, M. I. Gutiérrez, L. Castellanos, and I. Bazán, "Simulation and Experimental Verification of the Acoustic Field Produced by an Annular Piezoelectric Array," in *12th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE)*, 2015, pp. 4–7.

[45] IT'IS Foundation, Copyright l' 2010–2015, Tissues Properties [En línea], Disponible: <http://www.itis.ethz.ch/virtual-population/tissue-properties/database/>

APÉNDICE A

Artículo de revista arbitrada



2015 International Congress on Ultrasonics, 2015 ICU Metz

Sound Speed Measurement of Chicken Liver from 22°C to 60°C

R. Martínez-Valdez*, V. H. Contreras M., A. Vera, L. Leija

Department of Electrical Engineering, Bioelectronics Section, CINVESTAV-IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, Mexico City 07360, Mexico

Abstract

Soft tissue acoustic characterization has been widely explored in order to understand the ultrasonic bio-effects. Speed of sound and attenuation are the most frequently measured parameters. In hyperthermia and ablation applications, tissue temperature increases due to ultrasound exposure. Sound speed temperature dependence of 10 chicken liver samples was measured in order to obtain its behavior at hyperthermia temperature interval. Pulse-echo technique was used for measuring the ultrasound speed of the tissue sample. Sound speed measurement in chicken liver at 21.8°C was 1588.2 m/s, while at 60.5°C was 1609.3 m/s. With these results, we proposed a 5th order polynomial to fit the curve described by the ultrasound velocity temperature dependence in chicken liver of the form $c_{liver} = 2.664e^{-6}T^5 - 0.000536T^4 + 0.04192T^3 - 1.615T^2 + 31.76T + 1337$, where c_{liver} is sound speed in chicken liver and T is the temperature. It is clear that more experimentation is needed in order to have final results.

© 2015 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Peer-review under responsibility of the Scientific Committee of ICU 2015

Keywords: chicken liver; propagation speed; pulse-echo method; ultrasound

1. Introduction

Ultrasound has been used as a tool to explore the mechanical properties of biological tissues such as heart, liver, kidney, skin, etc. Backscatter echoes, attenuation coefficient, sound speed and other nonlinear parameters are techniques used to study the acoustic characteristics of biological tissues (Pereira et al., 2003). Many researchers have investigated the thermal-dependent changes in tissue sound speed to differentiate water-based tissues, such as

* Corresponding author. Tel.: +52-55-57473800 ext. 6212; fax: +52-55-57473981.
E-mail address: maukato@gmail.com

liver, from fatty tissues (Ghoshal et al., 2011). In a review made by Seo et al. (2011), they report that when the temperature increases the acoustic waves propagate faster in water-based tissues; while the sound speed decreases in fatty tissues. Daoud et al. (2013) reported that the temperature raise from 20°C to 37°C leads to a quasi-linear increase in the sound speed in normal and cancerous human livers. There, the weight composition of both liver types included small fat content of 2% approximately.

In ultrasonic hyperthermia and ablation applications, the sound speed changes due to the heat absorbed by the tissue. As mentioned before, one of the techniques employed to measure the propagation velocity is known as pulse-echo. This technique consists in a transducer used as emitter-receiver and a reflectors arrangement with a known distance among them. The interaction between the ultrasonic pulse and the reflectors produces an echo pair that is stored, in a PC, to be analysed. These signals contain useful data such as time-of-flight in order to estimate the sound speed. It is important to remember that the distance among reflectors must be known and the alignment must be close between both reflectors (Lopez-Haro et al., 2012). The aim of this work is to estimate the speed of sound of chicken liver as function of temperature from 22°C to 60°C by using the pulse-echo technique.

2. Methodology

A 5 MHz transducer (Olympus Panametrics® NTD, V309 5 MHz/0.5", 767258) was driven with a 200 V/ 50 ns pulse delivered by a home-made generator. The biological tissue was fixed parallel at 15 cm from the transducer radiating surface. Two 1.57 mm diameter needles used as reflectors were fixed into a 26.44 mm diameter Nylamid cylinder, similar to that described by Lopez-Haro et al. (2010). The needles tips distance between each other was 6.45 mm. The reflectors were inserted into a chicken liver sample. Chicken liver samples were preserved in a saline solution following the protocol reported by López-Haro et al. (2010) in order to slow down its decomposition process. Afterwards, they were stored at the fridge at an approximate temperature of 4°C for further use.

Figure 1A shows the experimental set up for the ultrasonic echoes acquisition. Transducer-sample-reflectors system was placed inside a thermostatic bath (Techne, TU-20D Tempunit®) which was filled with bi-distilled degassed water to regulate the system temperature. Sound speed was measured in the temperature interval from 22°C to 55°C with successively increments of 2°C or 5°C. A mercury thermometer monitored the water temperature. Two hypodermic thermocouples (Omega® Engineering, Inc.) were used to measure the reference medium temperature and the biological sample temperature. A PC interface (NI® SignalExpress) recorded the temperature increment in both tissue and water by means of a data acquisition system (NI® cDAQ-9172 and NI®9219).

Sound speed was calculated from the time-of-flight (TOF) between the maximum peak echoes difference,

$$c_s = \frac{2 * d}{TOF} \quad (1)$$

where c_s is the speed of sound in the biological tissue sample, d is the distance between the needle reflectors, and $TOF = t_2 - t_1$, see Fig. 1B.

Ten ultrasonic echoes were acquired with a digital oscilloscope (Lecroy®, 6100A waveRunner) at each temperature value. Mean sound speed was calculated for each temperature value in the ten chicken liver samples. The regulation of the temperature presented differences of $\pm 0.7^\circ\text{C}$ according to the mercury thermometer; therefore, temperature was averaged in 5°C intervals and the mean and standard deviation sound speed for each specific interval was calculated.

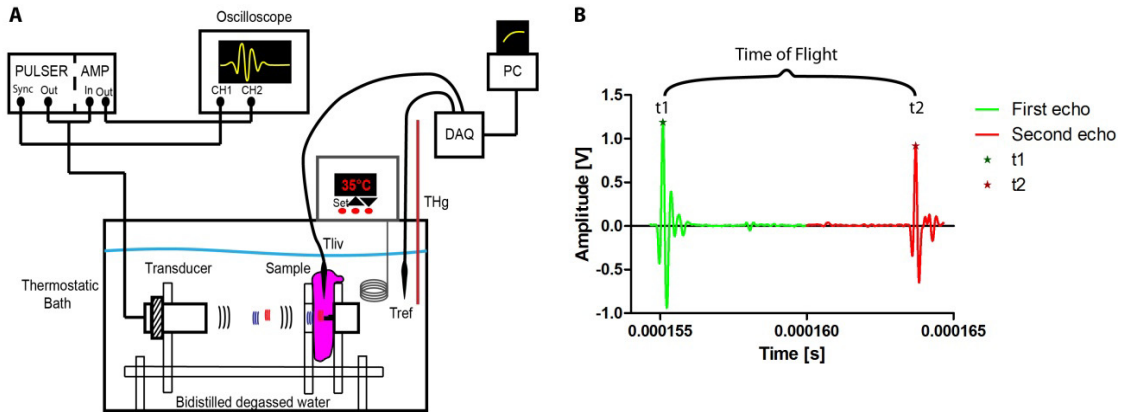


Fig. 1. (A) Experimental set up; (B) Echoes obtained from needle reflectors in reference medium (bi-distilled degassed water).

3. Results and discussion

Figure 2A shows the temperature dependence of the sound speed of ten chicken liver samples. It is clear that all samples presented a similar trend in ultrasonic velocity in the proposed temperature interval. Measurements in samples S2 and S5 were done with 2°C successively increments. Sample S2 showed sound speed variations from 20°C to 44°C. The differences in the sound speed for all samples might be due to internal structure of each chicken liver, sample misalignment with the transducer surface, etc.

Figure 2B shows the mean and standard deviation of sound speed in chicken liver obtained in this work. It also can be seen that the chicken liver propagation speed is in agreement with both human and bovine liver data reported by Bamber and Hill (1979). Sound speed obtained from measurements at 21.8°C was 1588.2 m/s and 1609.8 m/s at 46°C which are close to the values of human liver (Bamber and Hill, 1979), and 1609.3 m/s at 60.5°C.

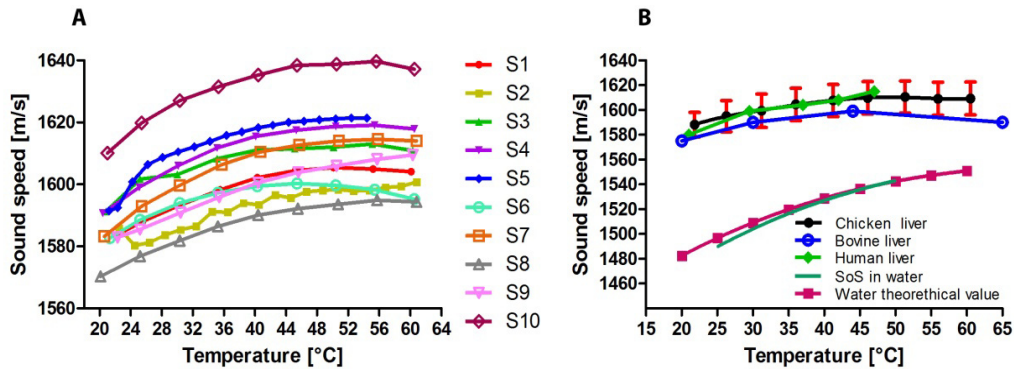


Fig. 2. (A) Sound speed measured for the 10 chicken liver samples; (B) Mean sound speed and standard deviation obtained from the 10 samples, comparison with liver from other species. Temperature dependence of sound speed in water; data obtained from literature.

The maximum standard deviation of speed of sound in chicken liver was ±13.49 m/s at 31.22°C. Figure 2B also shows the theoretical propagation speed in water proposed by Bilaniuk (1993) and the experimental data obtained by Lopez-Haro et al. (2010). From mean sound speed calculated, a 5th order polynomial could be fitted to the chicken liver response from 22°C to 60°C with a R²=0.9987,

$$c_{liver}(T) = 2.664e^{-6}T^5 - 0.000536T^4 + 0.04192T^3 - 1.615T^2 + 31.76T + 1337 \tag{2}$$

where c_{liver} is the sound speed in chicken liver and T is the temperature in degree Celsius.

4. Conclusions

Speed of sound measurement in chicken liver was done in the temperature interval from 20°C to 60°C. The ultrasonic echoes presented signal deformation at higher temperatures; therefore sound speed was measured at 60°C maximum. Data obtained in this work showed good agreement with previous data reported for other mammalian tissues which suggest that chicken liver can be used in ultrasonic hyperthermia experimentations. In fact, we believe that this kind of tissue would be useful for experimenting in ablation therapies. Furthermore, it would be convenient to explore the sound speed of chicken liver behavior for ablation temperatures.

Acknowledgements

Authors thank the CINVESTAV-IPN for all the facilities given to develop this work and the funding given by the ECOS-ANUIES-CONACYT M10-S02 program, CONACYT-F-SALUD 201590 project, CONACYT-F-SALUD 201256 and Joint Cooperation Fund Mexico-Uruguay (SRE-AUCI) 2012-2013.

References

- Bamber, J.C., Hill, C.R., 1979. Ultrasonic attenuation and propagation speed in mammalian tissues as a function of temperature. *Ultrasound Med. Biol.* 5, 149–157.
- Bilaniuk, N., 1993. Speed of sound in pure water as a function of temperature. *J. Acoust. Soc. Am.* 93, 1609.
- Daoud, M.I., Mousavi, P., Imani, F., Rohling, R., Abolmaesumi, P., 2013. Tissue classification using ultrasound-induced variations in acoustic backscattering features. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 60, 310–320.
- Ghoshal, G., Luchies, A.C., Blue, J.P., Oelze, M.L., 2011. Temperature dependent ultrasonic characterization of biological media. *J. Acoust. Soc. Am.*
- Lopez-Haro, S. a., Vera, A., Leija, L., 2010. Evaluation of an ultrasonic propagation speed measurement system in the temperature range from 20°C to 45°C. In: *Health Care Exchange (PAHCE), 2010 Pan American*. pp. 85–89.
- López-Haro, S.A., Leija, L., Favari, L., Vera, A., 2010. Measurement of Ultrasonic Properties into Biological Tissues in the Hyperthermia Temperature Range. *Phys. Procedia* 3, 551–558.
- Lopez-Haro, S.A., Reyes, J.L., Vera, A., Leija, L., 2012. Ultrasonic characterization of cell culture medium in the temperature range from 25°C to 50°C. In: *2012 Pan American Health Care Exchanges*. IEEE, pp. 71–75.
- Pereira, F.R., Machado, J.C., Foster, F.S., 2003. Ultrasound characterization of coronary artery wall in vitro using temperature-dependent wave speed. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 50, 1474–1485.
- Seo, C.H., Shi, Y., Huang, S.-W., Kim, K., O'Donnell, M., 2011. Thermal strain imaging: a review. *Interface Focus* 1, 649–64.

APÉNDICE B

Artículos en extenso de congresos

Simulation and Experimental Verification of the Acoustic Field Produced by an Annular Piezoelectric Array

V. H. Contreras, L. Leija and A. Vera
Department of Electrical Engineering/Bioelectronics
CINVESTAV-IPN
México D.F., México
E-mail: vhcontreras@cinvestav.mx
lleija@cinvestav.mx,
arvera@cinvestav.mx

L. Castellanos and I. Bazán
SEPI ESIME-Zacatenco, Instituto Politécnico Nacional
Unidad ALM, Edif. Z, Acceso 3, 3er. Piso
Del. GAM, C.P. 07738, D.F., México
E-mail: 990716841@gmail.com

M. I. Gutiérrez
Subdirección de Investigación Tecnológica
Instituto Nacional de Rehabilitación
México D.F., México
E-mail: m.ibrahin.gutierrez@gmail.com

Abstract—In the field of ultrasound transducers to generate frozen rings waves generated a tendency for use in biomedical applications. This paper proposes simulate through Finite Element Method (FEM) simulation of a transducer with 10 rings to find patterns of acoustic field and get a model attached to the real transducer designed by Castellanos *et al* [3]. This work focuses on obtained results of acoustic field as close as possible to those real measurements, with all this process entails: geometry, the definition of materials piezoelectric, the FEM equations governing the physics of problem and the resolution of the mesh. Whereby are obtained results showing patterns similar to those obtained in the real acoustic field measurements, in order to propose to extend this work to find the combination of this transducer modeling using the FEM.

Index Terms—Acoustic pressure, FEM, Frozen Waves, Mesh, Piezoelectric.

I. INTRODUCTION

The so-called “Localized Waves” (LW), and “Frozen Waves” (FW) have arisen an important attention in the areas of ultrasound, due to the property of focalizing energy [1].

The energy localization properties of the FW can be used in applications even in several medical devices, such as bistouries, acoustic tweezers, and for the treatment of diseases tissue specifically for tumor cells, without affecting the surrounding tissue [2].

In this paper, it is described an ideal model of transducer array with the Finite Element Method (FEM), proposed by Castellanos *et al.* [3]. This work shows the modeling of acoustic pressure pattern compare to the acoustic pressure real patterns obtained in the laboratory with help of a hydrophone. The objective of work is the validation, i.e. to model a

real transducer and to determine how much the ideal model correlates with the real measurements. The finite element method is an excellent tool to determine the solution under several real conditions: with diverse boundaries, in different materials and geometries.

II. METHODOLOGY

A. Equations governing the physics of the problem in FEM

For obtaining the acoustic field pattern, the pressure acoustic model was coupled with the structural component, in this case the transducer. This coupling joint was carried out by using acoustic-structure boundary.

$$\frac{1}{K} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} + \nabla \cdot \left(-\frac{1}{\rho} (\nabla p) \right) = 0. \quad (1)$$

The Eq. 1. Is the general form for wave equation in lossless media where K is *Bulk modulus* expressed as follows ρc^2 , where ρ is density of media and c the speed of sound in the media. The Eq. 2, is used to calculate the pressure variation for propagation of acoustic waves in fluids at static background conditions. This is used to all frequency-domain simulations, which have harmonic variations of pressure field. The Ec. 3 shows the equation for total pressure where p_b is the background acoustic pressure wave and p is the sound pressure that represents the acoustic changes of the surroundings pressure. The equation 4 describe wave number k_{eq}^2 , where m is circumferential wave number, r is radial coordinate, ω is angular frequency and c_c is complex-valued speed of sound [4].

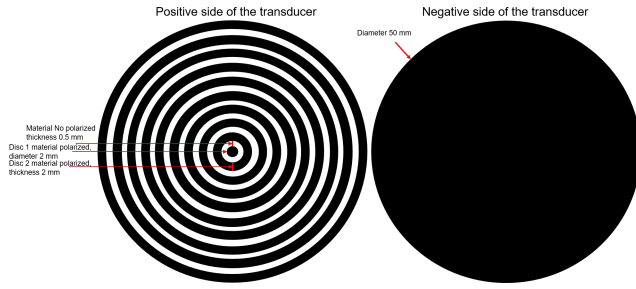


Fig. 1. Transducer geometry.

TABLE I
PARAMETERS IN GLOBAL DEFINITIONS

PARAMETERS		
Parameter	Expression	Values
Thickness	th	1.03 [mm]
Elements per wavelength	EPL	9
Speed of Sound water	c_w	1493 [$\frac{m}{s}$]
Frequency	f	1.96 [MHz]
Wavelength	$\frac{c_w}{f}$	7.6173×10^{-4} [m]
Max size element	$\frac{Wavelength}{EPL}$	8.46×10^{-5} [m]

$$\nabla \cdot \frac{1}{K} (\nabla p_t) - \frac{k_{eq}^2 p_t}{K}, \quad (2)$$

$$p_t = p + p_b, \quad (3)$$

$$k_{eq}^2 = \left(\frac{\omega}{c_c} \right)^2 - \left(\frac{m}{r} \right)^2. \quad (4)$$

In this modeling a 2D axisymmetric geometry was used; the circumferential wave number m , shown in Ec. 5, indicates the only dependence on the azimuthal coordinate φ , therefore

$$p(r, \varphi, z) = p(r, z) e^{-im\varphi}. \quad (5)$$

B. Process used for modeling the transducer array

The Fig. 1 shown the transducer array, where shown its downside and upside.

First, a 2D axisymmetric geometry is defined. Then the frequency domain analysis study of piezoelectric and acoustic pressure was carried out. The geometry consist in ten concentric rings, as shown in Fig. 1. D1...D10 represent the concentric rings of the transducer. We considered that the rings were fixed to a rigid structure so line 3, of Fig. 2, do not move.

The parameters defined in the global definitions of the project shown in Table I:

After defining the global parameters, the calculation of the ideal thickness of the piezoelectric material was performed, with the following considerations: a constant frequency is used; N_T is a constant frequency for thickness with the value of $2079 \text{ Hz} \cdot m$, considering that for this piezoelectric the nominal frequency (f_n) is 2 MHz . So we can get the ideal thickness for the piezoelectric as follows:

TABLE II
PIEZOELECTRIC'S PROPERTIES

NAVY VI (855 APC)		
Properties	Values	Units
Relative Dielectric Constant		
K^T	3300	Constant
Piezoelectric Charge Constant		
d_{13}	630	$10^{-12} [\frac{C}{N}]$
$-d_{31}$	276	$10^{-12} [\frac{C}{N}]$
d_{15}	720	$10^{-12} [\frac{C}{N}]$
Young's Modulus		
Y_{11}^E	5.9	$10^{10} [\frac{N}{m^2}]$
Y_{33}^E	5.1	$10^{10} [\frac{N}{m^2}]$
Density		
ρ	7.6	$[\frac{g}{cm^3}]$

$$N_T = (f_n \cdot th), \quad (6)$$

Substituting

$$2079[\text{Hz} \cdot m] = (2 \text{ MHz} \cdot th).$$

The thickness is 1.03 mm . Table II describes the properties of piezoelectric material "Navy VI" 855. These properties were considered in the modeling: silver (electrical material), lead zirconate titanate "PZT-5H" (piezoelectric material) and water (propagation medium). The coupling matrix and the relative permittivity of PZT-5H were changed in order to adapt it to the real properties of "Navy VI" 855.

Coupling matrix (ordering: xx, yy, zz, yz, xz, xy):

$$d = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & 720 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 741 & 0 & 0 \\ -276 & -274 & 630 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \cdot 10^{-12} \frac{C}{N}.$$

Relative permittivity:

$$S_E = \begin{bmatrix} 3300 & 0 & 0 \\ 0 & 3300 & 0 \\ 0 & 0 & 3300 \end{bmatrix}.$$

In this model, we consider the thickness as a fixed parameter and a contour divided into the positive side of the transducer, simulating 10 rings with a width of 2 mm and the separation between rings of 0.5 mm . A domain, over the negative side of the transducer with a distance of 80 mm in the Z-axis and 25 mm on the Y-axis, is defined. In the model, this domain is water, in which the acoustic pressure analysis is performed. The rings and negative side are boundaries of silver material shown in blue in the Fig. 2.

The convergence analysis was used to obtain a curve to determine the number of elements per wavelength for determining the correct FEM modeling mesh. From this analysis, one can note that by using 7 elements per wavelength we obtain variations of the results (error) of less than 1%, which

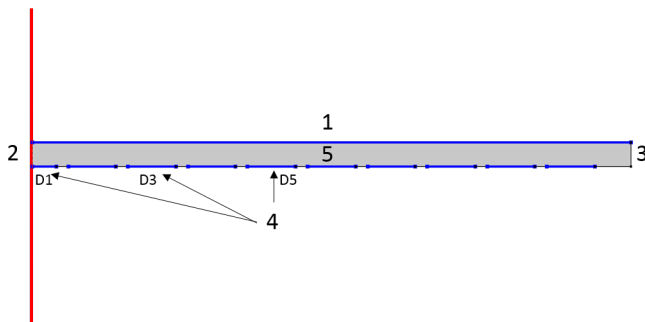


Fig. 2. This figure represents the 2D axisymmetric geometry, where 1 represent the negative side of the transducer, 2 represent axisymmetric axis, 3 represent fixed constrain, 4 indicate rings where a potential is applied to the transducer and 5 shows domain of PZT transducer.

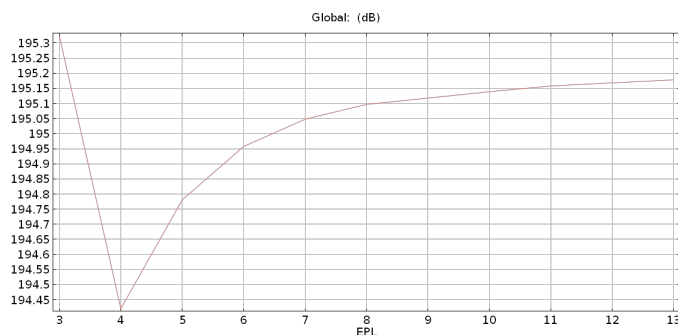


Fig. 3. Convergence analysis for obtain ideal size to mesh. Where EPL is Elements per wavelength.

is an acceptable error. These results agree with literature which proposes 7 elements by wavelength. The acoustic pressure was determined by using this wavelength and max size element and parameters of Table I [6].

D. Measurements

The sound field pattern was recorded by using the hydrophone HNP-1000, which connected to the AH-2010 preamplifier. Measurements were performed with a resolution of 0.25 mm on the Y axis, and 10 mm for Z axis, thus giving a pattern of the sound field YX. A characteristic of the preamplifier is that is waterproof so it can be immersed with the hydrophone in a container with bidistilled and degasified water. The scanning of these two axes is performed for each transducer rings. A potential of 10 volts was applied individually to each of the rings.

III. RESULTS

From the results of the convergence analysis, the number of elements per wavelength was determined. In this case, we chose 9 elements per wavelength, which gives negligible error, less than 1% [6].

From this convergence analysis, a maximum size element mesh was obtained, 0.0846 mm, considering the parameters used in this study, shown in Table I. A square mesh is applied in the two domains to obtain the acoustic field.

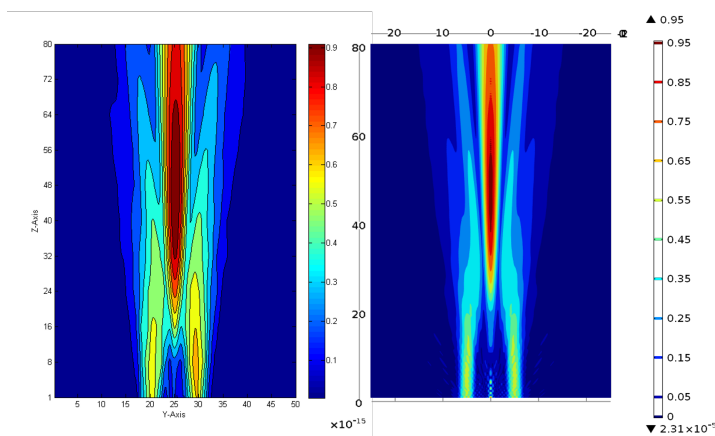


Fig. 4. Acoustic field measured at the transducer with excitation on disk 3 (D3 Fig. 2) (left) and simulated with FEM (right). The acoustic intensities are not in the same scale. This image is just for qualitative comparison of the radiation patterns.

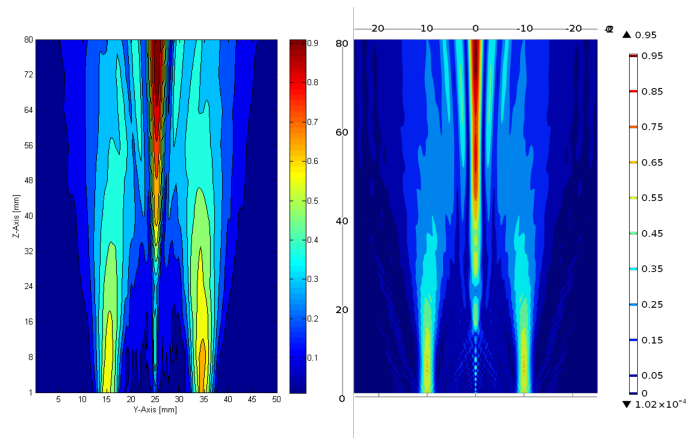


Fig. 5. Acoustic field measured at the transducer with excitation on disk 5 (D5 Fig. 2) (left) and simulated with FEM (right). The acoustic intensities are not in the same scale. This image is just for qualitative comparison of the radiation patterns.

With the maximum size of the element obtained analysis of convergence, computational time was 1 min 27 s for each disk.

The radiation patterns, shown in Fig. 4, of the modeled and measured acoustic display almost the same shape, but with different focus in disk 3. However, we obtain a the same pattern in disk 5, so that we need make more testing in the other disk for we can implement the combinations of apply electric potential in a different sequences.

IV. DISCUSSION

In Fig. 3, the results of the convergence analysis are shown. It can be seen that the results are similar to those described in the literature [7], which states that the number of elements per wavelength is between the range from 6 to 10 elements per wavelength; this agrees with the Shannon sampling theorem [7]. This theorem is of fundamental importance especially for acoustics and vibrations, because if you have a size greater than the length of element, the result of modeling wave is

wrong and unreliable. In this model, an ideal number elements per wavelength, between 8 and 13 elements per wavelength, was obtained. In this interval, the variation in the results is less than the 1%. It was decided that the number of elements per wavelength for this modeling is 9; this do not affect considerably the computational cost, which was less than 5 min.

In Fig. 4 and 5, one can see that the patterns of radiation are close to that measured in the laboratory with the hydrophone. In Fig. 4, the acoustic field pattern is generated when a potential is applied to the disc 3. The acoustic field pattern differences are due to frequency used in the model to calculate this pattern. In Fig. 5, the acoustic field pattern is generated when a potential is applied to the disc 5. In this case, the modeled acoustic field pattern is closer to that measured, compared to the pattern of acoustic field of the disc 3. Taking this into account, the next step in this project would be to analyze the pattern of acoustic field generated by each of the disks excited individually.

Some differences in the patterns of acoustic field shown in Fig. 4 and 5 are due to the low resolution of the real measurements in the Z axis. Other factor that makes differences in patterns of acoustic field is that the characterized transducer has a layer of polymeric material of a thickness less than 1 mm whose acoustic properties are not know and therefor are not taken into account in the model. To better observe the behavior of the wave, it is necessary to make a time-dependent analysis and to make measurements with an appropriate resolution in the Z axis.

V. CONCLUSIONS

In this paper, the acoustic field of a 10-ring array transducer was modeled and compared with the measured acoustic field in the laboratory. We obtained a modeled pattern similar to that we measured with the hydrophone for the disk 5 (D5 in Fig. 2) and disk 3 (D3 in Fig. 2), taking the disk 1 (D1 in Fig. 2) as the central disc of the transducer. More studies are needed to have a pattern of excitation to generate the FW. As future work, we plan to determine suitable pattern of excitation to generate FW, for modeling and comparing the patterns of the acoustic field with real measurements patterns.

ACKNOWLEDGMENT

Authors would like to thank M. en C. Rubén Pérez, from the laboratory LAREMUS, for his technical support in carrying out the acoustic measurements.

REFERENCES

- [1] Zamboni-Rached M., Recami E., Hernández-Figueroa H. E., "Theory of "frozen waves": modelon the shape of stationary wave fields", J. Opt. Soc. Am. A, Vol. 22, No. 11, pp. 2465-2475, 2005.
- [2] Recami E., Zamboni-Rached M., Hernández-Figueroa H. E., Abate V., Dartora C. A., Nobrega K. Z., MAttuzzi M., Patent: "Method and apparatus for producing stationary intense wave fields of arbitrary shape", Patent US 20110100880 A1, 2011.
- [3] Castellanos L., Bazán I., "Acoustics Frozen Waves by the integration over beta parameter of Bessel Beams", unpublished, in revision on Acta Acústica united with Acustica.
- [4] COMSOL, Theory for the Piezoelectric Devices User Interface, COMSOL Documentation (2015).
- [5] J. Kocbach. Finite Element Modeling of Ultrasonic Piezoelectric Transducers Influence of geometry and material parameters on vibration, response functions and radiated field. Phd, Universidad de Bergen, Noruega, Departamento de Fisica, Bergen, Noruega, Septiembre 2000.
- [6] Perrey-Debain, E.; Trevelyan, J.; Bettess, P., "On wave boundary elements for radiation and scattering problems with piecewise constant impedance," Antennas and Propagation, IEEE Transactions on , vol.53, no.2, pp.876,879, Feb. 2005 .
- [7] Marburg, Steffen, Discretization Requirements: How many Elements per Wavelength are Necessary?, Springer Berlin Heidelberg, 2008.

Modeling of Acoustic Field Patter in Rat's Bone with a HIFU Transducer for medical experiments in delivery drugs in brain.

V. H. Contreras¹, L. Leija¹, A. Vera¹, D. Martínez-Fong² and M. I. Gutiérrez³

¹Department of Electrical Engineering/Bioelectronics, CINVESTAV-IPN, Ciudad de México, México

²Department of Physiology, Biophysics and Neuroscience, CINVESTAV-IPN, Ciudad de México, México

³Calz. México Xochimilco No. 289 Col. Arenal de Guadalupe, C.P.14389 Tel. 59991000, ext. 19019

E-mail: vhcontreras@cinvestav.mx; lleija@cinvestav.mx; arvera@cinvestav.mx; dmartine@fisio.cinvestav.mx

Abstract—Currently the controlled release of drugs in specific areas is of great importance for the treatment of diseases such as cancer, Parkinson, Alzheimer and others. This project works with focused ultrasound (HIFU) in rats, more specifically in the application of HIFU in a specific area of the brain called the substantia nigra, in order to generate opening in the membrane of this area called blood-brain barrier (BBB) with the purpose of introducing vectors containing the drug used to treat Parkinson, proposed by the Department of Physiology, Biophysics and Neuroscience Research Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. This work is the beginning of the investigation based on the modeling of a HIFU transducer in bone tissue of rats weighing approximately 400 gr. In order to obtain the sound field pattern, focus size, pressure and ultrasound path in a time dependent study. All of the above in order to get a clear idea of what you will get when it comes to experimentation.

Keywords—Acoustic pressure, FEM, Opening-BBB, Sonication, Piezoelectric.

I. INTRODUCTION

In the last decade it has been investigating the use of sonication in order to generate openings in certain brain membranes, specifically the BBB. For diseases of the central nervous system (CNS) are treated noninvasively, it must be transported therapeutic agents through specialized vascular system which is the lining of the brain microvessels. This coating is called blood-brain barrier (BBB), which consists of endothelial cells connected by tight binding, like astrocytes, neurons, microglia and pericytes [1]. The BBB is a metabolic and physical barrier which restricts the passage of molecules to the brain [2]. It has been shown that high-intensity focused ultrasound (HIFU) in conjunction with commercial ultrasonic contrast media (microbubbles) how Definity®, Optison® or Sonovue®, which are administered intravenously, can induce opening the BBB of noninvasively, locally and reversibly [3], [4], [5], [6].

Although the mechanism for generating HIFU BBB opening is largely unknown, it has been observed that certain parameters such as the frequency [7], [8], the pulse repetition frequency [9], [10], [11], the application time [8], [9], [10], [11], [12], the size of the microbubbles [13], [14], [15], [16],

and the pulse width [9], [10], [11]; are factors that affect directly the opening in the BBB. As you can see, there are a lot of studies on the issue of opening BHE through non-invasive method which is the HIFU in conjunction with the microbubbles. This research has been going on for 10 years in universities in the United States and Canada, which promise good results in the future.

What is not reported in the literature is to generate the BBB opening from physiological phenomenon which is inflammation, because many inflammatory agents increase both, permissive endothelial and vessel diameter, together contribute to a significant leak which occurs through the BBB. Given this, what we want to do is raise the temperature in the substantia nigra of no more than 40°C, in order to open the BBB and enhance the effectiveness of the drug administered by the department of physiology, biophysics and neuroscience. Subsequently, a comparison between the two methods, in order to observe the viability of the protocol was made.

One of the contributions of this work is the use of modeling using the finite element method (FEM) to obtain results that support the experimental measurements, such as sound field pattern, the pattern of thermal radiation, and the response of sound wave with time-dependent stimuli. All this taking into account the properties of each of the materials having an important role in testing, such as the piezoelectric propagation medium (water at 20°C), bone tissue, etc. And considering the geometry of each of these materials, as the curvature, thickness, etc.

II. METHODOLOGY

A. Geometry of the transducer and cranium

The transducer simulated in this paper is a model of the company Onda Corporation®, which is based on a spherical geometry with a focal depth of 20 mm from the bending of the piezoelectric comprises a radius of 10 mm and a concavity 2.7 mm. The geometry may be shown in Fig. 1.

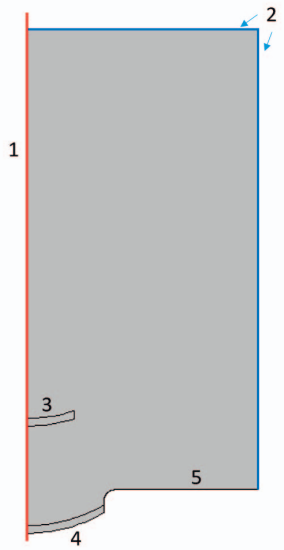


Fig. 1. Axisymmetric geometry model.

For the dimensions of the first rat cranium, the cranium was extracted from a rat weighing about 400 gr, which was obtained by natural methods as integral to maintain bone tissue. Subsequently the thickness and concavity of the top of the skull was measured.

B. Finite Element Model

For simulation FEM was taken into account the housing, and the geometry shown in Fig. 1, which is based on an axisymmetric geometry as the geometry of the transducer cranium is regarded as a spherical structure with a concavity of 1 mm and a radius of 6.12 mm in Fig. 2 the structure of a rat cranium which shows measurements obtained. Returning to Fig. 1, can be seen in marked red line number 1 the axisymmetric axis, the number 2 indicates the blue lines that boundary was considered with an impedance from the properties of water, which has a density of 1000 kg/m³, and a velocity of ultrasound propagation in the middle of 1500 m/s, this is close to the speed of ultrasound in water at 25°C [17]. The boundary indicated by the number 5 and the sound was also felt hard boundary, which is a boundary at the regular component of the acceleration is zero refers to (1). The number 3 in Fig. 2 indicates the geometry obtained from the cranium measurements and finally the number 4 indicates the geometry of the transducer. The equations that were used for this study, were obtained of [18].

$$-\mathbf{n} \cdot \left(-\frac{1}{\rho_c} (\nabla p_t - \mathbf{q}_d) \right) = 0. \quad (1)$$

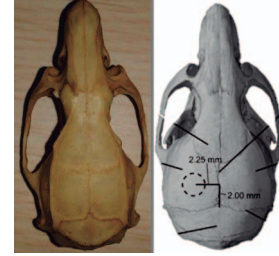


Fig. 2. Cranium used and image reference.

 TABLE I
ACOUSTIC PROPERTIES OF MATERIALS

LEAD ZIRCONATE TITANATE “HARD”		
Property	Value	Unit
Thickness	1	mm
Density	7500	$\frac{kg}{m^3}$
Young's Modulus	9.3×10^{10}	$\frac{N}{m^2}$
Coupling Matrix (Ordering: xx, yy, zz, yz, xz, xy)		
d_{15}	362×10^{-12}	$\frac{C}{N}$
d_{31}	-107×10^{-12}	$\frac{C}{N}$
d_{33}	241×10^{-12}	$\frac{C}{N}$
Compliance Matrix (Ordering: xx, yy, zz, yz, xz, xy)		
S_{11}^E	10.8×10^{-12}	$\frac{1}{Pa}$
S_{12}^E	-3.6×10^{-12}	$\frac{1}{Pa}$
S_{33}^E	13.7×10^{-12}	$\frac{1}{Pa}$
BONE TISSUE “HUMAN” [19]		
Density	1908	$\frac{kg}{m^3}$
Speed of sound	3514	$\frac{m}{s}$
Heat Capacity	1313	$\frac{J}{kg \cdot K}$
Thermal Conductivity	0.32	$\frac{W}{m \cdot K}$

C. Properties of Materials

Table 1 shows the properties of each material in the case of bone tissue properties were taken of human bone tissue, due to the lack of information on the acoustic properties of bone tissue in rats. The properties of ceramics were obtained from the data sheet provided by the manufacturer, the material is Lead Zirconate Titanate “Hard” model EC-67.

The properties defined in the material properties of the project shown in Table I.

D. Studies in FEM.

Studies were carried out in FEM were: frequency analysis in order to obtain the pattern of the total sound field, another of them was a dependent time study to see how sound waves traveling in the medium with which, stimulated with a pulsed signal 50 μs containing high state itself a senodal of 1.95 MHz (100 cycles) and a low signal a time of 100 ms for a frequency of 10 Hz [20]. Finally a study with each of the previous studies for the heating pattern generated in the focus and the skull was performed.

$$\lambda = \frac{SoS}{Freq} = \frac{1493 \frac{m}{s}}{1.95 MHz} = 0.7656 mm \quad (2)$$

$$MS = \frac{\lambda}{EWL} = \frac{0.7656mm}{9} = 0.085mm \quad (3)$$

The mesh size was defined by the Eq. 3, where λ is wavelength that is defined in Eq. 2 where SoS is speed of sound in water, $Freq$ is frequency of ultrasound, Retaking in Eq. 3 MS is ideal maximum mesh size and EWL is elements per wavelength. The value of the EWL is 9 due to previous convergence analysis [21], this is related with the Shannon sampling theorem, this theorem is important mainly for acoustics and vibrations, because if you have a size greater than the length of element [22].

E. Heating and acoustic relationship

Given the acoustic pressure field the acoustic intensity field is readily derived. The heat source Q for thermal simulation, given in the plane-wave limit, is then calculated as shown in Eq. 4.

$$Q = 2\alpha_{ABS}I = 2\alpha_{ABS} \left| \operatorname{Re} \left(\frac{1}{2} p \mathbf{v} \right) \right| \quad (4)$$

where α_{ABS} is the acoustic absorption coefficient, I is the acoustic intensity magnitude, p is the acoustic pressure, and \mathbf{v} is the acoustic particle velocity vector [23].

III. RESULTS

As results simulations of what will expect in the measurements was obtained, it can start from a clear point due to this give an idea of what is going to get in the experimentation. One result was the acoustic field pattern as seen in Fig. 3 where patterns shown, which is the right side of the acoustic field pattern produced by the transducer in a water tank, in this can be appreciated that the focus was generated at 20 mm as indicated by the manufacturer. On the right side you can see the acoustic field pattern when a structure that simulates the cranium of the rat was placed 13 mm from the transducer to observe the change of focus is placed.

Another significant results in the acoustic field in a time depend study, due to it gives us the path that follows over time with the signal that we want to place at the stimuli transducer, in Fig. 4 can be seen how it is changing the waveform at different times, with this we can emphasize where bounces wave are happening, in which areas have higher pressure and the time when the focus is generated.

Finally an approximation of heating pattern in a dependent time study was obtained, in Fig. 5 shown the pattern of heat generated at different times, with this we can make an analysis which is observed in that area is achieved raising the temperature and time that can be achieved with this from the simulations to create time protocols and transducer excitation signal.

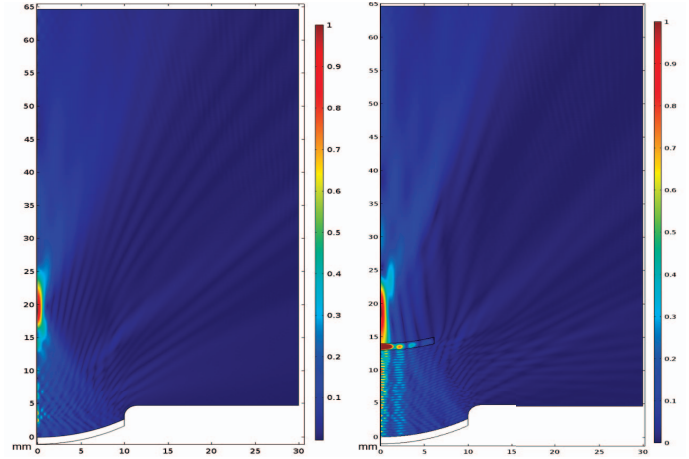


Fig. 3. Comparison between the acoustic field pattern frequency analysis in a single model with water (left) and another model with a cranium bone structure simulating the rat (right).

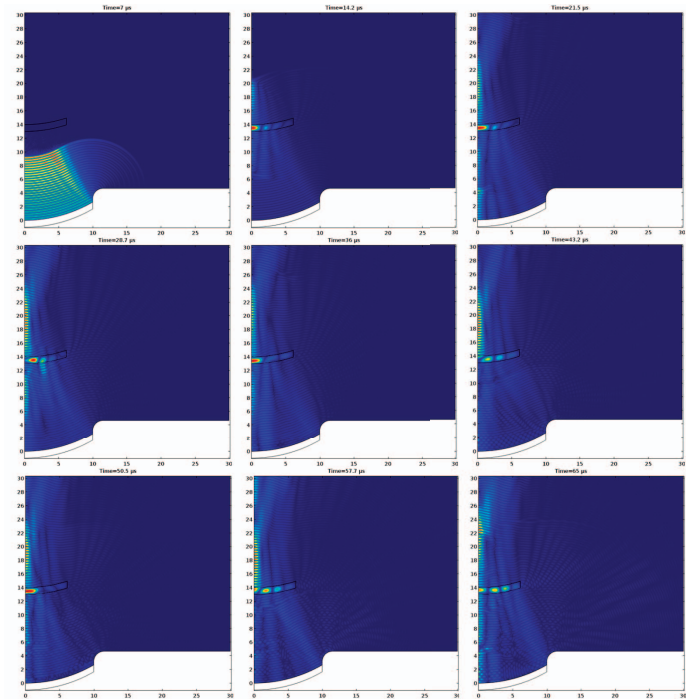


Fig. 4. Path followed by the acoustic wave through the time where you can appreciate the rebounds on both the housing and the rat cranium.

IV. DISCUSSION

The acoustic field pattern shown in Fig. 3 shows that the focus is located at 20 mm from the face of the piezoelectric, thanks to this acoustic field pattern, we can obtain an approximate size of the focus point, that gives the distance greater intensity of focus, with this we can get a first idea of how far should you place the transducer from the rat cranium, how intensely the areas around the sustantia nigra will be affected.

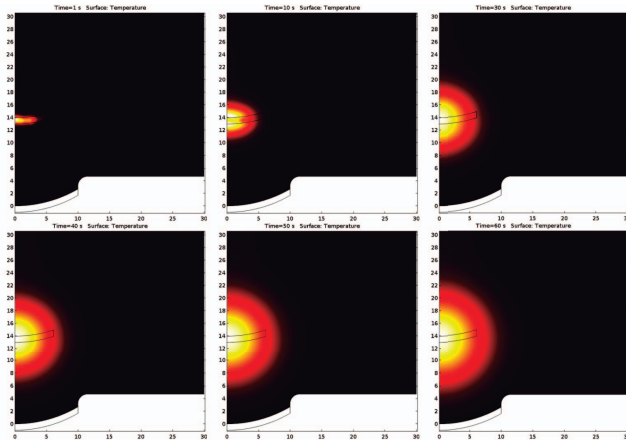


Fig. 5. Heating pattern generated in 60 seconds every 10 seconds images are displayed starting from 1 second.

Fig. 4 shows the acoustic field pattern in a time-dependent analysis, we can see the path followed by the wave, so you can see that it is important to consider each one element of the transducer from the housing to the thickness and shape cranium rat, thus can observe that the effects the cranium receives although it is not necessarily in the focus of the transducer and thus be a consideration when implementing this experiment in live rats, Fig. 4 shows the wave from time $7 \mu\text{s}$ to $65 \mu\text{s}$.

Finally we have the heating pattern that can be seen in Fig. 5, with this we can see the increase in temperature over the time and the area that is heated, thanks to this we will have a starting point to propose measurement protocols with respect to the time and transducer positions both in the first tests with the ex vivo bone tissue of rats and in live rats.

V. CONCLUSIONS

The data obtained from the simulations can give us a starting point for the development of protocols at the time of experimentation, and a point of comparison with the measurements, it is important to mention that in the simulations only the most important factors that may affect the results are considered, but should not be taken as conclusive in this project, because they may differ due to changes during measurements and the properties of the materials, either the cranium or the ceramic. This paper started from mathematical bases and data given by the manufacturer to carry out the simulation getting as close as possible to reality.

In the heating pattern is important to mention that it is only useful to see how and where the heat spreads and in areas where it spreads because the water tank is at room temperature and due to water flow cooling the cranium it does not offer a reliable data point of the temperature elevation.

Finally can be see that with the simulations through FEM is possible obtain relevant data for the timing of measurements and in vivo experimentation.

ACKNOWLEDGMENT

Authors would like to thank the National Council for Science and Technology (CONACYT, Mexico) for the support received with project CONACYT-Salud 2013-I-201590, 201256, Joint Cooperation México-Uruguay (SRE-AUCI) 2012-2013 and CSIC-COOPB20166. Special thanks to M. C. Ruben Perez Valladares for their support, and give me the necessary information to carry out this work.

REFERENCES

- [1] L. L. Rubin and J. M. Staddon, "The cell biology of the blood-brain barrier," *Annu. Rev. Neurosci.*, vol. 22, no. 1, pp. 11–28, Mar. 1999.
- [2] N. J. Abbott, L. Ronnback, and E. Hansson, "Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 7, no. 1, pp. 41–53, Ene. 2006.
- [3] K. Hynynen, N. McDannold, N. Vykhodtseva, and F. A. Jolesz, "Noninvasive MR imaging guided focal opening of the blood-brain barrier in rabbits," *Radiology*, vol. 220, no. 3, pp. 640–646, Sep. 2001.
- [4] J. J. Choi, M. Pernot, T. R. Brown, S. A. Small, and E. E. Konofagou, "Spatio-temporal analysis of molecular delivery through the blood-brain barrier using focused ultrasound," *Phys. Med. Biol.*, vol. 52, no. 18, pp. 5509–5530, Sep. 2007.
- [5] F.-Y. Yang, W.-M. Fu, R.-S. Yang, H.-C. Liou, K.-H. Kang, and W.-L. Lin, "Quantitative evaluation of focused ultrasound with a contrast agent on blood-brain barrier disruption," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 33, no. 9, pp. 1421–1427, Sep. 2007.
- [6] H.-L. Liu, Y.-Y. Wai, W.-S. Chen, J.-C. Chen, P.-H. Hsu, X.-Y. Wu, W.-C. Huang, T.-C. Yen, and J.-J. Wang, "Hemorrhage detection during focused-ultrasound induced blood-brain-barrier opening by using susceptibility-weighted magnetic resonance imaging," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 4, pp. 598–606, Apr. 2008.
- [7] N. McDannold, N. Vykhodtseva, and K. Hynynen, "Blood-brain barrier disruption induced by focused ultrasound and circulating preformed microbubbles appears to be characterized by the mechanical index," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 5, pp. 834–840, May. 2008.
- [8] K. F. Bing, G. P. Howles, Y. Qi, M. L. Palmeri, and K. R. Nightingale, "Blood-brain barrier (BBB) disruption using a diagnostic ultrasound scanner and Definity in mice," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 35, no. 8, pp. 1298–1308, Aug. 2009.
- [9] N. McDannold, N. Vykhodtseva, and K. Hynynen, "Effects of acoustic parameters and ultrasound contrast agent dose on focused-ultrasound induced blood-brain barrier disruption," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 6, pp. 930–937, Jun. 2008.
- [10] J. J. Choi, K. Selert, Z. Gao, G. Samiotaki, B. Baseri, and E. E. Konofagou, "Noninvasive and localized blood-brain barrier disruption using focused ultrasound can be achieved at short pulse lengths and low pulse repetition frequencies," *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 31, no. 2, pp. 725–737, Feb. 2011.
- [11] J. J. Choi, K. Selert, F. Vlachos, A. Wong, and E. E. Konofagou, "Noninvasive and localized neuronal delivery using short ultrasonic pulses and microbubbles," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 108, no. 40, pp. 16539–16544, Oct. 2011.
- [12] R. Chopra, N. Vykhodtseva, and K. Hynynen, "Influence of exposure time and pressure amplitude on blood-brain-barrier opening using transcranial ultrasound exposures," *ACS Chem Neurosci*, vol. 1, no. 5, pp. 391–398, May 2010.
- [13] J. J. Choi, J. A. Feshitan, B. Baseri, S. Wang, Y.-S. Tung, M. A. Borden, and E. E. Konofagou, "Microbubble-size dependence of focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening in mice in vivo," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 1, pp. 145–154, Jan. 2010.

- [14] F. Vlachos, Y.-S. Tung, and E. Konofagou, "Permeability dependence study of the focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening at distinct pressures and microbubble diameters using DCE-MRI," *Magn. Reson. Med.*, vol. 66, no. 3, pp. 821–830, Sep. 2011.
- [15] G. Samiotaki, F. Vlachos, Y.-S. Tung, and E. E. Konofagou, "A quantitative pressure and microbubble-size dependence study of focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening reversibility in vivo using MRI," *Magn. Reson. Med.*, vol. 67, no. 3, pp. 769–777, 2012.
- [16] Y.-S. Tung, F. Vlachos, J. A. Feshitan, M. A. Borden, and E. E. Konofagou, "The mechanism of interaction between focused ultrasound and microbubbles in blood-brain barrier opening in mice," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 130, no. 5, pp. 3059–3067, Nov. 2011.
- [17] Martinez, R.; Vera, A.; Leija, L., "Finite element HIFU transducer acoustic field modeling evaluation with measurements," in *Health Care Exchanges (PAHCE), 2012 Pan American*, vol., no., pp.101-104, 26-31 March 2012
- [18] COMSOL, *Theory for the Piezoelectric Devices User Interface*, COMSOL Documentation (2015).
- [19] IT'IS Foundation, Copyright © 2010–2015, *Tissues Properties* [Online], Available: <http://www.itis.ethz.ch/virtual-population/tissue-properties/database/>
- [20] Yao-Sheng Tung; Marquet, Fabrice; Teichert, Tobias; Ferrera, Vincent; Konofagou, E.E., "Bubble dependence of the mechanism of FUS-induced blood-brain barrier opening in mice and in monkeys in vivo," in *Ultrasonics Symposium (IUS), 2011*.
- [21] V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, L. Castellanos, I. Bazan and M. I. Gutierrez, "Simulation and experimental verification of the acoustic field produced by an annular piezoelectric array," *Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE), 2015 12th International Conference on, Mexico City, 2015*, pp. 1-4.
- [22] Marburg, Steffen, *Discretization Requirements: How many Elements per Wavelength are Necessary?*, Springer Berlin Heidelberg, 2008.
- [23] COMSOL, *Focused Ultrasound Induced Heating in Tissue Phantom*, COMSOL Documentation (2015).

Modeling a Conical Applicator for High Intensity Focused Ultrasound with the Finite Element Method

D. A. Hernández¹, V. H. Contreras¹, L. Leija¹, A. Vera¹, D. Martínez-Fong² and M. I. Gutiérrez³

¹Department of Electrical Engineering/Bioelectronics, CINVESTAV-IPN, Ciudad de México, México

²Department of Physiology, Biophysics and Neuroscience, CINVESTAV-IPN, Ciudad de México, México

³CONACYT – Instituto Nacional de Rehabilitación Subdirección de Investigación Tecnológica, Ciudad de México, México

E-mail: daniel.hernandez@cinvestav.mx; vhcontreras@cinvestav.mx; lleija@cinvestav.mx; arvera@cinvestav.mx; dmartine@fisio.cinvestav.mx; m.ibrahin.gutierrez@gmail.com

Abstract—The high-intensity focused ultrasound (HIFU) has shown positive results in the treatment of prostate cancer and its possible application in neurodegenerative diseases. This paper describes the design of a HIFU applicator with a conical geometry, for modeling the software COMSOL® (COMSOL Inc., Burlington, MA) was used, which bases its operation on the finite element method (FEM). The equations that govern the phenomenon were used to optimize the dimensions of the applicator and their use in the application surface. The design condition to be met is that the applicator should not alter the focus and acoustic field generated by the transducer source of ultrasound. The designed model allows that the system does not depend on a water container for the application of HIFU, reducing the dimensions and facilitating interaction with the system. It was obtained a design where the conical applicator has a radius at the apex of 5.2 mm, a radius at the base of 11.5 mm, a thickness of 2 mm walls, an operating frequency of 2 MHz and a focus of 20 mm operation. Water was considered as a means of propagation between the application surface and the applicator.

Keywords—High Intensity Focused Ultrasound (HIFU), Finite Element Method (FEM), Applicator, Focus, Acoustic Field.

I. INTRODUCTION

Treatment of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's, are affected by the selectivity of the blood-brain barrier (BBB) [1, 2]. The BBB is a selective barrier that prevents the passage of certain substances to pass the brain capillaries, into the neuron [3]. It has been found that the high-intensity focused ultrasound (HIFU) can cause the reversible opening of the BBB [2]. In our group a HIFU system to achieve the proper absorption of a drug for the treatment of Parkinson's is being developed. The purpose of HIFU is to heat a specific area in the *substantia nigra* causing the reversible opening of the BBB [4].

The HIFU requires a propagation medium between the transducer and the tissue. Therefore it is proposed to design an acoustic coupler for use of the transducer out of water. This

design must consider the acoustic field and the focus must not be affected by the coupler. Some studies suggest conical geometry applicators to visualize the focal point [7], [8]. The cone is filled with water or ultrasound gel, because its acoustic impedance is very similar to that of the tissue. The cones can have different lengths depending on the focal length and application [8].

The finite element method (FEM) allows us to simulate the effects in the sound pressure and focus of the HIFU transducers [9]. With FEM, transducers can be studied with manufacturer features and materials, achieving an appropriate model for simulation. Finite element models allow us to include real geometries to observe the behavior of the system in its application [7].

In this paper, the efficiency of the conical geometry and its geometry will be tested and its geometry will be modified to optimize the system. The proper slope of the wall of the cone allows an efficient propagation of the acoustic field, without affecting the focus. Besides, this inclination should offer a visual perspective of the location of the focus. All these factors were taken into consideration for the design of optimum applicator.

II. METHODOLOGY

A. Theory.

The performed studies allow us to find the pattern of the sound field model. Eq. 1 describes the acoustic wave propagation in a medium without lossless, where ρ is the density and c is the sound velocity.

$$\frac{1}{\rho c^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} + \nabla \cdot \left(-\frac{1}{\rho} (\nabla p) \right) = 0 \quad (1)$$

This study was developed in the frequency domain. The Eq. 2 describes variations of pressure field harmonics. Where P_t is the total pressure and k_{ep}^2 is the wave number. For this, the pressure was simplified after considering an axisymmetric behavior, so $p(r, \varphi, z) = p(r, z)e^{-im\varphi}$ [10]; by taking $m=0$, which means pressure does not vary along ϕ , Eq. 1 can be simplify by:

$$\nabla \cdot \left(-\frac{1}{\rho c} (\nabla P_t) \right) - \frac{k_{ep}^2 P_t}{\rho c} = 0 \quad (2)$$

B. Transducer design

For the model of this paper, we refer to a focused 2 MHz transducer (Onda Corporation®, USA) having focal length of 20 mm, a radius of 10 mm, a concavity of 2.7 mm and a 1 mm thick.

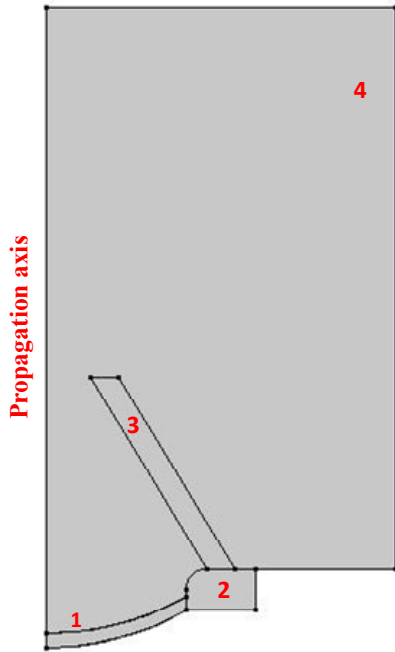


Fig 1. Axisymmetric geometry for the FEM model. (1) Piezoelectric transducer, (2) housing, (3) conical applicator, (4) Water. External boundary was set with the acoustic impedance of water to reduce wave reflections.

The transducer material is lead zirconate titanate PZT hard EC67. Piezoelectric properties were set manually based on manufacturer. Table 1 shows the piezoelectric and structural properties and their values to coincide with the actual material. These properties are important because they describe the elastic behavior of the piezoelectric in their oscillations.

C. Analysis with FEM in COMSOL Multiphysics

For this model an axisymmetric simplification was used as shown in Fig. 1. Each domain of the geometry shown in Fig. 1

TABLE I. Materials Properties.

Properties	Polyurethane	PZT hard EC67
Speed of sound, c	1900 [m/s]	-
Young's Module, E	25x10 ⁶ [Pa]	9.3x10 ¹⁰ [Pa]
Poisson's ratio, ν	0.5	-
Density, ρ	35 [Kg/m ³]	7500 [Kg/m ³]
Coupling Matrix, d	-	d_{31} -107x10 ⁻¹² [C/N] d_{33} 241 x10 ⁻¹² [C/N] d_{15} 362 x10 ⁻¹² [C/N]
Compliance Matrix, S^E	-	S_{11}^E 10.8 x10 ⁻¹² [C/N] S_{12}^E -3.6 x10 ⁻¹² [C/N] S_{33}^E 13.7 x10 ⁻¹² [C/N]

was assigned a specific material. The domain 4 is water, with a matched boundary (same impedance as water) to reduce wave reflections, material 3 is polyurethane with continuum boundaries. The domain 2 is aluminum and the domain 1 is the piezoelectric resonator.

In order to determine the appropriate mesh in this model, it was necessary to find the resonance frequency (f_r). A thickness of 1 mm of the transducer was taken into account. The electrical impedance of the transducer was calculated. To determine f_r a parametric study was performed to determine frequency at which a lower impedance as shown in Fig. 2.

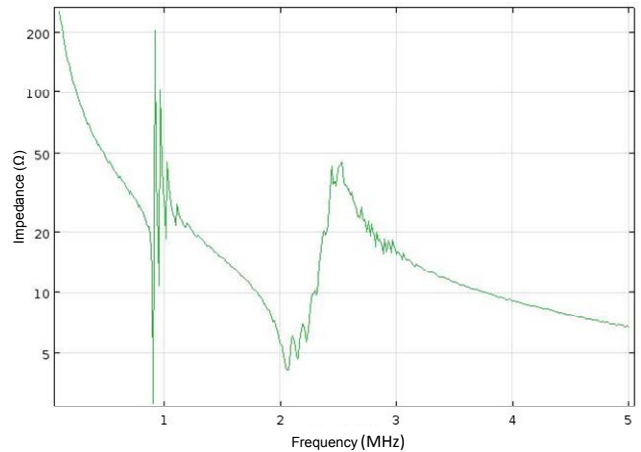


Fig. 2 Electric impedance of modeled transducer showing the thickness extensional vibration mode at which the transducer should be excited.

Once the resonance frequency of the transducer was found, the wavelength (λ) is calculated by dividing the speed of sound of

water between f_r . Then a convergence study is performed to determine the number of elements per wavelength [5, 6, 11].

A parametric sweep was implemented to find the optimum inclination of the applicator walls. The modified parameter for optimization is the distance from the apex of the applicator with respect to the axisymmetric axis. It took a range between 3 mm and 7 mm and changed in increments of 0.1 mm. Aspects considered for this study were that the geometry of the cone does not affect the focal length, that the focus does not change shape and does not affect the pattern of acoustic field. Besides the applicator must provide a visual idea of where the focus of the transducer.

III. RESULTS

The impedance study allows to know the resonance frequency at which this transducer has maximum efficiency, this frequency is 2.066 MHz, as shown in Fig. 2. The convergence study, resulted that 9 elements per wavelength allows a simulation with an error of 2% and computation time of 38 s. Fig. 3 shows the results of the parametric study. The acoustic pressure in an apex point was plotted.

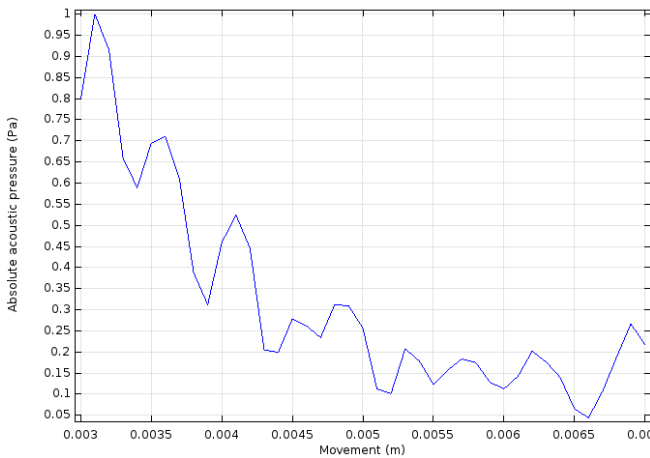


Fig. 3 Acoustic pressure on the wall of the applicator.

Due to the parametric study, it is possible to obtain the displacement required of the applicator apex. The distance obtained, from the axial axis to applicator's apex was of 5.2mm. Fig. 4 shows the acoustic pressure as changes along the axial axis relative to the inclination of the cone wall. The most optimal result was obtained for a displacement of 5.2 mm, which is also shown in Fig. 5. For this result, the cone dimensions are 2 mm wide and 10.04 mm long with an inclination of $51^\circ 8'$ to the level of the upper face of the housing.

IV. DISCUSSION

The parametric study shown in Fig. 3 represents the values of lower sound pressure from the displacement from 5 mm to 6.9 mm. Within this range the lowest values are given at 5.2

mm and 6.6 mm displacement of the applicator apex. Although the pressure receiving cone is lower at 6.6 mm, one of the objectives of the applicator is to provide an idea of the focus position, and with this movement such property is lost. However the position of the apex of the cone 5.2 mm meets the objectives of reducing the pressure that receives the applicator itself and generate less ultrasonic wave rebounds.

The results shown in Fig 4, corroborates the efficiency of this position relative to the pattern of acoustic field and focal length. In this figure, the behavior of the sound pressure at the axis with different displacements applicator apex is shown. The graph shows two values close to the axis (4 mm and 6 mm), 2 farthest values (3 mm and 7 mm) and the central value (5.2 mm). It is noted that higher values of pressure are between 16 mm and 20 mm from each of moves performed. Nevertheless with 5.2 mm movement of the focal length is less compared to other values. Fig 4 b shows in detail the pressure values and in the axisymmetric axis position for each displacement of the applicator apex.

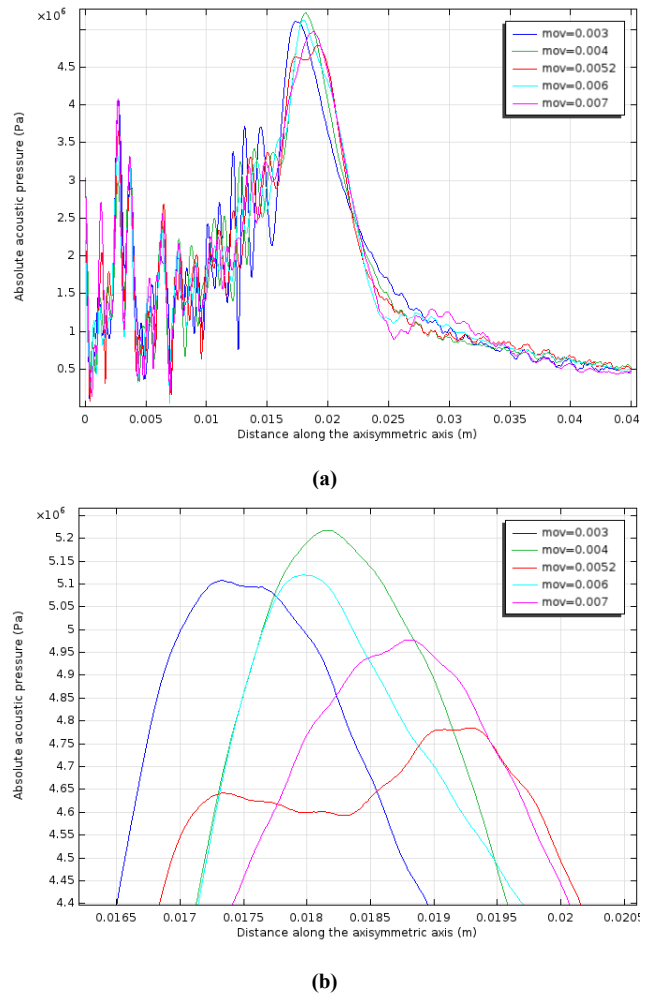


Figure 4. Acoustic pressure along the axial axis for each displacement of the apex of the applicator, with a frequency of 2.066 MHz. (a) Complete graph of the behavior of acoustic pressure on the axial axis. (b) More detailed sound pressure graph, the focus shift is observed.

Fig. 5 shows the result of simulation taking 5.2 mm of displacement shown. It is possible to observe how the focal length is affected minimally (0.7 mm). Ultrasound distributions is not affected by the size of the external boundaries.

V. CONCLUSION

The ultrasonic waves produced by HIFU needs a propagation medium for their applications. This medium should have a similar acoustic impedance to the application surface and should not affect the focus of the ultrasound transducer used. The mechanical and piezoelectric properties of the transducer used for this work are mentioned in the Methodology of this article. Based on convergence studies mentioned in the methodology section, it was possible to obtain the frequency at which the transducer has higher efficiency, as shown in Fig. 2.

The parametric sweep allowed finding the top radius of the applicator. Fig 3 shows how the acoustic pressure behaves over the applicator's wall. Studies performed confirm that a conical geometry in applications with HIFU is efficient as reported in [7 and 8]. Although the top radius of the applicator may be greater, the 5.2 mm obtained by the parametric study show a more optimal performance relative to largest radios, as seen in Fig 4.

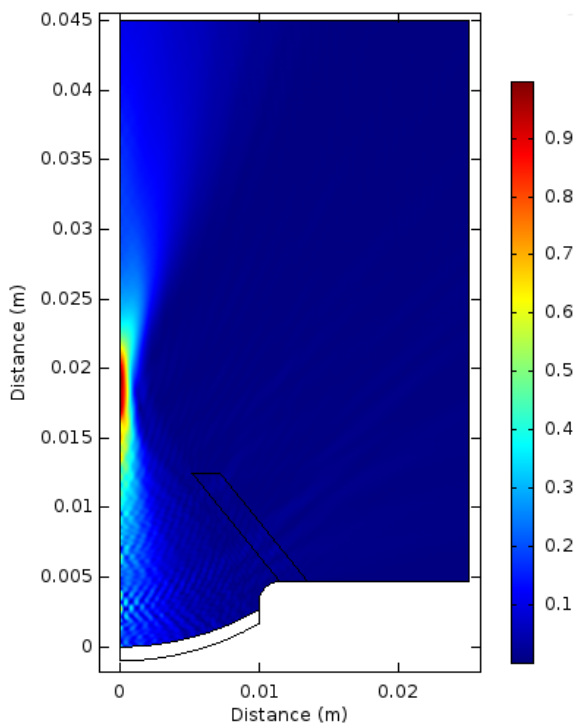


Fig. 5 The final simulation result with the optimum values. The distance from the axial axis to the conical applicator is 5.2 mm, the cone dimensions are 2 mm wide and 10.04 mm long.

The area of application of the HIFU is a determining factor in the length of the applicator, because it is necessary to consider the tissues that lie between the transducer and the functional area generator of ultrasonic waves focused. A proper optimization of applicators, based on the minimal deformation of focus, allows the efficient HIFU transducer performance because the acoustic field pressure does not affect, as demonstrated by the simulations in this paper.

ACKNOWLEDGMENT

Authors would like to thank the National Council for Science and Technology (CONACYT, Mexico) for the support received with project CONACYT-Salud 2013-I-201590, 201256, project joint cooperation México-Uruguay (SRE-AUCI) 2012-2013 and project CSIC-COOPB20166. Special thanks to Jose Ayala for their support, and give me the necessary information to carry out this work.

REFERENCES

- [1] James J. Choi, Jameel A. Feshitan, Elisa E. Konofagou, "Microbubble-Size Dependence of Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening in Mice In Vivo," IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. 57, No. 1, January 2010
- [2] Fabrice Marquet, Yao-Sheng Tung, Elisa E. Konofagou, "Initial In Vivo Feasibility of a Pre-Clinical Focused Ultrasound System Applied to Blood-Brain Barrier Opening in Monkeys," IEEE International Ultrasonics Symposium, October 2011.
- [3] J. Barbera Alacreu y José Ma. Izquierdo Rojo, "Fisiopatología de la barrera hematoencefálica" in *Lecciones de neurocirugía*; U. Gomez. Servicio de Publicaciones Universidad de Oviedo. España, 1992. pp. 85-92.
- [4] V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, D. Martínez-Fong, "Modeling of Acoustic Field Patter in Rat's Bone with a HIFU Transducer for medical experiments in delivery drugs in brain," Global Medical Engineering Physics Exchanges/Pan American Health Care Exchanges, 2016.
- [5] Perrey-Debain, E.; Trevelyan, J.; Bettess, P., "On wave boundary elements for radiation and scattering problems with piecewise constant impedance," *Antennas and Propagation, IEEE Transactions on*, vol.53, no.2, pp.876,879, Feb. 2005 .
- [6] V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, M. I. Gutiérrez. "Simulation and Experimental Verification of the Acoustic Field Produced by an Annular Piezoelectric Array," IEEE, 12th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE), Mexico, City, Mexico, 2015.
- [7] J.L. Teja, S.A. Lopez-Haro, L. Leija and A. Vera, "A Finite Element Simulation of High Intensity Focused Ultrasound With Polyacrylamide As Coupling Material For Acoustic Hemostasis," Pan American Health Care Exchanges (Pahce). Conference, Workshops, And Exhibits. Cooperation, 2013.
- [8] Mark D. Brentnall, Roy W. Martin. "A New High Intensity Focused ultrasound Applicator for Surgical Applications," IEEE, Transaction on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, Vol. 48. No. 1. January 2001.
- [9] R. Martínez, A. Vera and L. Leija. "Hifu Induced heating modelling by using finite element method," ELSEVIER, 43rd Annual Symposium of the Ultrasonic Industry Association, UIA Symposium 2014.
- [10] COMSOL, *Acoustics Module User's Guide*, COMSOL Documentation (2015).
- [11] Marburg, Steffen, *Discretization Requirements: How many Elements per Wavelength are Necessary?*, Springer Berlin Heidelberg, 2008