



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

**UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELÉCTRICA
SECCIÓN DE BIOELECTRÓNICA**

**Estudio de la cavitación ultrasónica controlada para la
apertura transcraneal de la BHE con FUS en modelos
murinos**

Tesis que presenta

Jorge Alberto Rodríguez Ramírez

para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias

en la Especialidad de

Ingeniería Eléctrica

Directores de la Tesis:

Dr. Lorenzo Leija Sala
Dr. Mario Ibrahín Gutiérrez Velasco

México, Ciudad de México.

Octubre, 2019

Dedicatoria

A mi madre, mi padre y mi hermana,

Mi fortaleza para seguir adelante...

Agradecimientos

A mi madre Elizabeth, por todo el apoyo incondicional que pudo haberme brindado a lo largo de todo este recorrido y por apoyarme en todas las decisiones que he tomado. Un amor como el tuyo nunca lo encontraré.

A mi padre Jorge Rodríguez, por sus palabras de aliento a seguir siempre mis sueños, a nunca darme por vencido y hacerme sentir que siempre estoy cerca de él.

A mi hermana Liliana, por todo el cariño que me ha transmitido a tan larga distancia, por sus mensajes de apoyo para nunca rendirme y por haberme dado uno de los mejores regalos en esta vida.

Al Dr. Lorenzo Leija Salas, por haberme aceptado dentro del laboratorio y por guiarme en todo este camino para terminar de manera correctas las tareas que se me encomendaron.

Al Dr. Mario Ibrahín Gutiérrez Velasco, por sus palabras, regaños y pláticas que hemos tenido en todo este tiempo, por enseñarme a ser mejor persona a nivel científico y personal, siempre tuve y tendré sus palabras en cuenta en cada una de mis acciones futuras.

A mi sinodal Dr. Arturo Vera Hernández, por hacerme sentir bienvenido en el laboratorio y sus consejos para el desarrollo de los trabajos.

A mi sinodal Dra. Ivonne Bazán Trujillo, por formar parte del jurado para la obtención de grado y sus comentarios en mi trabajo escrito.

Al Dr. Pablo Rogelio Hernández Rodríguez, por sus enseñanzas en las clases que me impartió, por haberme aceptado muchas veces en su laboratorio como uno más.

A los M. en C. José Hugo Zepeda Peralta y Rubén Pérez Valladares, por el apoyo en ambos en los montajes, uso de equipos y mediciones realizadas en este trabajo de tesis, por las pláticas que hemos tenido en los ratos libres.

A mi gran amiga Ana Laura, por todas esas pláticas y la convivencia diaria, por soportarme dentro y fuera de la institución, por el cariño y compañía brindado y ser un apoyo en este recorrido que iniciamos juntos, por ayudarme a ver siempre mis errores y hacerme ver la mejor versión de mí.

A mis compañeros de laboratorio Daniel, Texar, Tony, Héctor, Rafa, Ilse, Chuc y los que vendrán, por su amistad, las pláticas y el apoyo que recibí de su parte cuando algo no entendía.

Al auxiliar de investigación Biol. José Ayala, por su apoyo y transmisión de enseñanzas en el manejo de animales para la aplicación de FUS.

Agradecimientos en especial

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional CINVESTAV-IPN, por darme la oportunidad de realizar y finalizar mis estudios de Maestría en Ciencias con la Especialidad en Ingeniería Eléctrica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por haberme brindado el sustento económico con la cual pude realizar y concretar mis estudios de Maestría.

Resumen

Las enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson, representan un problema en la población por las complicaciones que conllevan y la forma en que afecta la calidad de vida de las personas. A nivel anatómico, existe una barrera en el cerebro que no permite el paso de sustancias a ciertas áreas, lo que complica la entrega de medicamentos que ayuden a combatir esta enfermedad. Con el paso del tiempo, se han desarrollado técnicas capaces de abrir temporalmente esta barrera lo que permitirá la correcta entrega del fármaco en donde se desea, tal es el caso del ultrasonido focalizado. Sin embargo, algunas de estas técnicas se vuelven demasiado invasivas ya que requiere remover cierta cantidad de cráneo para su correcto funcionamiento. Durante la exposición de ultrasonido focalizado ocurren ciertos fenómenos acústicos que se han tratado de estudiar, lo que nos permitirá lograr un control sobre el para su aprovechamiento.

El propósito de esta tesis es estudiar el fenómeno de cavitación acústica de manera controlada producido por transductores, emitiendo un haz ultrasónico en modelos *phantoms* para su posterior aplicación en la apertura transcraneal de la barrera hematoencefálica con ultrasonido focalizado en modelos murinos. Entre los puntos desarrollados en este escrito se encuentran la optimización y validación del último protocolo propuesto dentro del LAREMUS para la apertura de la barrera hematoencefálica con la técnica de craneotomías y uso de microburbujas. Las pruebas *in-vivo* fueron realizadas en conjunto con el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, bajo el protocolo # 162-15 aprobado por el comité ético para realizar los procedimientos de uso de animales. Este protocolo busca eliminar los daños al tejido cercano al foco del FUS, ocasionados por el incremento de temperatura que provocan las ondas de ultrasonido y su interacción con el tejido. También el modelado de un transductor capaz de posicionar un foco de US en una zona del cerebro de una rata en el cual se estudió la propagación acústica real para la generación de un foco de US posicionado en la *substantia nigra* y los aumentos de temperatura resultantes en el tejido. Se realizó la caracterización de los transductores usados en los montajes electrónicos para producir el efecto de cavitación, así como la medición de las propiedades de *phantoms* de tejido, que nos ayudarán como objeto receptor de las ondas ultrasónicas. Por último, se presenta un montaje instrumental que permita la producción de cavitación acústica, analizando las señales producidas con un espectrograma de frecuencias. La producción científica durante este trabajo de investigación comprende 2 artículos de congresos internacionales que se anexan en los apéndices finales.

Abstract

Neurodegenerative diseases, like Parkinson disease, represent a problem in the population because the complications that these diseases produce and the way of how the quality of life is been affected. In an anatomic level, there is a barrier in the brain that does not allow the cross of substances in specific areas, which complicate the drug delivery that help to attack these diseases. Over the time, there it has been developed techniques for the opening temporary this barrier what will allow the specific drug delivery of drugs, like the focused ultrasound. However, some of these techniques are considered too invasive because they require the remove of a piece of skull from the head for the right functioning. During the ultrasound exposition, appear some acoustic phenomena that it has been point of study, these studies will allow some control over these phenomena for a better exploitation.

The purpose of this thesis work is the study of the acoustic cavitation phenomena in a controlled way produced by transducers, emitting an ultrasonic beam in a phantom model for later application in the transcranial opening of the blood-brain barrier with focused ultrasound in murine models. Between the developed points in this work are the optimization and validation of the last protocol proposed inside LAREMUS for the opening of the blood-brain barrier with the craniotomy's technique and the use of microbubbles. The *in-vivo* experiments were made in union with the Physiology, Biophysics and Neurosciences of CINVESTAV, under the protocol # 162-15 approved by the ethic committee to make procedures in animals. This protocol seeks to eliminate tissue damage near to the focus of the FUS, produced by temperature increases caused by ultrasound waves interacting with tissue. Also, the modeling of a proposed transducer able to position a US focus in a specific zone of the brain of a rat in which was study the acoustic propagation for the US focus generation positioned in the *substantia nigra* and the temperatures increases produced in the tissue. It has been made the transducer characterization used in the electronic mounting for the acoustic cavitation production and the measurement of phantoms properties, that help us as a receptor of ultrasonic waves. By last, it is presented an instrumental mounting that allow the production of acoustic cavitation, analyzing the signals obtained with a frequency spectrogram. The scientific production during this investigation work includes 2 international congress papers annexed in the final appendices.

Índice general

Introducción	1
1.1 Organización de la tesis	1
Antecedentes	4
2.1. Ultrasonido	4
2.1.1. Propiedades del sonido	4
2.1.1.1. Compresión y rarefacción	4
2.1.1.2. Periodo y frecuencia.....	5
2.1.1.3. Velocidad de propagación.....	5
2.1.1.4. Longitud de onda.....	6
2.1.1.5. Atenuación	6
2.1.1.6. Ciclo de trabajo	7
2.1.1.7. Impedancia acústica.....	7
2.1.1.8. Presión acústica.....	8
2.1.1.9. Intensidad acústica.....	8
2.2. Transductores de ultrasonido	9
2.2.1. Efecto piezoeléctrico	10
2.2.2. Componentes de transductores	10
2.3. Ultrasonido focalizado	12
2.4. Enfermedad de Parkinson	13
2.5. Barrera hematoencefálica.....	14
2.6. Microburbujas	15
2.6.1. Microburbujas SonoVue	16
2.7. Fenómeno de cavitación.....	17
2.8. Método de Elemento Finito (FEM).....	18
2.9. COMSOL <i>Multiphysics</i> ®.....	19
2.9.1.- Módulo de acústica	20
2.9.2.- Módulo de transferencia de calor	20
Estado del arte.....	22
3.1. Ultrasonido focalizado	22
3.2. Ultrasonido focalizado para la apertura de la BHE	23

3.3. Detección de cavitación con emisión ultrasónica	26
3.4. Trabajo dentro de LAREMUS	27
Planteamiento del proyecto	29
4.1. Definición del problema	29
4.2. Justificación de la tesis	30
4.3. Objetivos de la tesis.....	30
4.3.1. Objetivo general	30
4.3.2. Objetivos específicos.....	31
Metodología	32
5.1. Optimización del protocolo para apertura de BHE.....	32
5.1.1. Elaboración de cono.....	32
5.1.2. Protocolo de aplicación de FUS en modelos <i>in vivo</i>	33
5.2. Modelado por método de elemento finito.....	36
5.2.1. Modelado de propagación acústica	37
5.2.1.1. Geometría empleada.....	37
5.2.1.2. Bases teóricas y condiciones de contorno	38
5.2.1.3. Discretización del dominio.....	40
5.2.1.4. Estudio de propagación acústica.....	40
5.2.2. Modelado de calentamiento	41
5.2.2.1. Bases teóricas y condiciones de contorno	41
5.2.2.2. Estudio de bioalentamiento	42
5.3.- Caracterización de los transductores	43
5.3.1. Medición de respuesta de impedancia	43
5.3.2. Medición del SWR	45
5.3.3. Medición de campos acústicos.....	46
5.3.3.1. Materiales y equipos para la medición de campo acústico	46
5.3.3.2. Mediciones de campo acústico en los transductores	47
5.3.4. Medición de ancho de banda en transductores de inmersión	48
5.4. Elaboración de <i>phantoms</i>	50
5.4.1. Materiales y procedimientos.....	50
5.4.1.1. Phantom de agarosa	51
5.4.1.2. <i>Phantom</i> de grafito	53
5.4.2. Medición de velocidad de ultrasonido.....	54

5.4.3. Medición de atenuación.....	56
5.5. Propuesta de protocolo para detección de cavitación	58
5.5.1. Material y equipo	58
5.5.2. Montaje empleado propuesto	59
5.5.3. Procesamiento	63
Resultados.....	64
6.1. Apertura de la BHE.....	64
6.2. Modelado por el método del elemento finito	66
6.2.1. Modelado de propagación acústica.....	66
6.2.2. Modelado de bioalentamiento.....	67
6.3. Caracterización eléctrica de transductores.....	68
6.3.1. Mediciones impedancia, SWR y campo acústico de transductor de terapia de 1 MHz.....	68
6.3.2. Mediciones de impedancia, SWR y campo acústico de transductor HIFU de 2 MHz.....	71
6.3.3 Mediciones de ancho de banda de los transductores de inmersión. .	73
6.4. Propiedades de <i>phantoms</i>	76
6.4.1. Resultados de <i>phantom</i> realizados	76
6.4.2. Velocidad y atenuación de ultrasonido en <i>phantoms</i>	77
6.5. Señales de detección de cavitación.....	78
Discusión	83
7.1. Apertura de la BHE.....	83
7.2. Modelos por el método de elemento finito	84
7.3. Caracterización de transductores	87
7.4. Detección de cavitación en modelos <i>phantoms</i>	88
Conclusiones y perspectivas.....	92
Conclusiones	92
Perspectivas a futuro	93
Producción científica.....	95
Referencias.....	96
Apéndice A.	101
Apéndice B.	102

Índice de figuras

Fig. 2.1. Recepción y transmisión de señales ultrasónicas por efecto piezoeléctrico [2].	10
Fig. 2.2. Componentes de un transductor mono elemento [4].	12
Fig. 2.3. Formas de focalizar el haz ultrasónico [2].	13
Fig. 2.4. Estructura de la barrera hematoencefálica [8].	14
Fig. 2.5. Diagrama de una microburbuja construida para entrega de medicamento [10].	16
Fig. 2.6. Formación del fenómeno de cavitación en un medio líquido [12].	18
Fig. 5.1. Visualización del cono a elaborar en software Apex.	33
Fig. 5.2. Modelo animal de la sepa Wistar.	34
Fig. 5.3. Administración de anestésico por la vía intraperitoneal.	35
Fig. 5.4. Diagrama de montaje para la aplicación de FUS.	36
Fig. 5.5. Geometría diseñada para el modelado de un transductor en un medio. El número 1 representa el piezoeléctrico cóncavo del transductor y el 2 el medio de propagación.	37
Fig. 5.6. Geometría propuesta del transductor: (1) representa el transductor, (2) medio de propagación, (3) representa el tejido cerebral y el (4) es el cráneo de un modelo de rata.	38
Fig. 5.7. Sistema de conexión para la medición de impedancia. (A) Analizador de impedancias, (B) sonda de analizador de impedancias, (C) Imagen genérica de un transductor.	44
Fig. 5.8. Montaje empleado para las mediciones de SWR en los transductores. Previo a la conexión directa del equipo al transductor se realiza la calibración del equipo.	46
Fig. 5.9. Montaje del sistema empleado para la medición de campo acústico del transductor HIFU de 2 MHz.	47
Fig. 5.10. Montaje empleado para la medición de velocidad de ultrasonido.	55
Fig. 5.11. Montaje empleado para las mediciones de atenuación	57
Fig. 5.12. Montaje propuesto para la detección de cavitación en modelos <i>phantoms</i> . (A) representa el transductor emisor (terapia o HIFU), (B) representa el transductor de inmersión receptor y (C) representa material absorbente acústico.	60
Fig. 5.13. Comparación de pulsos emitidos con señales recibidas para la determinación de ciclo útil.	61

Fig. 5.14. Determinación de tiempos de transmisión en base a las distancias a las que se colocaron los transductores en el montaje de detección de cavitación.	63
Fig. 6.1. Cono manufacturado dentro del laboratorio. Se muestra el empaque colocado con el componente de látex que contendrá el medio de propagación del ultrasonido (agua bidestilada).	64
Fig. 6.2. Cerebro con marcas de tinción por parte del colorante azul de Evans. La tinción es más notoria ya que el sitio de inyección del colorante es por otra vía a diferencia de los protocolos pasados.	65
Fig. 6.3. Corte realizado al cerebro del modelo murino realizado en el vibratomo.	65
Fig. 6.4. Propagación acústica con diferentes transductores, (A) 500 kHz, (B) 2 MHz, (C) 3.5 MHz.	66
Fig. 6.5. Niveles de presión acústica diferentes frecuencias sobre el eje axial.	67
Fig. 6.6. Propagación de calentamiento el tejido simulado de un modelo murino.	68
Fig. 6.7. Gráfica de medición de impedancia de transductor de terapia.	69
Fig. 6.8. Gráfica de medición de SWR de transductor de terapia.	69
Fig. 6.9. Mapa de distribución acústica del haz producido por el transductor de terapia.	70
Fig. 6.10. Distribución de presión acústica sobre el eje Z del transductor de terapia.	71
Fig. 6.11. Gráfica de medición de impedancia del transductor focalizado.	71
Fig. 6.12. Gráfica de medición de SWR del transductor focalizado.	72
Fig. 6.13. Distribución de campo acústico del transductor focalizado.	73
Fig. 6.14. Gráfica de presión acústica distribuida a lo largo del eje Z del transductor focalizado.	73
Fig. 6.15. Gráfica de admitancia de los transductores de inmersión de 1 MHz, la línea punteada representa el transductor emisor del pulso mientras que la sólida representa al receptor.	74
Fig. 6.16. Gráfica de admitancia de los transductores de inmersión de 3.5 MHz, la línea punteada representa el transductor emisor del pulso mientras que la sólida representa al receptor.	74
Fig. 6.17. Gráfica de admitancia de los transductores de inmersión de 5 MHz, la línea punteada representa el transductor emisor del pulso mientras que la sólida representa al receptor.	75

Fig. 6.18. Espectros de frecuencias de cada par de transductor de inmersión. La línea azul representa los transductores de 1 MHz, la roja los de 3.5 MHz y la línea negra los de 5 MHz.....	75
Fig. 6.19. Modelo <i>phantom</i> de agarosa	76
Fig. 6.20. Modelo <i>phantom</i> de grafito	77
Fig. 6.21. – Valores de atenuación de las muestras de los <i>phantoms</i> elaborados con agarosa y grafito.	78
Fig. 6.22. Señal pulsada de baja potencia (5 W) con su espectrograma.	79
Fig. 6.23. Señal pulsada de alta potencia (24 W) con su espectrograma.	79
Fig. 6.24. Gráfica de probabilidades de aparición del fenómeno de cavitación acústica en el <i>phantom</i> de agarosa.	80
Fig. 6.25. Señal de baja potencia en un <i>phantom</i> de grafito con su espectrograma obtenido.	81
Fig. 6.26. Señal de alta potencia en un <i>phantom</i> de grafito con su espectrograma obtenido.	81
Fig. 6.27. Gráfica de probabilidades de aparición del fenómeno de cavitación acústica en un <i>phantom</i> de grafito.	82

Índice de tablas

Tabla 2.1. Coeficientes de acople electromagnético de materiales piezoeléctricos.	10
Tabla 2.2. Características de microburbujas <i>SonoVue</i>	17
Tabla 5.1. Características de aplicación de ultrasonido para el protocolo previo establecido en el laboratorio [62].	35
Tabla 5.2. Propiedades acústicas del tejido simulado [65, 66].	41
Tabla 5.3. Propiedades térmicas de los tejidos simulados.	43
Tabla 5.4. Características de la señal emitida.	60
Tabla 6.1. Valores de velocidad de sonido y atenuación en los modelos <i>phantoms</i>	77
Tabla 6.2. Valores medios de intensidad, duración y frecuencia de aparición del fenómeno de cavitación en el phantom de agarosa.....	80
Tabla 6.3. Valores medios de intensidad, duración y frecuencia de aparición del fenómeno de cavitación en el <i>phantom</i> de grafito.....	82

Capítulo 1

Introducción

La enfermedad de Parkinson es una de las muchas enfermedades neurodegenerativas que afectan a la población mundial. En México no se tienen cifras exactas, pero siendo la población del país de aproximadamente 130 millones de habitantes hasta 2017 podría entonces verse una relación de casos el cual daría un indicativo del avance que puede llegar a tener.

Para confrontar esta enfermedad, existen diferentes tratamientos que, a su vez, presentan problemas de ejecución debido a una barrera protectora y limitadora de ciertas moléculas que se encuentra en el cerebro llamada barrera hematoencefálica (BHE). Intentando buscar alternativas para abrir la BHE sin producirle un daño importante se encontró el ultrasonido focalizado (FUS), una herramienta muy efectiva que logra la apertura de la BHE con daños mínimos y con la gran característica de abrirla de forma temporal.

Dentro del LAREMUS, se ha logrado implementar protocolos de aplicación de FUS para lograr la apertura de la BHE con el empleo de craneotomías a un modelo murino de la sepa Wistar, siendo los efectos térmicos los que producen esta apertura y al mismo tiempo produciendo daños menores en el tejido cerebral.

1.1 Organización de la tesis

El trabajo presente muestra una propuesta para la aplicación de un haz ultrasónico y su detección enfocándose en encontrar el fenómeno de cavitación no inercial en *phantoms* con propiedades diferentes empleando diferentes tipos de transductores, tanto focalizados como planos empleados en terapia con diferentes niveles de potencia aplicada, con la finalidad de conocer la forma en que dicho fenómeno puede afectar el tejido al que es dirigido a ciertos niveles de

potencia. La descripción anterior surge como parte de la línea de investigación sobre la apertura de la barrera hematoencefálica (BHE) con la aplicación de ultrasonido focalizado (FUS), un trabajo que se lleva en conjunto con el departamento de fisiología, biofísica y neurociencias del CINVESTAV.

Entre los métodos experimentales realizados para la finalización del trabajo presente se destacan la optimización del protocolo vigente dentro de (LAREMUS) para la apertura de la BHE con la aplicación de FUS, llevando a cabo los cambios en los niveles de potencia para disminuir los incrementos de temperatura producidos que dañan el tejido cerebral. Con la finalidad de mejorar este protocolo a futuro, se llevó a cabo el modelado y simulación de un transductor capaz de lograr la apertura de la BHE eliminando la técnica de craneotomías que se emplea actualmente, haciéndolo de una manera menos invasiva.

Los trabajos de cavitación comprenden la caracterización de los transductores emisores empleados comenzando con la medición de fase, impedancia y la razón de onda estacionaria, SWR (*standing-wave ratio*, por sus siglas en inglés) así como su medición de campo acústico. También se realizó la elaboración de *phantoms*, explicando la metodología para realizarlos y la medición de sus características acústicas. Por último, se presenta la propuesta de aplicación de FUS para la detección del fenómeno de cavitación, comprendiendo el montaje realizado y el procesamiento por computadora seguido en computadora para la presentación de resultados.

La división de esta tesis es presentada en forma de capítulos, 8 para ser más exactos. El capítulo 2 muestra los conceptos básicos y teoría necesaria sobre ultrasonido, fenómenos, transductores y modelos para la comprensión del trabajo realizado. Para conocer en donde estamos como investigadores se presenta en el capítulo 3 los trabajos relacionados a nuestra investigación. El capítulo 4 presenta la motivación y justificación de nuestro trabajo, así como los objetivos a completar. El capítulo 5 explica toda la metodología seguida durante el tiempo invertido tanto de trabajo sobre modelado y experimental con ultrasonido. Se presentan en el capítulo 6 los resultados obtenidos de la

metodología seguida en el capítulo 5. Los capítulos 7 y 8 responden las discusiones, conclusiones y perspectivas a las que se llegaron al final de cada proceso y lo que se tiene pensado a futuro. Como trabajo extra se agrega los productos obtenidos que se expusieron en congresos, además de la documentación de control de animales empleados durante la experimentación.

Capítulo 2

Antecedentes

2.1. Ultrasonido

En un nivel fundamental, el sonido es energía mecánica transmitida por ondas de presión en un medio material. Esta definición general comprende a todos los tipos de sonidos incluyendo sonido audible, ondas de baja frecuencia y ultrasonido utilizado en imágenes para diagnósticos. El ultrasonido es un disturbio mecánico que se mueve como una onda de presión a través del medio [1]. Es conocido como ultrasonido cuando el movimiento de ondas acústicas supera el valor de 20 kHz en frecuencia [2].

Sin embargo, para propósitos de diagnóstico médico se utilizan frecuencias mucho más altas, normalmente en el rango de 2-10 MHz. Para algunas aplicaciones especiales como en imágenes de la piel o estudios intravasculares las frecuencias empleadas pueden superar los 20 MHz [3].

2.1.1. Propiedades del sonido

2.1.1.1. Compresión y rarefacción

Una onda de sonido viaja lejos de la fuente, llenando el medio afectado con energía vibratoria. El desplazamiento de ida y vuelta de la fuente comprime y libera a las partículas en el medio, el cual jala y empuja las moléculas cercanas. En los lugares en donde las moléculas son empujadas, si se tomara una muestra instantánea, es llamada región de compresión. Aquí la densidad del medio es ligeramente mayor de la que sería si la onda estuviera ausente. Las áreas en donde las moléculas son apartadas en el instante de muestra instantánea son llamadas regiones de rarefacción [2].

2.1.1.2. Periodo y frecuencia

Una manera útil de expresar el comportamiento temporal de una onda de sonido es graficar la presión respecto al tiempo con punto singular en el medio. La curva resultante es una onda senoidal. El número de veces por segundo en que se presenta una perturbación y que es repetida en cualquier punto es llamada frecuencia. La frecuencia de una onda de sonido es determinada por el número de oscilaciones por segundo producida por la fuente de sonido [2].

$$T = \frac{1}{f} \quad (2.1)$$

donde la frecuencia (f) y el periodo (T) son inversamente proporcionales. El tiempo que toma la perturbación de repetirse a sí mismo es el periodo.

2.1.1.3. Velocidad de propagación

La velocidad de onda ultrasónica través de un medio varía con las propiedades físicas del mismo. En medios con baja densidades tales como el aire u otros gases, las moléculas pueden desplazarse sobre distancias relativamente largas antes de influir en su molécula vecina. En este tipo de medios la velocidad del ultrasonido es relativamente bajo. En sólidos, las moléculas son contraídas durante su movimiento y su velocidad se vuelve relativamente alta. Los líquidos muestran velocidades ultrasónicas intermedias entre gases y sólidos [1].

Con la notable excepción de huesos o los pulmones, los tejidos biológicos alcanzan velocidades aproximadamente similares a la velocidad del ultrasonido en líquidos. En diferentes medios, los cambios en velocidad se ven reflejados en cambios en la longitud de onda de las ondas ultrasónicas, con una frecuencia relativamente constante [1].

La velocidad del sonido en cualquier medio está determinada principalmente por las características del medio (existen otras consideraciones ligeras tal como la frecuencia ultrasónica, pero son más pequeñas que se pueden considerar despreciables). Específicamente, para ondas de sonido longitudinal

en cualquier líquido o tejido del cuerpo la expresión para la velocidad del sonido, c , se define por [2]:

$$c = \sqrt{\frac{B}{\rho}} \quad (2.2)$$

donde B es una propiedad del medio llamada módulo de Bulk. Es una medición de rigidez del material conocido como la resistencia del material de forma comprimida. El símbolo ρ es la densidad del material, dado en gramos por centímetro cúbico o kilogramos por metro cúbico.

2.1.1.4. Longitud de onda

La longitud de onda es la distancia entre 2 picos, valle u otro punto correspondiente en la onda. Es la distancia que viaja la onda de sonido durante un ciclo de onda completo. La longitud de onda es usualmente designada por el símbolo λ .

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (2.3)$$

Esta depende de la frecuencia, f , y la velocidad del sonido en el medio, c . Por lo tanto, la longitud de onda es simplemente la velocidad del sonido dividida por la frecuencia ultrasónica [2].

2.1.1.5. Atenuación

Así como el haz ultrasónico atraviesa un medio, hay energía que es removida de dicho haz debido a la absorción, al *scattering* y la reflexión. El término atenuación se refiere a cualquier mecanismo que elimina energía del haz ultrasónico. El ultrasonido es “absorbido” por el medio si parte de la energía del haz es convertida en otra forma de energía. El ultrasonido es “reflejado” si existe una desviación ordenada de todo o parte del haz ultrasónico. Si parte del haz cambia de dirección de una forma menos ordenada se describe a este evento como “scatter” [1].

El comportamiento de haz de sonido cuando se encuentra un obstáculo depende del tamaño de dicho obstáculo en comparación con la longitud de onda del sonido. Si el tamaño del obstáculo es grande en comparación con la longitud de onda (y si el obstáculo es relativamente suave), entonces el haz retiene su integridad mientras cambia de dirección. Parte del haz ultrasónico puede ser reflejado y lo restante transmitido a través del obstáculo como un haz de baja intensidad [1].

2.1.1.6. Ciclo de trabajo

El ultrasonido terapéutico se puede aplicar en forma continua o forma pulsada. Este último tipo de aplicación se caracteriza por modular la onda emitida con ayuda de una repetición de señal cuadrada a cierto valor de frecuencia. También se le conoce como ciclo de trabajo o *duty cycle*. Se explica por la relación existente entre la señal de estado activo (τ) y el periodo de la señal moduladora (T).

$$DT = \frac{\tau}{T} \quad (2.4)$$

2.1.1.7. Impedancia acústica

Una de las características importantes relacionada a la propagación del sonido es la impedancia acústica del medio en el cual el sonido viaja. En la mayoría de las aplicaciones de ultrasonido para diagnóstico, se usa ondas ultrasónicas reflejadas en interfaces entre diferentes tejidos de los pacientes. La fracción de energía aplicada reflejada de una interfaz depende de la diferencia de impedancia acústica del medio lados opuestos de la interfaz. La impedancia acústica Z de un medio es el producto de la densidad del medio ρ y la velocidad del ultrasonido en el mismo medio [1]:

$$Z = \rho c \quad (2.5)$$

Como a su análogo, impedancia eléctrica, la impedancia acústica es una medición de la facilidad con la cual las ondas de sonido se propagan a través de

un medio en particular. Con un gran desajuste de impedancia en una interfaz, gran cantidad de energía ultrasónica es reflejada y solo una pequeña cantidad es transmitida a través de la interfaz. Por ejemplo, un haz de ultrasonido es reflejado en interfaces aire-tejido y aire-agua ya que la impedancia del aire es mucho menor que la del tejido o el agua.

2.1.1.8. Presión acústica

Una cantidad acústica utilizada frecuentemente para cuantificar la magnitud de la onda es la presión acústica. Es conocido el término “presión atmosférica”, la presión estable debido al peso del aire en cualquier punto de la tierra. Si fuera posible medir la presión total en diferentes puntos del haz ultrasónico de un transductor lineal, el resultado se vería como un valor constante. Entre mayor es el valor de magnitud de onda, mayor será la amplitud de la presión. La presión acústica es medida en Pascales [2].

2.1.1.9. Intensidad acústica

Cuando las ondas ultrasónicas pasan a través de un medio transportan energía a través del medio. El tipo de energía que transportan es conocido como “potencia”. El ultrasonido médico es producido en haces que son usualmente focalizados en una pequeña área, este haz es descrito en términos de potencia por unidad de área, definido como “intensidad” del haz.

La intensidad es usualmente descrita relacionada a alguna referencia establecida. Por ejemplo, La intensidad de las ondas ultrasónicas enviadas a un cuerpo pueden ser comparadas con las reflejadas en la superficie de algunas estructuras en el cuerpo. Para muchas situaciones clínicas, las ondas reflejadas en la superficie pueden ser tanto como una centésima parte de la intensidad transmitida en forma de ondas. Las ondas reflejadas de estructuras de 10 cm o más de profundidad de la superficie pueden ser más bajas en intensidad por un factor más grande.

Una escala logarítmica es la más apropiada para el almacenamiento de datos en un rango de un orden de magnitud muy grande. En acústica se utiliza como decibel como escala definido por:

$$dB = 10 \log \frac{I}{I_0} \quad (2.6)$$

donde I_0 es la intensidad de referencia.

2.2. Transductores de ultrasonido

El termino transductor se refiere a cualquier dispositivo que es utilizado para convertir señales o energía de un tipo a otra. En medicina muchos de los transductores responden a un parámetro específico convirtiendo valores detectados en señales eléctricas. Los transductores ultrasónicos convierten energía acústica a señales eléctricas y, energía eléctrica en energía acústica debido a que se usan como detectores y transmisores de ondas ultrasónicas por efecto piezoeléctrico [2].

Una forma común para calificar la eficiencia de un transductor se define por la fracción de energía aplicada que es convertida en la energía deseada. Para un transductor de ultrasonido esta definición de eficiencia es descrita como el coeficiente de acople electromecánico k_c . Si se aplica energía mecánica obtenemos:

$$k_c^2 = \frac{\text{Energía mecánica convertida a energía eléctrica}}{\text{Energía mecánica aplicada}}$$

Si se es aplicada energía eléctrica obtenemos:

$$k_c^2 = \frac{\text{Energía eléctrica convertida a energía mecánica}}{\text{Energía eléctrica aplicada}}$$

Algunos valores para k_c para ciertos cristales piezoeléctricos se encuentran en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Coeficientes de acople electromagnético de materiales piezoeléctricos.

Material	Coeficiente de acople electromecánica (k_c)	Punto de Curie ($^{\circ}\text{C}$)
Cuarzo	0.11	50
Sal de Rochelle	0.78	45
Titanato de bario	0.30	120
Titanato de zirconato de plomo (PZT-4)	0.70	328
Titanato de zirconato de plomo (PZT-5)	0.70	365

2.2.1. Efecto piezoeléctrico

Este fenómeno explica lo siguiente: “Cuando es aplicada una fuerza de manera perpendicular al frente de un cristal de cuarzo, resulta una carga eléctrica. Esta carga puede ser detectada y amplificada produciendo una señal eléctrica aprovechable. De manera inversa, si una señal eléctrica es aplicada al cristal, el cristal vibrará, enviando una onda de sonido a través del medio” [2].

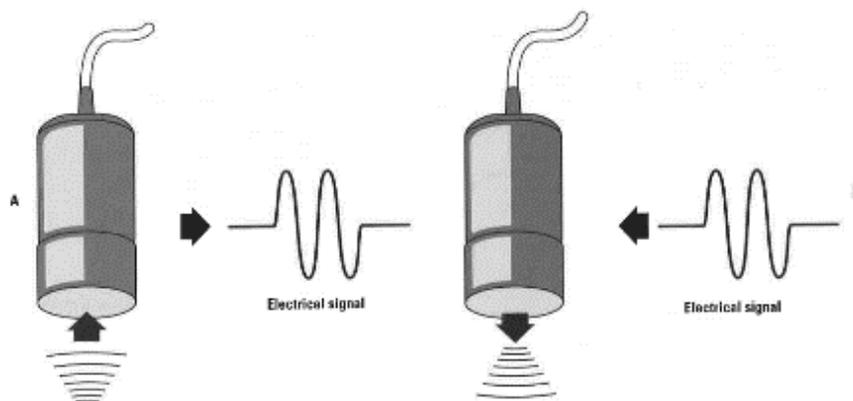


Fig. 2.1. Recepción y transmisión de señales ultrasónicas por efecto piezoeléctrico [2].

2.2.2. Componentes de transductores

La construcción de los transductores incluye las conexiones eléctricas, una caja, elementos de protección y componentes de amortiguación, así como el material

piezoeléctrico [4]. Los elementos principales que componen a un transductor son los descritos a continuación y mostrados en el diagrama de la Fig. 2.3.

Material piezoeléctrico: el material piezoeléctrico en el transductor es utilizado como fuentes o receptor de ultrasonido. En muchos casos, el mismo transductor tiene ambas funciones. Esto tiene la ventaja que solo se necesita un solo dispositivo, ahorrando en costos y complejidad, y puede garantizarse que las posiciones de emisión y recepción son la misma. Una desventaja es que la circuitería electrónica a la cual el dispositivo es conectado debe lidiar con señales de transmisión y recepción [4].

Backing: el material de amortiguación mecánica, usualmente llamado *backing*, y las capas de acoplamiento afectan la respuesta teórica al impulso del material piezoeléctrico. Para proveer una buena amortiguación, el *backing* deberá ser bien adaptado a la impedancia acústica del material piezoeléctrico para tener un valor alto de atenuación ultrasónica para prevenir eco en el mismo transductor. Algunas veces también la forma del transductor previene este tipo de ecos [4].

Cubierta (*casing*): aparte de su obvia función de protección física y de prevenir el ingreso de materiales líquidos, la cubierta es además necesario para proveer blindaje eléctrico. Algunas veces esto podría ser configurado como una jaula de Faraday, involucrando un blindaje eléctrico en el recorrido ultrasónico entre el elemento piezoeléctrico y el medio ultrasónico. Esto puede ser logrado de diferentes maneras: mediante el uso de una lámina conductora, una malla conductora o una composición de partículas conductoras en una matriz de polímeros [4].

Cableado: el cableado es en su mayoría coaxial, aunque se emplean en algunas situaciones cortos pares de cable trenzado o cables separados para la señal a obtener y el aterrizaje a tierra. Generalmente, el cable debe ser compatible con señales muy pequeñas recibidas, del orden de microvolts o unos pocos milivolts, y un buen blindaje es esencial. En los arreglos de transductores

es usual tener cables separados micro-coaxiales para cada elemento transductor para tener la posibilidad de un valor multiplexado [4].

Circuitería electrónica: la circuitería electrónica en un sistema de ultrasonido normalmente es colocado al final del cable de retorno del transductor [4].

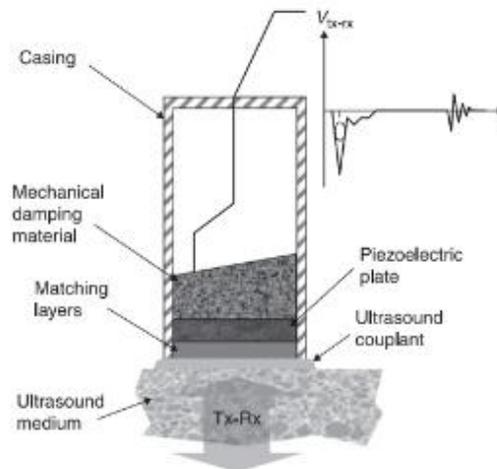


Fig. 2.2. Componentes de un transductor mono elemento [4].

2.3. Ultrasonido focalizado

Si un material cerámico piezoeléctrico es amoldado de forma de una capa curva esférica delgada, la energía radiada proveniente de la superficie cóncava tenderá a ser focalizada cerca del centro de la curvatura y si las dimensiones satisfacen ciertas restricciones, la focalización tendrá muy buena forma. Tales radiadores han sido utilizados para producir altas intensidades localizadas para varios propósitos, incluyendo el estudio de cavitación en líquidos [5].

Los transductores de un solo elemento logran la focalización por 3 métodos distintos [2]:

- a) Colocando un lente acústico cóncavo en un elemento piezoeléctrico plano.
- b) Utilizar un elemento piezoeléctrico curvo focalizador de ultrasonido.
- c) Formando un arreglo de transductores planos pequeños que focalizan por medio de pulsaciones.

El método más común de los 3 es el que emplea un elemento piezoeléctrico curvo. La fig. 2.4 muestra cada uno de los métodos [2].

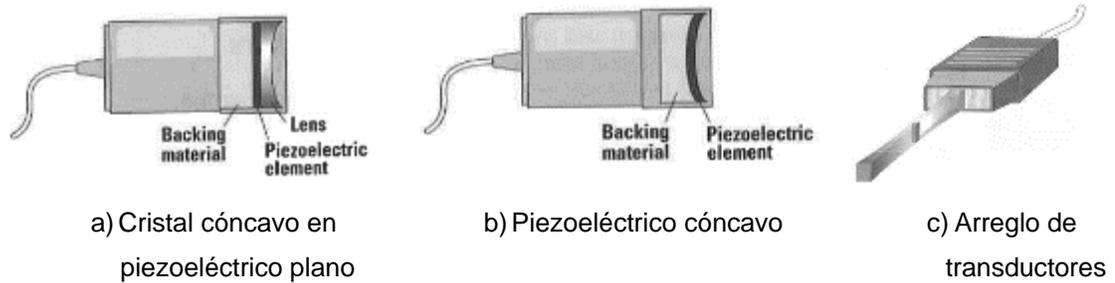


Fig. 2.3. Formas de focalizar el haz ultrasónico [2].

2.4. Enfermedad de Parkinson

La Enfermedad de Parkinson (EP) es un síndrome parkinsoniano lentamente progresivo que comienza de manera insidiosa, empeora gradualmente en gravedad y por lo general afecta a un lado del cuerpo antes de extenderse para afectar al otro lado [6]. El temblor de reposo, porque es muy obvio, es a menudo el primer síntoma reconocido por el paciente. Pero la enfermedad a veces comienza con bradicinesia, y en algunos pacientes, el temblor puede no desarrollarse nunca. Hay un empeoramiento constante de los síntomas con el tiempo que, si no se trata, conduce a una discapacidad con inmovilidad severa y caídas [6].

A medida que la EP progresa con el tiempo, se desarrollan síntomas como la postura flexionada, el fenómeno de congelación y la pérdida de los reflejos posturales. Son particularmente estos síntomas motores intratables los que conducen a la discapacidad de aumentar la inmovilidad y las dificultades de equilibrio [6].

Si bien los síntomas motores de la EP dominan el cuadro clínico, e incluso definen el síndrome parkinsoniano, muchos pacientes con EP tienen otras quejas que se han clasificado como no motoras. Estos incluyen fatiga, depresión, ansiedad, alteraciones del sueño, estreñimiento, vejiga y otras alteraciones autonómicas (sexuales, gastrointestinales), quejas sensoriales, disminución de la motivación y la apatía, lentitud en el pensamiento y un deterioro de la cognición que puede progresar a demencia [6].

La incidencia (mundial) de la EP es de 18 nuevos casos por cada 100,000 habitantes. En países como México no tenemos cifras confiables de incidencia y prevalencia. El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) contaba en 2016 con 62,161,705 derechohabientes; tomando en cuenta la pirámide poblacional y su comportamiento futuro, la EP se convierte en una enfermedad de gran interés y problema de salud epidemiológico [7].

2.5. Barrera hematoencefálica

Para resolver los requerimientos de administración de oxígeno y nutrientes al cerebro, así como evitar el paso de macromoléculas con dimensiones mayores a 20 nm, los vasos cerebrales presentan modificaciones formando la barrera hematoencefálica, una barrera bioquímica y estructura altamente selectiva [8].

Desde el punto de vista anatómico, la barrera hematoencefálica consiste en células endoteliales capilares y membrana basal, la membrana neuroglial y los pies terminales gliales (proyecciones de astrocitos desde el lado encefálico de la barrera). Desde el punto de vista funcional, la barrera hematoencefálica difiere en dos aspectos de la barrera análoga en otros tejidos. En primer lugar, las uniones entre las células endoteliales en el encéfalo son tan «herméticas» que pocas sustancias pueden cruzar entre las células. Y, en segundo lugar, solo unas pocas sustancias pueden pasar a través de las células endoteliales: las sustancias liposolubles (p. ej., oxígeno y dióxido de carbono) pueden atravesar la barrera hematoencefálica, mientras que las sustancias hidrosolubles no pueden abrirse paso a través de ella [9].

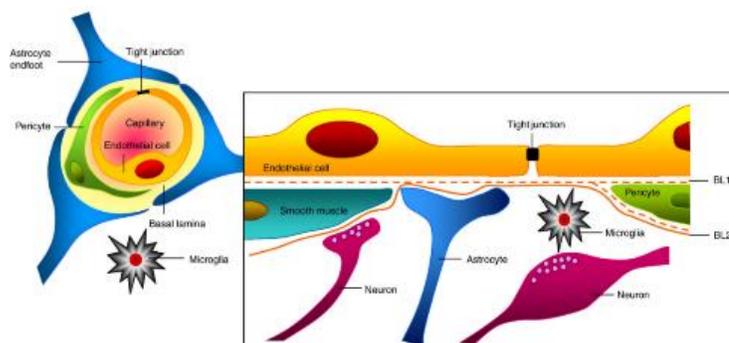


Fig. 2.4. Estructura de la barrera hematoencefálica [8].

Con el objetivo de lograr una permeabilidad más restrictiva, la barrera hematoencefálica tiene características específicas comparadas con otras células endoteliales [8]:

- Un número menor de células endocíticas las cuales limitan el flujo transcelular.
- No apertura de las superficies.
- Alta resistencia eléctrica debido a las *tight junctions* que restringen la cantidad de flujo paracelular.
- Alto volumen mitocondrial reflejante a alto metabolismo celular.

2.6. Microburbujas

Los agentes de contraste son ampliamente utilizados en imagenología, pero hasta recientes trabajos han tenido un pequeño espacio en ultrasonografía. Esto ha cambiado con la introducción de microburbujas (MB), pequeñas (típicamente 3 μm de diámetro) burbujas llenas de gas que son administradas usualmente por inyección intravenosa. Inyectar gas en la circulación podría ser potencialmente peligroso, pero la experiencia clínica ha demostrado que volúmenes pequeños de aire o gas (por debajo de 200 μl) no es peligroso y la seguridad de las microburbujas se comparan bien con los agentes convencionales en imágenes de radiografía y resonancia magnética [10].

Las MB trabajan de manera resonante en un haz de ultrasonido, contrayéndose y expandiéndose rápidamente en respuesta a los cambios de presión de las ondas de sonido. Las MB, además, vibran particularmente fuerte a altas frecuencias en imágenes de diagnóstico por ultrasonido. Esto las hace cientos de veces más reflejantes que los tejidos del cuerpo [10].

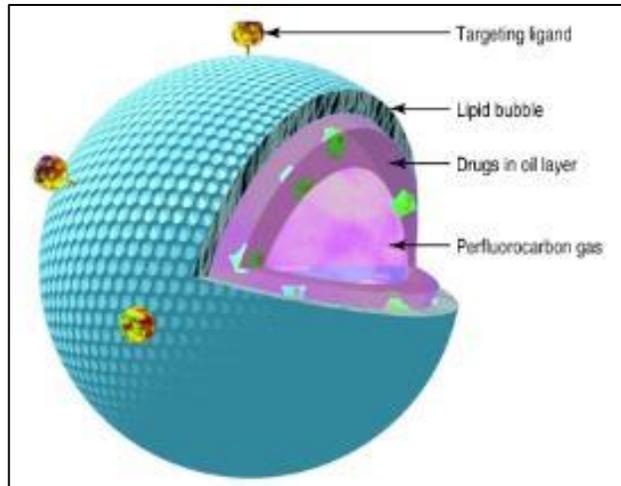


Fig. 2.5. Diagrama de una microburbuja construida para entrega de medicamento [10].

El uso de MB en tratamientos puede ser eventualmente más importante que su uso en diagnósticos. Pueden ayudar en la entrega de medicamentos en ellas mismas (actuando como “núcleos de cavitación”) y como agentes para transportar medicamentos hacia sitios específicos para tratamientos.

El ultrasonido puede potenciar la entrega del fármaco creando perforaciones transitorias no letales en la membrana celular para ayudar al ingreso de moléculas grandes y partículas en las células (“sonoporación”). En general se requiere una gran energía acústica, sustancialmente más allá de lo permitido en imagenología, pero el poder necesario es inmensamente reducido cuando las microburbujas están presentes. Esto se debe a que las MB disminuyen la cantidad de energía necesaria para lograr la cavitación, el proceso en el cual se inducen oscilaciones extremas por pulsos de ultrasonido con el fin de colapsar a las microburbujas [10].

2.6.1. Microburbujas SonoVue

La Tabla 2.2 muestra las características de las microburbujas SonoVue a partir de su hoja de datos [11].

Tabla 2.2. Características de microburbujas *SonoVue*.

Denominación del medicamento	del SonoVue 8 µl/ml, polvo y disolvente para dispersión inyectable.
Composición cuantitativa y cualitativa	Microburbujas de hexafluoruro de azufre 8 µl por ml. Una vez reconstituido, 1 ml de la dispersión resultante contiene 8 µl de hexafluoruro de azufre en microburbujas, equivalente a 45 µg. Las microburbujas tienen un diámetro medio de unos 2,5 µm, el 90% tiene un diámetro inferior a 6 µm mientras que el 99% tienen un diámetro inferior a 11 µm. Cada mililitro de SonoVue contiene 8 µl de microburbujas.
Forma farmacéutica	Polvo y disolvente para dispersión inyectable.

Este medicamento es únicamente para uso diagnóstico. Las microburbujas SonoVue se utilizan para mejorar la imagen por ultrasonidos de la ecogenicidad de la sangre, lo que tiene como resultado una mejoría de la proporción señal-ruido. Estas MB deben utilizarse únicamente en pacientes en los que un estudio sin aumento del contraste no sea concluyente [11].

La interfaz entre la burbuja de hexafluoruro de azufre y el medio acuoso actúa como reflector de la onda ultrasónica mejorando, por tanto, la ecogenicidad sanguínea y aumentando el contraste entre la sangre y el tejido que lo rodea. La reflectividad es dependiente de la concentración de microburbujas y de la frecuencia de la onda ultrasónica [11].

2.7. Fenómeno de cavitación

La cavitación o fenómeno de cavitación hace referencia a la formación y actividad de burbujas en un líquido[12][12]. El término ‘formación’ se refiere a la creación de una nueva cavidad o a la expansión de una existente en la cual los efectos puedan verse en una dimensión macroscópica [12]. También podemos definir a este fenómeno como el comportamiento de burbujas de gas en un campo ultrasónicos [13]. Esta definición también se conoce como cavitación acústica

debido a que las ondas de sonido en un medio líquido presentan variaciones debido a la presión de un haz ultrasónico [12].

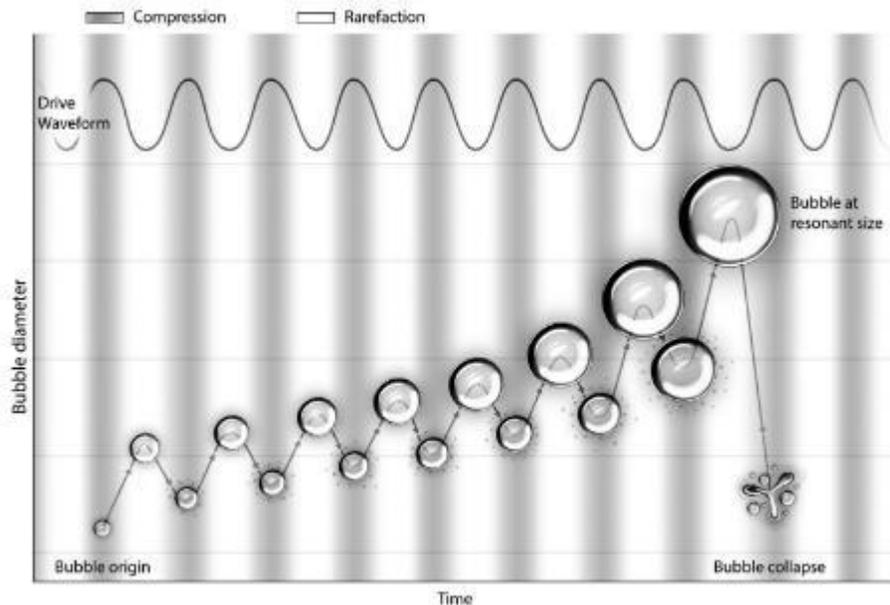


Fig. 2.6. Formación del fenómeno de cavitación en un medio líquido [12].

Cuando el núcleo de cavitación es expuesto a ondas ultrasónicas con suficiente presión, naturalmente se expandirá y contraerá con ciclos de presión de rarefacción (negativo) y compresión (positivo) [12]. Existen 2 tipos diferentes de cavitación: la inercial y la no inercial.

La cavitación inercial se presenta cuando una microburbuja se expande rápidamente y colapsa violentamente en un medio líquido, ocurre normalmente a niveles altos de presión. La cavitación no inercial ocurre a niveles de presión acústica bajos y contraria a la inercial, la microburbuja no colapsa de forma violenta, sino en forma lenta y progresiva. La transmisión acústica, la producción de calor y las fuerzas de radiación pueden ser causados por el movimiento de las burbujas en la cavitación no inercial [13].

2.8. Método de Elemento Finito (FEM)

Cuando queremos encontrar una descripción cuantitativa de un fenómeno físico, comenzamos nuestra búsqueda por plantearnos un conjunto de ecuaciones que caracterizarían el comportamiento físico de dicho problema. Estas ecuaciones,

por lo general, consisten en un sistema de ecuaciones diferenciales o derivadas parciales, en una determinada región o dominio (medio continuo) y las ecuaciones de contorno o iniciales. Dentro de cada elemento, se distinguen una serie de puntos llamados nodos. Se define al conjunto de nodos (considerando sus relaciones de adyacencia) como malla. Los cálculos son realizados sobre una malla o discretización (partición del dominio) creada a partir del dominio con programas especiales llamados generadores de mallas [14].

El método de elementos finitos (MEF o FEM, como es más conocido por sus siglas en inglés), es muy usado debido a su generalidad y a la facilidad de introducción de dominios de cálculos complejos en 2 y 3 dimensiones. Consiste en aproximaciones por funciones de prueba (método aproximado desde múltiples perspectivas: interpolación, discretización, utilización de métodos numéricos). A pesar de la denominación de aproximado, el FEM es una herramienta que nos permite realizar una gran cantidad de análisis en estructuras y componentes complejos, que difícilmente se obtienen por los métodos analíticos clásicos [14].

El FEM se ha convertido en uno de lo más usados para el estudio del comportamiento de sistemas físicos en forma de ecuaciones diferenciales parciales. El método de elemento finito consiste en el uso de una aproximación simple de variables desconocidas para transformar ecuaciones diferenciales en ecuaciones algebraicas. Se basa en las siguientes tres disciplinas [15]:

- Ciencias de la ingeniería para describir leyes físicas (ecuaciones parciales diferenciales).
- Métodos numéricos para la elaboración y solución de ecuaciones algebraicas.
- Herramientas computacionales para llevar acabo los cálculos necesarios eficientemente usando una computadora.

2.9. COMSOL *Multiphysics*®

COMSOL *Multiphysics*® es un poderoso software interactivo para el modelado y la solución de todos los tipos de problemas científicos e ingeniería. El software

proporciona un ambiente de escritorio integrado muy poderoso con un Creador de Modelo en el cual se puede obtener una completa visualización del modelo y acceso a todas las funcionalidades. Con COMSOL *Multiphysics*® se puede extender modelos convencionales físicos en modelos múltiples físicos que resuelven fenómenos acoplados, haciéndolo de manera simultánea [16].

Utilizando las interfaces físicas incorporadas y los apoyos avanzados para las propiedades de los materiales, es posible construir modelos definiendo las cantidades físicas relevantes – tales como propiedades de los materiales, cargas, restricciones, fuentes y flujos – en lugar de definir las ecuaciones que explican el funcionamiento. Se pueden aplicar variables, expresiones o números directamente al sólido y sus dominios de fluidos, fronteras, bordes y puntos independientemente de la malla computacional. Después COMSOL *Multiphysics*® internamente compila un conjunto de ecuaciones representando el modelo por completo [16].

2.9.1.- Módulo de acústica

El módulo de acústica es una colección de interfaces físicas para COMSOL *Multiphysics*® adaptado para una amplia categoría de simulaciones acústicas en fluidos y sólidos. El módulo sirve de apoyo en estudios armónicos en tiempo, modales, transientes para presión en fluidos, así como estática, frecuencia de resonancia y análisis de respuesta en frecuencia para estructuras modeladas. Algunas funcionalidades del módulo son [16]:

- Dominio de frecuencia
- Presión acústica
- Termoacústica
- Piezoelectricidad
- Mecánica de sólidos

2.9.2.- Módulo de transferencia de calor

El módulo de transferencia de calor soporta todos los mecanismos fundamentales de transferencia de calor, incluyendo la transferencia por

inducción, por convección y radiación (por radiación superficie-superficie o superficie-ambiente). Empleando la interfaz de este módulo junto a las capacidades multifísicas de COMSOL se puede modelar un campo de temperatura en paralelo con otras físicas logrando de esa forma una combinación que hace a los modelos más exactos y representativos del mundo real. Algunas de las funcionalidades de esta interfaz son [16]:

- Transferencia de calor entre superficies
- Ecuaciones de bio-calentamiento para sistemas biomédicos
- Transferencia de calor en sistemas porosos
- Capas altamente conductoras de calor en estructuras delgadas
- Flujo de fluidos incompresibles no isotérmicos.

Capítulo 3

Estado del arte

3.1. Ultrasonido focalizado

Algunos de los trabajos de ultrasonido focalizado que se tiene registrados son desde el año 1949 [17] en los que se desarrollan transductores de cristal de cuarzo para la focalización de un haz ultrasónico y para realizar las mediciones de un radiador cóncavo teniendo en cuenta las distribuciones de presión e intensidad en el foco del elemento y de las zonas cercanas a este. Con los estudios realizados el ultrasonido focalizado ha tenido aplicaciones médicas de gran importancia que han permitido la disminución de daños que puedan ocasionar los métodos convencionales que se vuelven más agresivos e invasivos o el caso de tumores en cáncer de seno [18] el cual se aplican una mayor intensidad para llevar a cabo la cirugía teniendo resultados exitosos con menores tiempos de recuperación. Las terapias clínicas son otro de los campos en los que se ha logrado implementar el uso de ultrasonografía focalizada, como por ejemplo el caso de cáncer uterino [19] para la reducción de tejido fibroso empleando sistemas de seguridad avanzados para evitar lesiones a pacientes.

El uso del ultrasonido como estimulador cerebral en técnicas de neuro modulación hace referencia a la ablación en el cual se emplea Ultrasonido Focalizado de Alta Intensidad (HIFU), por el cual se induce una excitación o supresión mínima sin que se provoque evidencia de algún tipo de daño tisular aún en procedimientos transcraneales [20]. Entre los trabajos más novedosos se encuentra el modelado tridimensional de agentes de contraste, como las microburbujas. Un punto importante que se ha estudiado es el comportamiento de estas microburbujas en un medio cuando se aplica un haz de ultrasonido [21]. Lo mencionado anteriormente funciona como un paso previo del ultrasonido como técnica para aplicaciones médicas, tal es el caso de la apertura de la

barrera hematoencefálica utilizando algún medio de contraste. Un fenómeno importante es la cavitación ultrasónica producido por la presión del haz ultrasónico en conjunto con dichos medios de contraste [22], siendo un factor de importancia en la dosificación de los medios (microburbujas) y de los tiempos de aplicación ultrasónica.

3.2. Ultrasonido focalizado para la apertura de la BHE

Con el logro de la focalización de ultrasonido en un punto específico, se comenzaron con los estudios de apertura de la barrera hematoencefálica (BHE). Para el año 2006 se comenzaron con los trabajos de optimización de apertura de barrera hematoencefálica utilizando ultrasonido focalizado con la presencia de microburbujas [23] para lograr un objetivo específico en el cerebro. En julio de 2006, Konofagou et. al. [24] logró la apertura de la BHE de forma focalizada, no invasiva y de forma transcraneal en ratones utilizando ultrasonido focalizado siendo este el primer paso de acercamiento al suministro de medicamentos en áreas específicas. Sin tener un conocimiento del grado de daño en que el ultrasonido producía, en 2007 [25] se llevó a cabo la evaluación cuantitativa de ultrasonido focalizado para la apertura de la BHE aplicando un agente de contraste indicador en los resultados, siendo este artículo la base para los protocolos a aplicar en el futuro.

Con el uso de agentes de contraste, en noviembre de 2007, Hynynen et. al. [26, 27] realizó un estudio sobre los efectos de los parámetros acústicos para ciertas dosis de agentes de contraste que funcionan como indicadores cuando se logra la apertura de la BHE. En 2008 [28, 29], este mismo grupo de investigación demostró los progresos y problemas de su protocolo previo para lograr una administración de medicamento correcta. Los niveles de presión que se emplean en la aplicación de FUS se deben tener controlados para evitar daños en tejido, por lo que en 2009 [30] se llevó a cabo la investigación de efectos de presión acústica y la duración de sonicación en la disrupción de la BHE con ultrasonido focalizado inducido.

Estudios realizados en enero de 2010 por Sumiotaki et. al. [31] demostraron en pruebas en ratones in vivo la dependencia del tamaño de microburbujas y su importancia al momento de inducir ultrasonido focalizado obteniendo resultados de dependencia entre las presiones y el tamaño de las microburbujas. Para agosto de 2011, Konofaguo et. al. utilizó un método diferente de focalización ultrasónica utilizando pulsos cortos de ultrasónicos y el empleo de microburbujas obteniendo resultados mejores a los de protocolos anteriores [32, 33, 34]. Para finales de 2011 se estudiaron caso de experimentación de tiempos de reversibilidad y permeabilidad en la apertura de la BHE y como los interactúan el ultrasonido focalizado y las microburbujas durante su aplicación [35, 36, 37], la importancia de este trabajo se basa en que la apertura de la BHE debe ser temporal, ya que si en un determinado tiempo ésta no vuelve a su forma original, el cerebro recibiría moléculas que perjudicasen su estructura y funcionamiento.

Para probar su eficacia se han realizado diferentes ajustes a lo establecido, en enero de 2015 [38] se realizaron trabajos de apertura de barrera hematoencefálica con ultrasonido focalizado con ayuda de *phantoms* simulando también un tumor cerebral con el fin de suponer situaciones que se puedan ocurrir para un trabajo médico real. Con el paso del tiempo, las terapias han ido mejorando de manera que las cantidades de potencia han sido disminuidas para poder lograr el mismo objetivo visto antes [39, 40], esto de trabajos derivado de como el ultrasonido focalizado afectaba en medida a las células y el daño que puede producir debido a cientos de factores (presión, incremento de temperatura, daño físico) [41]. Entre los trabajos más recientes se encuentran los de 2018 [42], en los cuales se intenta llegar a zonas cerebrales diferentes a las de la *substantia nigra* en los que se creen también pueden ser factores para el origen de la enfermedad de Parkinson.

El empleo de microburbujas unido al uso de ultrasonido focalizado tiene sus trabajos más notables desde el año 2000 [43] con los trabajos teóricos y experimentales del comportamiento que pueden tener las microburbujas al ingresar el tejido y con el empleo de ultrasonido teniendo como factor más importante los experimentos acústicos que produce este agente de contraste. Al

mismo tiempo se ha estudiado el efecto de las microburbujas y la dispersión de forma no lineal [44] que tiene al momento de ingresar al torrente sanguíneo en altas frecuencias; de forma práctica se ha demostrado que, de manera manipulada, la subpoblación de microburbujas expresa señales no lineales ultrasónicas y comienza el proceso de cavitación en ellas. Para el interés y rumbo del proyecto se ha encontrado un trabajo que presenta un vistazo general de las microburbujas *SonoVue* [45] explicando la detección individual del comportamiento de estos agentes de contraste más modernos sin tener en cuenta factores o señales derivadas del tejido con el cual interactúan.

Abarcando los experimentos del tema de cavitación, los trabajos de mayor relevancia comienzan en el 2013 [46] con un prototipo detector de cavitación en 2D para detectar el comportamiento del fenómeno en terapias para enfermedades vasculares agudas comprobando los niveles de actividades oscilatorias, cavitación estable y cavitación con grados de presión acústica altos. En el año 2016, los trabajos realizados en china [47] describen experimentos de la relación existente entre el comportamiento de microburbujas de la marca *SonoVue* y el fenómeno de cavitación producido al aplicar un haz ultrasónico; dichas pruebas fueron realizados en un *phantom* de agarosa elaborado por ellos mismos, esperando resultados que puedan proveer información para futuras aplicaciones terapéuticas.

Para el año 2017 [48] se realizaron investigaciones sobre la efectividad terapéutica de microburbujas aplicadas en lesiones vasculares y vasoespasmos en un modelo porcino, mostrando resultados efectivos que explican la medición de cavitación y proponiendo una aplicación concisa de diagnóstico, así como una aproximación para tratamientos efectivos en lesiones posteriores. Para algunos de los tratamientos se ha identificado la pobre eficiencia de los agentes farmacéuticos en los sistemas tradicionales de entrega de medicamentos. En noviembre de 2017 [49] se demostró el uso de microburbujas para la producción de cavitación y la interrupción de paredes celulares que se usó para el ingreso de medicamentos en áreas o tratamientos específicos como terapias para cáncer o desórdenes degenerativos; estas pruebas se realizaron en *phantoms*, dejando

perspectivas altas para pruebas *in vitro*. Entre los últimos trabajos se encuentra la detección exacta de cavitación inducida por ultrasonido [50] y el control de este fenómeno con el uso de microburbujas para la apertura de la barrera hematoencefálica [51]. Ambos trabajos dejan grandes expectativas para el desarrollo de terapias clínicas reales y del trabajo que se pueda realizar como parte de este proyecto.

3.3. Detección de cavitación con emisión ultrasónica

En el trabajo del grupo de Coussios de 2009 [52] se menciona una reseña de como el fenómeno de cavitación puede llegar a producir un daño mayor, pero, si se es controlado, podrá ser de ayuda para aplicaciones clínica como en la eliminación de tumores, cirugía con HIFU (ultrasonido focalizado de alta intensidad) o en la eliminación de cálculos renales, mostrando así la efectividad de su control. Se habla sobre la simulación de un vaso cerebral hecho a base de poliacrilamida al cual se le satura de microburbujas y se le aplica ultrasonido de forma focalizada con un transductor FUS. Con un hidrófono cilíndrico se detecta la señal de radio frecuencia emitida por la cavitación para su posterior procesamiento basado en el análisis de las señales detectadas; su repuesta de cavitación se basa en detección de picos en señales en el dominio de la frecuencia [53]. Zhen Xu et. al [54] mencionan que la cavitación inercial aparece en la aplicación de ultrasonido focalizado a ciertos valores negativos de presión, demostrándolo en la aplicación de ultrasonido focalizado en *phantoms* sumergidos en un medio. Este fenómeno fue detectado por un hidrófono colocado a la distancia del foco de su transductor.

En 2013 Vignon et al. [46], mencionan el uso de imágenes para la detección de niveles de cavitación producidos por un transductor emitiendo un haz ultrasónico en un *phantom* con microburbujas. Dichos estudios permitieron además de detectar los niveles del fenómeno, contabilizar la cantidad de microburbujas restantes en el simulador. Los trabajos de 2014 [55] detallan el uso de ultrasonido focalizado enviando pulsos tejido *ex vivo* con la finalidad de ingresar un medicamento a cierta área, haciendo pruebas en simuladores de

tejidos y en tejido *ex vivo*, con el fin de determinar los efectos que se producen, como el daño tisular y la probabilidad de aparición del fenómeno haciendo la comparativa en el simulador y el tejido. En 2015 [56] se ha explicado de forma más detallada el comportamiento de una burbuja de tamaño micrométrico en un haz ultrasónico, desde su formación, la forma en que esta burbuja crece hasta llegar a colapsar y como la energía liberada afecta el medio alrededor de ella.

En la actualidad se estudia las formas en que el fenómeno de cavitación se presenta durante los protocolos para la apertura de la BHE y como los afecta en diferente medida [57]. Para ello se ha la forma en que la cavitación afecta la permeabilidad de diferentes capas endoteliales y diferentes tipo de tejido, entre ellas la BHE [49, 58]; esto se lleva a cabo con un monitoreo durante la aplicación de ultrasonido a un modelo animal. Entre los últimos estudios llevados a cabo en 2018 [22] se ha analizado como el cambio de frecuencias en un transductor de banda ancha durante la aplicación de FUS a un *phantom* afecta la aparición del fenómeno de cavitación por medio de la obtención y comparación de las señales emitidas.

3.4. Trabajo dentro de LAREMUS

Dentro de LAREMUS (Laboratorio de Radiación Electromagnética y Ultrasónica) los estudios de ultrasonido focalizado teniendo en cuenta factores térmicos y acústicos en tejido *ex vivo* comenzaron en el año 2010 [59]. El avance de esta investigación se debió al uso de modelos computacionales FEM para tener la idea de los resultados esperados previo a una experimentación. Para el año 2016 se comenzaron los trabajos de uso de FUS para la apertura de la barrera hematoencefálica [60], los experimentos y resultados demostraron que la focalización se lograba muy cercana al cráneo de la rata lo que provocaba un calentamiento y un daño en el tejido. En el año 2017 se logró la implementación de un protocolo en modelos murinos para la apertura de la barrera hematoencefálica [61], en el cual se emplearon modelos FEM y usaron tiempos de exposición más cortos junto a un aumento de potencia evitando un daño en tejido. Los trabajos más recientes de 2018 [62] especifican un protocolo de

aplicación con la novedad de uso de microburbujas. Las microburbujas, debido a su comportamiento con ultrasonido, permiten la disminución de potencia para evitar daños en el tejido y llegar a la zona deseada (*substantia nigra*).

El presente trabajo presenta una propuesta de aplicación de ultrasonido focalizado en *phantoms* con el propósito de detectar el fenómeno de cavitación no inercial en ciertos niveles de potencia y poder así cuantificar la probabilidad en que esto ocurra. Además, se presenta un modelo de transductor que permita la focalización en la *substantia nigra* para la apertura de la barrera hematoencefálica de forma transcraneal simulando su propagación acústica y el valor de calentamiento producido en un modelo de tejido animal.

Capítulo 4

Planteamiento del proyecto

4.1. Definición del problema

Los tratamientos existentes con base en medicamentos para el tratado de enfermedades neurodegenerativas (p. e. enfermedad de Parkinson) tienen la complejidad al momento de llegar a cierta área específica a la cual afecta. El problema existente es una barrera que protege al cerebro llamada barrera hematoencefálica, la cual tiene una función de barrera que no permite el paso de moléculas demasiado grandes o dañinas para el tejido cerebral.

En el CINVESTAV, en el Departamento de Fisiología, se desarrolló un fármaco capaz de contrarrestar una de estas enfermedades, en este caso la enfermedad de Parkinson, y con ayuda de la Sección de Bioelectrónica del Departamento de Ingeniería Eléctrica, se logró implementar un protocolo de aplicación de ultrasonido focalizado que permitiera la apertura de forma temporal de la barrera hematoencefálica para la entrega del medicamento en modelos murinos de la sepa Wistar.

Sin embargo, los protocolos establecidos ocasionan daños al tejido cerebral de las ratas debido al incremento de temperatura establecido como el factor más importante para lograr la apertura de la barrea mostrándose de forma visual en el tejido cerebral.

De la misma forma las técnicas de modelado existente presentan pequeños problemas que ocurren en la realidad, por mencionar algunos aquellos que no contemplan todos los factores externos del medio, así como los comportamientos de cuerpos vivos, por lo que las nuevas tecnologías logran abarcar actualmente el uso de diferentes parámetros para acercarlos a la

realidad, para este caso emplear de forma transcraneal la aplicación de ultrasonido en un modelo.

Otro de los factores que se presentan durante la aplicación de ultrasonido es el fenómeno de cavitación, el cual se ha tratado de controlar en cierta medida para considerarlo un factor cuantificable al momento de aplicar un haz ultrasónico con algunos de los transductores dentro del laboratorio. El obstáculo que enfrentar es la correcta detección del fenómeno sin que sea confundido con algún traslape de señal o rebote de señal por parte de algún material, la capacidad de atravesar el haz ultrasónico el material o el correcto montaje experimental.

4.2. Justificación de la tesis

Los estudios realizados en la detección de cavitación han sido bastante amplios ya que las aplicaciones que se las ha visto para su desarrollo son conocido por muchos grupos de investigación, como se vio en el capítulo 3. Dentro de LAREMUS existen diferentes trabajos relacionados a la aplicación de ultrasonido como los protocolos que se encargan de la apertura de la barrera hematoencefálica empleando ultrasonido focalizado con niveles de baja potencia, así como varios trabajos empleando ultrasonido a forma de terapia.

Sin embargo, aún no se tiene un análisis para la detección del fenómeno de cavitación, así como iniciar el camino del control de dicho fenómeno para su empleo y control en la apertura de la barrera hematoencefálica, intentando mejorar los protocolos establecidos dentro del laboratorio haciéndolo menos invasivo y produciendo menos daño durante la aplicación de ultrasonido en los modelos animales.

4.3. Objetivos de la tesis

4.3.1. Objetivo general

Implementar la aplicación de ultrasonido con diferentes tipos de transductores a modelos *phantoms* para la producción y detección del fenómeno de cavitación acústica y elaborar un modelo de propuesta de transductor que permita focalizar

ultrasonido en la *substantia nigra* para la apertura de la barrera hematoencefálica de forma transcraneal.

4.3.2. Objetivos específicos

- Optimización del protocolo de apertura de la barrera hematoencefálica con la aplicación de ultrasonido focalizado establecido dentro de LAREMUS.
- Modelado de las características mecánicas y piezoeléctricas de transductores focalizados esféricos con distintas geometrías y materiales para la producción del campo acústico requerido para posicionar el foco en la *substantia nigra*.
- Modelado por medio del método del elemento finito la propagación ultrasónica y sus efectos térmicos en cráneos de rata y sus tejidos internos, para diferentes geometrías de transductores (diámetro, frecuencia, distancia focal) usando modelos de radiación uniforme.
- Elaborar la caracterización de los transductores emisores llevando a cabo las mediciones de impedancia, SWR y campo acústico.
- Elaborar la caracterización de transductores receptores con base en la medición de ancho de banda para la elección del ideal en la práctica.
- Creación de diferentes *phantoms* simuladores de tejido con diferentes propiedades acústicas validados a partir de la medición de sus características (velocidad de ultrasonido, atenuación).
- Estudio del fenómeno de cavitación de forma teórica y práctica en modelos *phantoms* con diferentes tipos de transductores (planos, cóncavos) a diferentes grados de potencia.

Capítulo 5

Metodología

El propósito de este proyecto de tesis es presentar una propuesta de aplicación de ultrasonido para la emisión de ultrasonido en un *phantom* y la detección del fenómeno de cavitación no inercial con el fin de dar pie a un futuro proyecto para la apertura de la BHE controlando dicho fenómeno.

Para la resolución del trabajo se realizaron un conjunto de actividades que va desde la optimización del protocolo para la apertura de la BHE establecido dentro del laboratorio, la elaboración de los modelados de propagación acústica y estudios de patrón de calentamiento, la caracterización eléctrica en frecuencias de los transductores empleados, la elaboración de modelos *phantom* y el montaje del protocolo para la aplicación de ultrasonido a los modelos creados.

5.1. Optimización del protocolo para apertura de BHE

5.1.1. Elaboración de cono

Con la finalidad de tener un elemento de repuesto con las mismas características, se elaboró la réplica de un cono con las mismas características que el presente y se explica en el trabajo de Contreras [60], en caso de algún extravío, daño o cualquier otra razón que le pudiera pasar a este.

Este cono fue elaborado bajo las condiciones ya establecidas y conocidas por lo que solo tendría que realizarse un procedimiento para imprimirlo. Su manufactura se llevó a cabo en una impresora 3D (HDR, Airwolf 3D), a la cual se le fue cargada un archivo con extensión stl (por su nombre en inglés “*Standard Triangle Language*”). Para obtener y colocar las características (temperatura de extrusores, temperatura de cama, velocidad de impresión, porcentaje de relleno de la figura) a la impresora se usó un software re llamado Apex (Software Printing, Airwolf 3D), específico para la impresora, el cual nos permitirá tener una visualización del diseño que queremos tener, como se ve en la Fig. 5.1

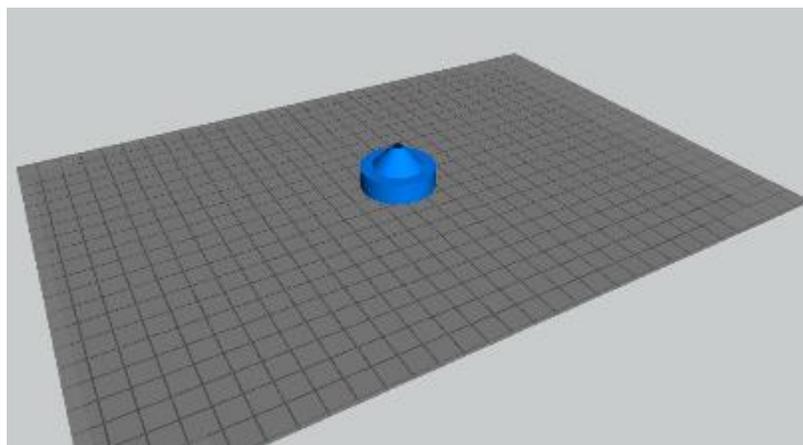


Fig. 5.1. Visualización del cono a elaborar en software Apex.

El tiempo de maquinado fue de aproximadamente 26 minutos desde que la impresora comenzaba a calentarse hasta su manufactura final. El material empleado para este caso fue TPU.

5.1.2. Protocolo de aplicación de FUS en modelos *in vivo*

Dentro de LAREMUS se han propuesto diferentes protocolos de aplicación de FUS para la apertura de la BHE en modelos murinos [61][62]. Siguiendo la línea de investigación se ha realizado la validación replicando el ultimo protocolo establecido propuesto por Reyes. Dicho protocolo sentará las bases para próximos trabajos experimentales realizando los trabajos ahora de forma transcraneal. Las pruebas *in-vivo* fueron realizadas en conjunto con el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, bajo un protocolo aprobado por el comité ético para realizar los procedimientos de uso de animales protocolo # 162-15. Este protocolo busca eliminar los daños al tejido cercano al foco del FUS, ocasionados por el incremento de temperatura que provocan las ondas de ultrasonido y su interacción con el tejido [62].

Cabe mencionar que el manejo de animales de laboratorio es regulado por la NOM-062-ZOO-1999 y el Comité Interno Para El Cuidado Y Uso De Los Animales De Laboratorio (CICUAL). La introducción al manejo de animales dentro del CINVESTAV comenzó con la participación de acreditación en el curso teórico y práctico “Introducción al Cuidado y Manejo de la Rata de Laboratorio”

impartido por la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) del CINVESTAV.

Los modelos animados empleados durante los trabajos experimentales fueron animales de la sepa Wistar (Fig. 5.2) con un peso de entre 210 g a 230 g. A los animales se les aplicó una cantidad de anestésico, compuesto de 990 μL Xilacina (PISA® agropecuaria, Reg. S.A.G.A.R.P.A. Q-7833-099) y 2540 μL Ketamina (PISA® agropecuaria, Reg. S.A.G.A.R.P.A. Q-7833-028), que se determinaba de acuerdo con la relación de 0.32 μl de anestésico por cada 232 g de peso del animal. Dicho anestésico es aplicado por la vía intraperitoneal (Fig. 5.3).



Fig. 5.2. Modelo animal de la sepa Wistar.

Cuando el animal se encuentra bajo los efectos del anestésico, se afeita la parte superior de la cabeza con una rasuradora eléctrica (Wahl®, Clipper Pet) para poder realizar un corte desde la parte anterior hasta la posterior de aproximadamente 2 cm, para mantener abierto el corte realizado se utilizan pinzas quirúrgicas. Con ayuda de agua oxigenada se remueve tejido que se encuentra encima del cráneo llamado periostio, lo cual nos permitirá tener un mejor acceso al cráneo. En el cráneo de la rata se logra ver una división la cual cada punto tiene un nombre, el punto de interés es llamado coordenada lambda, por lo que con una aguja adaptada nos posicionamos sobre este punto.



Fig. 5.3. Administración de anestésico por la vía intraperitoneal.

Se debe realizar un ajuste de la coordenada de calibración del sistema estereotáxico ya que cada animal difiere en milímetros de posición y se coloca un punto el cual será el indicador de donde será la *substantia nigra* en realidad, dicho ajuste es de 2.1 mm en el eje anteposterior y 2 mm en el eje transversal. Estas nuevas coordenadas marcarán la posición sobre la *substantia nigra*. Una vez marcado el punto deseado, con ayuda de un taladro (Dremel®, Multipro™, modelo 395) y brocas de 1 mm se realiza una craneotomía de 1 cm² alrededor del punto el cual nos servirá para aplicar el ultrasonido focalizado del protocolo anterior. Removemos el componente de cráneo y colocamos sobre la apertura el transductor con el cono lleno de agua bidestilada y desgasificada para proceder a la aplicación de FUS.

La aplicación de ultrasonido focalizado se basa en las características del protocolo establecido previamente [62] indicado en la Tabla 5.1 y se muestra de forma gráfica en la fig. 5.4.

Tabla 5.1. Características de aplicación de ultrasonido para el protocolo previo establecido en el laboratorio [62].

Transductor	Transductor cóncavo Optison 2-20 20/4
Técnica	Ultrasonido focalizado
Características de ciclo útil	60% - 10 segundos 20% - 50 segundos Descanso - 30 segundos 60% - 10 segundo 20% - 50 segundos
Duración total	2:30 minutos

Cuando la aplicación de ultrasonido es finalizada, colocamos el cráneo nuevamente en su lugar y se asegura con cera de hueso como fijador, suturamos el corte previamente realizado e inyectamos azul de Evans (Sigma-Aldrich®, Evans Blue) por la vía retro oftálmica, se tiene un tiempo de 6 horas después de la aplicación de FUS para que el colorante pueda llegar al cerebro, con una razón de 0.30 μ l de colorante. Posteriormente, colocamos al animal en un contenedor de acrílico con una fuente de calor para esperar la recuperación del animal.

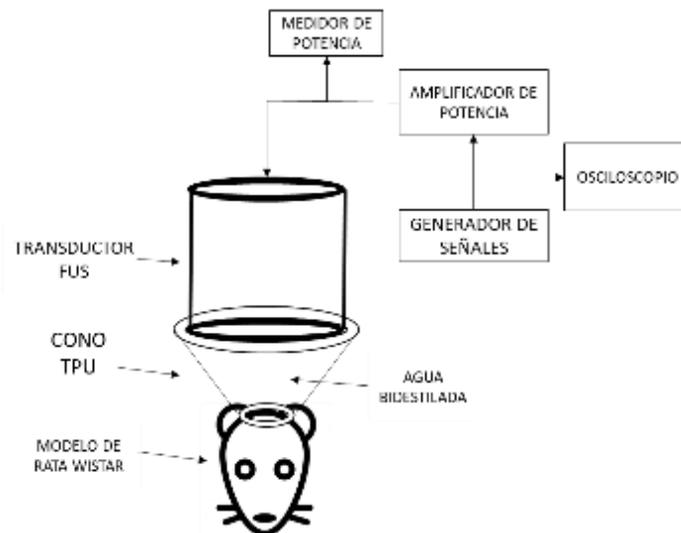


Fig. 5.4. Diagrama de montaje para la aplicación de FUS.

Después de 24 horas de aplicación de FUS se le es aplicada la eutanasia al animal. Se remueve el cerebro evitando crear alguna lesión que distorsione los resultados y se coloca en un vibratomo (VT1200S, Leica, USA), en el cual, se realizan cortes de 300 μ m de grosor. Los cortes se colocan cuidadosamente en un portaobjetos y con ayuda de una cámara (Canon®) y aumentadas con un microscopio (Leica®) se obtuvieron las imágenes de los cortes realizados. Dichas evidencias indican si el colorante efectivamente llega a la *substantia nigra*.

5.2. Modelado por método de elemento finito

El método del elemento finito (FEM) ha sido una herramienta matemática empleada en el área de la ingeniería por su generalidad y la facilidad de uso de funciones para la resolución de un problema físico. En este trabajo de tesis se

aplicó este método para entender los fenómenos de propagación acústica en un medio producidos por una superficie que simula un transductor y calentamiento de tejido vivo de un modelo animal.

5.2.1. Modelado de propagación acústica

5.2.1.1. Geometría empleada

Dentro de LAREMUS se han realizado simulaciones de propagación ultrasónica y calentamiento en tejido [63], empleando la técnica de craneotomías para así llegar a posicionar un foco en la *substantia nigra*. Nuestro propósito parte de la creación simulada de un transductor con las características necesarias para posicionarnos en la *substantia nigra* de forma transcraneal. Todo lo anterior se utilizó el software COMSOL *Multiphysics* (COMSOL Inc., Sweden).

El tipo de componente empleado en esta simulación fue uno axisimétrico en 2D ya que este comportamiento nos permitirá simplificar en tiempo y costo computacional lo simulado. Esta simulación parte de un nuevo transductor por lo que se propone la superficie del transductor que propagará el ultrasonido a cierta distancia a determinar con distancia focal, diámetro, profundidad y frecuencia desconocida. Se hicieron estudios paramétricos con el fin de obtener los valores de los parámetros que nosotros consideráramos adecuados para su funcionamiento, principalmente la presión capaz de generar un foco sobre la *substantia nigra* y el calentamiento producido por el haz ultrasónico en el foco y en el hueso del animal. El diagrama de la Fig. 5.5 da una idea de la geometría que se pretendía construir.

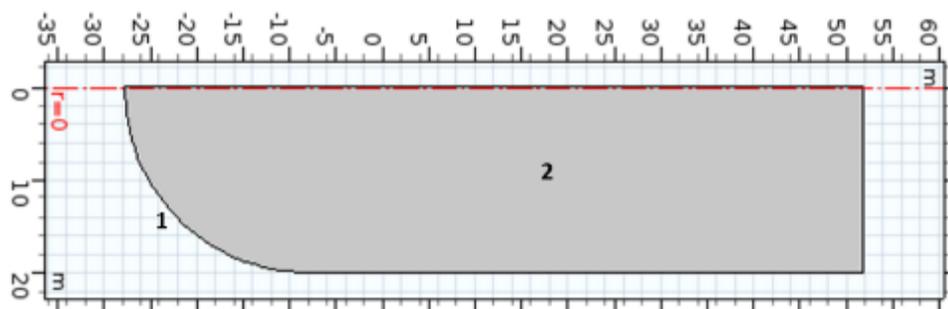


Fig. 5.5. Geometría diseñada para el modelado de un transductor en un medio. El número 1 representa el piezoeléctrico cóncavo del transductor y el 2 el medio de propagación.

Cuando se encontraron las distancias y la forma del transductor con la capacidad de distribuir el haz ultrasónico en una mayor área durante su paso hacia el foco, se agregó un modelo de cerebro animal, en este caso una rata, para estudiar el foco posicionado en la *substantia nigra* y la distribución de calentamiento en el cráneo del modelo, dicha adición se observa en la Fig. 5.6. Cada número representa un contorno del modelo: el contorno curvo 1 representa la superficie del transductor, el 2 es el medio que para nuestro caso es agua, el número 3 es el tejido cerebral y el 4 es el hueso del cráneo de una rata. La línea roja representa el eje de simetría de nuestro modelo.

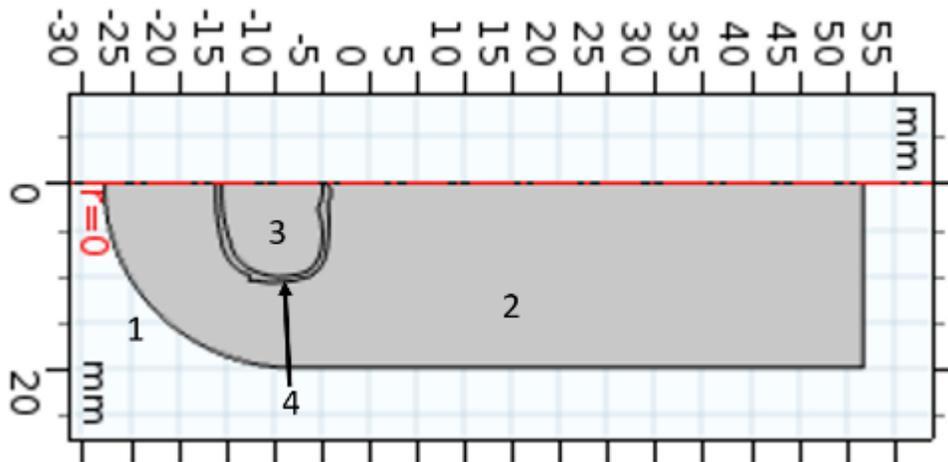


Fig. 5.6. Geometría propuesta del transductor: (1) representa el transductor, (2) medio de propagación, (3) representa el tejido cerebral y el (4) es el cráneo de un modelo de rata.

5.2.1.2. Bases teóricas y condiciones de contorno

Para entender la propagación ultrasónica generada por nuestro transductor, las soluciones fueron basadas en las siguientes ecuaciones. La propagación ultrasónica estable y armónica puede ser determinada con la ecuación de onda dada por

$$\nabla^2 p + k_{eq}^2 p = 0, \quad (5.1)$$

donde p es la presión total y k_{eq} el número de onda. Cuando el número de onda es real, la ecuación de onda solo es válida para una propagación lineal.

Asumiendo una generación ultrasónica armónica, la presión en la superficie del radiador puede ser relacionado con su aceleración normal [64] utilizando:

$$a_0 = \frac{\omega}{\rho c} p e^{j(\omega t + \frac{\pi}{2})}, \quad (5.2)$$

donde a_0 es la aceleración normal, ρ es la densidad del material, c es la velocidad del sonido en el medio, p es la amplitud de la presión en la superficie del radiador. Se pudo determinar la presión en la superficie del radiador con ayuda de la potencia empleando otras ecuaciones de acuerdo con el trabajo de Gutiérrez [64].

Las condiciones de contorno para el funcionamiento del modelado aplicada a esta parte de la simulación fueron las siguientes:

- ➔ Aceleración normal: En la figura 5.6 se determina con la línea curva representativa de la superficie de nuestra propuesta de transductor. Representa la fuente propagación acústica a través del medio propuesto (agua). Está descrita por la ecuación:

$$-n \cdot \left(-\frac{1}{\rho c} (\nabla p) \right) = a_n, \quad (5.3)$$

donde a_n es la aceleración normal, ρ es la densidad del material y c la velocidad de sonido.

- ➔ Eje de simetría central: Cuando se realizan modelos axisimétricos, este eje se emplea para delimitar la simetría de la geometría a utilizar en la simulación. Si regresamos a la Fig. 5.6 se muestra con una línea roja.
- ➔ Ejes de impedancia: Estos ejes delimitan los valores de impedancia para contornos rígidos o blandos considerando las propiedades del medio que lo contiene, en este caso es el agua. Se rige bajo la ecuación

$$-n \cdot \left(-\frac{1}{\rho c} (\nabla p) \right) + p \frac{i\omega}{Z_i} = 0, \quad (5.4)$$

donde el valor de Z_i está dado por los valores de densidad del agua y velocidad del sonido en el mismo medio, que para una temperatura de 25°C son de 997 kg/m³ y 1500 m/s, respectivamente.

De las condiciones de contorno de eje de impedancia y eje de simetría central no se describirán más adelante ya que se mantienen los mismos valores tanto para el modelado de propagación acústica como para el modelado de bioalentamiento.

5.2.1.3. Discretización del dominio

La discretización del dominio se refiere al enmallado de cada uno de los dominios realizados en el software. Esta malla aplicada a nuestro modelo dependerá directamente de la longitud de onda del material.

Dado que las propiedades de cada uno de los materiales son diferentes, se tendrá mallas con diferentes tamaños. Para determinar los tamaños de cada uno de los elementos de estas mallas se empleó la ecuación 2.3 en donde λ es el valor de longitud de onda, c es la velocidad de sonido en el medio y f es la frecuencia de trabajo. Conocido el valor de onda, este se dividió entre diferentes valores desde 5 a 13 con el fin de tener la mejor resolución en cuanto a valor de simulación y un tiempo de simulación adecuado.

5.2.1.4. Estudio de propagación acústica

Lo que buscamos es encontrar las características del transductor capaces de producir un foco que se posicione sobre la *substantia nigra* atravesando el cráneo de la cabeza de una rata simulada. Se propuso un barrido paramétrico de frecuencias para encontrar dicho valor que nos permita generar una distribución ultrasónica que pueda atravesar el cráneo. Este barrido paramétrico inicia en 500 kHz de frecuencia y finaliza en 3.5 MHz con paso de 100 kHz. Las distribuciones de presión acústica fueron estudiadas para determinar escenarios con los

mejores casos que produzcan un foco más largo y estrecho, con pocas reverberaciones entre el cráneo y el transductor. Las propiedades acústicas de cada uno de los dominios son mostradas en la tabla 5.2.

Tabla 5.2. Propiedades acústicas del tejido simulado [65, 66].

Subdominio	Velocidad de sonido (m/s)	Atenuación (Np/m)	Densidad del material (kg/m³)
Agua	1500	0	997
Cerebro	1546	6	911
Cráneo	2814	180	1908

La geometría propuesta se obtuvo a partir de la obtención de cráneos de ratas de la parte experimental de FUS, en las cuales se consideraron las dimensiones de animales con un peso aproximado de entre 210 a 230 g de peso, se realizaron las mediciones de longitud y grosor del cráneo.

5.2.2. Modelado de calentamiento

Al mismo tiempo que se pretende analizar la frecuencia capaz de lograr atravesar el cráneo del modelo animal, se busca conocer el calentamiento producido por el mejor caso de frecuencia que se haya determinado.

5.2.2.1. Bases teóricas y condiciones de contorno

La propagación de calor puede ser determinada con la ecuación de bioalentamiento térmico de Pennes dada por

$$\rho C_p \frac{\delta T}{\delta t} + \nabla \cdot (-k \nabla T) = Q, \quad (5.5)$$

donde ρ es la densidad del medio material, C_p es la capacidad calorífica a presión constante, k es la conductividad térmica, T es la temperatura inicial, Q la fuente de calor externa. Para este caso, determinaos el valor Q de acuerdo con la presión generada por nuestro transductor con la siguiente ecuación:

$$Q_{ext} = \frac{\alpha p^2}{\rho c}, \quad (5.6)$$

donde α es el coeficiente de absorción acústico el cual es considerado igual a la atenuación (incorrectamente llamado *scattering*), ρ es la densidad del material y c la velocidad del sonido en el medio.

Las condiciones de contorno aplicadas a estos modelos se describen a continuación:

- Eje de simetría: Siendo parte del mismo modelo que el de análisis de frecuencia, se utiliza el eje de simetría para el tipo de componente 2D axisimétrico. Sin embargo, este eje de simetría solo se aplica para los contornos de tejido ya que ahí es de nuestro interés conocer el comportamiento del calentamiento.
- Aislamiento térmico: Este aislamiento térmico delimita el calentamiento de los contornos de nuestro interés. Se determinó que el calentamiento por generar se limite a la parte de tejidos por lo que el cráneo se consideró aislante, ya que no era de nuestro interés conocer el calentamiento del medio en el cual se encuentra el tejido (agua). Este contorno podría asemejarse a un eje de impedancia para el caso de análisis acústico.

5.2.2.2. Estudio de biocalentamiento

Este estudio basa el uso de la propagación acústica descrita anteriormente para lograr una propagación de calentamiento en el tejido blando simulado y mostrado en la Figura 5.6. El medio de calentamiento se propuso como una fuente resultante de las ondas acústicas que incidían en el cráneo del modelo animal, para observar la forma en que el calentamiento se distribuye. La Tabla 5.3 muestra las propiedades térmicas añadidas a la simulación de cada uno de los tejidos planteados.

Tabla 5.3. Propiedades térmicas de los tejidos simulados.

Subdominio	Capacidad calorífica (J/(kg·K))	Conductividad térmica (W/(m·K))	Densidad del material (kg/m³)
Agua	4178	0.60	997
Cerebro	3696	0.49	911
Cráneo	1313	0.32	1908

Se establecieron tiempos de duración de aplicación de ultrasonido buscando la propagación de temperatura a través de los tejidos del modelo de rata (cerebro y cráneo) para a partir de ahí determinar hasta qué punto el daño se podría considerar grande a nivel de tejido.

5.3.- Caracterización de los transductores

Este procedimiento nos permite conocer la forma en que el transductor trabaja y así aprovechar en mayor medida las características de dicho elemento. Esta caracterización se realizó al transductor de terapia y al focalizado, así como a los transductores de inmersión que permiten detectar el valor de señal emitido por los 2 anteriores. Los transductores a los que se les realizaron las mediciones explicadas más adelante fueron los siguientes:

- Transductor de Terapia de 1 MHz (Metter Electronics, ME7310)
- Transductor HIFU de 2 MHz (Onda Corporation, 2-20-20-4)
- Transductor de inmersión de 1 MHz (Olympus Panametrics, NDT V303)
- Transductor de inmersión de 3.5 MHz (Olympus Panametrics, NDT V382)
- Transductor de inmersión de 5 MHz (Olympus Panametrics, NDT V309)

5.3.1. Medición de respuesta de impedancia

Para la medición de respuesta de impedancia en frecuencia de ambos transductores se utilizaron los siguientes componentes:

- Analizador de impedancia (Agilent Technologies, 4294A)
- Sonda de impedancia (Agilent Impedance Probe, 42941A)

- Acoplador de impedancia (solo para el caso del HIFU)
- Transductores de terapia y HIFU
- Recipiente de acrílico
- Agua bidestilada

El analizador de impedancias nos permite realizar diferentes tipos de mediciones a los transductores que nosotros queremos utilizar. El primer procedimiento de medición corresponde a la medición de impedancia de los transductores.

El procedimiento para esta medición fue conectar la sonda de impedancia del equipo a nuestro transductor y hacer un barrido de frecuencias para determinar la respuesta en la frecuencia de resonancia y su ancho de banda. El barrido de frecuencias deberá ser ajustado para lograr capturar todos los valores de interés del transductor en cuestión, principalmente alrededor de su frecuencia de operación. Los transductores a los que se le realizaron esta medición fueron el transductor de terapia y el transductor HIFU de 1 MHz y 2 MHz, respectivamente.

Cabe mencionar que estas mediciones fueron realizadas tanto en agua como en aire para tener una comparativa de resultados entre ambos. La figura 5.7 muestra la conexión realizada para esta medición.

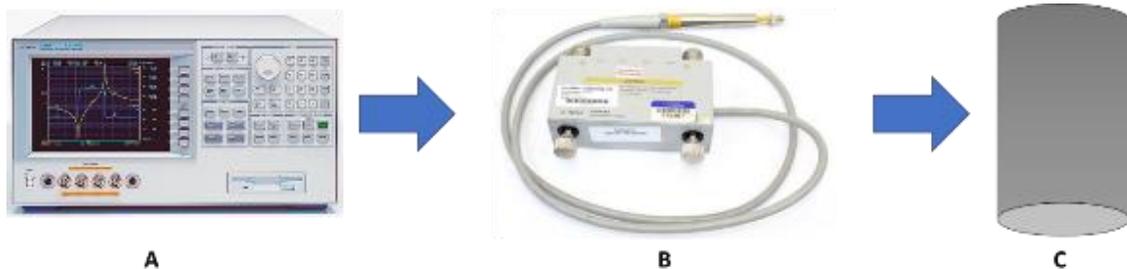


Fig. 5.7. Sistema de conexión para la medición de impedancia. (A) Analizador de impedancias, (B) sonda de analizador de impedancias, (C) Imagen genérica de un transductor.

Con ayuda del archivo 4294A_DataTransfer_0310.xls (proporcionado por el fabricante) y con una PC, obtendremos los valores que nos muestre en ese momento el equipo para ser almacenados.

5.3.2. Medición del SWR

El valor de SWR nos permite conocer la frecuencia a la que un transductor trabaja de la manera más eficaz, sin que tenga ningún tipo de pérdida o interferencias al momento de realizar su emisión. Cuando un sistema tiene un valor de SWR de 1, el sistema funcionará perfectamente sin ningún tipo de interferencias, aunque esto sea muy difícil de encontrar ya que roza la idealidad de trabajo, por lo que para nuestras mediciones buscamos encontrar la frecuencia con el valor de SWR más bajo.

Para realizar la medición de SWR se utilizaron los equipos enlistados a continuación:

- Analizador de redes (Agilent Technologies E5071B)
- Set de calibración para analizador de redes (Agilent Technologies, 85033E)
- Acoplador de impedancia (solo para el caso del focalizado)
- Transductores de terapia y focalizado
- Contenedor de acrílico

La conexión empleada para la medición del SWR se muestra en la Fig. 5.8. Estas mediciones consisten en un barrido de frecuencias para cada uno de los transductores de terapia y focalizado, de 1 MHz y 2 MHz, respectivamente.

Para cada uno de los transductores se hicieron las mediciones en agua y en aire para tener la comparativa entre 2 diferentes medios. Los resultados se obtuvieron tanto de forma gráfica como numérica, sin embargo, solo se muestran de la primera forma.

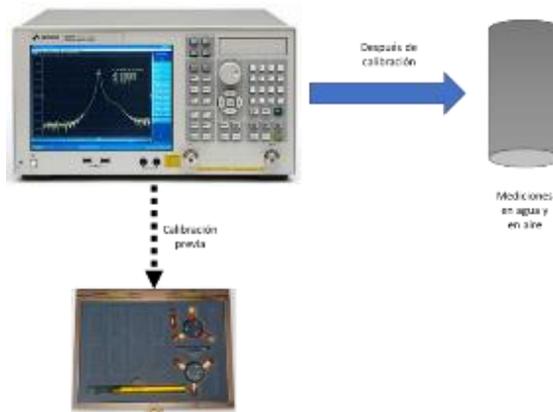


Fig. 5.8. Montaje empleado para las mediciones de SWR en los transductores. Previo a la conexión directa del equipo al transductor se realiza la calibración del equipo.

5.3.3. Medición de campos acústicos

5.3.3.1. Materiales y equipos para la medición de campo acústico

Las mediciones de campo acústico nos permitirán conocer las posiciones del haz ultrasónico, el cambio de dirección que pudiese llegar a tener o los puntos de mayor incidencia acústica, con el propósito de hacer algún ajuste y poder aprovechar el haz ultrasónico en su mayor plenitud.

Los equipos utilizados para la medición de campo acústico fueron los mismos para ambos transductores, sin embargo, el procedimiento para cada uno de ellos fue diferente. La lista mostrada a continuación muestra los elementos utilizados para llevar a cabo estas mediciones.

- Hidrófono de banda ancha (Onda Corporation, HNP-1000)
- Preamplificador (Onda Corporation, AH-2010)
- Osciloscopio digital (Tektronix, TDS-420)
- Generador de funciones (Array, 3400A)
- Sistema de posicionamiento automático 3D (Velmex, VP9000)
- Cable GPIB/GPIB (National Instruments)
- Transductores de terapia y HIFU
- Contenedor

Al mismo tiempo el generador se conecta a un osciloscopio para mantener una señal de sincronía. En el PC, con ayuda del software Scan 3.40, se obtiene y almacenan los valores de voltaje en cada punto en el cual hidrófono se sitúa con ayuda sistema de posicionamiento 3D.

5.3.3.2. Mediciones de campo acústico en los transductores

Para la medición de campo acústico de ambos transductores se utilizó un montaje como el que se muestra en la Fig. 5.9. en el cual se muestra una imagen de transductor genérico (para cada caso de medición será el transductor de terapia o el HIFU) junto con el hidrófono de banda ancha dentro del contenedor, dicho hidrófono está conectado al preamplificador, cuya salida se conecta al osciloscopio digital a través del cable GPIB/GPIB a una PC. El transductor tiene una conexión hacia el generador de funciones el cual emitirá una señal de excitación con lo cual nos permitirá conocer los valores emitidos por el transductor y detectados por el hidrófono.

El generador se conecta a un osciloscopio para mantener una señal de sincronía. En el PC, con ayuda del software Scan 3.40, se obtiene y almacenan los valores de voltaje en cada punto en el cual hidrófono se sitúa con ayuda sistema de posicionamiento 3D.

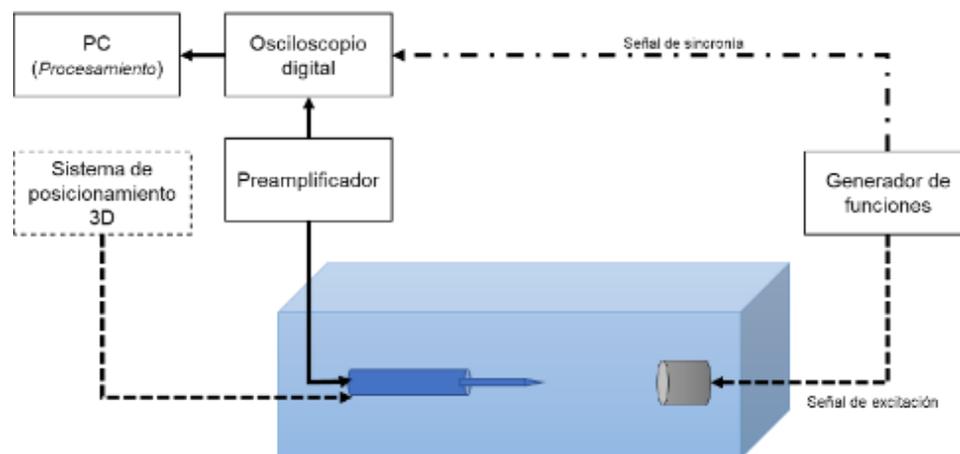


Fig. 5.9. Montaje del sistema empleado para la medición de campo acústico del transductor HIFU de 2 MHz.

El contenedor en el que se encuentran el transductor y el hidrófono se colocó con agua bidestilada y desgasificada. La señal de excitación que fue aplicada al transductor HIFU fue una ráfaga de 100 ciclos de una frecuencia de 1.965 MHz a una frecuencia de ráfaga de 20 Hz, con un potencial de 10 V_{pp} mediante el generador de funciones.

Las mediciones fueron hechas sin colocar el cono que previamente se había elaborado, primero se hicieron en ellos ejes X, Y y Z con el propósito de conocer el foco del transductor y para conocer el alcance del foco se realizaron en el plano XZ. Dichas mediciones en el eje X y Y se hicieron a partir del centro hacia todo el diámetro del transductor, excediendo la distancia del transductor para determinar su comportamiento con una resolución de 0.3 mm. Para el eje Z se empleó la misma resolución y con esto corroborar el alcance del foco proporcionado por el proveedor. Una vez ubicado la distancia del foco se implementaron las mediciones en el plano XZ con dimensiones de 1.8 mm x 1.8 mm, en el cual la resolución de medición se mantuvo de 0.3 mm

Para el caso de las mediciones realizadas al transductor de terapia se implementó una señal de excitación con una ráfaga de 50 ciclos a una frecuencia de 997 kHz con un voltaje de 10 V_{pp} emitidos por el generador de funciones. En los ejes X, Y y Z del transductor se utilizó una resolución de .7 mm empleando mediciones en excediendo 2 cm de los bordes del transductor. En el plano YZ se llevaron a cabo las mediciones con un paso de .5 mm x .5 mm con una distancia de 26 cm de ancho a partir de la cerámica del transductor y de 10 cm de sus bordes. El propósito de exceder las cerámicas de cada uno de los transductores se respalda en conocer el comportamiento del haz del ultrasonido para tener la idea de cómo colocarlos en el montaje propuesto de cavitación. En el caso que el transductor sea mal colocado este nos dará una respuesta errónea.

5.3.4. Medición de ancho de banda en transductores de inmersión

Las mediciones de ancho de banda nos permiten conocer el ancho de banda al cual los transductores son capaces de detectar ciertas frecuencias. El método

que se siguió para realizar estas mediciones es el propuesto por Ramos [67] que consiste en la medición de admitancia con un analizador de impedancias y la medición de frecuencias por medio de envío de pulsos de ultrasonido *through-transmission* por pulso-eco. Los materiales y equipos que se utilizaron fueron los siguientes:

- Analizador de impedancia (Agilent Technologies, 4294A)
- Sonda de impedancia (Agilent Impedance Probe, 42941A)
- Osciloscopio digital (LeCroy, 6100A series)
- Pulser/amplificador de baja potencia (manufacturado dentro del laboratorio)
- Transductor de inmersión de 1 MHz (2) NDT V303
- Transductor de inmersión de 3.5 MHz (2) NDT V382
- Transductor de inmersión de 5 MHz (2) NDT V309
- Contenedor de acrílico
- Agua bidestilada y desgasificada

Con ayuda del analizador de impedancia se obtuvieron las mediciones de admitancia de cada uno de los transductores. Dicha medición fue bastante similar que las mediciones de impedancia realizadas a los transductores anteriores. Para cada uno de los transductores se establecieron diferentes inicios y finales de medición, es decir, para el caso de los transductores de 1 MHz se estableció un rango de 10 kHz hasta 2.5 MHz, para el de 3.5 MHz de 1 MHz hasta 6 MHz y para el de 5 MHz un rango de 1 MHz hasta 9 MHz. Establecidos dichos rangos se almacenaron los datos en un PC.

Para hacer una comparativa de procedimientos se realizó un segundo procedimiento que consiste en un montaje similar al presentado en la Fig. 5.11 pero con la diferencia que entre cada uno de los transductores no se colocó ningún tipo de *phantom* y solo se hacía pasar un pulso.

El *pulser* nos permite enviar un pulso de un transductor a otro, el medio a través del cual se envió el pulso fue agua bidestilada y desgasificada. Este pulso fue almacenado en el osciloscopio digital para posteriormente procesarlo en un

PC. El procesamiento consiste en la aplicación de la FFT (*Fast Fourier Transform* por sus siglas en inglés) para detectar a que frecuencias el transductor trabaja de mejor forma.

Todo el procedimiento de montaje de los transductores y el procesamiento se repitió para cada uno de los casos de pares de transductores (1 MHz. 3.5 MHz y 5 MHz) y de sus respectivas señales obtenidas.

5.4. Elaboración de *phantoms*

Un *phantom* o simulador de tejido juega un papel importante en el desarrollo de este proyecto ya que con las diferentes propiedades que estos tienen se puede hacer una comparativa en las aplicaciones a las que se quiere llevar este trabajo. Un *phantom* se puede definir como imitadores o simuladores de tejidos biológicos hechos con diferentes materiales con la finalidad de aproximar las propiedades a la de un tejido real.

Para determinar la concentración de componentes en un phantom, se tomó como valor total a utilizar la cantidad de agua. De forma más explícita se plantea el siguiente ejemplo, para un *phantom* de agarosa el cual se requiere con la concentración de 12% de agarosa con 150 ml de agua, el valor en gramos de agarosa se obtendría por la ecuación:

$$Agarosa_{gramos} = \left(\frac{(Agarosa_{\%})(Agua_{ml})}{Agua_{\%}} \right), \quad (5.7)$$

Con base en esta ecuación se determinaron los valores de los componentes de cada *phantom*, así como los ajustes para los procedimientos en los que los valores se encontraron escritos para modelos con mayores cantidades.

5.4.1. Materiales y procedimientos

La elaboración de diferentes tipos de *phantoms* con diferentes propiedades ultrasónicas nos permitirá conocer como responderá cuando sean expuestos a un haz ultrasónico. Dichas propiedades serán obtenidas con ayuda de mediciones mencionadas en apartados más adelante.

5.4.1.1. Phantom de agarosa

Para la elaboración de *phantoms* de agarosa se siguieron 2 diferentes procedimientos. Los materiales y equipos empleados en la elaboración de *phantoms* de agarosa al 0.7% fueron los siguientes:

- Agarosa (Invitrogen, USA)
- Agua bidestilada y desgasificada
- Termoagitador magnético (Scorpion scientific, USA)
- Barra magnética
- Termómetro digital (Hanna®, HI 935002)
- Balanza (American Weigh Scales®, AWS-201)
- Vasos de precipitado (Volúmenes de 50 a 250 ml)
- Pipeta graduada
- Espátula

Para el primer caso de *phantom* de agarosa se utilizó la siguiente receta:

1. Se miden las cantidades de agua bidestilada y agarosa para la obtención de un *phantom* de agarosa al 0.7%.
2. En un vaso de precipitado de cristal se coloca el agua bidestilada para comenzar a calentar. Se monitorea durante todo el proceso de calentamiento con ayuda del termómetro digital.
3. Se regula el termoagitador a una temperatura de 150°C y a una velocidad de 100 RPM (revoluciones por minuto), se introduce además una barra agitadora que mezclará lo que se le introduzca al vaso.
4. Cuando la temperatura del agua llega a 50 °C se comienza a añadir la agarosa de forma lenta y cuidadosa para que no se haga un grumo concentrado, se comenzará a disolver en el agua caliente.
5. Cuando la mezcla alcanza los 80°C se apaga la función de calentamiento del termoagitador y se mantiene solo la función de mezclar con el fin de disminuir la temperatura para verterlo en un molde, añadimos agua bidestilada con el fin de compensar alguna cantidad que se haya evaporado.

6. A una temperatura menor de 40 °C se retira el termómetro digital y vertemos la mezcla lograda en un recipiente de acrílico.
7. Cuando lo vertido se haya solidificado, colocamos aproximadamente 1 cm de agua del recipiente contenedor, sellamos el *phantom*, se coloca las etiquetas y se refrigera para su uso. La colocación de agua es con el fin de evitar que haya una evaporación del *phantom* una vez que esté almacenado.

El segundo procedimiento es bastante similar al anterior efectuando algunos cambios que se discutirán en el capítulo 7 de discusiones. Dicho procedimiento se describe a continuación.

1. Se miden las cantidades de agua bidestilada y agarosa para la obtención de un *phantom* de agarosa al 0.7%.
2. En un vaso de precipitado de cristal se coloca el agua bidestilada para comenzar a calentar. Se monitorea durante todo el proceso de calentamiento con ayuda del termómetro digital.
3. Se regula el termoagitador a una temperatura de 200°C y a una velocidad de 100 RPM (revoluciones por minuto), se introduce además una barra agitadora que mezclará lo que se le introduzca al vaso.
4. Dejamos calentar hasta que el agua alcance los 100°C con el fin de eliminar gases que formen burbujas durante la experimentación. Este punto se detalla en el capítulo 7.
5. Agregamos agua para compensar el agua evaporada, cuando estamos en los 100 °C apagamos el calentamiento y se deja activada la opción de RPM, agregamos lentamente la cantidad de agarosa mientras está mezclando y dejamos enfriar.
6. A una temperatura menor de 40 °C se retira el termómetro digital y vertemos la mezcla lograda en un recipiente de acrílico.
7. Cuando lo vertido se haya solidificado, colocamos aproximadamente 1 cm de agua del recipiente contenedor, sellamos el *phantom*, se coloca las etiquetas y se refrigera para su uso. La colocación de agua es con el fin

de evitar que haya una evaporación del *phantom* una vez que esté almacenado.

Para este tipo de *phantom* el uso de agarosa cumple la función de solidificar en forma de gel la mezcla creada acercando a parámetros de velocidad del sonido similares al del agua.

5.4.1.2. *Phantom* de grafito

Los materiales y equipos para la elaboración de estos *phantoms* fueron:

- Agarosa (Invitrogen, USA)
- Agua bidestilada y desgasificada
- Grafito (Grafitos trébol, México)
- Detergente neutro concentrado (Hyclin-Plus, Hycel, México)
- Glicerina, purea de 87% (Merck, Alemania)
- Termoagitador magnético (Scorpion scientific, USA)
- Barra magnética
- Termómetro digital (Hanna®, HI 935002)
- Balanza (American Weigh Scales®, AWS-201)
- Vasos de precipitado (Volúmenes de 50 a 250 ml)
- Pipeta graduada (volúmenes de 5 a 20 ml)
- Espátula
- Contenedores de acrílico

El grafito permitirá modificar el valor de atenuación que será diferente al gel de agarosa. Para el caso de la elaboración de estos *phantoms* se siguió con la receta explicada Gutiérrez [59]. Dicho procedimiento se detalla a continuación.

1. Se determinan las cantidades de agua bidestilada, agarosa, grafito y glicerina para añadir al *phantom*.
2. En uno de los vasos de precipitado colocamos la cantidad de grafito con un poco de agua bidestilada y el detergente neutro, esto permitirá que el grafito tenga una mejor mezcla con los demás componentes.

3. Colocamos agua bidestilada en otro vaso de precipitado sobre la parrilla para comenzar a calentar y agitar con ayuda de la barra agitadora. Hay que tener bajo monitoreo de temperatura durante todo el procedimiento.
4. Cuando el agua alcanza los 50°C de temperatura se agrega agarosa al agua de forma lenta para evitar formar grumos.
5. Seguido se agrega la mezcla de grafito, agua y detergente.
6. Cuando esta mezcla alcance los 80°C se deja de calentar, pero se sigue agitando.
7. Cuando alcanza los 70°C, se agrega la glicerina.
8. Conforme la temperatura vaya bajando se compensará los niveles de agua para llegar al valor de volumen que nosotros deseamos.
9. Cuando alcanza una temperatura menor de 45°C removemos la barra agitadora y con ayuda de la espátula se sigue agitando, la mezcla se vuelve lo suficientemente pesada para no poder mezclarse con el agitador por lo que es necesario hacerlo de forma manual.
10. Llegado al punto en el que la mezcla es lo suficientemente espesa para evitar la precipitación del grafito se coloca en un molde de acrílico y dejamos alcanzar la temperatura ambiente.
11. Se refrigera y envuelve con una capa de plástico con el propósito de evitar que se evaporen sus componentes.

Para evitar acumulación de algún agente bacteriano es recomendable colocar un agente antimicótico para utilizar el *phantom* durante repetidas ocasiones en una cantidad que no ocasione cambios en sus propiedades, así mismo el manejo de *phantoms* se realizó con el cuidado necesario para evitar causar algún daño en los modelos creados.

5.4.2. Medición de velocidad de ultrasonido

Los equipos y materiales empleados para la medición de velocidad de ultrasonido son los siguientes:

- ➔ Osciloscopio digital (LeCroy, 6100A series)

- *Pulser*/amplificador de baja potencia (manufacturado dentro del laboratorio)
- Contenedor de acrílico
- Transductor de inmersión de 3.5 MHz (Olympus Panametrics, NDT V382)
- Cables de inmersión
- Puntas metálicas
- Muestras de *phantoms* (agarosa y grafito)
- Contenedor de acrílico
- Agua bidestilada

La velocidad de ultrasonido se considera uno de los parámetros muy importantes ya que de esto dependerá el patrón de radiación en un modelo. El método que se utilizó para la medición fue la inserción de 2 puntas de metal con diferencia de distancia conocida en un modelo *phantom* con la técnica de aplicación de pulso-eco. El montaje utilizado para la medición se muestra en la Fig. 5.10.

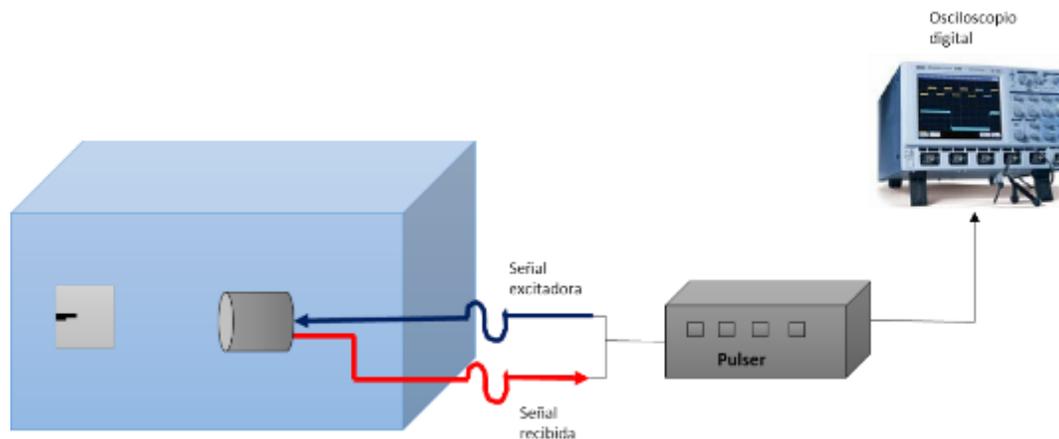


Fig. 5.10. Montaje empleado para la medición de velocidad de ultrasonido.

El procedimiento consiste en insertar las 2 puntas metálicas a una de las muestras del *phantom* y se coloca en un contenedor de acrílico en un medio, el cual es agua bidestilada, al que se le monitoreará la temperatura durante la medición. A la muestra se la hace incidir un pulso ultrasónico y se recibe con el mismo transductor (pulso eco), la señal recibida será de 2 pulsos el primero de

ellos pertenece al eco de la punta más cercana al transductor y el segundo pulso al más lejano.

Para calcular la velocidad de ultrasonido empleamos la fórmula de velocidad, pero adaptada por lo que usamos la siguiente:

$$c = \frac{2D}{t}, \quad (5.8)$$

esta fórmula está adaptada a 2 veces la distancia debido al doble recorrido que hace el pulso al ser emitido y luego al ser recibido. La señal recibida es amplificada lo suficiente y después de eso almacenada para en el osciloscopio para el registro de la experimentación. Las mediciones fueron realizadas en muestras de *phantoms* de agarosa y de grafito.

5.4.3. Medición de atenuación

Los equipos y materiales empleados para la medición de ultrasonido fueron los mismos componentes utilizados en la medición de velocidad del ultrasonido en *phantoms* por lo que enlistarlos no tiene caso. Sin embargo, los procedimientos utilizados para esta medición son completamente diferentes por lo que a continuación se describe el procedimiento empleado.

La medición de atenuación permite conocer el grado en el que un haz ultrasónico irá disminuyendo debido al tipo de material en el cual se propagará. Para este trabajo, el conocer el cambio de amplitud en el *phantom* nos permitirá conocer si el cambio de propiedades tiene cierta inferencia al momento de intentar detectar el fenómeno de cavitación acústica.

Existen diferentes métodos que se pueden implementar para la medición de atenuación [67, 68, 69, 70]. El que a continuación se describe es el método tradicional [68], el cual se utilizó en este trabajo de tesis.

En el montaje que se muestra en la Fig. 5.11, se muestra el arreglo de 2 transductores con la misma frecuencia (3.5 MHz) sumergidos en un contenedor con agua bidestilada y desgasificada en el cual se envía pulsos de uno (emisor) y se obtiene por el otro (receptor) por medio de la técnica de pulso-eco. Es

importante mencionar que las mediciones no se deben realizar ningún cambio en el desplazamiento de posición en los transductores o el modelo *phantom*.

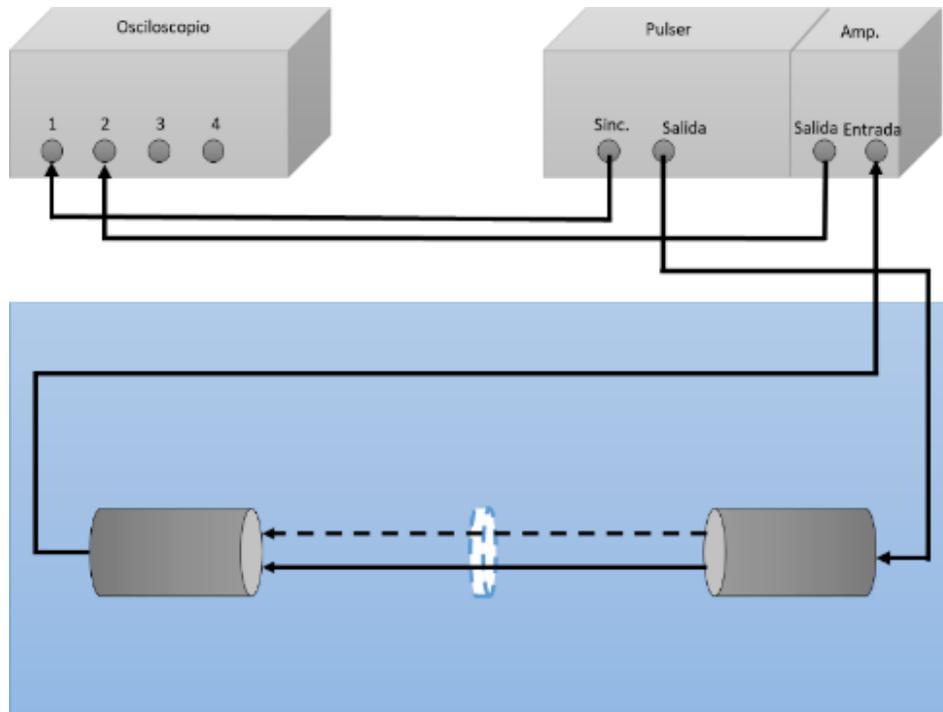


Fig. 5.11. Montaje empleado para las mediciones de atenuación

Con el montaje mostrado anteriormente se obtiene 2 señales de pulsos, el primero de ellos se toma como referencia el medio, es decir, es un pulso sin el *phantom* entre ambos transductores. Para el segundo pulso se coloca la muestra del *phantom* el cual tiene un espesor conocido (L , en cm) el cual se colocará de forma que la superficie de la muestra se encuentre lo más perpendicular al transductor emisor posible.

El cálculo de atenuación está dado por la ecuación 5.9,

$$\alpha(f) = \frac{1}{L} \ln T + \frac{1}{L} \ln \left[\frac{A_w(f)}{A_s(f)} \right], \quad (5.9)$$

en donde $A_w(f)$ y $A_s(f)$ son los espectros de amplitud obtenidos a partir de los pulsos emitidos por el transductor en el medio ($P_w(t)$) y en la muestra del

$phantom (P_s(t))$; L es el grosor de la muestra; el valor de T se obtiene a partir de la ecuación 5.10.

$$T = \frac{4Z_w Z_s}{(Z_w + Z_s)^2}, \quad (5.10)$$

Los valores de impedancia acústica del agua (Z_w) y de la muestra del $phantom (Z_s)$ se obtienen con el producto de su respectiva densidad con la velocidad de ultrasonido.

5.5. Propuesta de protocolo para detección de cavitación

Uno de los principales objetivos es detectar el fenómeno de cavitación para posteriormente realizar un control de dicho fenómeno durante la aplicación de FUS para la apertura temporal de la BHE. A continuación, se describe la metodología propuesta de un montaje en el que se implementan transductores para la producción de un haz ultrasónico a un $phantom$ para la detección de cavitación.

5.5.1. Material y equipo

Para poder llevar a cabo el montaje y las mediciones para la detección de cavitación acústica se utilizaron los siguientes componentes:

- Generador de funciones (Rohde & Schwarz, SML03)
- Osciloscopio digital (LeCroy, 6100A series)
- Amplificador de potencia (Amplifier Research, 500A250)
- Medidor de potencia (Amplifier Research, PM2002)
- Amplificador de baja potencia (Manufacturado dentro del laboratorio)
- Transductor de inmersión de 5 MHz (Olympus Panametrics, NDT V309)
- Transductor de terapia de 1 MHz (Metter Electronics, ME7310)
- Transductor HIFU de 2 MHz (Onda Corporation, 2-20-20-4)
- Modelos $phantoms$ (agarosa y grafito, descritos en el punto 5.4)
- Contenedor de acrílico

→ Agua bidestilada y desgasificada

Se utilizó también un equipo PC en el cual se llevó a cabo el procesamiento de las señales obtenidas que se almacenaron de forma temporal en el osciloscopio digital.

5.5.2. Montaje empleado propuesto

El fenómeno de cavitación se describe como el comportamiento de burbujas de gas en un medio. Estas burbujas cuentan con un tamaño micrométrico que al ser afectados por un cambio de presión por parte del haz ultrasónico afectan la presión a la que se encuentran. Dichos cambios de presión producen un cambio de temperatura en el medio lo que conlleva a la formación de las burbujas. Debido a la continua incidencia del haz, las burbujas comenzarán a cambiar de tamaño hasta que se comiencen a deformar y exploten. Estas “explosiones” liberaran energía que afecta el medio circundante (agua, tejido, otras burbujas) de alguna manera, por lo que nuestro objetivo es encontrar este comportamiento de cambios de energía con la aparición.

El montaje propuesto surge a partir de los grupos de investigación antes mencionados, pero con el uso de diferentes transductores para ver el comportamiento con diferentes tipos de estos y con modelos *phantoms* con diferentes características.

La Fig. 5.12 muestra el montaje empleado para la generación de cavitación ultrasónico en un *phantom* y la detección utilizando diferentes transductores. En esta propuesta se emite una señal pulsada con características específicas mostradas en la Tabla 5.4. El equipo de potencia nos muestra los valores de potencia en dBm por lo que con la ecuación

$$P[\text{dB}] = 10 \cdot \log\left(\frac{P_w}{1\text{mW}}\right), \quad (5.11)$$

podemos hacer la conversión de dB a Watts (W). Esta potencia es enviada al transductor emisor el cual emitirá un haz ultrasónico con diferentes grados de potencia hacia el modelo *phantom*.

Para evitar que la señal emitida produzca algún rebote o interferencia por sí misma, se decidió colocar un material absorbente acústico de forma paralela al *phantom* asegurando así que la señal recibida por el transductor de inmersión sea la señal de incidencia en el *phantom*.

Tabla 5.4. Características de la señal emitida.

Frecuencia del transductor	Terapia = 997 kHz
Duración del pulso	10 ms
Ciclo útil	10 μ s
Potencias aplicadas	Transductor de terapia 3W A 24W con pasos de 3W

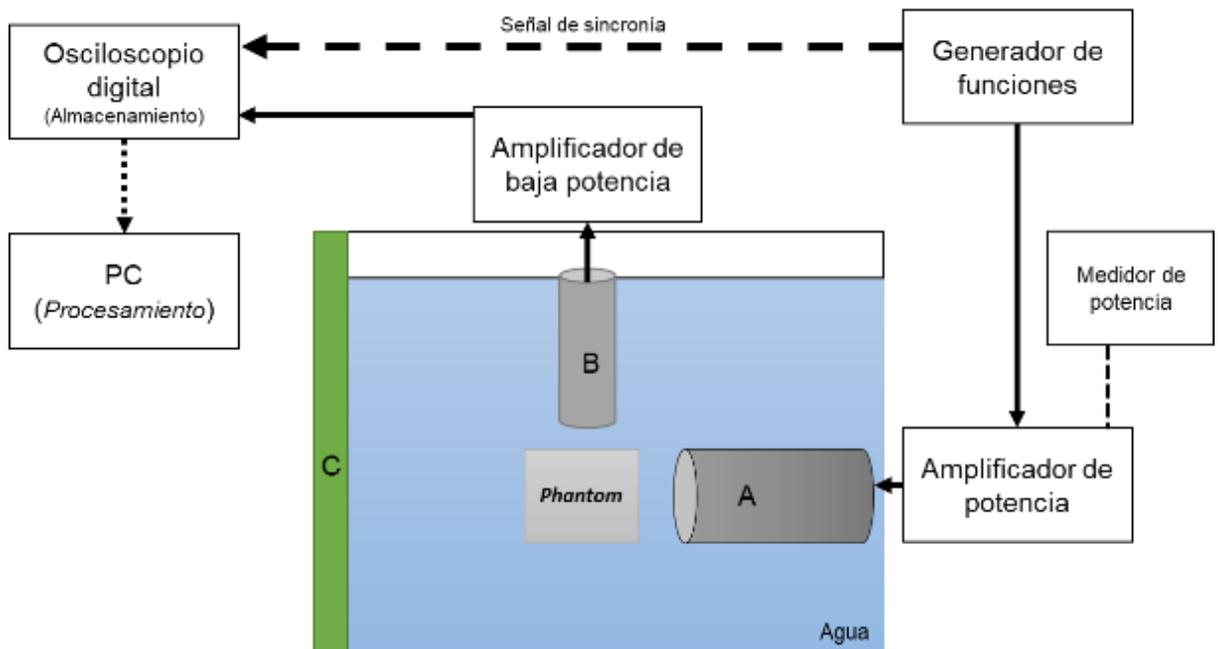


Fig. 5.12. Montaje propuesto para la detección de cavitación en modelos *phantoms*. (A) representa el transductor emisor (terapia o HIFU), (B) representa el transductor de inmersión receptor y (C) representa material absorbente acústico.

El transductor de inmersión nos permitirá detectar las señales. Sin embargo, al ser muy pequeñas, se lleva a cabo una amplificación por lo cual la señal es enviada y almacenada de forma temporal a un osciloscopio digital para después procesar las señales en una computadora.

Las características mostradas en la Tabla 5.4 fueron obtenidas por 2 diferentes parámetros: por una parte, los rangos y pasos de potencia están en función del valor que cada transductor puede permitir, los valores del pulso emitido y ciclo útil fueron calculados de acuerdo con los tiempos de emisión, la velocidad de transmisión en el medio y las distancias entre los transductores, además de la sincronía entre la señal emitida y la recibida. Esta señal de sincronía nos permite conocer en qué tiempo, después de emitida la señal, se recibirá y que además tiene coincidencia con el pulso emitido. De forma gráfica se observa en la comparativa de la Fig. 5.13.

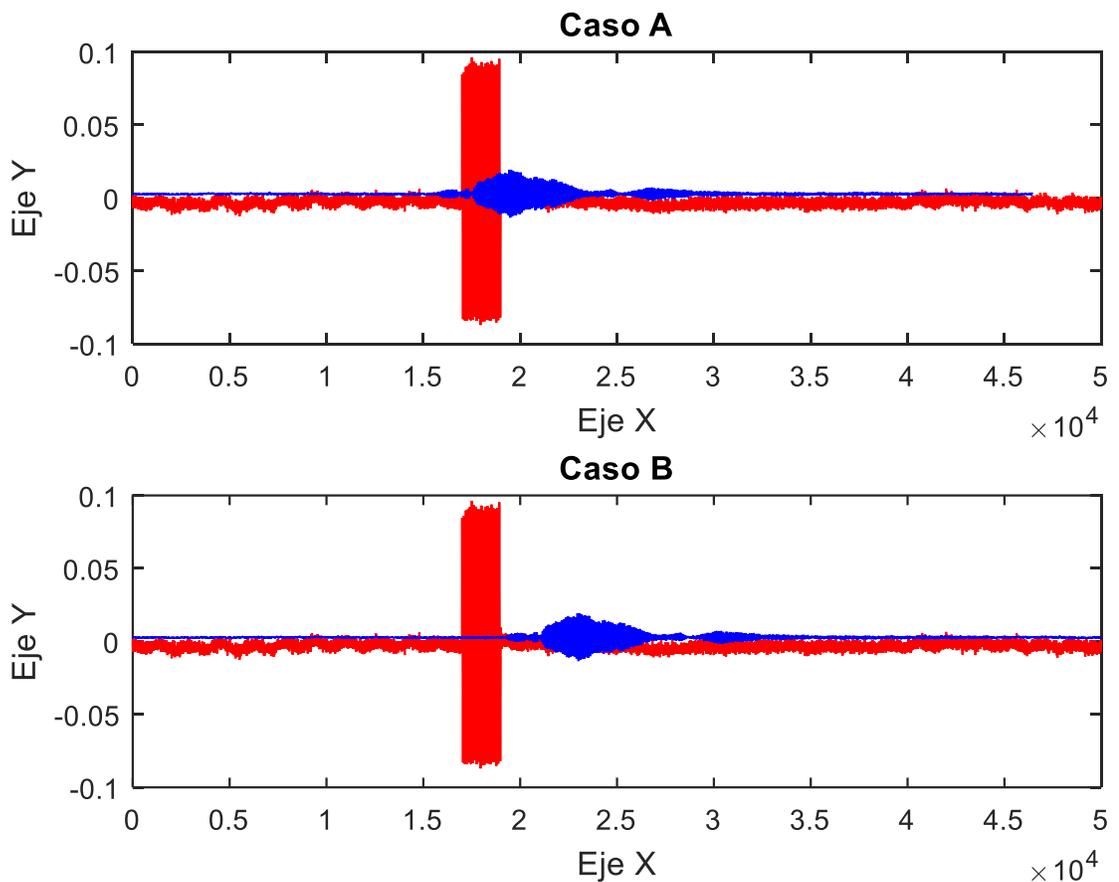


Fig. 5.13. Comparación de pulsos emitidos con señales recibidas para la determinación de ciclo útil.

En el caso A la señal emitida se encuentra en el mismo momento que en el momento que se recibe por lo que no es algo factible para nuestro objetivo. Al estar en el mismo tiempo la señal de sincronía con la recibida podría confundirse que la energía del pulso podría ser la cavitación, siendo esto un obstáculo para nuestros propósitos. Para el caso B, la señal recibida se encuentra “desfasada” de la señal que se emite por lo que nos indica que la señal recibida no es algún otro tipo de señal por parte del transductor de emisión. Para lograr los valores de ciclo útil se realizó un cálculo de tiempos de transmisión en función de la distancia a las que se colocaron los transductores y de la velocidad de transmisión ultrasónica en el medio, de acuerdo con los valores de velocidad del sonido en el agua y de los medidos en los diferentes *phantoms* de la sección 5.4.2. Los pulsos mostrados en la Fig. 5.13 son elaborados al azar y meramente demostrativos.

En el montaje para la detección de cavitación se determinaron las distancias en las cuales se asume el haz de incidencia y la recepción del modelo fueran las correctas. Para esto se determinó con base en 3 elementos: la forma, tamaño y distancias alcanzadas por el haz ultrasónico con base en las mediciones de campos acústicos, las distancias de alcance de los transductores conocidos por parte del proveedor y de la velocidad de transmisión en el medio teniendo en cuenta puntos de incidencia.

El transductor de inmersión que se utilizó para detección se colocó a una distancia arbitraria con respecto a su alcance (50 mm), por lo que se decidió colocar a 30 mm; el transductor de terapia tiene un alcance de aproximadamente 150 mm, se decidió colocar cerca al *phantom* y bajo la fórmula del teorema de Pitágoras se determinaron ciertas distancias como se ve en la Fig. 5.14.

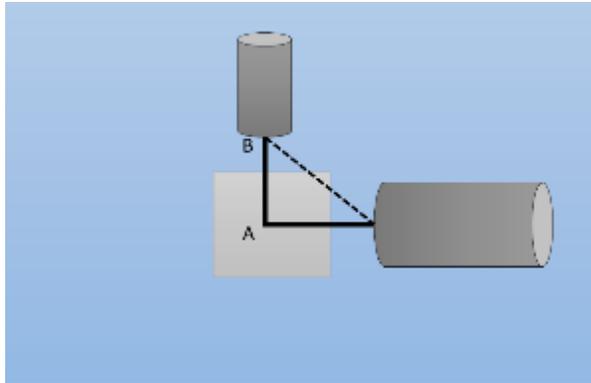


Fig. 5.14. Determinación de tiempos de transmisión en base a las distancias a las que se colocaron los transductores en el montaje de detección de cavitación.

Con ayuda de una regla se hicieron las mediciones de las distancias de los transductores hacia el *phantom*, considerando referencia el centro del *phantom* y cada una de las caras de los transductores, similar a lo que se observa en la Fig. 5.14. Los mismos cálculos que identificaron los tiempos de emisión de pulsos nos permitieron determinar las distancias a las cuales se colocaron tanto los transductores de emisión como los de detección.

5.5.3. Procesamiento

Para llevar a cabo el procesamiento de las señales se utilizó el software MATLAB (MathWork, USA) en un PC con procesador Intel Core i5-4210U de 2.4 GHz con una memoria RAM de 8-GB. El procesamiento consiste en la obtención de espectrogramas a partir de la obtención de espectros de frecuencia de la señal obtenida.

El espectrograma se elaboró a partir del análisis por tramos de la señal y de la aplicación de la transformada de Fourier de tiempo corto a cada uno de los tramos. Esta obtención de frecuencias corresponderá a los mismos tiempos de la señal emitida por lo que se espera una obtención de colores con mayor intensidad en los puntos donde se encuentre un mayor valor de potencia. A estos incrementos abruptos son los que se determinan como cavitación.

El análisis nos permitirá identificar la aparición o no del fenómeno, la intensidad con que se presenta, la duración del fenómeno y tiempos en los que aparecen, así las frecuencias en que aparecerá.

Capítulo 6

Resultados

6.1. Apertura de la BHE

Los procedimientos realizados con experimentación animal fueron llevados a cabo en un número total de 16 animales (Ver apéndice A), ratas de la cepa Wistar, de los cuales se presentan los siguientes resultados.

Lo primero es la presentación del cono realizado, se le creó un empaque que permita sostener bajo presión el componente de látex que contendrá el agua bidestilada por el cual el haz ultrasónico se propagará para llegar a la *substantia nigra*.



Fig. 6.1. Cono manufacturado dentro del laboratorio. Se muestra el empaque colocado con el componente de látex que contendrá el medio de propagación del ultrasonido (agua bidestilada).

Los resultados de la optimización del protocolo de apertura de la barrera hematoencefálica se muestran con la tinción del azul de Evans en la superficie del cerebro debido al cambio de sitio de inyección del colorante. A diferencia de los protocolos anteriores la inyección de EB se realizó por la vía retro oftálmica con el propósito de tener un punto más cercano a la zona de la *substantia nigra*.

Los cortes realizados en el vibratomo muestran la tinción de la *substantia nigra* después de la aplicación de FUS.



Fig. 6.2. Cerebro con marcas de tinción por parte del colorante azul de Evans. La tinción es más notoria ya que el sitio de inyección del colorante es por otra vía a diferencia de los protocolos pasados.



Fig. 6.3. Corte realizado al cerebro del modelo murino realizado en el vibratomo.

Lo que se demuestra de lo anterior es la funcionalidad del protocolo existente realizado en las diferentes muestras de animales a las que se les aplicó. A partir de estos resultados se busca la mejora del protocolo que actualmente se encuentra como funcional para la disminución de daño tisular e implementar algo menos invasivo.

6.2. Modelado por el método del elemento finito

6.2.1. Modelado de propagación acústica

De los modelos por método del elemento finito que se presentaron en la sección 5.2., se obtuvieron los resultados a diferentes frecuencias de emisión ultrasónica. El barrido paramétrico de frecuencias nos permitió encontrar las frecuencias a las que el transductor podría emitir un haz ultrasónico capaz de atravesar el cráneo del modelo de rata de la cepa Wistar.

La Fig. 6.4. muestra una comparación entre 3 frecuencias tomadas de todo el barrido siendo la frecuencia inicial, final y media del rango de frecuencias de 500 kHz a 3 MHz. Del mismo modo se realizó una gráfica de distribuciones de presión entre estas mismas frecuencias, mostrando el comportamiento de la presión que cada uno de los transductores genera a lo largo del eje axial de simetría de la geometría modelada, como se observa en la Fig. 6.5. Después del análisis realizado se determinó que el transductor que funciona a una frecuencia de 500 kHz es capaz de generar un foco que nos permita posicionarnos sobre la *substantia nigra* atravesado el cráneo del animal.

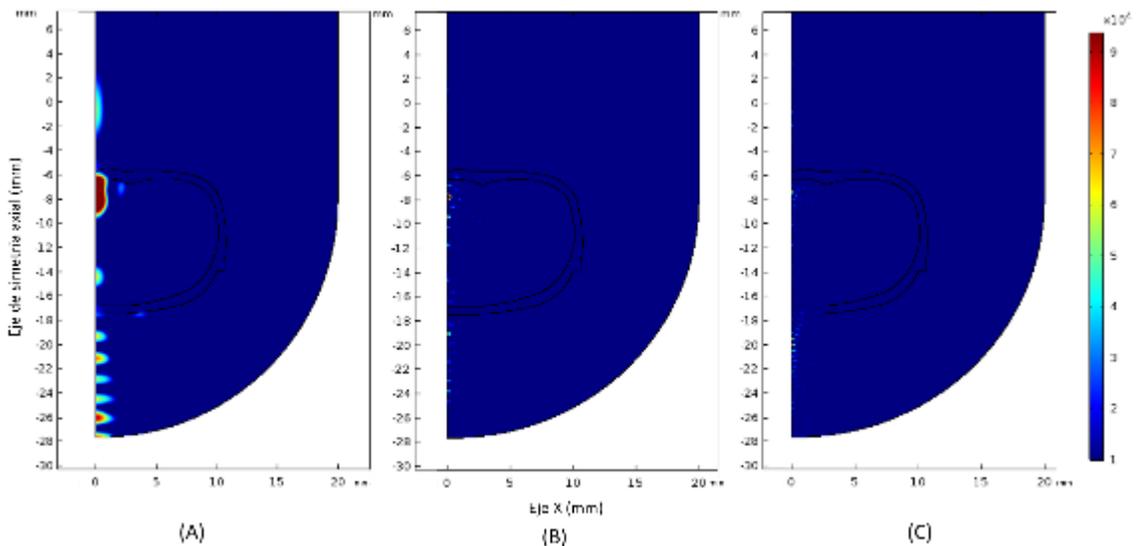


Fig. 6.4. Propagación acústica con diferentes transductores, (A) 500 kHz, (B) 2 MHz, (C) 3.5 MHz.

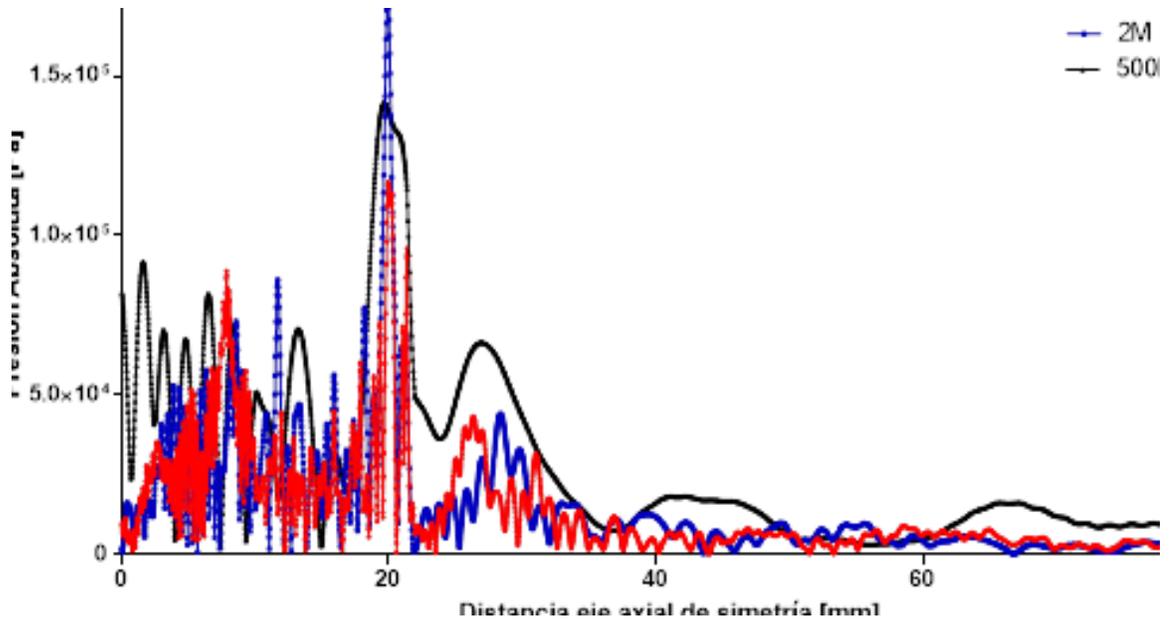


Fig. 6.5. Niveles de presión acústica diferentes frecuencias sobre el eje axial.

6.2.2. Modelado de bio calentamiento

Una vez determinada la frecuencia de 500 kHz como el mejor escenario capaz de hacer pasar el haz ultrasónico a través del cráneo del modelo, se tomaron los valores de presión acústica generada por este valor de frecuencia y en función de las ecuaciones descritas en la metodología (ecuación de bio calentamiento) se obtuvieron los patrones de calentamiento en el tejido simulado. La Fig. 6.6 demuestra que el principal punto de calentamiento es el foco producido por el transductor, mientras que el calentamiento que se da en el cráneo es menor. Este comportamiento es el que se esperaba de forma teórica previo a las simulaciones.

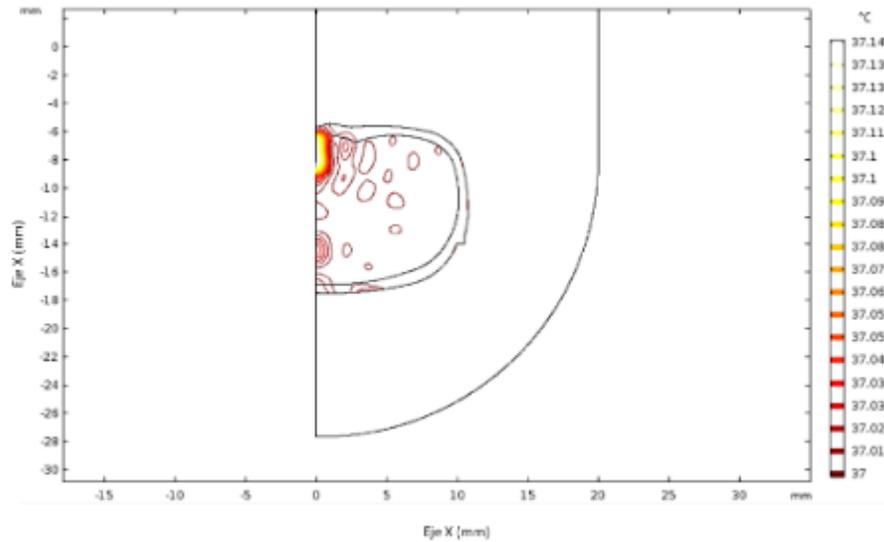


Fig. 6.6. Propagación de calentamiento el tejido simulado de un modelo murino.

6.3. Caracterización eléctrica de transductores

Las mediciones realizadas para cada uno de los transductores nos permitieron identificar las frecuencias respectivas a la que el haz emitido operaban de mejor manera para los transductores de terapia y HIFU. El caso de las mediciones hechas en los transductores de inmersión nos permitió identificar el que tuviera el mejor ancho de banda capaz de detectar la señal que nosotros esperábamos.

6.3.1. Mediciones impedancia, SWR y campo acústico de transductor de terapia de 1 MHz.

En la gráfica del comportamiento de impedancias de la Fig. 6.7, se observa que a la frecuencia dada de 1 MHz se tiene una impedancia 65Ω , sin embargo, en una frecuencia menor se ve que la impedancia es menor, a 997 kHz se tiene un valor de impedancia de 38Ω .

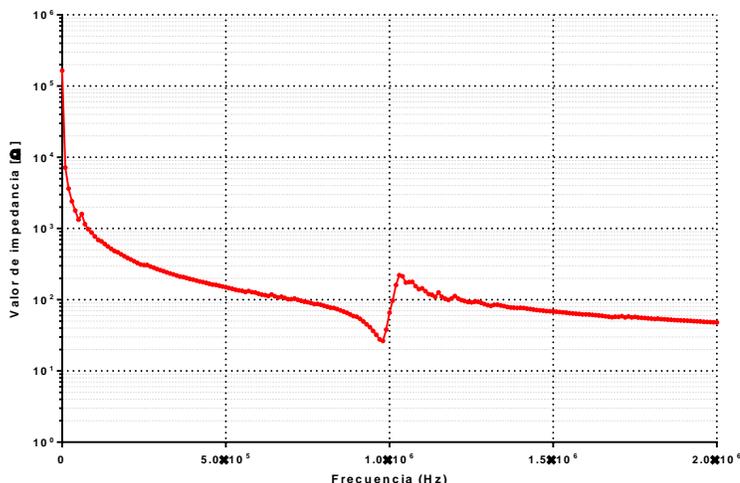


Fig. 6.7. Gráfica de medición de impedancia de transductor de terapia.

La medición de razón de onda estacionaria (SWR) nos indicará el valor de frecuencia en el cual el transductor trabajará de mejor manera, respaldando los valores de las mediciones anteriores. Se encontró que, de acuerdo con la gráfica mostrada en el Fig. 6.8, el valor de SWR más bajo es de 1.53, encontrándose en la frecuencia de 997 kHz.

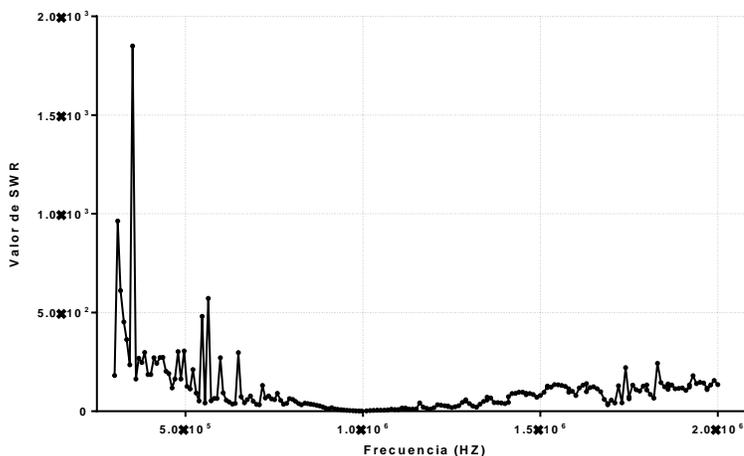


Fig. 6.8. Gráfica de medición de SWR de transductor de terapia.

Con estos datos obtenidos se propuso entonces que el haz ultrasónico emitido por este transductor sea con una frecuencia de 997 kHz para los experimentos realizados sobre detección de cavitación acústica y no la de 1 MHz que es la frecuencia del transductor.

Las mediciones del campo acústico nos permiten observar la forma en que el haz ultrasónico se distribuye en un medio, la Fig. 6.9 muestra como el campo avanza en su eje Z y como el campo comienza a abrirse en poca cantidad hacia el eje Y. Esta misma imagen nos permite ver los puntos en los cuales el haz ultrasónico tiene una mayor cantidad de presión presentándose en los primeros 80 mm por lo que la posición del transductor en el montaje de cavitación no tendría que exceder esta distancia.

La gráfica de distribución de presión en el eje Z mostrada en la Fig. 6.10 respalda lo anterior mostrando una distribución de presión más estrecha

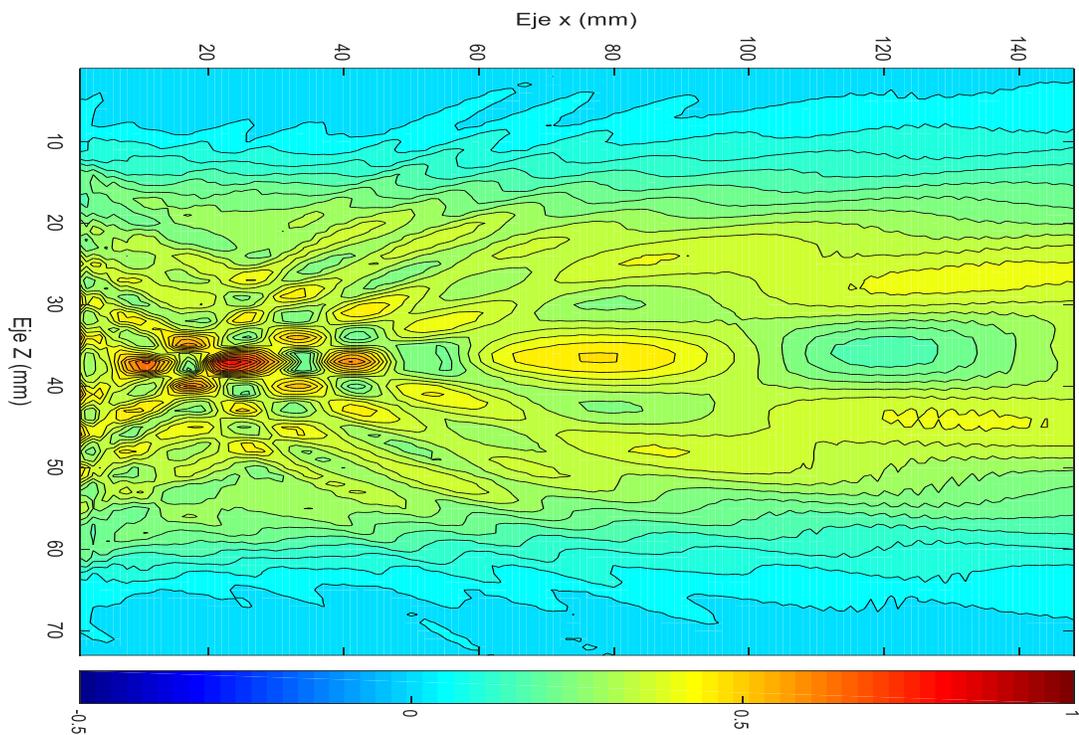


Fig. 6.9. Mapa de distribución acústica del haz producido por el transductor de terapia.

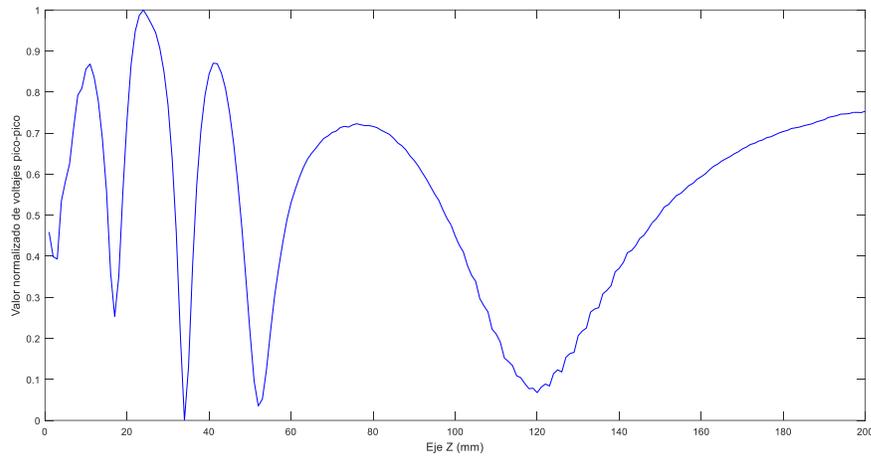


Fig. 6.10. Distribución de presión acústica sobre el eje Z del transductor de terapia.

6.3.2. Mediciones de impedancia, SWR y campo acústico de transductor HIFU de 2 MHz.

El transductor HIFU también fue caracterizado eléctricamente con las mismas mediciones realizadas al transductor de terapia como se explica en los procedimientos explicados en el apartado 5.3 del capítulo de metodología.

Los valores de impedancias que muestran la gráfica de la Fig. 6.11 que en el rango que va de 1.95 MHz a 2.03 MHz se tiene un valor de impedancia bajo, con lo que un valor de frecuencia con esta impedancia nos permitiría tener un mejor acople al momento de utilizarlo.

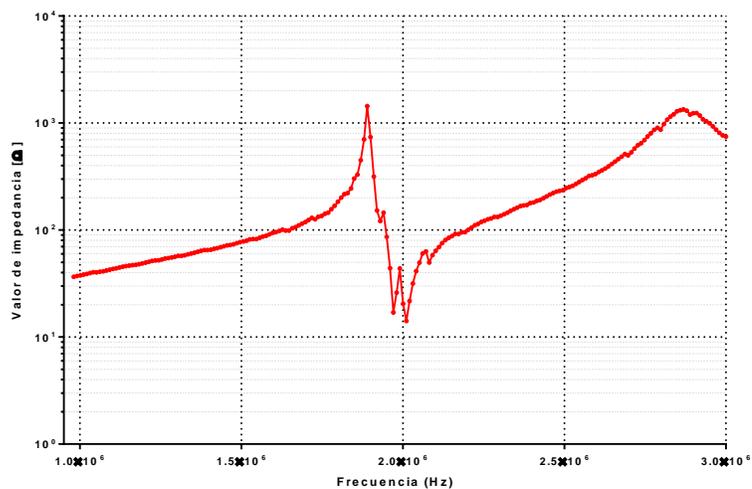


Fig. 6.11. Gráfica de medición de impedancia del transductor focalizado.

La Fig. 6.12 muestra la gráfica de valor SWR medidos en el transductor en un medio (agua bidestilada), es ella se observa que a la frecuencia de 1.96 MHz se tiene el valor de SWR más bajo que es de 1.33, por lo que fue esta frecuencia a la que se decidió trabajar para los próximos experimentos. Para ambos casos de transductores se encontró que la frecuencia ideal de trabajo no es la misma que el valor de frecuencia que el proveedor indica.

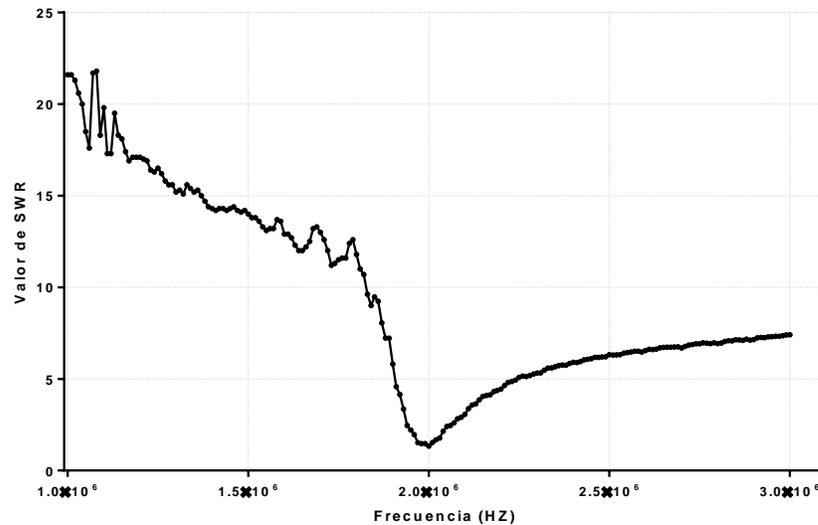


Fig. 6.12. Gráfica de medición de SWR del transductor focalizado.

El comportamiento acústico mostrado por la distribución de presiones acústica obtenidos en la Fig. 6.13 nos indica la forma en que el campo se comporta en un medio. El fabricante indica que la distancia del foco es de aproximadamente 20 mm, corroborado con las mediciones que si tiene ese alcance. Sin embargo, la parte central del foco se encuentra aproximadamente entre 14 a 16 mm del transductor por lo que esas distancias se tuvieron en cuenta para los montajes propuestos en la sección 5.5 del capítulo de metodología.

Se corrobora con la gráfica mostrada en la Fig. 6.14 en la cual se ve el valor de voltaje más alto en el rango que va de 14 a 16 mm de distancia sobre el eje Z de las mediciones realizadas.

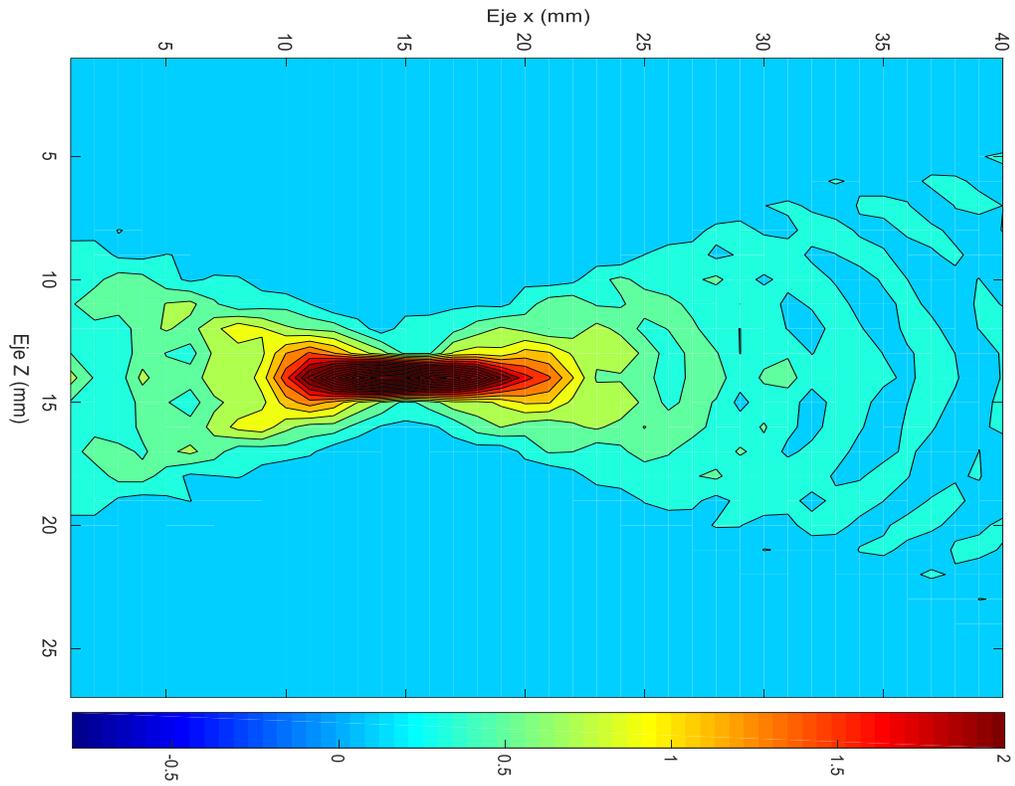


Fig. 6.13. Distribución de campo acústico del transductor focalizado.

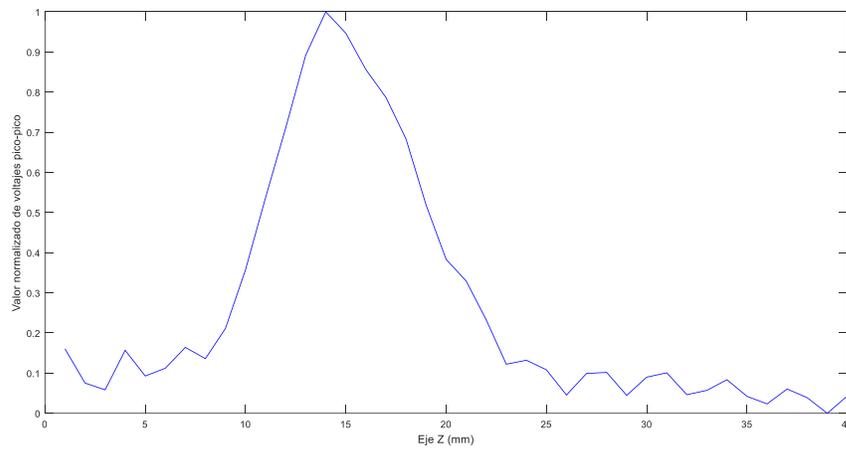


Fig. 6.14. Gráfica de presión acústica distribuida a lo largo del eje Z del transductor focalizado.

6.3.3 Mediciones de ancho de banda de los transductores de inmersión.

Los resultados obtenidos de las mediciones de ancho de banda de los transductores se observan a continuación. Se presenta 3 diferentes gráficas correspondientes a las mediciones de admitancia de cada uno de los pares de

transductores, las líneas punteadas representan a los transductores que emitieron los pulsos y las líneas solidas a los que recibieron, de la misma forma las líneas de color azul corresponden a los transductores de 1 MHz (Fig. 6.15), las líneas rojas al de 3.5 MHz (Fig. 6.16) y las líneas negras a los de 5 MHz (Fig. 6.17).

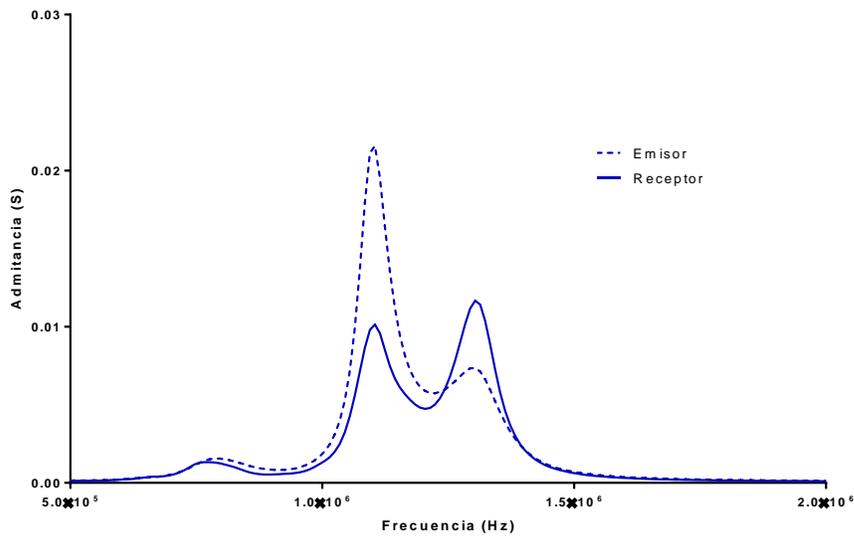


Fig. 6.15. Gráfica de admitancia de los transductores de inmersión de 1 MHz, la línea punteada representa el transductor emisor del pulso mientras que la sólida representa al receptor.

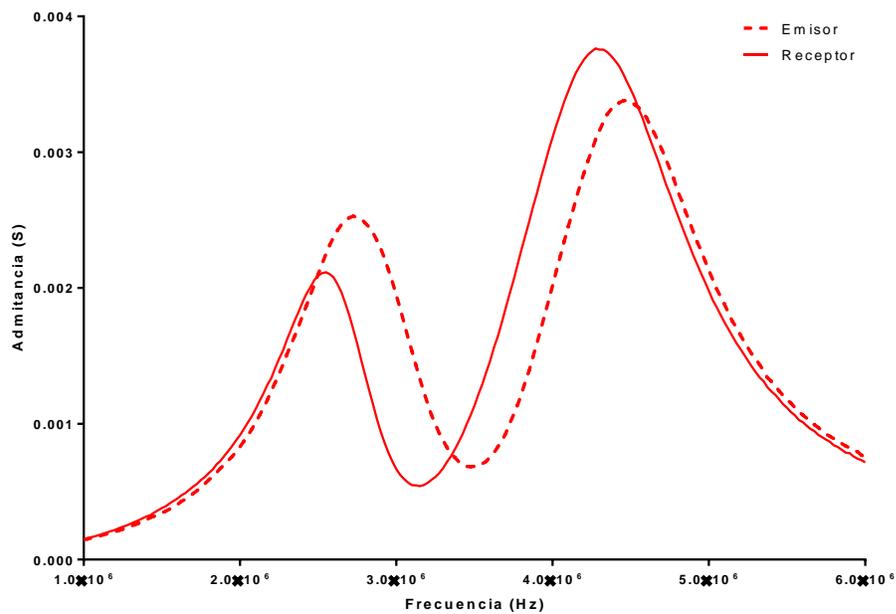


Fig. 6.16. Gráfica de admitancia de los transductores de inmersión de 3.5 MHz, la línea punteada representa el transductor emisor del pulso mientras que la sólida representa al receptor.

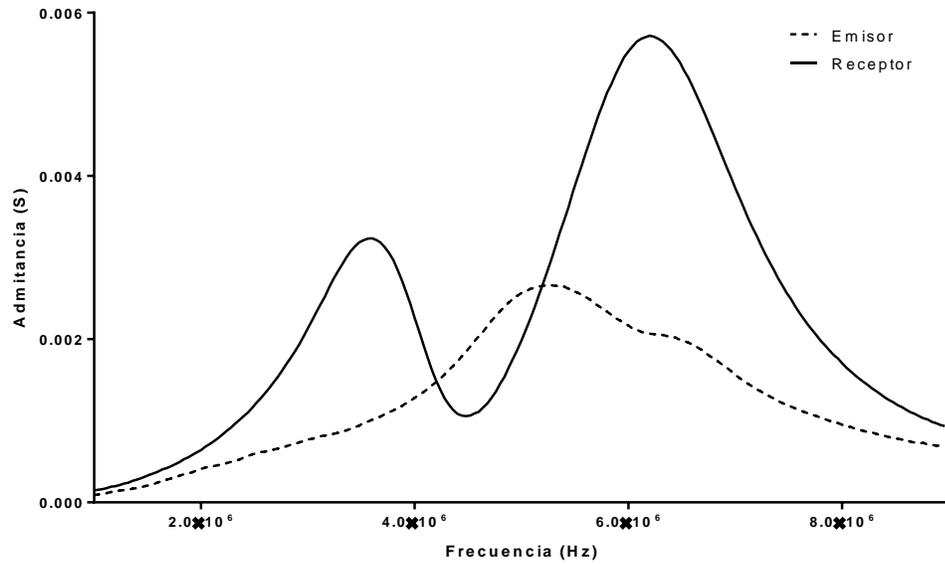


Fig. 6.17. Gráfica de admitancia de los transductores de inmersión de 5 MHz, la línea punteada representa el transductor emisor del pulso mientras que la sólida representa al receptor.

Los pulsos emitidos por los transductores fueron procesados por el software MATLAB con el fin de obtener las frecuencias a las que se pueden detectar señales. Estos valores son mostrados en la Fig. 6.18.

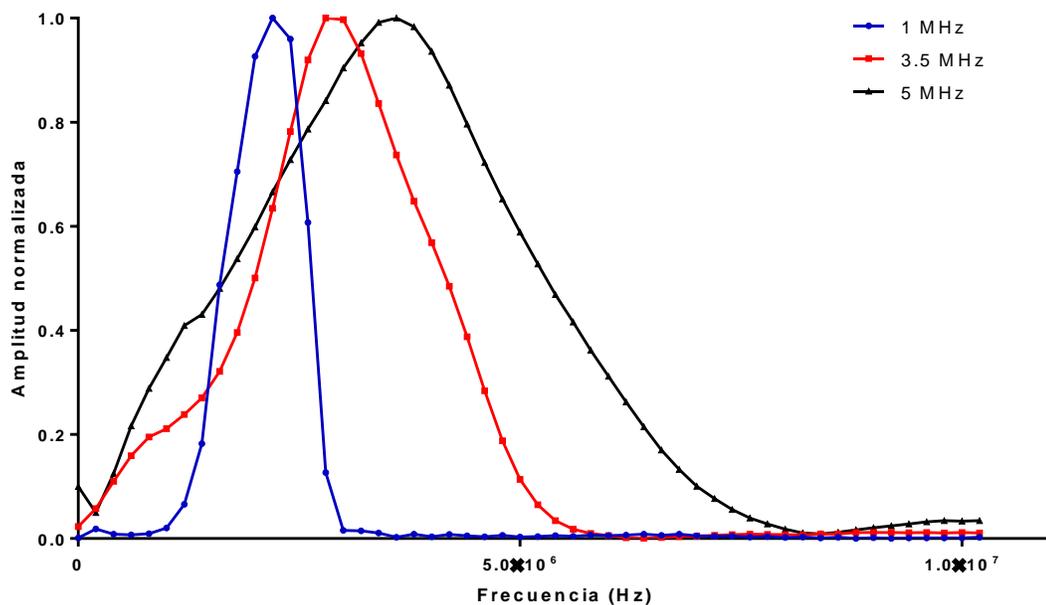


Fig. 6.18. Espectros de frecuencias de cada par de transductor de inmersión. La línea azul representa los transductores de 1 MHz, la roja los de 3.5 MHz y la línea negra los de 5 MHz.

En la figura se observan 3 gráficas en las que la línea de color azul representa al transductor con frecuencia de 1 MHz, la línea roja al de 3.5 MHz y la línea negra al de 5 MHz. Para tener una comparación entre las señales se decidió normalizar los valores de amplitud sin afectar las frecuencias a las que se detectan. Esta última figura nos permite identificar que las señales de la frecuencia de 5 MHz nos permitirán identificar un mayor número de frecuencias por lo que se eligió ese transductor para emplearlo en el montaje de cavitación.

6.4. Propiedades de *phantoms*

6.4.1. Resultados de *phantom* realizados

De acuerdo con los procedimientos establecidos en la sección 5.4 sobre la elaboración de *phantoms*, se obtuvieron muestras con un promedio de dimensiones 3 x 3.5 x 4 cm. Para su conservación, fueron manejados evitando dañar en la superficie para evitar alguna fisura ya que su fragilidad los vuelve propensos a romperse, de la misma forma se mantuvieron refrigerados y se les agregó agua bidestilada dentro del molde para evitar que se secan, así como un agente antimicótico para prevenirlos de presencia de hongos y poder utilizarlo por más tiempo.

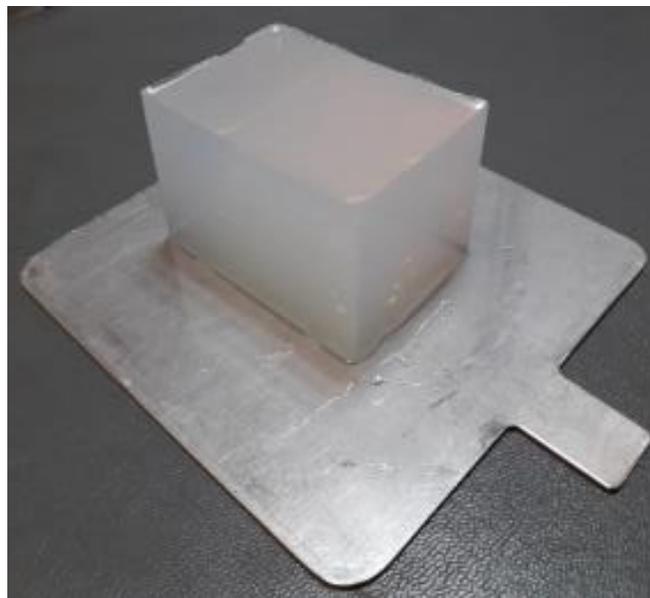


Fig. 6.19. Modelo *phantom* de agarosa

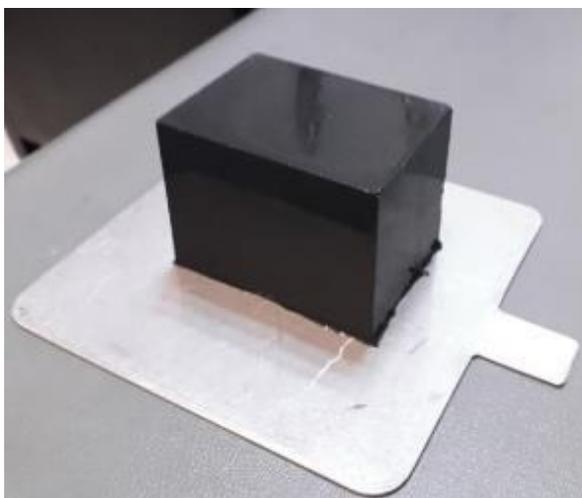


Fig. 6.20. Modelo *phantom* de grafito

6.4.2. Velocidad y atenuación de ultrasonido en *phantoms*

Los resultados obtenidos de la velocidad de sonido por medio del método de agujas fueron los siguientes. Cabe mencionar que los resultados son un promedio de valores del diferente número de muestras realizadas n y contabilizadas para la obtención de los valores velocidad del sonido y atenuación.

Los valores de velocidad de sonido y atenuación obtenidos para cada uno de los tipos de *phantoms* se muestra en la Tabla 6.1. con las respectivas metodologías mostradas en la sección de metodología de este trabajo. El resultado para cada uno de los valores de atenuación de muestran de forma gráfica en la Fig. 6.21.

Tabla 6.1. Valores de velocidad de sonido y atenuación en los modelos *phantoms*

<i>Phantom</i>	Agarosa	Grafito
Velocidad de sonido (m/s)	1526.19	1565.32
Atenuación [dB/cm]		
@ 1 MHz	0.111848	0.588445
@ 2 MHz	0.044477	1.015146
@ 3 MHz	0.072944	1.331472
@ 4 MHz	0.114078	1.609047
@ 5 MHz	0.155657	1.712216

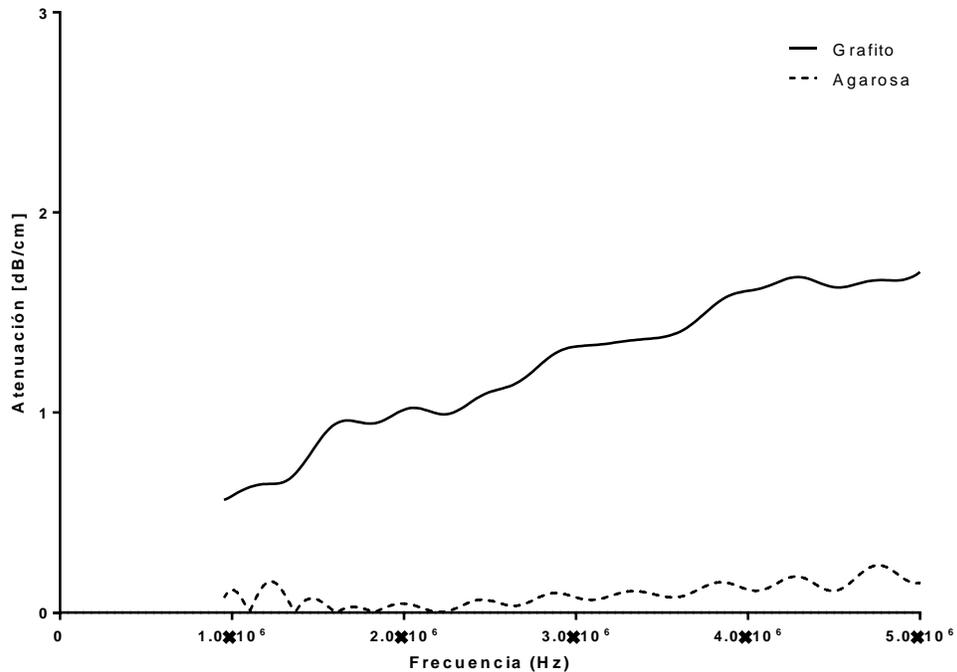


Fig. 6.21. – Valores de atenuación de las muestras de los *phantoms* elaborados con agarosa y grafito.

Los resultados muestran un cambio considerable en el valor de atenuación para el diferente tipo de material, por lo que se puede inferir que el material grafito es el principal causante de atenuar el haz ultrasónico. Por otro lado, los valores de velocidad de sonido son bastante similares ya que el material de agarosa solo permite convertir en gelatina el agua que es el medio por el cual ocurre el envío del haz ultrasónico.

6.5. Señales de detección de cavitación

Los resultados presentados a continuación muestran las señales obtenidas de cavitación, así como el procesamiento que se les realizó. Como se mencionó en la sección 5.4.3, se utilizó el software Matlab para desarrollar el algoritmo que procesaría a las señales obtenidas. Comenzando con el *phantom* de agarosa se muestran los primeros resultados. En la Fig. 6.22 se muestra la comparativa de una señal de baja potencia de 5 W con su respectivo espectrograma obtenido.

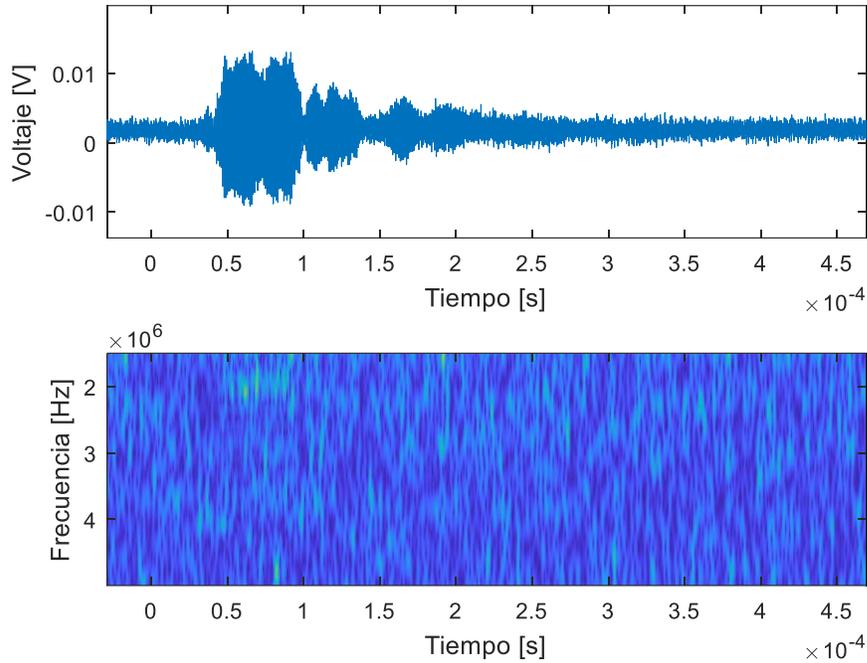


Fig. 6.22. Señal pulsada de baja potencia (5 W) con su espectrograma.

La Fig. 6.23 muestra también una señal, pero de alta potencia (24 W) de la cual también se obtiene su respectivo espectrograma. Se puede observar muy claramente las diferencias obtenidas de forma gráfica la intensidad de aparición del fenómeno de cavitación. Se hicieron pruebas con diferentes saltos de potencia y de acuerdo con el procesamiento de las señales se obtuvo la gráfica de probabilidades de aparición del fenómeno, como se ve en la Fig. 6.24.

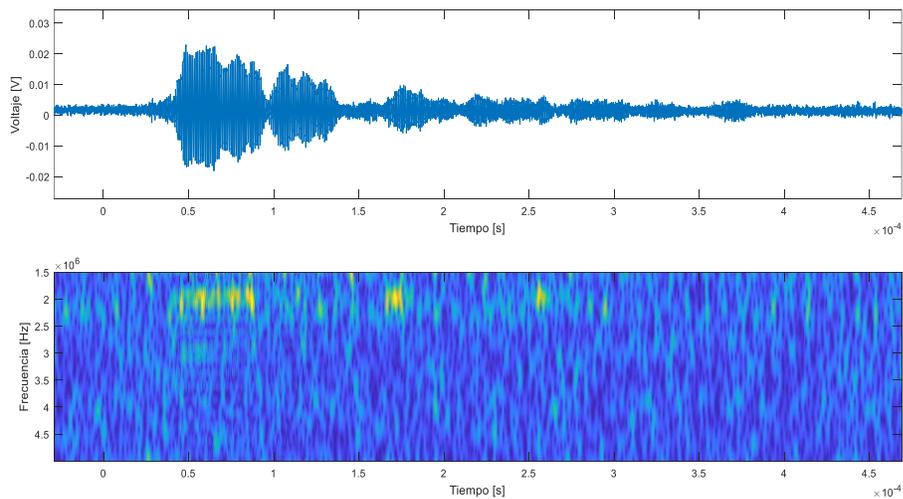


Fig. 6.23. Señal pulsada de alta potencia (24 W) con su espectrograma.

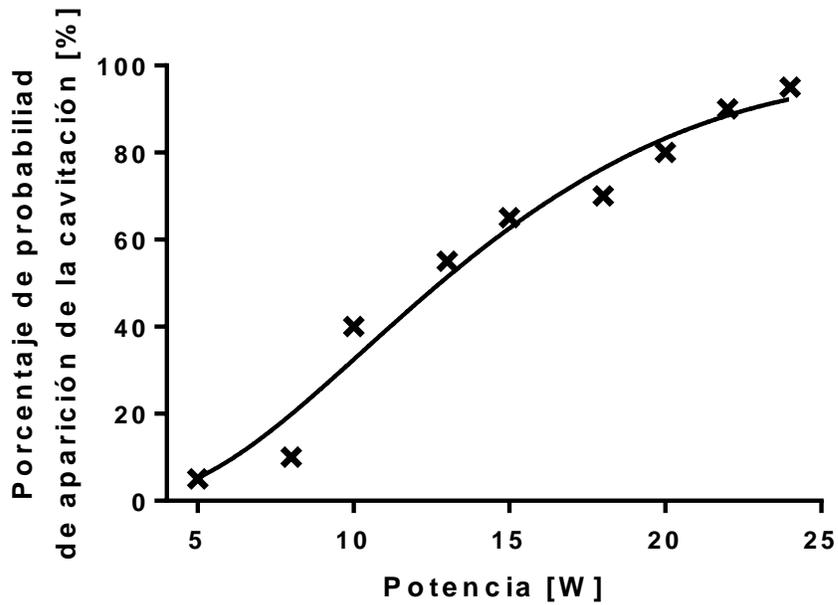


Fig. 6.24. Gráfica de probabilidades de aparición del fenómeno de cavitación acústica en el phantom de agarosa.

Por medio del análisis de las señales obtenidas se obtuvo una media de valores de intensidad, duración del fenómeno y frecuencias en las que aparece el fenómeno para cada uno de los saltos de potencia establecidos entre 5 W a 24 W mostrados en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2. Valores medios de intensidad, duración y frecuencia de aparición del fenómeno de cavitación en el *phantom* de agarosa.

Potencia [W]	Intensidad [unidades]	Duración [ms]	Frecuencia de aparición [MHz]
5	0.251±0.015	0.8	1.7 – 2.3
8	0.304±0.158	1.4	1.7 – 2.2
10	0.326±0.205	2.7	1.6 – 2.2
13	0.311±0.119	3.1	1.6 – 2.3
15	0.357±0.145	3.5	1.6 – 2.3
18	0.338±0.221	3.9	1.7 – 2.3
20	0.332±0.142	4.1	1.6 – 2.3
22	0.346±0.123	3.9	1.6 – 2.4
24	0.346±0.251	4.2	1.6 – 2.3

Para el caso del *phantom* de grafito se presentan resultados de forma similar. La Fig. 6.25. muestra una señal de baja potencia y su espectrograma

obtenido, mientras que su contraparte de alta potencia a 24 W se observa en la Fig. 6.26.

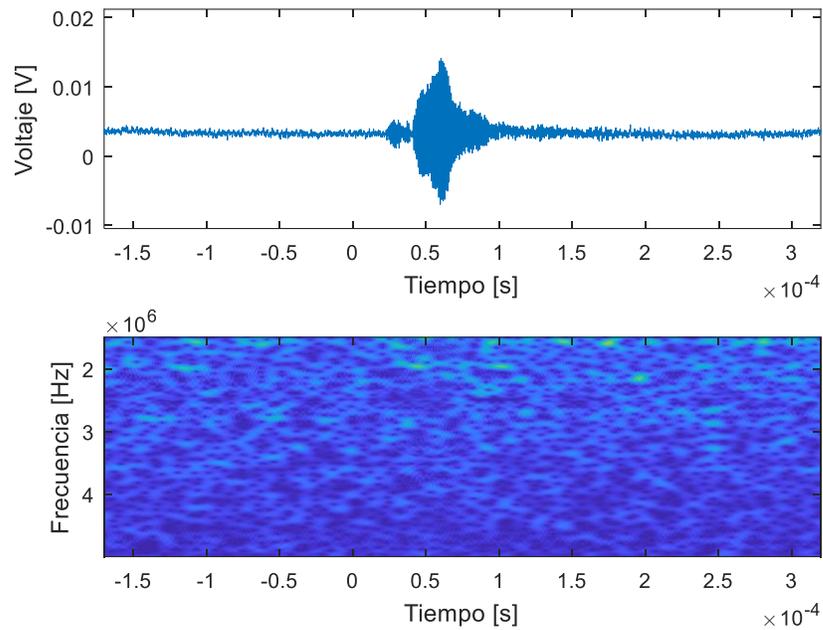


Fig. 6.25. Señal de baja potencia en un *phantom* de grafito con su espectrograma obtenido.

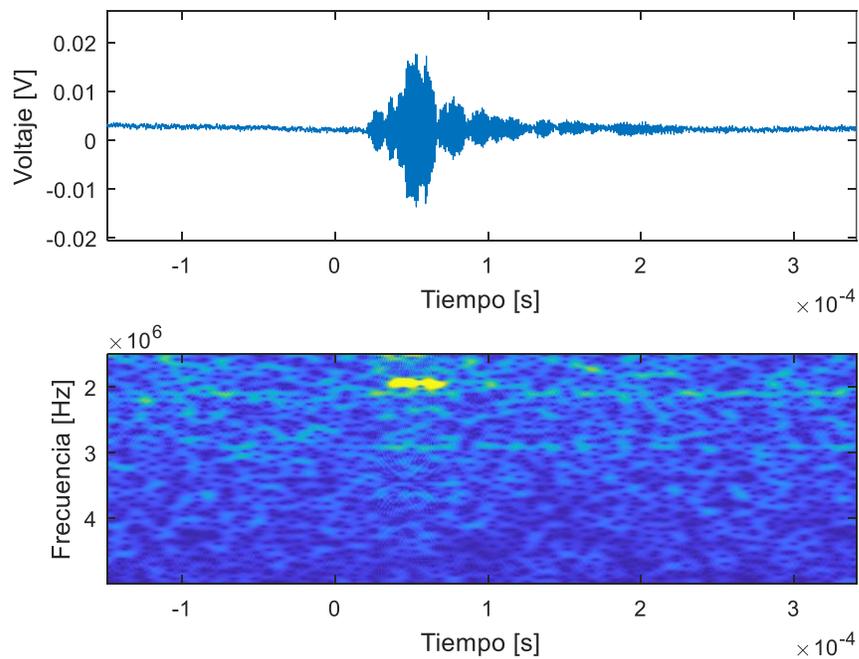


Fig. 6.26. Señal de alta potencia en un *phantom* de grafito con su espectrograma obtenido.

La Fig. 6.27 muestra la gráfica de probabilidades de aparición del fenómeno para cada una de las potencias aplicadas en el transductor. La Tabla 6.3. detalla los valores medios de intensidad, duración del fenómeno y frecuencias de aparición del fenómeno de cavitación acústica en el *phantom* de grafito.

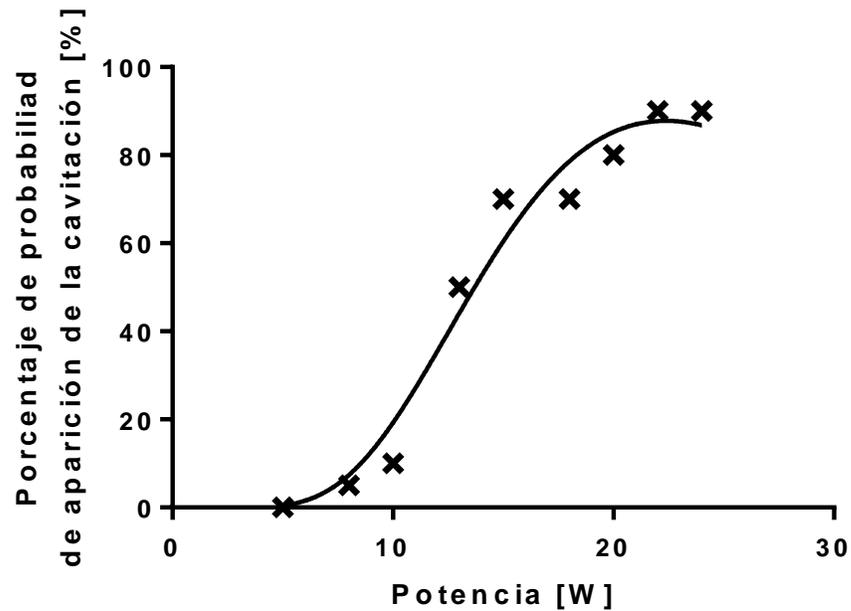


Fig. 6.27. Gráfica de probabilidades de aparición del fenómeno de cavitación acústica en un *phantom* de grafito.

Tabla 6.3. Valores medios de intensidad, duración y frecuencia de aparición del fenómeno de cavitación en el *phantom* de grafito.

Potencia [W]	Intensidad [unidades]	Duración [μ s]	Frecuencia de aparición [MHz]
5	-	-	-
8	-	-	-
10	0.1005 ± 0.025	1.3	1.8 – 2.1
13	0.0965 ± 0.012	3.1	1.8 – 2.1
15	0.1014 ± 0.031	3.2	1.8 – 2
18	0.1064 ± 0.014	3.6	1.8 – 2.1
20	0.1003 ± 0.032	3.8	1.8 – 2.1
22	0.1236 ± 0.019	4.3	1.8 – 2
24	0.1390 ± 0.028	4.8	1.8 – 2.1

Capítulo 7

Discusión

Los resultados obtenidos en cada uno de los trabajos experimentales realizados nos permiten llegar a las siguientes discusiones en las que detallamos algunos resultados y aportamos las ideas de las posibles razones de estos.

7.1. Apertura de la BHE

Dentro de LAREMUS se han desarrollado algunos protocolos para lograr la apertura de la barrera hematoencefálica con el uso de ultrasonido focalizado. El último protocolo propuesto consiste en la elaboración de craneotomías de 1 cm² para la aplicación de FUS y poder posicionarnos sobre la *substantia nigra*, haciendo uso de microburbujas de la marca SonoVue en el torrente sanguíneo disminuyendo la potencia aplicada a 3 W.

Uno de los puntos que se manejaron fue la elaboración/réplica de un cono que permitiera mantener agua dentro de él y se lograra una buena propagación acústica. La Fig. 6.1. muestra el cono resultante al que se agregó un empaque que permita mantener el componente de látex en su lugar y evitar que el agua se salga. A diferencia del antiguo método de mantenerlo sujeto con algún tipo de cinta, la nueva forma permite mantener al látex fijo y se observó que el material utilizado fue menor, un punto que podría considerarse algo despreciable pero beneficioso a largo plazo.

La Fig. 6.2 muestra la imagen de uno de los cerebros obtenidos al final de la aplicación de colorante y de FUS, en el cual se observa una coloración azul (esto debido al azul de Evans) en toda la superficie del cerebro, desde la parte frontal hasta la posterior. En conversaciones con el personal del departamento de neurociencias, se pensó que esta coloración se obtiene debido al cambio de ubicación en la inyección del colorante. En los protocolos anteriores la inyección de azul de Evans se hacía por la vena caudal del modelo animal, que se localiza

en la cola de la rata. Para este trabajo se comenzó a inyectar el colorante por la vía retro oftálmica por 2 propósitos: el primero era por la cercanía de la vena y cercana irrigación al cerebro, debido a la anatomía de la rata permitiría una mayor concentración de colorante en la zona deseada, con esto cuenta el segundo propósito era disminuir la cantidad de colorante. En los protocolos propuestos se administraba la cantidad de 300 μ l de azul de Evans, para este trabajo se agregaron 200 μ l de colorante y se observaron los mismos resultados.

Estos resultados similares se pueden ver en las Figuras 6.3 y 6.4 en las que se observan los cortes al cerebro de aproximadamente 300 μ m, en lo que se ve la coloración azul en la zona deseada y se observa una coloración en el contorno superior del corte (se asume que es por la forma en que el colorante se adhirió a la superficie del cerebro). Podemos entonces decir que los resultados mostrados detallan el trabajo del protocolo propuesto como funcional y que fue presentado como trabajo de congreso, añadido en los apéndices de este trabajo (ver apéndice B).

7.2. Modelos por el método de elemento finito

Los resultados presentados en la sección 6.2 sobre la propagación acústica y la producción de calentamiento son analizados aquí para defender la propuesta de elección del mejor caso de ellos para los propósitos de este trabajo de tesis.

Se obtuvieron diferentes mapas de propagación acústica a diferentes frecuencias y con una geometría definida a un valor de presión acústica, se considera óptimo que la producción del foco tuviera un tamaño suficiente para cubrir la *substantia nigra* del modelo murino, el cual deberá ser capaz de atravesar el cráneo con un daño térmico pequeño. El resultado ideal debería ser un foco el cual no existan incrementos de temperatura, por lo que los resultados que se obtuvieron se consideraron suficientemente cercanos a no provocar mucho daño.

La Fig. 6.5 muestra 3 casos obtenidos de todos los mapas de presión acústica que se generaron, el caso A muestra el foco que se genera a 500 kHz.

En la distribución de presión se puede ver un foco con gran intensidad aproximadamente a 20 mm desde del centro del transductor. Los otros picos de presión que se ven en la cabeza del modelo deberán ser considerados importantes ya que se producen por otras formas de focalización como reflejos del cráneo, por ejemplo.

Sin embargo, los niveles de presión generados en ellos son reducidos si se comparan con el valor generado en el cráneo. Los picos entre la cabeza y el transductor son producidos por reverberaciones del ultrasonido después de que la señal es continuamente reflejada por el cráneo. Sin embargo, ya que el agua tiene una absorción que se puede considerar despreciable, esos picos no producen algún tipo de efecto de calentamiento. En el caso en el que el medio por el cual se propaga el haz ultrasónico fuera diferente, se producirían más pérdidas antes de que la energía ultrasónica llegara a la zona marcada como objetivo, lo que provocaría que el foco generado fuera aún más pequeño.

Para comparar resultados a diferentes frecuencias, se hizo la gráfica mostrada en la Fig. 6.6 en la que se observa la propagación de presión en el eje de simetría para 3 diferentes casos, todos teniendo la misma amplitud de aceleración. Los valores de frecuencia mostrados son 500 kHz (línea negra), 2 MHz (línea azul) y 3.5 MHz (línea roja). De ésta gráfica se puede ver que el foco es más estrecho cuando la frecuencia aumenta, pero también se observa que la presión en el foco cambia. El foco comienza a hacerse más pequeño, demasiado puntual comenzado a diferir del propósito del modelado. Esto puede ocurrir debido a la capacidad de reflejo y absorción que se producen por las reverberaciones dentro del cráneo, incrementando puntos de calor fuera del foco. Además, aunque la gráfica muestre que incrementando la frecuencia también se incrementará el nivel de presión, el resultado empleando la frecuencia más alta no será óptimo ya que no alcanzará a cubrir completamente la *substantia nigra*.

Cuando la frecuencia es de 2 MHz (caso B) el área de distribución es aún más estrecha con respecto al de baja frecuencia; esto indica que el foco es más pequeño y que este tamaño no sería suficiente para cubrir la *substantia nigra*. Sin

embargo, la amplitud de presión en el foco se incrementa como se esperaba debido a la concentración de energía en un espacio más pequeño. Esto cambia para el caso de 3.5 MHz. Como se ve en el caso C de la Fig. 6.5, para una frecuencia de 3.5 MHz, la amplitud de presión es más pequeña que en los otros casos, y la distribución de presiones en el foco es aún más estrecha. Este último punto ocurre debido a que cuando la frecuencia crece comienza a ser más difícil atravesar el cráneo debido a la diferencia de impedancias acústicas y debido a la alta atenuación del haz ultrasónico que se produce [72]. Para los objetivos, seleccionar una buena frecuencia es importante ya que será utilizada para obtener un transductor hecho a la medida y avanzar con el trabajo experimental. El foco generado en el caso de baja frecuencia se considera entonces como adecuado para dichos propósitos tanto en ubicación (profundidad) y tamaño del foco.

La distribución de temperatura fue determinada para el resultado óptimo de los pasos anteriores, el cual fue la simulación empleando la radiación de ultrasonido a 500 kHz. En la Fig. 6.7 se muestra el diagrama de contornos de la temperatura generada en el cerebro de rata simulado. Se puede ver como la proporción más alta de calentamiento ocurre en el foco producido por el transductor; sin embargo, el calentamiento también se da, aunque en menor extensión, en el cráneo del modelo en donde el haz ultrasónico impacta.

Este efecto que no se produce en otras partes del cráneo podría ser debido a que el cráneo de la rata es plano en la parte superior de la cabeza, el cual produce reverberaciones de ultrasonido adicionales entre el cráneo y el transductor, lo que incrementa la temperatura en esta región. Sin embargo, la temperatura final en el cráneo no es importantemente grande comparado con el foco. Entonces, se puede considerar que el transductor con estas características (geometría, distancias, frecuencia) ayuda de forma efectiva en el decremento de daño sobre el cráneo aumentando el área de radiación de la cabeza.

7.3. Caracterización de transductores

Las mediciones realizadas a los transductores nos permitieron conocer la forma en que estos trabajarían de forma más óptima. Si bien algunos de los transductores indican su valor real de trabajo (por ejemplo 4.5 MHz) no necesariamente esa sería su frecuencia ideal de trabajo.

Para el caso del transductor de terapia funciona a una frecuencia de 1 MHz, sin embargo, su rango de trabajo entre 980 kHz y 1.1 MHz basándonos en las mediciones de impedancia y SWR realizadas. Este último valor fue el que nos dio el principal indicio de conocer a que frecuencias trabajaría mejor, sabiendo que el valor más bajo de SWR se dio a 997 kHz se decidió que las señales emitidas fueran a esta frecuencia. Algo similar pasó para el transductor HIFU. Este transductor de 2 MHz de frecuencia fue determinado para trabajarlo de acuerdo con los valores de las mismas mediciones a una frecuencia de 1.96 MHz ya que aquí se presentó un menor valor de SWR y un acople de impedancia más eficaz para utilizarlo.

Para el caso de las mediciones de distribución acústica nos indicaban simplemente el ancho que el haz puede llegar a ocupar y a determinar a qué distancia se podría acomodar respecto a los *phantoms* elaborados en los diseños de montajes para detectar cavitación, conociendo los niveles de presión alcanzados a ciertas distancias.

La importancia de elegir un transductor capaz de detectar ciertas señales nos permite confirmar sobre la sección 6.3.3. acerca de las mediciones de impedancia que el mejor de los 3 presentados era el de 5 MHz, la forma de los espectros de frecuencias es más ancha en ese caso por lo que nos permitiría encontrar ciertos fenómenos en un mayor número de frecuencias. No podríamos elegir el caso del transductor de 1 MHz ya que el ancho en el cual este trabajo es muy pequeño.

Si bien los valores entre el transductor de 3.5 MHz y 5 MHz son suficientemente grande elegimos el de 5 MHz por la razón anteriormente mencionada, ya que también el de 3.5 MHz nos dejaría en ciertos límites en los

cuales podríamos estar perdiendo cierta información. Solo con la experimentación realizada logramos afirmar lo anterior en la elección del transductor de detección.

7.4. Detección de cavitación en modelos *phantoms*.

Para este punto se unieron los resultados de *phantoms* y de cavitación ya que a pesar de metodologías de preparación diferentes se trabajaron en forma conjunta. Los *phantoms* resultantes se trataron de elaborar de una forma un tanto similar en tamaños ya que para que la comparación al momento de las señales pudiera ser correcta este factor no fuera de gran influencia si eran de diferentes tamaños.

Al ser la base principal de los *phantoms* agua bidestilada y desgasificada, sus valores medidos de velocidad de sonido en ellos es bastante similar sin embargo la composición de los demás componentes hace que sus valores de atenuación sean bastante diferentes; el grafito ha sido reportado como un material con propiedades que aumenta la atenuación ultrasónica en el medio. Esta diferencia de propiedades es algo que se buscaba con el propósito de poder ver el comportamiento del haz ultrasónico y del fenómeno de cavitación acústica en 2 medios diferentes.

En cuanto a los resultados obtenidos en el montaje propuesto para la detección de la cavitación acústica se puede observar que los resultados son bastante prometedores ya que haciendo uso del análisis espectral detectamos eventos que ocurren en ellas; el concepto de cavitación define el comportamiento de burbujas de tamaño micrométrico en un haz ultrasónico, este comportamiento habla de la aparición, crecimiento, deformación y explosión de la burbuja, dichas explosión libera energía debido al cambio de presiones del haz y de la generada en la burbuja. Cuando la burbuja explota se generan ondas de ultrasonido de múltiples frecuencias que, con ayuda del espectrograma, podemos detectar como forma de “manchas” con ruido de fondo, que tienen una intensidad mayor con respecto al resto de la señal. Si encontramos en las señales una gran cantidad de manchas, se puede determinar que el fenómeno de cavitación

acústica aparece con mayor incidencia o durante más tiempo, probablemente debido a la generación y extinción de burbujas múltiples, o de mayor tamaño.

Los resultados vistos en las figuras 6.22 y 6.23 de la sección de resultados muestran la comparativa de 2 señales similares en frecuencia, pero con una diferencia de potencias aplicadas; se observa que en la de mayor potencia, aparecen señales en el espectro que no están en el espectrograma de baja potencia. La diferencia en los espectros se debe a la diferencia de potencia aplicada. Este aumento de presión acústica debido al aumento de potencia aplicada lleva a que se produzca el fenómeno de cavitación en el *phantom*. Lo anterior se agrupa en los resultados de la Fig. 6.24 en la que se registró el porcentaje de apariciones conforme la aplicación de potencia, lo que se relaciona con un incremento de la probabilidad de cavitación con relación a la potencia aplicada. Mediante este análisis de las apariciones de estas señales en el espectrograma podemos determinar si existe o no cavitación; sin embargo, en las expectativas a futuro se pretende cuantificar los niveles de cavitación obtenidos, para lograr un mayor control de fenómeno que nos permita poder aplicarlo en la apertura de la BHE.

Como parte del análisis de la señal se presenta la Tabla 6.2 en la que se muestran los valores de intensidad de la cavitación, el tiempo medio de duración de cada evento y el rango de frecuencias en los que aparece. Se observa que los valores de intensidad en los diferentes valores de potencia mantienen una cercanía, lo que podría indicar la aparición de burbujas similares en tamaño para las diferentes potencias. Esto corrobora lo publicado al respecto, sobre la dinámica de las burbujas, la cual depende principalmente de las características mecánicas del medio donde se produce. Si existió alguna aparición de señales en el espectrograma con un valor mucho menor a los mostrados aquí, no se consideró como cavitación. Otro dato que se mantuvo en valores medios fueron las frecuencias de aparición. Sabiendo que se trabajaba a una frecuencia de 1 MHz, se observa que los eventos ocurren en otro valor de frecuencia en la mayoría de los casos ocurrieron entre 1.6 MHz y 2.3 MHz. La aparición de la cavitación en un intervalo tan cerrado de frecuencias puede indicar lo observado

anteriormente: las burbujas se están produciendo tamaños y tiempo de vida similares para las diferentes potencias.

Nuestros resultados también nos muestran la dependencia entre la potencia que se aplicó en el transductor y los tiempos de aparición de cavitación. Dado que la potencia máxima permitida por el transductor es de 25 W, el tiempo de duración de la cavitación para esta potencia se tomó como el valor máximo. Si se tuviera un transductor que permita una aplicación de mayor cantidad de potencia, los tiempos de duración del fenómeno tenderían a aumentar. Para el *phantom* de agarosa se observa que los tiempos de cavitación van en constante aumento conforme la potencia aplicada al transductor incrementa, lo que confirma que a mayor potencia aplicada mayor será la duración del fenómeno; esto se puede ver en la columna de duración del fenómeno de la tabla 6.2. Además, se puede observar como el tiempo de duración del fenómeno tiende a incrementar, incluyendo el tiempo de aparición y el ancho del intervalo de frecuencias.

En el caso del *phantom* de grafito, se tiene un comportamiento similar en el caso de las apariciones del fenómeno, pero no en la forma de la señal. La forma en que el espectrograma presenta los resultados es diferente para el *phantom* de grafito debido a las propiedades de éste. El grafito se considera un componente que produce gran atenuación acústica. Sin embargo, cuando aplicamos una gran potencia y a pesar del tipo de material del que está hecho el *phantom*, se puede apreciar pequeños eventos en el espectrograma. La Fig. 6.25 muestra esos eventos a alta potencia o a una mayor presión acústica. El comportamiento de porcentaje de apariciones también cambia, ya que la mayor probabilidad de aparición ocurre principalmente a altas potencias, de 18 W aplicado en adelante. La tabla que resume los valores medios de intensidad, tiempos de aparición y frecuencias en las que aparece el fenómeno (Tabla 6.3) muestra una gran diferencia respecto a la anterior siendo valores más pequeños. Esto puede deberse a que la energía del ultrasonido se atenúa rápidamente, impidiendo llegar a magnitudes de presión dentro del *phantom* suficientes para producir cavitación a potencias altas.

Los momentos en los cuales la cavitación acústica aparece dan muestra de ser después de la detección de los pulsos recibidos por el transductor. Los retrasos de tiempo con respecto al pulso podrían estar relacionados con un aumento de temperatura. Debido a la velocidad de duración del fenómeno, no se logró una medición puntual de temperatura en el momento en el cual el fenómeno ocurre; incluso, si se quisiera usar una cámara de ultra-alta velocidad, considerando que el tiempo de vida de las burbujas de cavitación es menor a 30 μs , se requeriría una cámara de 160,000 fps para tener al menos 5 imágenes de la evolución de la burbuja. No obstante, se infiere que el haz ultrasónico produce un considerable calentamiento instantáneo en los puntos de incidencia produciendo a su vez el fenómeno de cavitación. Estos valores de calentamiento seguramente afectan el momento de aparición del fenómeno, por lo cual se obtienen valores de aparición del fenómeno en instantes después del valor máximo de amplitud del pulso detectado.

Si observamos las imágenes mostradas en los espectrogramas vemos que cada uno muestra ciertas diferencias de intensidad de cavitación. Esto se debe a la atenuación de los materiales entre los *phantoms*. En el caso del grafito, al ser un material más atenuador, el haz ultrasónico tiende a dispersarse más. Esta dispersión hace que la presión con la que el *phantom* es alcanzado es menor, a diferencia del *phantom* de agarosa que presenta una mayor intensidad y se observa un valor menor de atenuación.

Capítulo 8

Conclusiones y perspectivas

Conclusiones

En esta tesis se propusieron varias actividades, con el propósito de lograr una mejor eficiencia en el protocolo para la apertura transcraneal con técnicas FUS de la barrera hematoencefálica, así como el estudio del fenómeno de cavitación acústica en modelos *phantoms* empleando diferentes transductores de ultrasonido. Estas investigaciones nos permitieron dar un avance en la producción controlada y detección de cavitación acústica.

Acerca de la optimización del último protocolo propuesto para la apertura de la BHE con FUS y microburbujas dentro del LAREMUS, se demostró que una dosificación de azul de Evans por una vía más cercana al cerebro tornará una coloración externa de éste lo que provocará una coloración azul interna en donde se focaliza el haz ultrasónico; además de la posible disminución de dosis de colorante en el animal. Sin modificar los parámetros del protocolo establecido se logró la validación demostrando la apertura de la BHE.

La propuesta del modelado de transductores focalizados nos permitió observar que cuando el valor de frecuencia aumenta, la transmisión ultrasónica se vuelve más complicada a través de una estructura ósea; por lo tanto, con los resultados mostrados se puede decir que se logró una transmisión mayor a bajas frecuencias logrando un foco ultrasónico capaz de posicionarse sobre la *substantia nigra*. Una vez obtenido el patrón ultrasónico buscado, se midió un calentamiento en el área irradiada por el transductor, determinando que la afectación en el tejido simulado era mínima.

La caracterización de los transductores se realizó con la finalidad de conocer los márgenes de trabajo en que trabaja y como influyeron en la aplicación práctica. Utilizando métodos conocidos y confiables se realizó dicha

caracterización (medición de impedancia, SWR, ancho de banda y medición de campos acústicos) obteniendo mediciones en cada característica que nos permita tener una propuesta instrumental que produce cavitación controlada en un *phantom*.

Los trabajos de cavitación nos permitieron entender la forma como el haz ultrasónico afecta a los tejidos con diferentes propiedades y como algunas comienzan a atenuar dicho haz. El uso de la técnica de backscattering en la detección de cavitación acústica nos permitió dar un paso adelante en el entendimiento y control del fenómeno. Confiamos que los resultados obtenidos en esta tesis, se podrá llegar en un futuro cercano a lograr la cavitación acústica controlada, para disminuir la energía aplicada con FUS en la apertura de la BHE.

Perspectivas a futuro

Se tiene pensado varias ideas que permitan seguir avanzando en la investigación del tema aunado a los trabajos que se han planteado en esta de tesis, ya que siempre se puede plantear la forma de crear un mejor trabajo que el predecesor. A continuación, se mencionan propuestas de actividades para el futuro.

- Nuevos modelos FEM. Se pretende la creación de nuevos modelos FEM que permitan estudiar el fenómeno de cavitación producido por la emisión ultrasónica de otros transductores en diferentes medios (agua, tejido cerebral simulado).
- Propuesta de un nuevo protocolo para la apertura la BHE de forma transcraneal. Con la propuesta planteada de un nuevo transductor, emplear un protocolo de FUS para la apertura de la BHE que sea de forma transcraneal. Dicho transductor podría ser diseñado para manufacturarlo con las características más próximas al de nuestro modelo con el fin de disminuir los daños a nivel tisular en los modelos murinos.
- Uso de nuevos transductores para la detección de cavitación. Además de los transductores con los que ya se han trabajado descritos en este trabajo de tesis, utilizar otros transductores que permitan lograr el fenómeno de

cavitación en modelos *phantoms*. Una vez que el transductor propuesto en el punto anterior sea manufacturado, plantear un montaje de emisión ultrasónica capaz de producir el fenómeno de cavitación acústica en un modelo *phantom*.

- Nuevos modelos *phantoms*. La creación de nuevos modelos *phantoms* con las características cercanas a tejido blando (para nuestro caso tejido cerebral) sería otro punto a futuro ya que nos daría una aproximación más cercana a tejido vivo si se desea darle alguna aplicación clínica.
- Estudio de cavitación en modelos *in vivo*. Una vez que el fenómeno de cavitación se haya logrado comprender y haya sido manejado en modelos simulados y *phantoms*, se pretende estudiar el trabajo experimental en modelos animales. Unidos al trabajo de apertura de la BHE de forma transcraneal, llevar a cabo de forma paralela el estudio del fenómeno de cavitación acústica.

Producción científica

Artículos en extenso en congresos internacionales



Congreso: GLOBAL MEDICAL ENGINEERING PHYSICS EXCHANGES/PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES (GMEPE/PAHCE).

Título: Opening the Blood-Brain Barrier in the *Substantia Nigra* of Rat Brain with Focused Ultrasound and Microbubbles.

Autores: J. A. Rodríguez, C. J. Reyes, M. I. Gutiérrez, A. Vera, D. Martínez-Fong, C. Negreira, L. Leija.

Lugar: Buenos Aires, Argentina.

Fecha 26 – 31 de marzo de 2019.



Congreso: GLOBAL MEDICAL ENGINEERING PHYSICS EXCHANGES/PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES (GMEPE/PAHCE).

Título: Frequency Swept to Optimize Focalization at the *Substantia Nigra* in a Rat Head Model using a Semi-Spherical Ultrasound Transducer

Autores: J. A. Rodríguez, M. I. Gutiérrez, C. Trujillo, A. Vera, D. Martínez-Fong, L. Leija.

Lugar: Ciudad de México, México.

Fecha 11 – 13 de septiembre de 2019.

Referencias

- [1] R. Hendee, William and E. Ritenour, Russell, *Ultrasound Transducers*, vol. 27. 2002.
- [2] J. A. Zagzebski, *Essential of Ultrasound Physics*. St. Louis, Missouri, 1996.
- [3] H. B. Meire and P. Farrant, *Basic Ultrasound*. 1995.
- [4] S. Cochran, "Piezoelectricity and basic configurations for piezoelectric ultrasonic transducers," *Ultrason. Transducers Mater. Des. Sensors, Actuators Med. Appl.*, pp. 3–35, 2012.
- [5] H. T. O'Neil, "Theory of Focusing Radiators," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 21, no. 5, pp. 516–526, Sep. 1949.
- [6] S. Fahn and D. Sulzer, "Neurodegeneration and Neuroprotection in Parkinson Disease," *NeuroRx*, vol. 1, no. 1, pp. 139–154, 2004.
- [7] G. G. Ortiz *et al.*, "Efecto de la administración de melatonina sobre la actividad de la ciclooxigenasa-2, la concentración sérica de metabolitos del óxido nítrico, los lipoperóxidos y la actividad de la glutatión peroxidasa en pacientes con enfermedad de Parkinson GACETA MÉDI," *Gac Med Mex*, vol. 153, pp. 72–81, 2017.
- [8] M. Tajés *et al.*, "The blood-brain barrier: Structure, function and therapeutic approaches to cross it," *Mol. Membr. Biol.*, vol. 31, no. 5, pp. 152–167, 2014.
- [9] L. S. Costanzo, *Fisiología*. 2017.
- [10] M. J. K. Blomley, J. C. Cooke, E. C. Unger, M. J. Monaghan, and D. O. Cosgrove, "Science, medicine, and the future: Microbubble contrast agents: a new era in ultrasound," *Bmj*, vol. 322, no. 7296, pp. 1222–1225, 2001.
- [11] SonoVue, "SonoVue Microbubbles Datasheet." Ámsterdam, p. 9, 2004.
- [12] M. E. Schafer, *Power Ultrasonics*, 1st editio. Elsevier Ltd., 2014.
- [13] S. Sakai, "Radiation Force Measurements at a Water-Air Interface." University of Illinois at Urbana-Champaign, p. 113, 2003.
- [14] J. A. Vazquez Angulo, *Angulo Análisis y diseño de piezas de máquinas con CATIA V5*, Segunda ed. 2012.
- [15] G. T. Gouri Dhatt, Emmanuel Lefrançois, *Finite Element Method*. 2012.
- [16] Comsol, "Comsol Multiphysics User's Guide," *Heat Transf. Branch*, pp. 709–745, The Heat Transfer Branch, 2012.
- [17] H. T. O'Neil, "Theory of Focusing Radiators," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 21, no. 5, pp. 516–526, 1949.
- [18] C. Maleke and E. E. Konofagou, "In vivo feasibility of real-time monitoring of focused ultrasound surgery (FUS) using harmonic motion imaging (HMI)," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 1, pp. 7–11, 2010.
- [19] V. Y. T. Cheung, "High-intensity focused ultrasound therapy," *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, vol. 46, pp. 74–83, 2018.
- [20] P. Bowary and B. D. Greenberg, "Noninvasive Focused Ultrasound for

- Neuromodulation: A Review,” *Psychiatr. Clin. North Am.*, vol. 41, no. 3, pp. 505–514, 2018.
- [21] A. Gnanaskandan, C. Hsiao, and G. Chahine, “Modeling of Microbubble Enhanced High Intensity Focused Ultrasound Modeling of Microbubble Enhanced High Intensity Focused Ultrasound,” no. July, 2018.
- [22] M. Wang, Y. Lei, and Y. Zhou, “High-intensity focused ultrasound (HIFU) ablation by the frequency chirps : Enhanced thermal field and cavitation at the focus,” *Ultrasonics*, vol. 91, no. February, pp. 1–16, 2018.
- [23] J. J. Choi, S. A. Small, and E. E. Konofagou, “2F-5 Optimization of Blood-Brain Barrier Opening in Mice using Focused Ultrasound,” *IEEE Ultrason. Symp.*, pp. 540–543, 2006.
- [24] J. J. Choi, M. Pernot, S. A. Small, and E. E. Konofagou, “Noninvasive, transcranial and localized opening of the blood-brain barrier using focused ultrasound in mice,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 33, no. 1, pp. 95–104, 2007.
- [25] F. Y. Yang, W. M. Fu, R. Sen 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, 2007.
- [26] 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, 2008.
- [27] 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, 2008.
- [28] N. Vykhodtseva, N. McDannold, and K. Hynynen, “Progress and problems in the application of focused ultrasound for blood-brain barrier disruption,” *Ultrasonics*. 2008.
- [29] F. Vlachos, Y. 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, 2011.
- [30] P. C. Chu, M. C. Hsiao, Y. H. Yang, J. C. Chen, and H. L. Liu, “Investigation of the Effect of Acoustic Pressure and Sonication Duration on Focused-Ultrasound Induced Blood-Brain Barrier Disruption,” *IFMBE Proc.*, vol. 23, pp. 1094–1097, 2009.
- [31] 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.
- [32] 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.*, 2011.
- [33] G. Samiotaki, F. Vlachos, Y. S. Tung, and E. E. Konofagou, “Permeability and reversibility timeline study of the focused-ultrasound induced blood-brain barrier opening at distinct pressures and microbubble sizes in vivo,”

- in *IEEE International Ultrasonics Symposium, IUS*, 2011.
- [34] G. Samiotaki and E. E. Konofagou, "Dependence of the reversibility of focused-ultrasound-induced blood-brain barrier opening on pressure and pulse length in vivo," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, 2013.
- [35] 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, 2011.
- [36] 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, 2011.
- [37] S. Wang, G. Samiotaki, O. Olumolade, J. A. Feshitan, and E. E. Konofagou, "Microbubble type and distribution dependence of focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 40, no. 1, pp. 130–137, 2014.
- [38] C. H. Fan, C. Y. Ting, Y. C. Chang, K. C. Wei, H. L. Liu, and C. K. Yeh, "Drug-loaded bubbles with matched focused ultrasound excitation for concurrent blood-brain barrier opening and brain-tumor drug delivery," *Acta Biomater.*, vol. 15, pp. 89–101, 2015.
- [39] K. F. Timbie, B. P. Mead, and R. J. Price, "Drug and gene delivery across the blood-brain barrier with focused ultrasound," *J. Control. Release*, vol. 219, pp. 61–75, 2015.
- [40] C. Y. Lin *et al.*, "Non-invasive, neuron-specific gene therapy by focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening in Parkinson's disease mouse model," *J. Control. Release*, 2016.
- [41] N. Sheikov, N. McDannold, N. Vykhodtseva, F. Jolesz, and K. Hynynen, "Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 30, no. 7, pp. 979–989, 2004.
- [42] N. Todd *et al.*, "Focused ultrasound induced opening of the blood-brain barrier disrupts inter-hemispheric resting state functional connectivity in the rat brain," *Neuroimage*, vol. 178, no. May, pp. 414–422, 2018.
- [43] A. L. K. Karen E. Morgan, John S. Allen, Paul A. Dayton, James E. Chomas and K. W. Ferrara, "Experimental and Theoretical Evaluation of Microbubble Behavior: Effect of Transmitted Phase and Bubble Size," vol. 1, no. 3, pp. 1–16, 2010.
- [44] D. E. Goertz, M. E. Frijlink, A. Bouakaz, C. T. Chin, N. de Jong, and A. F. W. van der Steen, "The effects of bubble size on nonlinear scattering from microbubbles," *IEEE Symp. Ultrason. 2003*, vol. 14, no. c, pp. 1503–1506, 2003.
- [45] C. Greis, "Technology overview: SonoVue (Bracco, Milan)," *Eur. Radiol. Suppl.*, vol. 14, no. ISSUENR. 8, pp. 10–15, 2004.
- [46] F. Vignon *et al.*, "Microbubble cavitation imaging," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 60, no. 4, pp. 661–670, 2013.
- [47] Y. Lin *et al.*, "Effect of acoustic parameters on the cavitation behavior of

- SonoVue microbubbles induced by pulsed ultrasound,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 35, pp. 176–184, 2017.
- [48] S. Kutty *et al.*, “Ultrasound-Induced Microbubble Cavitation for the Treatment of Catheterization-Induced Vasospasm,” *JACC Basic to Transl. Sci.*, vol. 2, no. 6, pp. 748–756, 2017.
- [49] G. Peruzzi, G. Sinibaldi, G. Silvani, G. Ruocco, and C. M. Casciola, “Perspectives on cavitation enhanced endothelial layer permeability,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 168, pp. 83–93, 2018.
- [50] K. A. Saalbach, J. Twiefel, and J. Wallaschek, “Self-sensing cavitation detection in ultrasound-induced acoustic cavitation,” *Ultrasonics*, no. July 2017, pp. 0–1, 2018.
- [51] H. A. S. Kamimura *et al.*, “Feedback control of microbubble cavitation for ultrasound-mediated blood–brain barrier disruption in non-human primates under magnetic resonance guidance,” *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2018.
- [52] E. P. Stride and C. C. Coussios, “Cavitation and contrast: The use of bubbles in ultrasound imaging and therapy,” *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H J. Eng. Med.*, vol. 224, no. 2, pp. 171–191, 2010.
- [53] Y. S. Tung, J. J. Choi, B. Baseri, and E. E. Konofagou, “Identifying the inertial cavitation threshold and skull effects in a vessel phantom using focused ultrasound and microbubbles,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 36, no. 5, pp. 840–852, 2010.
- [54] A. D. Maxwell, C. A. Cain, T. L. Hall, J. B. Fowlkes, and Z. Xu, “Probability of Cavitation for Single Ultrasound Pulses Applied to Tissues and Tissue-Mimicking Materials,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 39, no. 3, pp. 449–465, 2013.
- [55] T. Li *et al.*, “Passive cavitation detection during pulsed hifu exposures of exvivo tissues and invivo mouse pancreatic tumors,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 40, no. 7, pp. 1523–1534, 2014.
- [56] L. Van Wijngaarden, “Mechanics of collapsing cavitation bubbles,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 29, pp. 524–527, 2016.
- [57] T. Sun, G. Samiotaki, S. Wang, C. Acosta, C. C. Chen, and E. E. Konofagou, “Acoustic cavitation-based monitoring of the reversibility and permeability of ultrasound-induced blood-brain barrier opening,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 60, no. 23, pp. 9079–9094, 2015.
- [58] D. Lv, Z. Lian, and T. Zhang, “Study of Cavitation and Cavitation Erosion Quantitative Method Based on Image Processing Technique,” *Adv. Civ. Eng.*, vol. 2018, 2018.
- [59] M. I. Gutiérrez, “Modelado del calentamiento de radiación acústica generada por equipos de fisioterapia ultrasónica, validación experimental en medios homogéneos y diseño de la instrumentación.” Ciudad de México, p. 438, 2015.
- [60] V. Contreras, “Apertura de la barrera hematoencefálica en ratas con ultrasonido focalizado (FUS) para la administración de fármacos experimentales para el tratamiento de Parkinson.” Ciudad de México, p. 125, 2016.
- [61] D. Hernández, “Propuesta de un protocolo experimental basado en craneotomías para la apertura temporal de la barrera hematoencefálica por

- acción del ultrasonido focalizado para permitir el paso de químicos macromoleculares al cerebro de roedor.” Ciudad de México, p. 113, 2017.
- [62] C. J. Hernández, “Apertura de la BHE empleando FUS y microburbujas en sangre para la introducción de un vector farmacológico en un modelo murino.” Ciudad de México, p. 115, 2018.
- [63] D. A. Hernández, V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, D. Martínez-Fong, and M. I. Gutiérrez, “Acoustic field simulation for focused ultrasound on skull with craniotomy for drug delivery in rat brain,” *Pan Am. Heal. Care Exch. PAHCE*, vol. 2017-March, 2017.
- [64] M. I. Gutierrez, S. A. Lopez-Haro, A. Vera, and L. Leija, “Experimental Verification of Modeled Thermal Distribution Produced by a Piston Source in Physiotherapy Ultrasound,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2016, pp. 1–16, 2016.
- [65] K. Giering;, O. Minet;, I. Lamprecht;, and G. Muller, “Review of thermal properties of biological tissues,” *SPIE Opt. Eng. Press*, vol. 044, no. August 2018, pp. 45–65, 1995.
- [66] A. Feldmann, P. Wili, G. Maquer, and P. Zysset, “The thermal conductivity of cortical and cancellous bone,” *Eur. Cells Mater.*, vol. 35, no. 2000, pp. 25–33, 2018.
- [67] A. Ramos, J. L. San Emeterio, and P. T. Sanz, “Improvement in transient piezoelectric responses of NDE transceivers using selective damping and tuning networks,” *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 47, no. 4, pp. 826–835, 2000.
- [68] P. He, “Determination of ultrasonic parameters based on attenuation and dispersion measurements,” *Ultrason. Imaging*, vol. 20, no. 4, pp. 275–287, 1998.
- [69] E. P. Papadakis, K. A. Fowler, and L. C. Lynnworth, “Ultrasonic attenuation by spectrum analysis of pulses in buffer rods: Method and diffraction corrections,” *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 53, no. 5, pp. 1336–1343, 1973.
- [70] Gö. Salomonsson and L. Björkman, “Investigation of methods to estimate ultrasonic attenuation of soft tissue,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 32, no. 8, pp. 583–591, 1985.
- [71] F. E. Fox and G. D. Rock, “Ultrasonic Absorption in Water,” *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 12, no. 4, pp. 505–510, 1941.
- [72] G. Pinton, J. F. Aubry, E. Bossy, M. Muller, M. Pernot, and M. Tanter, “Attenuation, scattering, and absorption of ultrasound in the skull bone,” *Med. Phys.*, vol. 39, no. 1, pp. 299–307, 2012.

Apéndice A.

Registro de animales empleados durante el trabajo experimental

Modelo	Número	Fecha de pedido	Cepa	Género	Anestesia	Microburbujas	Colorante (EB)	Resultados
Animal	1	09-01-2019	Wistar	Macho	SI	NO	NO	Negativo
Animal	2	09-01-2019	Wistar	Macho	SI	NO	NO	Negativo
Animal	3	09-01-2019	Wistar	Macho	SI	NO	NO	Negativo
Animal	4	16-01-2019	Wistar	Macho	SI	NO	SI	Negativo
Animal	5	16-01-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	6	16-01-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	7	30-01-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	8	30-01-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	9	30-01-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	10	30-01-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	11	13-02-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	12	13-02-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Positivo
Animal	13	13-02-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Negativo
Animal	14	27-02-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Negativo
Animal	15	27-02-2019	Wistar	Macho	SI	SI	SI	Negativo
Animal	16	27-02-2019	Wistar	Macho	SI	No	SI	Negativo

Apéndice B.



2019 GLOBAL MEDICAL ENGINEERING PHYSICS EXCHANGES/PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES (GMEPE / PAHCE)

Opening the Blood-Brain Barrier in the *Substantia Nigra* of Rat Brain with Focused Ultrasound and Microbubbles

J. A. Rodríguez¹, C. J. Reyes¹, M. I. Gutiérrez², A. Vera¹, D. Martínez-Fong³, C. Negreira⁴ and L. Leija¹.

¹ Department of Electrical Engineering/Bioelectronics, CINVESTAV-IPN, Mexico city, Mexico.

² CONACYT – National Institute of Rehabilitation, Division of Research in Medical Engineering, Mexico City, Mexico.

³ Department of Physiology, Biophysics and Neuroscience, CINVESTAV-IPN, Mexico City, Mexico.

⁴ University of the Republic of Uruguay, Montevideo, Uruguay

Email: jorge.rodriguez@cinvestav.mx; claudiaj.reyes@cinvestav.mx; m.ibrahim.gutierrez@gmail.com; arvera@cinvestav.mx; dmartine@fisio.cinvestav.mx; lleija@cinvestav.mx

Abstract – Parkinson disease is a slowly progressive parkinsonian syndrome that begins insidiously, but gradually worsens in severity. Normally, the blood vessels of the brain present a blood-brain barrier (BBB), which is a biochemical barrier combined with a high selective structure that not only impedes the absorption of damaging molecules, but also the delivery of drugs. Recently, focused ultrasound (FUS) with microbubbles (MB) has been used to achieve local blood-brain barrier opening to increase penetration of therapeutic drugs into the brain. This paper presents a protocol to open the BBB with 2 MHz focused ultrasound during the presence of microbubbles and using craniotomies in Wistar rats; it was determined the required power to effectively produce BBB disruption without tissue damage. The opening of the BBB was made at the *substantia nigra*, which will be used to release a specific drug for Parkinson disease. The results show that with low power (3 W) the BBB was reversibly open at the targeted zone.

Keywords: blood-brain barrier, focused ultrasound, microbubbles, transducer, Parkinson disease.

I. INTRODUCTION

Parkinson disease (PD) is the major cause of parkinsonism, in contrast to other designations of secondary syndromes and hereditodegenerative disorders of the same type [1]. There are works in process to develop a vector capable to be used in Parkinson therapy [2]. With the biological needs of oxygen administration and nutrients to the brain, as well as the need to avoid the passage of macromolecules bigger than 20 nm, the brain vessels present a modification forming the blood-brain barrier (BBB). This barrier consists in capillary endothelial cells with a basal membrane, a neuroglial membrane and the glial terminal feet, with a main characteristic that just a few substances can cross through the endothelial cells because of its selectiveness and the tight junctions between them [3].

Focused ultrasound (FUS) has the advantage of being a procedure capable of achieving non-invasive, safe, repeated, and targeted BBB disruption to enhance drug or gene delivery to the brain [4]. However, the presence of skull represents the main challenge for the use of FUS-mediated BBB disruption. The high attenuation and scattering caused by the skull generates focus displacements, aberrations, and temperature increases [5]. Microbubbles, an ultrasound agent contrast, work by resonating in an ultrasound beam producing rapid contractions and expansions in response to the pressure changes of the sound wave [6]. This phenomenon, usually named stable cavitation, can produce cell membrane disruptions producing openings of biologic structures as that of the BBB.

The use of FUS for opening the BBB was initially proposed non-invasively in mice [7], which has resulted in positive results [8]. Subsequently, in different research groups, changes have been made in the FUS application protocols including ultrasonic contrast agents composed of microbubbles of different sizes [9]. By comparing those proposals, a better dosage of the contrast agents has been achieved by studying the experimental conditions that enhance the effects of FUS in the opening of the BBB, without too many side effects in the surrounding tissues [10]. This need for optimization, coupled with the need to verify the reversibility of the BBB disruption, has motivated us to conduct more complete studies of the effects on the brain with different experimental conditions, starting from the use of craniotomies [11], then using microbubbles (this paper), to finally in future, getting equivalent results transcranially.

The present work shows the FUS application for opening the BBB in the *substantia nigra* employing craniotomies in Wistar rats with the presence of microbubbles in bloodstream, using a monoelement concave transducer of 2 MHz. The experiment was carried out applying FUS in the brain of the rat, injecting a dye to mark the zone in which the BBB disruption appeared and, after the recovery of the rat, observe if the brain shows the blue dye in the *substantia*

nigra. The results suggest this technique reversibly opened the BBB at the region of interest without damaging other tissues.

II. MATERIALS AND METHODS

A. Experimental setup

A monoelement concave transducer of 2 MHz (Onda Corporation, USA) with 20 mm of focal length and 10 mm of radius was used in this study. An acoustic gel filled cone (thermoplastic polyurethane, TPU) was used as an intermediate coupler between the transducer and the rat head to let adequate ultrasound transmission without requiring immerse the animal in water. The transducer was driven by a signal generator (2052, LeCroy, USA) and a power amplifier (500A250, Amplifier Research, USA) using a sine wave of 1.956 MHz modulated with a tone burst of 10 Hz. A power meter (PM2002, Amplifier Research, USA) was used to measure the electrical power supplied to the transducer. An oscilloscope (600A, LeCroy, USA) was used to monitor the output signal. Fig. 1 shows the block diagram and the experiment setup. The acoustic field of the transducer was measured and modeled previously for our research group [12], [13].

B. Animal preparation

Male Wistar rats between 210 g and 230 g of weight were used in this study. The handling of laboratory animals is regulated by NOM-062-ZOO-1999 and the Comité Interno Para El Cuidado Y Uso De Los Animales De Laboratorio (CICUAL). The laboratory animal handling course was taught by the Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL), and it was divided in 3 hours of theoretical class and 4 hours of experimental method. Before the experiment the animal received anesthesia solution of Xylazine (PISA agropecuaria, Reg. SAGARPA Q-7833-099) and Ketamine (PISA agropecuaria, Reg. SAGARPA Q-7833-028). The anesthesia was applied intraperitoneally, and it was determined by using the relationship of 0.32 μ L for 232 g of weight. After the animal fall sleep, the hair on the head was removed with an electrical razor.

Evans Blue (EB), which is a blue dye that normally cannot cross the BBB, was injected in the caudal vein after FUS application to identify the coloration in the *substantia nigra* when the BBB was opened. This colorant was chosen because when it is administered intravenously in the rat, all the tissues are colored but except the tissues at the brain. This occurs because its molecular size prevent it from passing through the BBB [14].

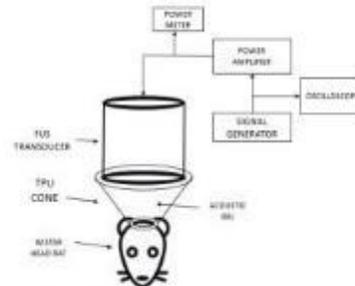


Fig. 1 – Block diagram of experiment setup.

C. Microbubble preparation

Commercial microbubbles (MB) of sulfur hexafluoride were used for these experiments (SonoVue, Bracco Imaging, Italy). The 25 mg vial was composed of a mixture of sulfur hexafluoride and 0.9% of solvent. This dose was designed for a 70 kg average weight human. The dose of MB in the rat model was applied according to the equivalence in weight. The MB were injected via retro-ophthalmic (Fig. 2) with 2 purposes: permit having the MB faster in the head and reduce the presence of MB outside the sonication area.

D. Experimental method

The animal was placed in a stereotaxic system (51600, Stoelting, USA) shown in Fig. 3 the transducer was also fixed using that system. To ensure the right placement of the transducer over the *substantia nigra*, the lambda suture was taken as a reference; the treatment zone was positioned at 2 mm in the transverse axis and 2.1 mm in the anteroposterior axis [15].

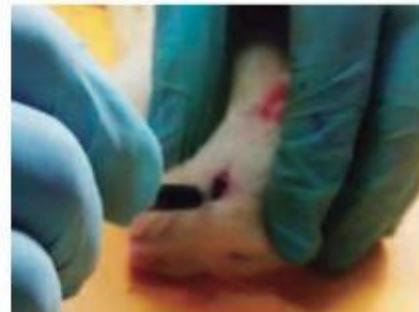


Fig. 2 – Microbubbles injection in retro-ophthalmic via.



Fig. 3 – Wistar rat placed in stereotaxic system.

Once the position of the *substantia nigra* is determined, a craniotomy is made over the skull of the rat with 10 mm² of area around the point marked as the center. The craniotomy is required, at this first stage of the project, to avoid the large skull attenuation that could produce superficial overheating. The electrical power was fixed at 3 W, but the duty cycle of the FUS was modified accordingly to the Table 1. After the sonication, the rat was let to recovery

TABLE I
TIMES AND DUTY CYCLE APPLICATION OF FUS

Time	Duty cycle
10 s	60%
50 s	20%
30 s	OFF
10 s	60%
50 s	20%
Total time	150 s

To see if there is reversibility of the opening of the blood brain barrier, EB was applied at different time after FUS sonication. These tests were made in four animals, in which 300 µL of EB was injected 4 h, 6 h, 8 h, and 12 h after the sonication. All the animals received the same FUS radiation, using the same standard procedure described previously. All the brain images were taken in a microscope (Leica, USA) with a camera (Canon, USA).

III. RESULTS AND DISCUSSION

The results presented in this paper show the opening of the BBB employing craniotomies. The project is at the initial stage, since we are testing the MB and determining the safe limits of power to produce a measurable effect without important side effects. In future, as the next step, it is pretended to eliminate the use of craniotomies, with an adequate modification of the experimental conditions to obtain similar results.

a. FUS application to 3W with MB

In the brain showed in Fig. 4, it was injected MB and EB to see the effect of MB in the absorption of EB in the desired zone, the *substantia nigra*. The blue color at the surface of the brain indicates the disruption of the BBB and the intake of the dye in the brain in the nearest point of sonication of FUS, probably due to superficial heating or a transducer's cone-brain interaction. In Fig. 5, it can be seen a vibratome cut of 300 µm thickness from the same brain of Fig. 4 to observe the presence of EB inside the brain, specifically in the *substantia nigra*.

b. Opening reversibility of the blood-brain barrier

Besides decreasing the power of FUS application, it was determined if the BBB opening was reversible over time. This was made by injecting the EB at different times after the FUS application. Fig. 6 shows the time course of the delivering of EB on rat brains after FUS. The first column does not present a coloring in the *substantia nigra*, which indicates the EB at 12 h could not trespass the BBB, possibly due to a reversible effect of the BBB disruption; the same happens after 8 h, and 6 h of application. However, in the fourth column, just 4 h after FUS application, EB was effectively absorbed in the target zone, probably indicating that the reversibility of the BBB disruption is adequate, which could occur any time between 4 h and 6 h. A more refined time course to analyze the time between those two intervals could be useful; also, it is required an increase of the number of subjects at each group of study.

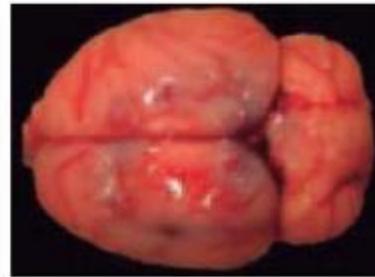


Fig. 4 – EB coloring in the brain tissue.



Fig. 5 – 300 µm cut to explore the inside of the brain.

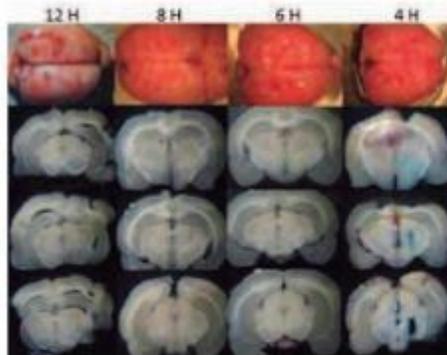


Fig. 6 – Time course to determine the reversibility of opening the BBB.

The results showed in this paper contrasts with the presented by our group in past publications. Currently, we have done a step to achieve the transcranial opening of the BBB in Wistar rats employing MB as a booster of cavitation. The results showed at 3 W with MB are equivalent to the previously presented at 5 W without MB [11], so we could decrease the power and therefore, reduce the damage in surrounding tissues.

The results are positive because they satisfy the need of opening the BBB employing craniotomies in Wistar rats. The next step of investigation and experimentation is to achieve the reproduction of this protocol without craniotomies obtaining the aperture of BBB at the *substantia nigra*.

IV. CONCLUSIONS

The objective of this paper was to present a FUS protocol for opening the BBB employing craniotomies and using microbubbles to identify if the coloring substance can cross the BBB. Focused ultrasound is presented as a very reliable tool to get the opening of the BBB in a desired zone, unlike the common methods that require a needle inserted directly in the brain. It is implied that, if the EB crossed the BBB, other molecules of about the same size could cross too, as specific drugs for Parkinson disease, which is the main objective of our research.

ACKNOWLEDGMENTS

We appreciate the funding for the development of the work presented project: ERAnet-EMHE 200022, CYTED-DITECROD-218RT0545, Proyecto IV-8 call Amexcid-Auci 2018-2020, and CONACYT CB2015-257966. Especially thankful to the biologist José Ayala for his support during the animal handling, to the M. C. José Hugo Zepeda Peralta for his support in the FUS application for the in vivo experiments, to the Unidad de Producción y

Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) for the given course of laboratory animals handling.

REFERENCES

- [1] S. Fahn and D. Sulzer, "Neurodegeneration and Neuroprotection in Parkinson Disease," *NeuroRx*, vol. 1, no. 1, pp. 139–154, 2004.
- [2] D. Martinez-Fong *et al.*, "NTS-Polyplex: A potential nanocarrier for neurotrophic therapy of Parkinson's disease," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 8, no. 7, pp. 1052–1069, 2012.
- [3] M. Tajés *et al.*, "The blood-brain barrier: Structure, function and therapeutic approaches to cross it," *Mol. Membr. Biol.*, vol. 31, no. 5, pp. 152–167, 2014.
- [4] K. F. Timbie, B. P. Mead, and R. J. Price, "Drug and gene delivery across the blood-brain barrier with focused ultrasound," *J. Control. Release*, vol. 219, pp. 61–75, 2015.
- [5] H. A. S. Kamimura *et al.*, "Feedback control of microbubble cavitation for ultrasound-mediated blood-brain barrier disruption in non-human primates under magnetic resonance guidance," *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2018.
- [6] M. J. K. Blomley, J. C. Cooke, E. C. Unger, M. J. Monaghan, and D. O. Cosgrove, "Science, medicine, and the future: Microbubble contrast agents: a new era in ultrasound," *Bmj*, vol. 322, no. 7296, pp. 1222–1225, 2001.
- [7] J. J. Choi, S. A. Small, and E. E. Konofagou, "2F-5 Optimization of Blood-Brain Barrier Opening in Mice using Focused Ultrasound," *IEEE Ultrason. Symp.*, pp. 540–543, 2006.
- [8] F. Y. Yang, W. M. Fu, R. Sen 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, 2007.
- [9] G. Samiotaki, F. Vlachos, Y. S. Tung, J. Feshitan, M. Borden, 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. 2012, no. 67, pp. 769–777, 2012.
- [10] S. Wang, G. Samiotaki, O. Olumolade, J. A. Feshitan, and E. E. Konofagou, "Microbubble type and distribution dependence of focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 40, no. 1, pp. 130–137, 2014.
- [11] D. A. Hernandez, M. I. Gutierrez, A. Vera, D. Martinez-Fong, and L. Leija, "Simulation and in vivo validation of craniotomies in rats for the disruption of the blood brain barrier with focused ultrasound for drug delivery," in *2017 14th International*

- Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE)*, 2017, pp. 1–5.
- [12] D. A. Hernández, V. H. Contreras, L. Leija, A. Vera, D. Martínez-Fong, and M. I. Gutiérrez, “Acoustic field simulation for focused ultrasound on skull with craniotomy for drug delivery in rat brain,” *Pan Am. Heal. Care Exch. PAHCE*, vol. 2017–March, 2017.
- [13] M. I. Gutierrez, A. Vera, L. Leija, A. Ramos, and J. Gutierrez, “Acoustic field modeling of focused ultrasound transducers using non-uniform radiation distributions,” in *2017 14th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE)*, 2017, pp. 1–4.
- [14] B. T. Hawkins and R. D. Egleton, “Fluorescence imaging of blood-brain barrier disruption,” *J. Neurosci. Methods*, vol. 151, no. 2, pp. 262–267, 2006.
- [15] 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. 1879–1900, 2015.

Frequency Swept to Optimize Focalization at the *Substantia Nigra* in a Rat Head Model using a Semi-Spherical Ultrasound Transducer

Jorge Alberto Rodríguez Ramírez
Department of Electrical
Engineering/Bioelectronics
CINVESTAV-IPN
México City, México.
jorge.rodriiguez@cinvestav.mx

Mario Ibrahim Gutiérrez
CONACYT – Instituto Nacional de
Rehabilitación, Subdirección de
Investigación Biotecnológica, DIIIM,
México City, México.
m.ibrahim.gutierrez@gmail.com

Citlalli Trujillo Romero
National Institute of Rehabilitation,
Division of Research
in Medical Engineering
México City, México.
cjtrujillo@inr.mx

Arturo Vera Hernández
Department of Electrical
Engineering/Bioelectronics
CINVESTAV-IPN
México City, México.
arvera@cinvestav.mx

Daniel Martínez-Fong
Department of Physiology,
Biophysics and Neuroscience
CINVESTAV-IPN
México City, México.
dmartine@fisio.cinvestav.mx

Lorenzo Leija Salas
Department of Electrical
Engineering/Bioelectronics
CINVESTAV-IPN
México City, México.
lleija@cinvestav.mx

Abstract – The use of focused ultrasound in the head has been demonstrated to be advantageous for the disruption of the blood-brain barrier (BBB) in a reversible way. With models using the finite element method, it is possible to make approximations of the physical phenomenon to study separately, and together, the parameters affecting the therapy with the objective of saving time and economical sources during the investigation. In this paper, it presented a geometry of focused ultrasound transducer with a parametric analysis to find an effective configuration that can cross the BBB transcranially with reduced effects at the cranium, and that is able to completely radiate the *substantia nigra*. The results indicate that for a rat head, the frequency to obtain a narrow focus with larger amplitude, enough to cover the *substantia nigra*, was 500 kHz. The penetration depth increases for lower frequencies, but the result is a wider focus that could damage other brain zones.

Keywords – Finite Element Method, Focused Ultrasound, Blood-Brain Barrier, acoustic field, ultrasound pressure, thermal propagation.

I. INTRODUCTION

Ultrasound has been shown to be an advantageous tool in the clinical application for the opening of the blood-brain barrier (BBB) [1]. One of its modalities is the focused ultrasound (FUS), which allows you to create a focus in a specific place at a desired distance. The FUS has been implemented in other areas like in therapy for the management of benign tumors [2], or for surgery of tissue removal for the study of changes in their mechanical properties [3]. FUS has been also proposed to be used to open the BBB safely with the presence of a skull [4] and using craniotomies [5]. However, the main problem is the attenuation of ultrasound by the skull when used transcranially [6].

In the area of ultrasound, different studies has been made about simulation of transducers and tissues, as well as their behavior [7]. The works carried out in the acoustic area include the design of transducers that emit an ultrasonic beam in a localized way to reach a specific desired area like the *substantia nigra* [8]. One point to consider is the damage produced by the thermal effects that occur when the ultrasonic beam is applied in the tissue for a prolonged time [9]. These simulations are supported with experiments on different types of animal models [10]. These jobs often lead to the same purpose by different methods, achieving the opening of the BBB [11],[12].

This paper presents the proposal of a focused ultrasound transducer with characteristics (geometry, diameter, frequency) that permit to achieve an ultrasonic beam capable of crossing the skull of a rat model to position a focus on the *substantia nigra*. The analysis was made with a frequency swept using a fixed geometry for achieving the objective of reaching a specific point without being too invasive, specifically, reaching the *substantia nigra* and avoiding damaging other structures; the heat produced by the ultrasound was also analyzed to verify no-overheating the cranium. The final application of the ultrasound for this very specific region of the brain is beyond the scope of this paper.

II. METHODS

A. Theoretical basis

To understand the ultrasound propagation generated for the transducer and the thermal effects produced in the volume, the problem was solved based on the next equations. The stable and harmonic ultrasound propagation can be determined with the acoustic wave equation given by

$$\nabla^2 p + k_{\text{eq}}^2 p = 0 \quad (1)$$

where p is the total pressure and k_{eq}^2 is the wavenumber. When the wavenumber is real, the wave equation is only valid for lineal propagation.

Assuming a harmonic ultrasound generation, the pressure on the radiator surface can be related to its normal acceleration [9] using

$$a_0 = \frac{\omega}{\rho c} p e^{j(\omega t + \frac{\pi}{2})} \quad (2)$$

where a_0 is the normal acceleration, ρ is the density of the material, c is the speed sound of the medium, p is the amplitude of the pressure on the radiator surface. We can determine the pressure on the radiator surface from the acoustic power by using the other equations shown in [9].

The heat propagation can be explained with the Pennes bioheat thermal equation given by

$$\rho C_p \frac{\delta T}{\delta t} + \nabla \cdot (-k \nabla T) = Q \quad (3)$$

where C_p is the heat capacity at constant pressure, k the thermal conductivity, T is the initial temperature, Q is the external heat source. For our case, we can determine Q that is related to the pressure by

$$Q_{\text{ext}} = \frac{\alpha p^2}{\rho c} \quad (4)$$

where α is the coefficient of acoustic absorption which was considered the same as attenuation (neglecting scattering).

B. Finite element analysis

For solving the main differential equations presented, the simulation was made with the Finite Element Method (FEM) using COMSOL Multiphysics (COMSOL Inc., Sweden) on a workstation with 64-GB RAM and 3.00-GHz 4-core processor; however, for the problem conditions, less computational resources could be possible. For the FEM solution, it was implemented a 2D axisymmetric geometry that consists of a concave transducer very similar to a helmet that cover great part of the head rat with the purpose to deliver the energy to the cranium more uniformly with low power and reduce heating of the skull of the rat (see Fig. 1). The transducer was made with a radius of 19.5 mm simulating only the front face of the material with the purpose to know the focal depth produced by this and the heating area in the brain tissue and the cortical skull bone.

In Fig. 1, it is also showed every domain of the simulation. Domain 1 is the medium in which the tissue is submerged, in this case is water; the domain 2 is the skull bone of a rat; the domain 3 is the brain. Vertical central boundary is the symmetry axis, and the curved boundary 4 is the radiator boundary, i.e. the transducer, with the determined acceleration of Eq. 2. The rest of the boundaries were set to have the acoustic impedance of water, to reduce wave reflections; thermally, those boundaries were set to 36 °C, which was the temperature of the initial conditions that corresponds to the central temperature of rats.

The simulation was carried out in two parts. The first one was planned to analyze the parameters of a transducer to produce an acceptable focus into the rat head. For this, we proposed a parametric swept of frequencies to find the value that allow us to generate an ultrasound distribution that can cross the rat cranium, using a fixed transducer geometry. This parametric swept starts at a frequency of 500 kHz and finish at 3.5 MHz with steps of 100 kHz. The acoustic pressure distributions were study to determine a transducer configuration that produces an acceptable focus size to cover the *substantia nigra*, with less reverberation between the transducer and the cranium. The second part of the simulation was to determine the heat produced 10 W of power by the transducer configuration found in the first analysis, based on [9]. For this second part, Eq. (3) was solved with the FEM under the conditions already detailed.

The mesh applied in the model was established according to the wavelength (λ) of the materials of the model. The wavelength obtained was divided by 11, which was based on an analysis of convergence by minimizing the error of the solution vs the time required to get that solution [9]. Convergence was verified with smaller meshes having an error of 0.01% between the chosen one and a mesh of 12 elements per wavelength; the time required to solve these problems with 11 and 12 elements per wavelength was about 3.8 min and 6.3 min, respectively, with negligible improvement in the quality of the solution. Then, the final mesh of 11 elements was chosen. In Table 1, the properties used in each domain for the acoustic and heating simulations are presented.

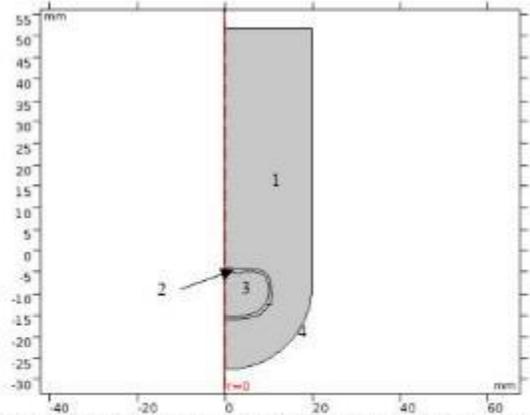


Fig. 1 – Geometry of the simulation. Every domain is different: 1.- Water, 2.- Skull bone, 3.- Brain tissue. Boundary 4 represents the transducer.

TABLE 1 - Acoustic and thermal properties of simulated tissue [13][14]

Domain	Speed of sound (m/s)	Attenuation (Np/m)	Heat capacity (J/kg-K)	Thermal conductivity (W/(m-K))	Density (kg/m ³)
Water	1500	0	4178	0.60	997
Brain	1546	6	3696	0.49	911
Skull bone	2814	180	1313	0.32	1908

III. RESULTS AND DISCUSSION

The results present both the acoustic propagation and the heat produced at the best-case scenario of the acoustic propagation analyzed. It was obtained different propagation maps that demonstrate the focused pressure inside the brain. It was required, as the optimal result, the production of a focus with the enough size to cover the *substantia nigra* of a murine model, which should pass through the skull with a little thermal damage. The ideal result should be a focus with no increase of temperature, but the actual results should be close enough to not provoke damages of other brain tissues.

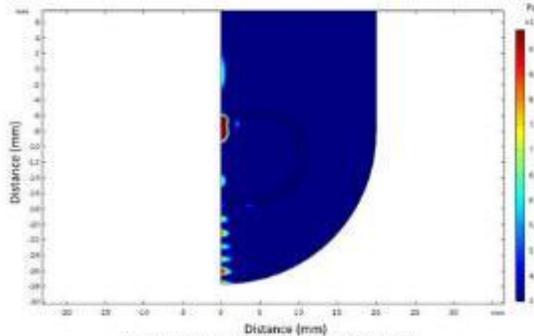


Fig. 2 – Focused pressured map at 500 kHz.

Figure 2 shows the focus generated at 500 kHz. In the pressure distribution it can be seen a focus with a large intensity at 20 mm approximately from the center of the transducer. The other pressure peaks into the head shown in the figure should be considered important, since they are produced by other means of focusing, for instance, by the cranium. However, the pressure levels generated in them are reduced compared with the focus. The peaks between the head and the transducer are produced by the reverberations of the ultrasound after the signal is continuously reflected by the cranium. However, because the water has a negligible absorption, those peaks do not produce any heating effect. If the medium which the ultrasonic beam propagates were different, more losses would be produced before the energy arrive to the target zone, which then would provoke the generated focus being even smaller.

To compare results using different frequencies, the pressure on the propagation axis was plot in Fig. 3 for three different cases, all having the same amplitude of acceleration. The frequency values showed in Fig. 3 are 500 kHz (black line), 2 MHz (blue line) and 3.5 MHz (red line). From these graphs, we can see that the focus is narrower when the frequency increases, but also the pressure at the focus changes; that is, the area of the focus starts to be larger, so, it begins to differ from our main objective. This could occur because of bone reflections that produce reverberations inside the cranium, increasing hotspots outside the focus. Therefore, even if the graph shows that increasing the frequency will also increase the pressure level, the result using higher frequencies would not be optimal since those do not cover the entire *substantia nigra*.

When the frequency is 2 MHz (shown in Fig. 4), the area of distribution is narrower with respect to lower frequencies; this means the focus is small and the size would not be

enough to cover the *substantia nigra*. However, the pressure amplitude at the focus increase as expected, because the concentration of the energy in a smaller region. However, this was not true for 3.5 MHz. As seen in Fig. 3, for a frequency of 3.5 MHz, the pressure amplitude is smaller than the others, and the pressure distribution at the focus is narrower. This occurs because when the frequency grows, it is more difficult to cross the skull due to the difference of acoustic impedances and the high attenuation of the ultrasonic beam that it produces [6]. Selecting a good frequency is important for our investigation because it will be used to obtain a custom-made transducer for the experimental work. The generated focus is adequate for our purposes in both location (depth) and size.

The heat distribution was determined for the more optimal result obtained in the previous step, which was the simulation using 500 kHz ultrasound radiation. Figure 5 shows the contour plot of the temperature generated in the simulated rat brain. It can be seen how the highest heating rate occurs at the focus produced by the transducer; however, the heating is also given, although to a lesser extent, in the skull, where the ultrasonic beam hits. This effect not produced in other parts of the cranium could be because the rat cranium is flat in the upper part of the head, which produced additive ultrasound reverberations between the cranium and the transducer, which increase the temperature at that region. However, the final temperature in the cranium was not importantly larger compared with the temperature at the focus. We can consider that this transducer geometry effectively helped in decreasing the damage on the cranium by increasing the radiating area of the head.

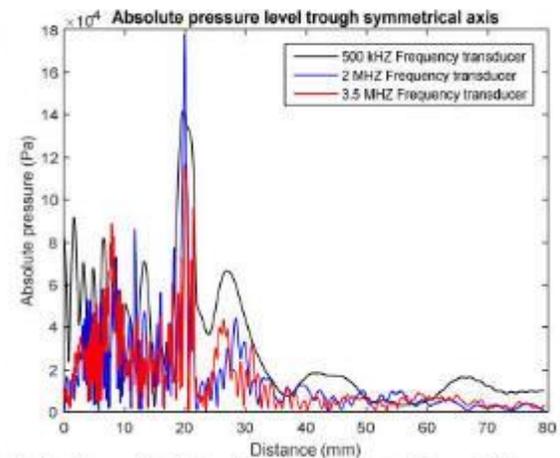


Fig. 3 – Pressure distribution along the symmetric axis of the model. It was made a parametric swept to obtain these results. The black line represents the result of 500 kHz, the blue line is the 2 MHz and the red line is the 3.5 MHz.

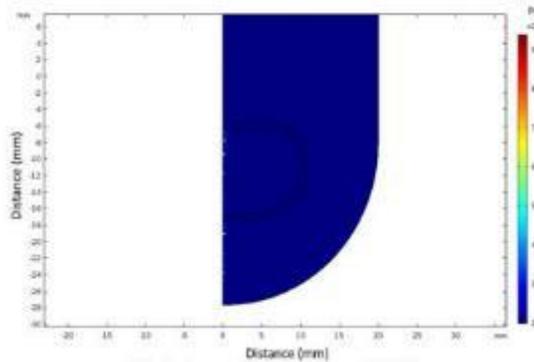


Fig. 4- Focused pressured map at 2 MHz.

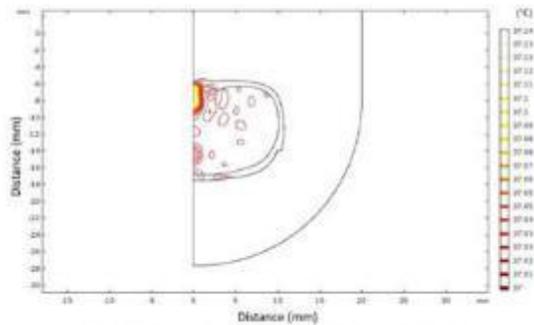


Fig. 5 - Contour temperature distribution in the brain.

IV. CONCLUSIONS

This paper was made with the purpose of determining an adequate focused pressure distribution across the head of a model rat that can cover the *substantia nigra*. The heat distribution is related to the pressure generated by the ultrasound. With this simulation, it was also determined that the frequency of the ultrasound in a transducer affects the transmission through the cortical bone of a rat head; from this, we concluded that transmission is higher for low frequencies, but the focus is larger and wider.

For the best-case scenario obtained in this paper, it has been found an acceptable combination of transducer parameters that can produce a temperature increase at the focus, with reduced temperature increase at the skull, having the adequate size to effectively cover the *substantia nigra*.

ACKNOWLEDGMENT

We appreciate the funding for the development of the work presented project: ERAnet-EMHE 200022, CYTED-DITECROD-218RT0545, CB2015-257966, and Proyecto IV-8 call Amexcid-Auci 2018-2020.

REFERENCES

- [1] G. Samiotaki, F. Vlachos, Y. S. Tung, and E. E. Konofagou, "Permeability and reversibility timeline study of the focused-ultrasound induced blood-brain barrier opening at distinct pressures and microbubble sizes in vivo," in *IEEE International Ultrasonics Symposium, IUS*, 2011.
- [2] V. Y. T. Cheung, "High-intensity focused ultrasound therapy," *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, vol. 46, pp. 74-83, 2018.
- [3] C. Maleke and E. E. Konofagou, "In vivo feasibility of real-time monitoring of focused ultrasound surgery (FUS) using harmonic motion imaging (HMI)," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 1, pp. 7-11, 2010.
- [4] J. J. Choi, M. Pernot, S. A. Small, and E. E. Konofagou, "Noninvasive, transcranial and localized opening of the blood-brain barrier using focused ultrasound in mice," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 33, no. 1, pp. 95-104, 2007.
- [5] D. A. Hernandez, M. I. Gutierrez, A. Vera, D. Martinez-Fong, and L. Leija, "Simulation and in vivo validation of craniotomies in rats for the disruption of the blood brain barrier with focused ultrasound for drug delivery," in *2017 14th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control, CCE 2017*, 2017, pp. 1-5.
- [6] G. Pinton, J. F. Aubry, E. Bossy, M. Müller, M. Pernot, and M. Tanter, "Attenuation, scattering, and absorption of ultrasound in the skull bone," *Med. Phys.*, vol. 39, no. 1, pp. 299-307, 2012.
- [7] W. Larbi and J. F. Deü, "Reduced order finite element formulations for vibration reduction using piezoelectric shunt damping," *Appl. Acoust.*, vol. 147, no. March, pp. 111-120, 2019.
- [8] D. A. Hernandez, M. I. Gutierrez, A. Vera, and L. Leija, "Simulation and in vivo Validation of Craniotomies in Rats for the Disruption of the Blood Brain Barrier with Focused Ultrasound for Drug Delivery," pp. 2-6, 2017.
- [9] M. I. Gutierrez, S. A. Lopez-Haro, A. Vera, and L. Leija, "Experimental Verification of Modeled Thermal Distribution Produced by a Piston Source in Physiotherapy Ultrasound," *Biomed Res. Int.*, vol. 2016, pp. 1-16, 2016.
- [10] N. Vykhodtseva, N. McDannold, and K. Hynynen, "Progress and problems in the application of focused ultrasound for blood-brain barrier disruption," *Ultrasonics*, 2008.
- [11] 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.*, 2009.
- [12] Y. Lin *et al.*, "Effect of acoustic parameters on the cavitation behavior of SonoVue microbubbles induced by pulsed ultrasound," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 35, pp. 176-184, 2017.
- [13] K. Giering, O. Minet, I. Lamprecht, and G. Müller, "Review of thermal properties of biological tissues," *SPIE Opt. Eng. Press.*, vol. 044, no. August 2018, pp. 45-65, 1995.
- [14] A. Feldmann, P. Wili, G. Maquer, and P. Zysset, "The thermal conductivity of cortical and cancellous bone," *Eur. Cells Mater.*, vol. 35, no. 2000, pp. 25-33, 2018.