

CFA/VISHNO 2016

Surveillance de la protection myocardique en chirurgie cardiaque par investigation multi-physique : Étude de faisabilité

C. Engrand^a, D. Laux^b, J.Y. Ferrandis^b, R. Demaria^c et E. Le Clézio^a

^aIES Université Montpellier, Campus St Priest, 860 Rue Saint Priest, CC 05 003, 34095 Montpellier, France

^bUniversité de Montpellier, CNRS, IES, UMR 5214, 860, rue Saint Priest, Campus Saint Priest, Bat 5, 34095 Montpellier Cedex 5, France

^cCHU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, 371 Av Giraud, 34295 Montpellier, France

celine.engrand@umontpellier.fr



LE MANS

Une des problématiques de la chirurgie cardio-vasculaire concerne le diagnostic per et post-opératoire de la souffrance myocardique. En général, afin d'assurer une protection du cœur, une cardioplégie froide est appliquée suivant un protocole bien précis. L'objectif est de combiner l'arrêt électromécanique du muscle à une diminution de sa température afin de minimiser ses besoins en oxygène et optimiser ses chances de récupération. L'hypothermie du tissu permet de maintenir le cœur à une température allant de 10 et 15 °C. Cependant durant la chirurgie, l'impact environnemental et la durée de l'intervention peuvent contrecarrer l'action de la cardioplégie froide et abaisser fortement l'effet protecteur du système, entraînant parfois des fibrillations et augmentant les risques post-traumatiques du muscle cardiaque. Un monitoring thermique simple et direct fournirait ainsi une information primordiale aux chirurgiens quant à l'instant de réinjection de la solution cardioplégique et permettrait également de minimiser la souffrance tissulaire. Parmi les méthodes de thermométrie les plus connues, la vélocimétrie par ultrasons a retenu notre attention puisqu'elle est actuellement utilisée pour le suivi de la température durant des applications médicales comme la thérapie à ultrasons focalisés.

1 Introduction

La surveillance de l'activité thermique du cœur au cours d'une chirurgie cardio-vasculaire est primordiale afin d'assurer une protection myocardique satisfaisante.

En effet l'utilisation d'une cardioplégie hypothermique est préconisée durant l'opération afin de minimiser le besoin en apport d'oxygène des tissus et améliorer le rétablissement des fonctions cardiaques. La procédure standard stipule que l'hypothermie du tissu doit être maintenue entre 10 et 15 °C de manière à ne pas être néfaste aux structures membranaires. Ainsi, dans cette gamme de températures et affiliée à l'arrêt électromécanique du cœur, la consommation d'oxygène par le muscle cardiaque diminue à plus de 90 % et permet de lutter efficacement contre l'ischémie myocardique [1]. Cependant, du fait de l'action éphémère de la solution et l'impact environnemental subi par l'organe, la température de ce dernier évolue constamment réduisant les effets protecteurs [2]. Une surveillance constante de la température du myocarde permettrait d'améliorer la pertinence du moment de réinjection de la solution froide. La littérature énonce différentes techniques en vue d'effectuer des mesures thermiques tissulaires. Parmi celles-ci, le suivi temporel des ultrasons représente la méthode la plus pertinente puisque qu'elle non invasive. Par ailleurs cette procédure fait actuellement l'objet d'expérimentations au cours de traitements médicaux par ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU). L'effet thermique des ultrasons appliqué localement sur des tumeurs malignes présentes dans des organes internes permet leurs ablations. Dans la présente étude, un procédé de vélocimétrie par ultrasons est donc utilisé afin de monitorer l'évolution en profondeur de la température myocardique.

Plus spécifiquement, le procédé qui nous intéresse se base de l'estimation du déplacement de l'écho ultrasonore traversant le tissu en utilisant soit le principe du speckle tracking [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9], soit l'estimation du déplacement fréquentiel [10]. Ces travaux ont été expérimentés sur fantômes et tissus relativement homogènes comme le foie mais également sur des gammes de températures élevées (30 – 60 °C). Dans leurs contextes, les auteurs ont démontré une certaine précision de leurs mesures thermiques, supérieure à $1 \pm 0,5$ °C [11, 12, 13].

Dans le cadre de la présente étude, l'objectif de notre travail est d'appliquer une thermométrie par ultrasons sur une gamme de températures plus basse, appropriée à la chirurgie cardiaque. Dans une première partie, la théorie sur laquelle est basée le procédé de thermométrie par acoustique est présentée. La deuxième partie de cet article

est consacrée à la quantification et l'analyse de l'influence de l'hétérogénéité du milieu sur les valeurs de températures mesurées au cours d'expérimentations. Une loi d'étalonnage entre la vitesse et la température sera proposée. Dans le troisième paragraphe, l'application de la méthode en conditions proches du contexte chirurgical sera effectuée. Les résultats seront discutés dans le dernier paragraphe avant de conclure.

2 Thermométrie par ultrasons : Théorie

La méthode d'estimation de températures proposée exploite la mesure du déplacement temporel de l'écho ultrasonore Δt influencée par un changement de température du milieu. Ainsi l'évolution de l'activité thermique de la zone d'intérêt peut être évaluée à partir de la variation de la vitesse acoustique de l'écho $\Delta c = c_f - c_i$ induite par ce même changement de température, c_i and c_f étant respectivement les vitesses acoustiques aux températures initiale et finale :

$$\Delta t = 2d \cdot \left(\frac{c_i - c_f}{c_i \cdot c_f} \right) \quad (1)$$

où $2d$ est la distance parcourue par l'écho.

Une majorité d'études du domaine biomédical considère que la vitesse des ultrasons et la température sont liées par une relation linéaire [6, 7, 8, 9], ainsi la dérivée de la vitesse acoustique en fonction de la température est évaluée comme constante dans les tissus mous : $\frac{\partial c(T)}{\partial T} = a$, ce qui permet d'écrire l'approximation suivante :

$$\Delta T \approx \frac{1}{a} \cdot \Delta C. \quad (2)$$

En exploitant les deux équations précédentes, l'évolution de l'activité thermique du muscle cardiaque peut être exprimée par la relation suivante :

$$|\Delta T| \approx \frac{1}{a} \cdot \left(\Delta t \cdot \frac{c_i \cdot c_f}{2d} \right). \quad (3)$$

De manière à exploiter cette équation, la valeur du paramètre a spécifique au muscle myocardique doit être déterminée. La littérature ne détermine pas sa valeur précisément mais fréquemment les auteurs réalisent une pré-calibration directement sur l'échantillon à analyser. Cependant dans le cadre d'une étude sous chirurgie cardio-vasculaire, ce procédé n'est pas envisageable. Une voie alternative est donc considérée. Cette première étape fournira également une évaluation de l'influence du milieu

sur la technique de thermométrie par ultrasons. Pour ce faire, le paragraphe suivant présente le procédé permettant de déterminer la valeur de a à partir de la relation linéaire liant la vitesse acoustique à la température du milieu dans une gamme de température spécifique (10 – 30 °C).

3 Estimation du paramètre a par procédé d'indentation

3.1 Dispositif expérimental :

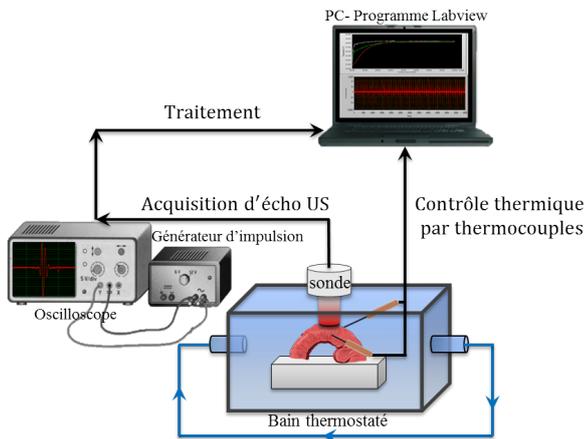


FIGURE 1 – Dispositif expérimental de mesures acoustiques en fonction de l'activité thermique d'échantillons de myocardes ex-vivo.

Le dispositif expérimental développé dans le but d'estimer l'influence de la température d'échantillons de myocarde ex-vivo sur la vitesse des ultrasons est présenté ci-dessus (Figure 1).

Le procédé est réalisé sur 15 échantillons de forme cubique d'environ 20 mm de largeur, tous prélevés de cœurs porcins frais.

Un transducteur à ultrasons d'une fréquence de 2.25 MHz (V323-SM, Olympus®, France) est connecté à un générateur d'impulsions (modèle 5900 PR, Olympus®, France) et positionné en contact direct de l'échantillon de muscle cardiaque.

Le contact entre le capteur et l'échantillon permet la génération d'une onde ultrasonore traversant le milieu. Les échos réfléchis sont acquis par le même appareillage et visualisés sur un oscilloscope (WaveRunner, LeCroy Corporation, France).

L'échantillon de muscle est également immergé dans un bain d'eau thermostaté (Bioblock Scientific, USA) dont le rôle est d'assurer un contrôle thermique stable et précis. L'équilibre thermique est également contrôlé via le suivi du déplacement de l'écho comme présenté Figure (2).

Deux thermocouples de type T (HYPI, Omega Engineering, France), d'une précision de $\pm 0,5$ °C, valident également les mesures thermiques, en surface et profondeur du tissu. L'expérimentation est réalisée sur une gamme de températures pertinente pour notre étude, estimée entre 10 et 30 °C. Un programme spécifique, développé sous Labview® (National Instruments, France) permet d'acquérir en temps réel les signaux ultrasonores et les mesures par thermocouples simultanément puis d'effectuer le post traitement fournissant les valeurs de vitesses acoustiques.

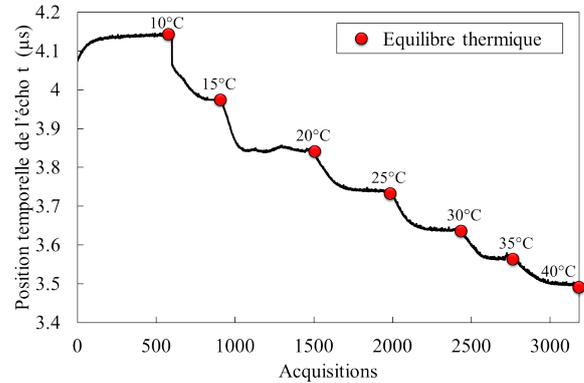


FIGURE 2 – Suivi du déplacement d'écho au cours du réchauffement tissulaire et confirmation de l'homogénéisation du milieu.

À chaque palier de température, un dispositif de déplacement du capteur ultrasonore [14] est appliquée (Figure 3).

Le déplacement de la sonde à ultrasons, elle-même fixée à un moteur micrométrique (Newport RI, USA) est également piloté sous Labview® par l'intermédiaire d'une interface GPIB IEEE (Newport, RI, USA). Le capteur est abaissé graduellement avec un pas Δz connu avec une résolution de 1µm (Figure 3(a)). À chaque étape de déplacement de la sonde dans l'axe du capteur, la distance parcourue par l'onde ultrasonore diminue et modifie la position temporelle de l'écho réfléchis t . La Figure 3(b) présente l'échogramme concaténé obtenu où peut être distingué l'ensemble des échos pour chaque pas de déplacement du capteur. Au total, 5 déplacements du capteur sont effectués pour une distance maximale de 2mm. Par régression linéaire, une courbe présentant la position temporelle de l'écho en fonction du déplacement total du capteur est obtenue avec une pente η (Figure 3(c)) dont la valeur permet de calculer la vitesse acoustique de l'échantillon : $c = \frac{2}{\eta}$.

3.2 Dépendance linéaire de la vitesse ultrasonore à la température, spécifique au muscle cardiaque :

La Figure (4) présente les vitesses acoustiques expérimentales mesurées sur les 15 échantillons de myocardes, à différentes températures comprises entre 10 et 30 °C. Ces mesures sont également comparées avec succès à des données de la littérature [15]-[31]. Elles confirment la dépendance linéaire de la vitesse des ultrasons en fonctions de la température du milieu dans la gamme de températures considérées.

Ces résultats permettent de définir une loi expérimentale qui relie la vitesse de l'onde ultrasonore longitudinale à la température du tissu :

$$c(T) = (2 \pm 0.5) \cdot T + 1509.2 \pm 12.1 \text{ m s}^{-1}. \quad (4)$$

Elles conduisent alors à l'identification du paramètre a de l'équation (3) :

$$a = \bar{a} \pm \delta_a = 2 \pm 0.5 \text{ m/s/}^\circ\text{C}. \quad (5)$$

où $\delta_a = 1.96\sigma = 0.5$ correspond à l'intervalle de confiance classique.

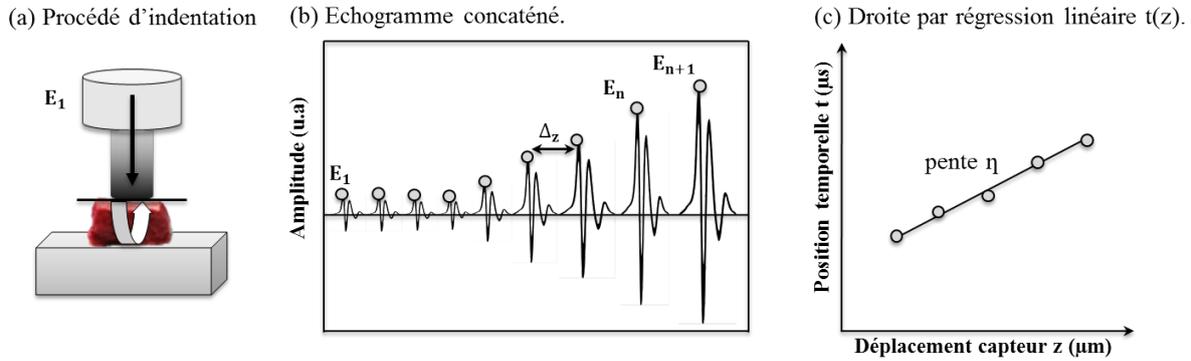


FIGURE 3 – (a) Procédé d'indentation : Déplacement du capteur sur l'échantillon d'un pas de distance z connue, (b) Echogramme concaténé : Acquisition des échos les uns derrière les autres à chaque déplacement du capteur Δz . (c) Régression linéaire de la position de l'écho t en fonction du déplacement du capteur z . L'estimation de la valeur de la pente η permet aisément de calculer la vitesse acoustique du milieu.

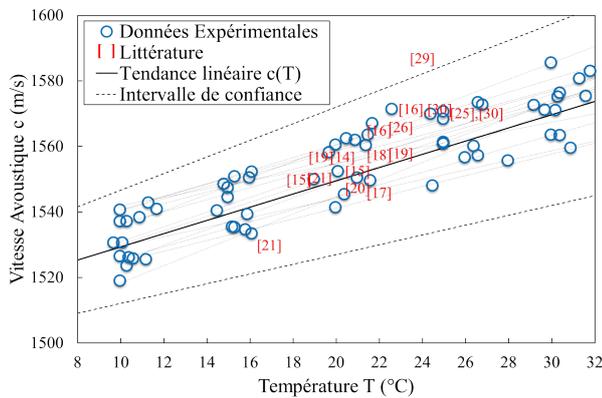


FIGURE 4 – Vitesse acoustique en fonction de la température sur 15 échantillons de myocarde ex vivo.

Induite par une forte hétérogénéité des échantillons du muscle cardiaque visualisable sur l'ensemble des mesures présenté sur la figure (4), l'incertitude de mesure du paramètre a observée dans la relation (5) pourrait conduire à des difficultés concernant l'identification de la température des tissus. Une estimation de l'incertitude est effectuée dans le paragraphe suivant afin d'évaluer son impact.

3.3 Mesures d'incertitude : Influence sur la détermination de température

Afin de mettre en œuvre l'estimation de la variation de la température au cours des expériences ex-vivo décrites dans la section suivante, l'erreur absolue $\delta\Delta T$ est déterminée à partir de l'équation (3) :

$$\delta_{\Delta T} = \sqrt{\left[\left(\frac{\delta a}{a}\right)^2 + \left(\frac{\delta d}{d}\right)^2 + \left(\frac{\delta c_i}{c_i}\right)^2 + \left(\frac{\delta c_f}{c_f}\right)^2\right]} \cdot \Delta T^2 \quad (6)$$

$$= 0.25 \cdot \Delta T \text{ } ^\circ\text{C} \quad (7)$$

En considérant une erreur de mesure d'épaisseur maximale égale à $\delta_{dmax} = 1.5$ mm, l'erreur de mesure $\delta_{\Delta T}$ en fonction du changement de températures du milieu est présentée sur la figure (5). D'après ce graphe, l'erreur de mesure thermique devrait être inférieure à 2.5 °C pour une variation de température du milieu égale à 10 °C. Cette estimation, bien que non optimale, devrait, dans

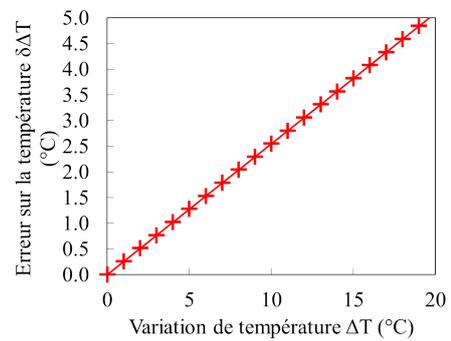


FIGURE 5 – Erreur absolue de l'estimation de la température $\delta_{\Delta T}$ en fonction de la variation de température ΔT .

une première approche, être suffisante pour fournir, en cours d'opération, une aide à la décision au chirurgien. Par conséquent, dans la section suivante, la méthode de thermométrie par ultrasons sera expérimentée dans des conditions proches du contexte chirurgicale.

4 Détermination ultrasonore des variations de température du myocarde

4.1 Calcul des paramètres initiaux c_i et d :

La première étape de thermométrie par ultrasons consiste à déduire les paramètres initiaux utilisés pour déterminer $\delta_{\Delta c}$ et ceci dans des conditions similaires à celles de la chirurgie. La loi expérimentale développée précédemment (Equation (5)) est utilisée afin de déduire la vitesse des ultrasons à la température initiale c_i du tissu. A titre d'exemple, si T_i est égale à 10 °C :

$$c_i(T = 10) = 1529.4 \pm 10.4 \text{ m s}^{-1} \quad (8)$$

L'épaisseur d peut alors être estimée en utilisant l'équation suivante :

$$d = \frac{c_i \cdot t_i}{2} \quad (9)$$

Les paramètres initiaux étant à présent estimés, la méthode de suivi d'écho peut être appliquée.

4.2 Suivi d'écho ultrasonore :

Une fois l'épaisseur du myocarde identifiée, un "écho tracking" est effectué. Cette procédure est basée sur un suivi du décalage temporel Δt en fonction de la température des échos réfléchis. À partir de l'équation (3), ce procédé permet, sans déplacement de la sonde, une identification en temps réel du changement de température ΔT du milieu.

De manière à s'adapter aux conditions de chirurgie où la paroi ventriculaire gauche est la région essentielle pour la protection myocardique, des mesures ont été pratiquées sur 50 ventricules gauches extraits par coupe frontale de cœurs de porcs frais. Pareillement au procédé ayant permis de déterminer la valeur du paramètre a (Figure (1)), la sonde est placée sur le dessus de la paroi, en contact avec le ventricule et la mesure d'écho présentée dans la partie 3.1 est maintenant effectuée sans déplacement de la sonde.

Concernant le contrôle de température, le protocole diffère peu : À partir de la température initiale de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ mesurée par thermocouples, le bain d'eau thermostaté est chauffé jusqu'à $30 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ sans palier de température. Les acquisitions sont effectuées toutes les 60 secondes afin d'évaluer le décalage temporel des échos ultrasonores. Les températures correspondantes identifiées par l'équation (3) sont présentées dans la section suivante et sont comparées aux valeurs de références des thermocouples.

5 Résultats : estimation du changement de températures du tissu cardiaque

À titre d'exemple, la figure (6) présente l'évolution de la température d'une paroi ventriculaire déterminée par ultrasons. L'épaisseur d du myocarde a été mesurée comme prévu par la relation (9) : $d = 2.9 \cdot 10^{-2}\text{ m}$. Ceci permet, à partir de l'équation (3), l'estimation de la variation de température déduite par ultrason. Ces mesures sont représentées sur la figure (6) par la courbe de losanges établie en utilisant la valeur de a déterminée dans le second paragraphe 3.2 : $a = 2 \pm 0.5\text{ m/s/}^{\circ}\text{C}$ (l'équation (5)). La température finale mesurée par ultrasons est ici égale à $T_f^{US} = 29 \pm 6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ces données sont encadrées par une zone grisée correspondant à l'intervalle de confiance induit par l'incertitude $\delta a = 0.5\text{ m/s/}^{\circ}\text{C}$.

Les lignes pleine et en pointillée correspondent aux températures de contrôle mesurées par les deux thermocouples, positionnés respectivement en profondeur et à proximité de la surface du tissu cardiaque. Elles démontrent la présence d'un gradient de température à l'intérieur de la paroi conduisant à des différences de températures locales évaluées par les deux thermocouples. Ces deux estimations convergent cependant vers une même valeur finale $T_f^{TH} = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, correspondant à un $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ d'écart par rapport à la mesure ultrasonore, soit une différence relative de 6.2%. Notons que l'intervalle de confiance des mesures ultrasonores encadre la valeur finale estimée par les thermocouples.

De manière plus générale, la figure (7) présente les erreurs relatives expérimentales obtenues, pour l'ensemble des 50 échantillons, entre les températures finales estimées par ultrasons T_f^{US} et par les thermocouples T_f^{TH} . Une grande dispersion expérimentale peut y être observée. Celle-ci peut être expliquée en partie par l'influence de la direction des

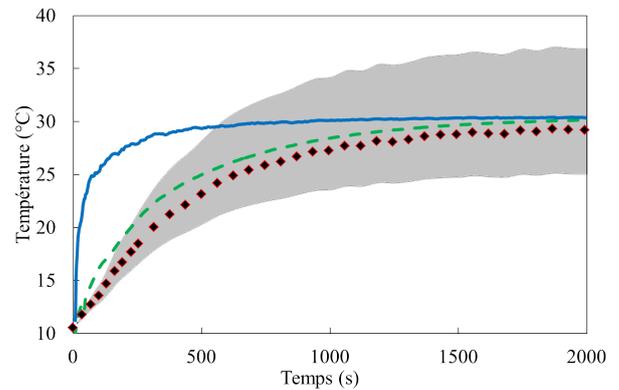


FIGURE 6 – Evolution de l'activité thermique d'une paroi ventriculaire. Les lignes pleine et en pointillée représentent le contrôle par thermocouples. Les losanges représentent le changement de température estimée par ultrasons et la zone grisée correspond à l'erreur de mesures due à $\delta a = 0.5$. L'épaisseur de la paroi ventriculaire a été estimée égale à $d = 2.9 \cdot 10^{-2}\text{ m}$. L'erreur de mesure par ultrasons, par rapport à la température finale attendue T_f^{TH} , est évaluée à 6.2% soit $\pm 1.2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

fibres sur la propagation des ultrasons. Mol et al. [21] et Pouch et al. [3] démontrent en particulier qu'une différence de 7 ms^{-1} peut être mesurée selon que les fibres sont parallèles ou perpendiculaires à la trajectoire des échos. Par ailleurs, selon Sehgal et al. [32], la composition du myocarde en tissu adipeux affecte la valeur de la vitesse acoustique qui décroît lorsque la température du tissu augmente. L'étendue des imprécisions dues à ces hypothèses est inconnue. Cependant, l'erreur moyenne observée sur la figure (7) est égale à 20.3 % correspondant à $\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ de différence par rapport à la température de contrôle. Les températures mesurées par les thermocouples sont toujours incluses dans la gamme d'estimation de celles identifiées par ultrasons. De plus, il a été observé que la dynamique de la température estimée par ultrasons est toujours proche de celle mesurée par le thermocouple en profondeur.

Par conséquent, bien qu'un accord modéré puisse être observé sur les températures finales estimées par les deux méthodes, les ultrasons semblent, dans une première approche, être en mesure de fournir des indications qualitatives de l'évolution thermique globale du myocarde. De plus, sur une gamme restreinte d'écart de température, l'incertitude des mesures ultrasonores reste acceptable. Elle ne dépasse par exemple pas $2.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour des écarts compris entre 10 et 20 $^{\circ}\text{C}$. L'application directe de la thermométrie par ultrasons sur un changement de température inférieure à 10 degrés doit donc permettre de fournir une aide à la décision précieuse pour le chirurgien.

6 Conclusion

Pour conclure, la présente étude a permis de confirmer qu'une relation linéaire pouvait être expérimentalement observée au sein du tissu cardiaque entre la vitesse des ondes longitudinales et la température sur une gamme de température allant de 10 à 30 $^{\circ}\text{C}$. Sur la base d'un processus d'indentation, cette méthode a ensuite été étendue à des conditions de chirurgie grâce à la mise en œuvre

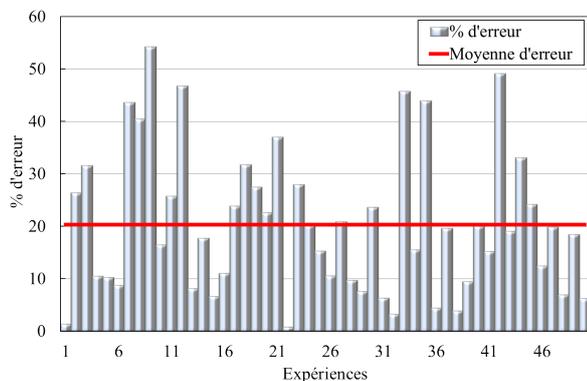


FIGURE 7 – Pourcentage d’erreur de mesure sur 50 expérimentations sur cœurs de porc ex-vivo.

d’une procédure d’écho-tracking, permettant de quantifier l’influence de la température sur le temps de vol des signaux ultrasonore émis. Cette étude, réalisée sur 50 parois ventriculaires, a permis d’identifier une incertitude de mesure sur la pente de $c(T)$ induite par l’hétérogénéité du tissu myocardique. Elle conduit à une erreur relative moyenne de ± 4 °C entre les températures finales estimées par ultrasons et celles mesurées par des thermocouples de référence. Cependant, sur une gamme d’évolution thermique restreinte à 10 °C, il a pu être démontré que l’erreur de mesure pouvait être inférieure à 2.5 °C. Celle-ci devient alors suffisamment faible pour fournir au chirurgien une indication globale de la dynamique thermique du myocarde. En perspective, les travaux futurs viseront à optimiser la précision de mesure thermique à travers le couplage des données ultrasonores avec celles issues de mesures infrarouge réalisées en surface. Elles devraient permettre, en temps réel, de réaliser un étalonnage des estimations acoustiques et donc de réduire l’incertitude expérimentale afin de fournir au chirurgien un outil d’aide à la décision fiable et non invasif.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le Labex NUMEV (<http://www.lirmm.fr/numev/>) pour le soutien apporté dans le cadre de la présente étude.

Références

- [1] A. Bel, P. Menasché, and J.-N. Fabiani. Protection myocardique. *EMC-Techniques chirurgicales-Thorax*, pages 42–511, 2008.
- [2] C. Decoene. Blood cardioplegia : advantages and disadvantages. *Annales françaises d’anesthésie et de réanimation*, 30 Suppl 1 :S20–22, May 2011.
- [3] Alison M. Pouch, Theodore W. Cary, Susan M. Schultz, and Chandra M. Sehgal. In vivo noninvasive temperature measurement by b-mode ultrasound imaging. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine*, 29(11) :1595–1606, November 2010.
- [4] Dalong Liu and E.S. Ebbini. Real-Time 2-D Temperature Imaging Using Ultrasound. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 57(1) :12–16, January 2010.
- [5] R. L. Clarke, N. L. Bush, and G. R. Ter Haar. The changes in acoustic attenuation due to in vitro heating. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 29(1) :127–135, January 2003.
- [6] R. Seip, P. VanBaren, C.A. Cain, and E.S. Ebbini. Noninvasive real-time multipoint temperature control for ultrasound phased array treatments. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 43(6) :1063–1073, November 1996.
- [7] C. A. Damianou, N. T. Sanghvi, F. J. Fry, and R. Maass-Moreno. Dependence of ultrasonic attenuation and absorption in dog soft tissues on temperature and thermal dose. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 102(1) :628–634, July 1997.
- [8] Roberto Maass-Moreno, Christakis A. Damianou, and Narendra T. Sanghvi. Noninvasive temperature estimation in tissue via ultrasound echo-shifts. part II. in vitro study. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 100(4) :2522, 1996.
- [9] C. Simon, P. VanBaren, and E.S. Ebbini. Two-dimensional temperature estimation using diagnostic ultrasound. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 45(4) :1088–1099, July 1998.
- [10] R. Seip and E.S. Ebbini. Noninvasive estimation of tissue temperature response to heating fields using diagnostic ultrasound. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 42(8) :828–839, August 1995.
- [11] Naomi R. Miller, Jeffrey C. Bamber, and Paul M. Meaney. Fundamental limitations of noninvasive temperature imaging by means of ultrasound echo strain estimation. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 28(10) :1319–1333, October 2002.
- [12] Naomi R. Miller, Jeffrey C. Bamber, and Gail R. ter Haar. Imaging of temperature-induced echo strain : preliminary in vitro study to assess feasibility for guiding focused ultrasound surgery. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 30(3) :345–356, March 2004.
- [13] M. Pernot, M. Tanter, J. Bercoff, K.R. Waters, and M. Fink. Temperature estimation using ultrasonic spatial compound imaging. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 51(5) :606–615, May 2004.
- [14] D. Laux, H. Blasco, J.Y. Ferrandis, G. Hugon, G. Despau, A. Leydier, and D. Mornet. In vitro mouse model in duchenne muscular dystrophy diagnosis using 50-mhz ultrasound waves. *Ultrasonics*, 50(8) :741–743, August 2010.
- [15] Steven L. Baldwin, Karen R. Marutyan, Min Yang, Kirk D. Wallace, Mark R. Holland, and James G. Miller. Measurements of the anisotropy of ultrasonic attenuation in freshly excised myocardium. *The*

- Journal of the Acoustical Society of America*, 119(5 Pt 1) :3130–3139, May 2006.
- [16] C. L. Dent, M. J. Scott, S. A. Wickline, and C. S. Hall. High-frequency ultrasound for quantitative characterization of myocardial edema. *Ultrasound in medicine & biology*, 26(3) :375–384, March 2000.
- [17] N. Akashi, J. Kushibiki, N. Chubachi, and F. Dunn. Acoustic properties of selected bovine tissues in the frequency range 20-200 MHz. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 98(6) :3035–3039, December 1995.
- [18] K. K. Shung. Ultrasound velocity in major bovine blood vessel walls. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 64(2) :692, 1978.
- [19] Krishnaswamy Chandrasekaran, James F. Greenleaf, Brent S. Robinson, William D. Edwards, James B. Seward, and A. Jamil Tajik. Echocardiographic visualization of acute myocardial ischemia-in vitro study. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 12(10) :785–793, October 1986.
- [20] D. Y. Fei, K. K. Shung, and T. M. Wilson. Ultrasonic backscatter from bovine tissues : variation with pathology. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 81(1) :166–172, January 1987.
- [21] Chris R. Mol. Ultrasound velocity in muscle. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 71(2) :455, 1982.
- [22] E. D. Verdonk, S. A. Wickline, and J. G. Miller. Anisotropy of ultrasonic velocity and elastic properties in normal human myocardium. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 92(6) :3039–3050, December 1992.
- [23] W. D. O'Brien, K. B. Sagar, D. C. Wartier, and T. L. Rhyne. Acoustic propagation properties of normal, stunned, and infarcted myocardium. morphological and biochemical determinants. *Circulation*, 91(1) :154–160, January 1995.
- [24] I. Y. Kuo. A novel method for the measurement of acoustic speed. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 88(4) :1679, 1990.
- [25] K. B. Sagar, D. H. Agemura, W. D. O'Brien, L. R. Pelc, T. L. Rhyne, L. S. Wann, R. A. Komorowski, and D. C. Wartier. Quantitative ultrasonic assessment of normal and ischaemic myocardium with an acoustic microscope : relationship to integrated backscatter. *Cardiovascular Research*, 24(6) :447–455, June 1990.
- [26] Xiu-fen Gong. Determination of the acoustic nonlinearity parameter in biological media using FAIS and ITD methods. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 86(1) :1, 1989.
- [27] W. K. Law, L. A. Frizzell, and F. Dunn. Determination of the nonlinearity parameter b/a of biological media. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 11(2) :307–318, April 1985.
- [28] M. A. Bronez, K. K. Shung, H. Heidary, and D. Hurwitz. Measurement of ultrasound velocity in tissues utilizing a microcomputer-based system. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, BME-32(9) :723–726, September 1985.
- [29] R. L. Nasoni, T. Bowen, W. G. Connor, and R. R. Sholes. In vivo temperature dependence of ultrasound speed in tissue and its application to noninvasive temperature monitoring. *Ultrasonic Imaging*, 1(1) :34–43, January 1979.
- [30] R. C. Chivers and R. J. Parry. Ultrasonic velocity and attenuation in mammalian tissues. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 63(3) :940–953, March 1978.
- [31] S. A. Goss, R. L. Johnston, and F. Dunn. Comprehensive compilation of empirical ultrasonic properties of mammalian tissues. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 64(2) :423–457, August 1978.
- [32] C.M. Sehgal, G.M. Brown, R.C. Bahn, and J.F. Greenleaf. Measurement and use of acoustic nonlinearity and sound speed to estimate composition of excised livers. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 12(11) :865–874, November 1986.