

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 980 263**

51 Int. Cl.:

A61B 8/08 (2006.01)

A61N 7/00 (2006.01)

A61M 37/00 (2006.01)

A61B 8/00 (2006.01)

A61B 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.10.2019** **PCT/EP2019/078098**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.04.2020** **WO20083725**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2019** **E 19786351 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2024** **EP 3870060**

54 Título: **Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador que permite garantizar la seguridad de intervenciones ultrasónicas terapéuticas**

30 Prioridad:

24.10.2018 FR 1859826

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.09.2024

73 Titular/es:

**COMMISSARIAT À L'ENERGIE ATOMIQUE ET
AUX ENERGIES ALTERNATIVES (100.0%)
Bâtiment "Le Ponant D" 25, rue Leblanc
75015 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**NOVELL, ANTHONY;
SALLES KAMIMURA, HERMES y
LARRAT, BENOÎT**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 980 263 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador que permite garantizar la seguridad de intervenciones ultrasónicas terapéuticas

5 La invención se refiere a un sistema correspondiente al análisis espectral de la respuesta acústica de un tejido biológico y de determinación de un marcador de seguridad que permite garantizar la seguridad de las intervenciones ultrasónicas terapéuticas.

10 El tejido biológico es cualquier tejido biológico blando vascularizado, por ejemplo un tejido comprendido en el conjunto de los tejidos del cerebro, del hígado, del corazón, de los músculos, de los senos, de los riñones, de los ojos, de la tiroides, de la próstata, del útero, de los tendones, del páncreas, de la piel y preferentemente un tejido cerebral.

15 A pesar del aumento del número de fármacos activos y la aparición de terapias dirigidas en oncología, los avances terapéuticos para las enfermedades cerebrales (incluido el cáncer) siguen siendo modestos. Uno de los principales obstáculos radica en la ausencia de administración específica y controlada de moléculas terapéuticas dentro de los tejidos. En efecto, las paredes de los vasos sanguíneos cerebrales forman una barrera endotelial muy eficaz llamada barrera hematoencefálica. Esta limita el paso de moléculas de la sangre hacia las células a tratar. Los métodos actuales para administrar agentes terapéuticos son invasivos, no están localizados o suponen un alto riesgo para el paciente. Además, la libre circulación de sustancias terapéuticas en el organismo provoca efectos indeseables en los tejidos sanos. La distribución eficaz, específica y localizada de moléculas terapéuticas constituye, por lo tanto, un desafío importante. Desde 2000, numerosos estudios han demostrado que se pueden utilizar ultrasonidos enfocados para realizar esta tarea. Combinados con la inyección intravenosa de microburbujas de gas, los ultrasonidos se pueden utilizar para inducir la apertura localizada y reversible de barreras biológicas. En efecto, las fuerzas mecánicas (es decir, microflujos y oscilaciones) resultantes de las interacciones burbuja-ultrasonido (cavitación) debilitan la barrera y favorecen el paso de moléculas hacia el tejido cerebral en general, y en particular hacia la región patológica que se busca tratar si esta última es correctamente apuntada por el haz de ultrasonidos. La duración puede ser de hasta varias horas, la eficacia de la apertura de la barrera en términos de paso de moléculas grandes, así como la seguridad de la técnica, se pueden controlar modificando los parámetros ultrasónicos.

30 La "dosis de cavitación" administrada juega un papel importante en la eficacia y seguridad de esta tecnología. La presión acústica dentro del tejido tratado debe ser suficiente para provocar una oscilación controlada de las microburbujas (régimen de cavitación estable) y generar una permeabilización reversible y no lesiva de las paredes vasculares.

35 En contrapartida, sometidas a una presión acústica excesiva, las microburbujas entran entonces en un régimen de cavitación inercial que implica fenómenos físicos localmente violentos (es decir, onda de choque, microchorro, implosión local de la burbuja) que puede provocar un deterioro de los tejidos y la aparición de efectos secundarios graves (por ejemplo, inflamación, hemorragia).

40 La brecha entre la dosis eficaz y la dosis lesiva es pequeña y requiere el desarrollo de nuevos métodos de dosimetría in situ precisos. Por lo tanto, el control de la dosis de cavitación en tiempo real es una cuestión importante en un momento en que esta tecnología está entrando en ensayos clínicos.

45 En el contexto de la apertura de la barrera hematoencefálica mediante ultrasonidos, el objetivo consiste en mantener un alto grado de cavitación estable (eficacia) durante el tratamiento mientras se mantiene baja la cavitación inercial (seguridad). Durante la terapia por ultrasonidos transcraneales, la heterogeneidad del cráneo puede tener una influencia indeseable en la eficacia y seguridad de la técnica.

50 En efecto, el grosor del cráneo varía según las zonas, lo que modifica la atenuación del haz de ultrasonidos. La amplitud de la onda ultrasónica puede variar fácilmente en un factor de 2 de un punto a otro en el ser humano. Para animales grandes y más particularmente primates no humanos, la presencia de tejidos (por ejemplo, músculos) entre la piel y el cráneo también pueden modificar el haz ultrasónico.

55 Así, cuando los ultrasonidos se transmiten a través de una región más gruesa de lo esperado, la amplitud de la onda ultrasónica en la zona de interés será menor y el tratamiento potencialmente ineficaz (es decir, la presión acústica no será suficiente para permitir una oscilación significativa de las microburbujas).

60 Al contrario, si la zona es menos gruesa, se subestimarán la amplitud de la onda ultrasónica y podrán producirse problemas de seguridad derivados de la cavitación inercial de las burbujas.

La detección pasiva de cavitación se puede realizar con ayuda de transductores ultrasónicos dispuestos alrededor de la zona tratada. Estos sensores permiten medir la respuesta de frecuencia derivada de las microburbujas y así determinar en tiempo real el régimen de cavitación inducido, como se describe en el artículo de Coussios *et al.*, titulado "Role of acoustic cavitation in the delivery and monitoring of cancer treatment by high-intensity focused ultrasound (HIFU)" y publicado en Int. J. Hyperthermia, Marzo de 2007, 23(2), págs. 105-120.

Un desafío actual consiste en discriminar la respuesta de las microburbujas de la de los tejidos circundantes y después asegurar que esta respuesta corresponda a una cavitación estable. Por acuerdo, la dosis de cavitación estable está determinada por la señal armónica de las microburbujas: $(n+1) f_0$ (con $n \in \mathbb{N}^*$ y f_0 la frecuencia de emisión de ultrasonidos) mientras que la dosis de cavitación inercial corresponde a la medición de la señal emitida en todas las frecuencias (señal de banda ancha), como se describe en el artículo de Konofagou *et al.* (2012), titulado "Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening" y publicado en Curr. Parma.Biotechnol. ;13(7), págs. 1332-1345.

Sin embargo, estos marcadores de cavitación carecen de robustez y sensibilidad. Acontecimientos adversos (por ejemplo, edema) pueden ocurrir a pesar de las precauciones. Por lo tanto, son necesarios otros indicadores más fiables y reproducibles.

De manera conocida, las microburbujas generalmente están compuestas de un gas pesado (perfluorocarburo, hexafluoruro de azufre) para reducir su cinética de disolución en la sangre y así aumentar la duración del examen ecográfico que alcanza varios minutos. Este gas está rodeado por una coraza cuya función es proteger la burbuja. El espesor de la pared varía desde unos pocos nm hasta varios cientos de nm. Generalmente está compuesta por proteínas, fosfolípidos, tensioactivos o polímeros.

Trabajos recientes *in vitro*, descritos en el artículo de Shekar *et al.* (2014), titulado "The delayed onset of subharmonic and ultraharmonic emissions from a phospholipid contrast agent" y publicado en Ultrasound in Med. & Biol., 40(4), págs. 727-738, mostraron la aparición de oscilaciones específicas de las microburbujas cuando estas últimas se someten a condiciones particulares. En efecto, con el tiempo, el gas contenido en la burbuja se difunde hacia el medio circundante, lo que provoca un estado de pandeo de su envoltura (por ejemplo, exceso de lípidos en la envoltura de la burbuja). Este estado está asociado a la aparición de frecuencias específicas (subarmónica y ultraarmónica: $\frac{(2n+1)}{2} f_0$ con $n \in \mathbb{N}$ y f_0 la frecuencia de emisión de ultrasonidos) y puede provocar la desaparición de la microburbuja.

Este fenómeno se ve acentuado por la aplicación de largas secuencias ultrasónicas que favorecen la difusión del gas, como se describe en el artículo de O'Brien *et al.* (2013), titulado "Surfactant shedding and gas diffusion during pulsed ultrasound through a microbubble contrast agent suspension" y publicado en J. Acoust. Soc. Am., 134, 1416-27, y el pandeo de la envoltura de la microburbuja como se describe en el artículo de Kooiman *et al.* (2017), titulado "Focal areas of increased lipid concentration on the coating of microbubbles during short tone-burst ultrasound insonification" y publicado en PLoS ONE 12(7):e0180747.

Este estado de desestabilización de las microburbujas aparece durante la excitación ultrasónica y actualmente no se utiliza como marcador del riesgo de efectos indeseables durante una terapia ultrasónica asistida por microburbujas de gas.

Por lo tanto, parecería que en realidad se pueden definir tres regímenes de actividad de las microburbujas: cavitación estable (radiación armónica solamente), cavitación inercial (radiación armónica, subarmónica, ultraarmónica y de banda ancha) y un régimen intermedio correspondiente a una desestabilización de la coraza de las microburbujas (radiación armónica, subarmónica y ultraarmónica).

Hoy día, los trabajos que miden la actividad de cavitación se centran principalmente en los componentes armónicos y el espectro de banda ancha.

En la actualidad, no se ha establecido un consenso dentro de la comunidad científica sobre el uso de componentes sub/ultraarmónicos como marcador de actividad estable o cavitación inercial, como lo demuestra el artículo de Haqshenas *et al.* (2015), titulado "Multi-resolution analysis of passive cavitation detector signals, y publicado en Journal of Physics, doi:10.1088/1742-6596/581/1/012004.

Para evitar los efectos nocivos relacionados con el uso de una presión acústica demasiado alta, los trabajos actuales determinan un umbral de cavitación "tolerable" basado en el aprovechamiento de la señal de banda ancha o en el análisis de uno o más componentes de frecuencia específicos (por ejemplo, armónicos, subarmónico, ultraarmónicos). Entre estos trabajos actuales, se pueden citar los siguientes documentos:

- artículo de O'Reilly *et al.* (2012), titulado "Blood-Brain Barrier: Real-time Feedback-controlled Focused Ultrasound Disruption by Using an Acoustic Emissions-based Controller", y publicado en Radiology, 263(1), págs. 96-106 y solicitud de patente US 2013/006106A1;
- artículo de Tsai *et al.* (2016), titulado "Real-time monitoring of focused ultrasound bloodbrain barrier opening via subharmonic acoustic emission detection: implementation of confocal dual-frequency piezoelectric transducers", y publicado en Phys.Med. Biol., 61, págs. 2926-2946;
- el artículo de Kamimura *et al.* (2018), titulado "Feedback control of microbubble cavitation for ultrasound-mediated blood-brain barrier disruption in non human primates under magnetic resonance guidance", y publicado en J. Cereb. Blood Flow Metab. 1:271678X17753514;

- la solicitud de patente WO2012042423 A1; y
- la solicitud de patente WO2008062342 A3.

Procesen información en tiempo real o no, con información o no sobre el disparo ultrasónico en curso, y estén interesados en el espectro de radiación absoluto o relativo, estos trabajos actuales tienen como punto común calcular las dosis de cavitación disparo tras disparo, un valor para cada disparo. Estos marcadores de seguridad adolecen de una falta de sensibilidad y en determinados casos no impiden la aparición de efectos nocivos.

El problema técnico es proporcionar un marcador de seguridad más sensible, más robusto y más fiable que permita evitar la aparición de efectos nocivos sobre un tejido sometido a exposición a ultrasonidos terapéuticos, y proporcionar un procedimiento que permita determinar este marcador terapéutico.

Para ello, el objeto de la invención es un procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, representativo de un estado de desestabilización de microburbujas contenidas en una zona de un tejido biológico blando vascularizado, estando sometidas dichas microburbujas a una señal de excitación ultrasónica a una frecuencia de emisión f_0 predeterminada para inducir una apertura localizada y reversible de las barreras biológicas en dicha zona, y siendo dicho estado de desestabilización de las microburbujas perjudicial para el tejido biológico, y estando dicha señal de excitación ultrasónica formada por una secuencia ultrasónica compuesta de un número entero predeterminado N_b , superior o igual a 1, de tren(es) de ondas, llamados "disparo(s)". El procedimiento de detección y determinación de un marcador de seguridad se caracteriza por que después del desencadenamiento de cada disparo B_b , b comprendido entre 1 y N_b , un sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad:

- mide regularmente durante el disparo B_b en una serie de instantes t_a , la evolución temporal de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas recibida, siendo la señal de respuesta recibida detectada mediante un detector pasivo de cavitación que tiene un ancho de banda de detección predeterminado, y
- determina, cuantificándola, la evolución temporal en los instantes t_a de un marcador de seguridad, definido en cada instante t_a por un número MDD_a igual a la relación de la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante t_a y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal recibida de respuesta acústica de las microburbujas, en la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el primer instante t_1 y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas en su estado inicial.

Según modos de realización particulares, el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad comprende una o más de las siguientes características:

- la medición en cada instante t_a de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas recibidas aprovecha la señal de respuesta recibida en una ventana de observación w_a que contiene el instante t_a e incluida en el intervalo temporal de recepción correspondiente al disparo considerado;
- las ventanas de observación o análisis w_a son adyacentes o separadas o se superponen parcialmente por parejas;
- el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad descrito anteriormente comprende para un disparo dado B_b , b comprendido entre 1 y N_b , una primera etapa de medición y segmentación en la que la señal de respuesta acústica de las microburbujas al tren de ondas B_b , recibida y medida por el detector pasivo de cavitación, se descompone según un número entero predeterminado k , superior o igual a 2, de ventanas temporales w_a , a que varía de 1 a k , de iguales duraciones que permiten determinar la evolución de los componentes de frecuencia durante el tren de ondas ultrasónicas B_b ;
- el número k de ventanas y sus tamaños t_w dependen directamente de la duración y la frecuencia de excitación f_0 del disparo ultrasónico B_b , estando la duración del disparo ultrasónico comprendida entre unos pocos microsegundos y varios cientos de milisegundos;
- la duración de las ventanas w_a está comprendida entre la duración de 8 ciclos de la señal de excitación y la mitad de la duración de un disparo, y/o el número k de ventanas w_a es superior o igual a 2 e inferior o igual a un octavo del producto de la duración de un disparo T_B por la frecuencia de excitación ultrasónica f_0 ;
- el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad descrito anteriormente comprende para un disparo B_b dado, b comprendido entre 1 y N_b , una segunda etapa de cálculo de espectros, ejecutada después de la primera etapa, en la que para cada ventana w_a del disparo B_b , a que varía de 1 a k , el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad calcula el espectro de frecuencia de la porción de la señal de respuesta acústica de las microburbujas al tren de ondas B_b , contenida en dicha ventana w_a ;
- el método de cálculo de los espectros de frecuencia utiliza una transformada de Fourier;
- el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, definido anteriormente, comprende para un disparo B_b dado, b comprendido entre 1 y N_b , una tercera etapa de cálculo de la evolución durante el disparo de una señal de cavitación $s(a)$, ejecutada después de la segunda etapa, en la que para cada ventana temporal w_a , a que varía de 1 a k , el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad calcula la señal de cavitación $s(a)$ como la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante t_a y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica

de las microburbujas;

- el número de componentes ultraarmónicos y/o subarmónicos considerado para el cálculo de la señal de cavitación $s(a)$ depende del ancho de banda del o de los transductores utilizados para la detección de la cavitación y que forman el detector pasivo de cavitación;

5 - la amplitud de los picos medidos para los componentes ultraarmónicos y/o subarmónicos comprendidos en el ancho de banda del detector pasivo de cavitación se utilizan como complemento o como sustitución en el cálculo de la señal de cavitación $s(a)$;

10 - el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, descrito anteriormente, comprende para un disparo Bb dado, b comprendido entre 1 y Nb , una cuarta etapa de cálculo de la evolución durante el disparo de un marcador de cavitación $s(a)$, ejecutada después de la tercera etapa (108), en la que para cada ventana temporal w_a del disparo Bb , a que varía de 1 a k , el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad calcula un marcador de seguridad, llamado "dosis de cavitación MDD_a ", definido por un número MDD_a , igual a la relación entre la señal de cavitación $s(a)$ de la a -ésima ventana w_a y la señal de cavitación $s(1)$ de la primera ventana temporal w_1 , estando la dosis de cavitación MDD_a expresada en una escala lineal o logarítmica;

15 - el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, descrito anteriormente, comprende para un disparo Bb dado, b comprendido entre 1 y Nb , una quinta etapa de cálculo de la evolución durante el disparo de un primer parámetro de alerta $AI1(a)$ y/o un segundo parámetro de alerta $AI2(a)$, ejecutada después de la cuarta etapa, en la que el primer parámetro de alerta $AI1$ se pone en un estado activo cuando el marcador de seguridad MDD_a supera un primer valor umbral de seguridad $Th1$ predeterminado, y el segundo parámetro de alerta $AI2$ se pone en un estado activo cuando el número de veces nf donde el marcador de seguridad MDD_a ha superado el primer valor umbral $Th1$, ha superado un segundo valor umbral $Th2$ predeterminado;

20 - el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, descrito anteriormente, comprende para un disparo Bb dado, b comprendido entre 1 y Nb , una sexta etapa, ejecutada después de la cuarta o la quinta etapa, en la que el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad transmite a un dispositivo de mando y control que interviene en un bucle de retroalimentación de los parámetros de disparo: las dosis de cavitación MDD_a que evolucionan durante el disparo, suministradas en la cuarta etapa, y/o los estados $AI1(a)$, $AI2(a)$ del primer parámetro de alerta y/o del segundo parámetro de alerta determinados en la quinta etapa.

30 El objeto de la invención también es un sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, representativo de un estado de desestabilización de las microburbujas, contenidas en una zona de un tejido biológico, estando sometidas dichas burbujas a una señal de excitación ultrasónica emitida a una frecuencia de emisión f_0 predeterminada para inducir una apertura localizada y reversible de las barreras biológicas en dicha zona del tejido, siendo dicho estado de desestabilización de las microburbujas perjudicial para el tejido biológico, estando dicha señal de excitación ultrasónica formada por una secuencia ultrasónica compuesta por un número entero predeterminado Nb , superior o igual a 1 de tren(es) de ondas, llamados "disparo(s)". El sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad se caracteriza por que está configurado para, después del desencadenamiento de cada disparo Bb , b comprendido entre 1 y Nb :

40 - medir regularmente durante el disparo Bb en una serie de instantes t_a , la evolución temporal de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de una señal de respuesta acústica de las microburbujas recibida, siendo la señal de respuesta recibida detectada mediante un detector pasivo de cavitación que tiene un ancho de banda de detección predeterminado, y

45 - determinar, cuantificándola, la evolución temporal en los instantes t_a de la serie temporal un marcador de seguridad, definido en cada instante t_a por un número MDD_a igual a la relación de la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante t_a y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal recibida de respuesta acústica de las microburbujas, en la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el primer instante t_1 y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas.

50 Según modos de realización particulares, el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad comprende una o más de las siguientes características:

55 - en cada instante t_a , la medición de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas recibida, aprovecha la señal de respuesta recibida en una ventana de observación w_a que contiene el instante t_a e incluida en el intervalo temporal de recepción correspondiente al disparo considerado;

60 - las ventanas de observación o análisis w_a son adyacentes o separadas o superpuestas parcialmente por parejas y escasamente por sus bordes.

65 En un modo de realización de ejemplo, un producto o programa informático comprende un conjunto de instrucciones configuradas para implementar el procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, definido anteriormente, cuando se cargan y son ejecutadas por una computadora o varias computadoras implementadas en el sistema de análisis espectral y de determinación de un marcador de seguridad definido anteriormente.

La invención también se refiere a un sistema de asistencia ultrasónica de un tratamiento terapéutico dirigido a una zona de un tejido biológico blando vascularizado que contiene microburbujas, que comprende:

- un dispositivo de excitación y emisión de una secuencia terapéutica de disparos de excitación a una frecuencia de emisión predeterminada f_0 , enfocados en la zona a tratar del tejido biológico,
- un sensor pasivo de cavitación para detectar y medir la respuesta de las microburbujas contenidas en la zona en respuesta a los disparos de la secuencia,
- un sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, representativo de un estado de desestabilización de las microburbujas, descrito anteriormente,
- un dispositivo de mando y control de los parámetros de disparo del dispositivo de excitación ultrasónico,

el sensor pasivo de cavitación, el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, estando colocados el dispositivo de mando y control y el dispositivo de excitación ultrasónica en serie según una cadena para formar un bucle de retroalimentación de seguridad.

La invención se comprenderá mejor con la lectura de la descripción de varias formas de realización a continuación, dada únicamente a modo de ejemplo y realizada con referencia a los dibujos, en los que:

- la figura 1 es una vista esquemática de un sistema de asistencia ultrasónica de un tratamiento terapéutico dirigido a una zona de un tejido biológico que contiene microburbujas, estando integrado en dicho sistema de asistencia ultrasónica un sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad;
- la figura 2 es una vista de una secuencia ultrasónica para terapia con microburbujas de gas (por ejemplo, apertura de la barrera hematoencefálica, sonopermeabilización);
- la figura 3 es una vista del contenido frecuencial de la respuesta de las microburbujas en respuesta a la aplicación de secuencias de disparos ultrasónicos;
- la figura 4 es una vista del procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, siendo dicho procedimiento ejecutado durante cada disparo de una secuencia;
- la figura 5 es una vista de la descomposición en varias ventanas temporales w_a , a que varía de 1 a k, de la señal de cavitación recibida, derivada de las microburbujas durante un disparo ultrasónico;
- la figura 6 es una vista de un ejemplo de respuestas espectrales antes y después de la desestabilización de las microburbujas durante un disparo de excitación ultrasónico transmitido a 0,5 MHz en el cerebro de primate;
- la figura 7 es una vista de la evolución de la dosis de componentes ultraarmónicos ($1,5f_0$; $2,5f_0$; $3,5f_0$) derivados de la señal de microburbujas (SonoVue) durante un disparo de 10 ms a 500 kHz aplicado en el cerebro de primate, un primer ejemplo que conduce a la aparición de hemorragia y un segundo ejemplo sin que se produzca hemorragia;
- las figuras 8A y 8B son vistas de medición de la señal ultraarmónica durante secuencias ultrasónicas en el primate en un caso no hemorrágico para la figura 8A y un caso hemorrágico para la figura 8B.

Según la figura 1, un sistema de asistencia ultrasónica 2 de un tratamiento terapéutico dirigido a una zona 4 de un tejido biológico 6 que contiene microburbujas 8 comprende:

- un dispositivo 12 de excitación y emisión de una secuencia terapéutica de trenes de ondas de excitación a una frecuencia de emisión predeterminada f_0 , llamados "disparos", enfocados en la zona 4 a tratar del tejido biológico 6;
- un sensor pasivo de cavitación 14, realizado con ayuda de uno o más transductores de recepción, para detectar y medir la respuesta de las microburbujas contenidas en la zona 4 en respuesta a los disparos de la secuencia;
- un sistema, según la invención 16, de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad, representativo de un estado de desestabilización de las microburbujas 8; y
- un dispositivo 18 de mando y control de los parámetros de disparo del dispositivo de excitación 12.

La frecuencia de excitación f_0 se elige de manera que permita inducir una apertura localizada y reversible de las barreras biológicas en la zona tratada 4 del tejido 8.

El sensor pasivo de cavitación 14 tiene un ancho de banda de recepción que depende del o de los anchos de banda de los transductores electroacústicos de recepción.

El sistema, según la invención 16, de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad se realiza, por ejemplo, mediante una o más computadoras electrónicas.

El sistema, según la invención 16, de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad está configurado para, después del desencadenamiento de cada disparo B_b de una secuencia de un número N_b predeterminado de disparos, siendo N_b un número entero superior o igual a 1 y siendo b un índice de orden en la secuencia comprendido entre 1 y N_b :

- medir regularmente durante el disparo B_b en una serie de instantes t_a , la evolución temporal de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas de una señal de respuesta acústica

de las microburbujas recibida, siendo la señal de respuesta recibida detectada mediante un detector pasivo de cavitación que tiene un ancho de banda de detección predeterminado, y

- determinar, cuantificándola, la evolución temporal en los instantes t_a de la serie temporal un marcador de seguridad, definido en cada instante t_a por un número MDD_a igual a la relación de la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante t_a y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal recibida de respuesta acústica de las microburbujas, en la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el primer instante t_1 y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas.

El dispositivo 18 de mando y control de los parámetros de disparo del dispositivo de excitación 12 está configurado para recibir en tiempo real la información del marcador de seguridad y/o informaciones de alerta y, a partir de estas informaciones, inhibir el dispositivo de excitación (parada del o de los disparos, modulación de los parámetros de las secuencias de disparo(s)) cuando la seguridad del tejido lo requiere.

Se puede implementar un bucle de retroalimentación de seguridad 20 automático mediante la puesta en serie según una cadena del sensor de cavitación 14, del sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad 16, del dispositivo de mando y control 18 de los parámetros de disparo(s), y del dispositivo de excitación y emisión 12 de una secuencia terapéutica de disparo(s) ultrasónico(s), como se ilustra en la figura 1.

Una señal de excitación ultrasónica está formada por una secuencia ultrasónica compuesta por un número entero predeterminado N_b , superior o igual a 1, de tren(es) de ondas, llamados "disparo(s)"; y

Según la figura 2, la secuencia ultrasónica terapéutica 52 está compuesta por varios trenes de ondas 54 (en inglés "burst"), llamados en lo sucesivo "disparos", repetidos y separados por periodos de reposo. Normalmente, los disparos de una duración comprendida entre 3 y 10 ms se repiten con una frecuencia de repetición, de valor comprendido normalmente entre 5 y 10 Hz, para una duración de secuencia o de exposición de 30 segundos a 10 minutos.

Como ya se ha descrito en el preámbulo, en la actualidad, la detección de cavitación (estable o inercial) se realiza mediante el análisis espectral de la respuesta acústica global de las microburbujas a un tren de ondas, es decir, la media de la duración total de cada disparo. Como se mencionó anteriormente, las microburbujas pueden emitir frecuencias específicas (subarmónicas y ultraarmónicas) vinculadas a su desestabilización.

Según la figura 3, se ilustra la aparición en el contenido espectral 62 de un disparo tomado en su totalidad de líneas a frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas. Aquí, se observa una línea subarmónica 64 a $0,5 f_0$ y se observan tres líneas ultraarmónicas 66, 68, 70, respectivamente a $1,5 f_0$; $2,5 f_0$; $3,5 f_0$. La aparición de líneas subarmónicas y ultraarmónicas aumenta cuando se transmiten disparos de larga duración, es decir, varios ciclos de onda a f_0 .

En la invención, las señales de cavitación se utilizan y aprovechan para determinar un marcador de seguridad en tiempo real de la terapia ultrasónica.

La invención se basa en la medición de la evolución de frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas durante un disparo ultrasónico (un tren de ondas de excitación emitido) con el fin de garantizar la seguridad de la secuencia terapéutica. Los datos que llevaron a la invención indican que la aparición de líneas a frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas en el contenido espectral es un fenómeno repentino que se produce durante el disparo ultrasónico y que luego persiste durante el tiempo del mismo. La detección de este fenómeno se puede utilizar inmediatamente para detener el disparo ultrasónico antes de reanudar el siguiente disparo una vez que nuevas burbujas intactas hayan entrado en el volumen de disparo. La secuencia también se puede ajustar dinámicamente en términos de amplitud ultrasónica y/o duración de los disparos para evitar la repetición del fenómeno.

La idea de observar la aparición de este fenómeno durante el disparo permite, por lo tanto, definir con precisión el momento a partir del cual se produce dicho fenómeno y así ajustar en consecuencia la duración de los siguientes disparos de la secuencia ultrasónica de forma fija, o preferentemente de forma dinámica.

La medición de este fenómeno durante el disparo según el procedimiento de la invención es más sensible que las herramientas de detección convencionales basadas en el análisis de frecuencia de un disparo completo.

En el caso del análisis convencional de los datos medidos por el sensor de cavitación, estos fenómenos de aparición repentina pueden producirse sin ser detectados. En efecto, el análisis convencional equivale a promediar el contenido de frecuencia en el disparo completo. Resulta obvio que en el caso en que el fenómeno aparezca al final del disparo, la promediación enmascarará los componentes subarmónicos y ultraarmónicos que no aparecerán (o aparecerán muy poco) durante el análisis de frecuencia.

Además de este fenómeno de dilución del parámetro útil por promediación, cabe señalar que el seguimiento disparo a disparo observa realizaciones independientes en diferentes nubes de burbujas con cada disparo. Las estrategias convencionales, actualmente propuestas, que analizan la señal de respuesta en el disparo completo, utilizan como referencia una señal adquirida antes de la inyección de las microburbujas. Esta adquisición permite tener en cuenta,

entre otras cosas, la señal reflejada por el hueso y la propagación no lineal de los ultrasonidos en el medio. Sin embargo, esta adquisición se realiza desde varios segundos hasta varios minutos antes del tratamiento. Esta adquisición es restrictiva porque debe repetirse para todas las amplitudes ultrasónicas potencialmente evaluadas durante la inyección de las microburbujas y las posiciones del transductor durante la terapia. Requiere una perfecta inmovilización del sistema de ultrasonido y del paciente durante todo el tratamiento.

Por el contrario, en la invención, lo que se observa es la evolución de la señal de las mismas burbujas dentro del disparo, es decir, la dinámica de su desestabilización bajo ultrasonidos, comparando las burbujas consigo mismas al comienzo del disparo. Al tomar la referencia de las mismas burbujas unos ciclos antes, con como única variable su exposición reciente a los ultrasonidos, es lógico exhibir parámetros físicamente más relevantes de tal análisis. Con el procedimiento de la invención, las dificultades mencionadas anteriormente, planteadas con las estrategias convencionales desaparecen, ya que la señal de referencia se establece en la primera ventana w_1 del disparo durante el tratamiento y la aplicación de los ultrasonidos. Esto se traduce en un ahorro de tiempo y la ausencia de perturbación.

De manera general, un procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la invención se implementa mediante el sistema 16 de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad.

El marcador de seguridad según la invención es representativo de un estado de desestabilización de las microburbujas contenidas en la zona 4 del tejido biológico 6, estando sometidas dichas microburbujas 8 a la señal de excitación ultrasónica a la frecuencia de emisión f_0 predeterminada para inducir una apertura localizada y reversible de las barreras biológicas en la zona 4, y siendo dicho estado de desestabilización de las microburbujas 8 perjudicial para el tejido biológico 6.

La señal de excitación ultrasónica está formada por una secuencia ultrasónica compuesta por un número entero predeterminado N_b , superior o igual a 1, de disparos.

El procedimiento de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad se caracteriza por que después del desencadenamiento de cada disparo B_b , b comprendido entre 1 y N_b , el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad:

- mide regularmente durante el disparo B_b en una serie de un número entero predeterminado k de instantes t_a , a que varía de 1 a k , la evolución temporal de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas recibida, siendo la señal de respuesta recibida detectada mediante un detector pasivo de cavitación que tiene un ancho de banda de detección predeterminado, y
- determina, cuantificándola, la evolución temporal en los instantes t_a de un marcador de seguridad, definido en cada instante t_a por un número MDD_a igual a la relación de la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante t_a y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal recibida de respuesta acústica de las microburbujas, en la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el primer instante t_1 y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas.

La medición en cada instante t_a de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas recibidas aprovecha la señal de respuesta recibida en una ventana de observación w_a que contiene el instante t_a e incluida en el intervalo temporal de recepción correspondiente al disparo considerado.

Las ventanas de observación o análisis w_a son adyacentes o separadas o superpuestas parcialmente por parejas y escasamente por sus bordes.

Cabe señalar que la primera ventana w_1 que sirve de referencia puede, por una parte, estar ligeramente desplazada desde el inicio del disparo para esperar a la estabilización de la señal y, por otra parte, la duración de la ventana w_1 en la que se calcula el espectro de referencia puede ser mayor que la duración de una ventana de observación consecutiva o la duración de la suma de varias ventanas consecutivas. Esto permite obtener un espectro de referencia con menos ruido.

Según la figura 4, un procedimiento 102 de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la invención, ejecutado durante cada disparo B_b de una secuencia, estando b comprendido entre 1 y N_b , comprende un conjunto de etapas 106, 108, 110, 112, 114 y 116.

En una primera etapa 106 de medición y segmentación, la señal de respuesta temporal de las microburbujas 8 al disparo ultrasónico B_b , recibida y detectada previamente por el detector pasivo de cavitación 14, se descompone según un número entero predeterminado k , superior o igual a 2, de ventanas temporales w_a , a que varía de 1 a k , de iguales duraciones que permiten determinar la evolución de los componentes de frecuencia durante el tren de ondas ultrasónicas B_b .

El número k de ventanas w_a y sus tamaños t_w dependerán directamente de la longitud T_B y la frecuencia f_0 del disparo ultrasónico utilizado para la terapia.

Normalmente, los trabajos actuales muestran una apertura reversible de la barrera para disparos ultrasónicos cuya duración varía de unos pocos microsegundos a varias decenas de milisegundos. Desde un punto de vista teórico, dos ventanas temporales de tamaño equivalente son suficientes para realizar el método. La primera ventana temporal w_1 se utiliza entonces como referencia, la segunda w_2 permite observar la evolución de la señal recibida de las microburbujas.

Sin embargo, si el número de ventanas k no es suficientemente grande, será imposible determinar con precisión, estando la precisión determinada por el número y tamaño de la ventana, el tiempo de aparición de las frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas y, por lo tanto, ajustar eficazmente los tiempos y la amplitud de disparo ultrasónico en la secuencia. Por otra parte, el uso de ventanas temporales demasiado largas inducirá una promediación del contenido de frecuencia de la señal recibida, lo que dificultará la detección de frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas. Por lo tanto, se recomienda subdividir la señal recuperada en una multitud de ventanas temporales consecutivas k , relativamente cortas (si es posible unas pocas docenas de ciclos ultrasónicos) para aumentar la sensibilidad del método.

En una segunda etapa 108 de cálculo de espectros, ejecutada después de la primera etapa 106, para cada ventana temporal w_a ($a, 1 < a < k$), el espectro de frecuencia de la porción de la señal de respuesta acústica de las microburbujas al tren de ondas B_b , contenida en la ventana w_a , se calcula para efectuar un análisis de la señal en el dominio de frecuencia.

De manera preferida, el método de cálculo de los espectros de frecuencia utiliza una transformada de Fourier.

El número de ciclos n_c en la señal temporal considerada debe ser suficientemente grande ($n_c > 8$ ciclos ultrasónicos) para evitar la superposición de los componentes de frecuencia durante el análisis espectral.

En resumen, y teniendo en cuenta los requisitos relativos a la primera etapa 106 y a la segunda etapa 108, la duración de las ventanas w_a está comprendida entre 8 ciclos y la mitad de la duración T_B de un disparo. El número k de ventanas w_a es superior o igual a 2 e inferior o igual a un octavo del producto de la duración de un disparo T_B por la frecuencia de excitación ultrasónica f_0 .

En una tercera etapa 110 de la evolución durante el disparo B_b de una señal de cavitación $s(a)$, ejecutada después de la segunda etapa 108, para cada ventana temporal w_a , a que varía de 1 a k , la señal de cavitación $s(a)$ se calcula a partir de la representación de la señal en el dominio de frecuencia, proporcionada en la segunda etapa 108, como la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante t_a y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas.

El número de componentes ultraarmónicos a considerar puede variar según los dispositivos y el ancho de banda del o de los transductores utilizados para la detección de cavitación. Es una cuestión de relación señal-ruido de la detección de los diferentes componentes. El análisis se puede realizar en un componente, preferentemente $f_0/2$ o $3 f_0/2$ que son los más intensamente irradiados por las burbujas, o varios componentes, por ejemplo $f_0/2$, $3 f_0/2$, $5 f_0/2$, $7 f_0/2$ y más si el sensor pasivo de cavitación 14 lo permite.

Cabe señalar que la amplitud de los picos en estos componentes ultraarmónicos y/o subarmónicos también se puede considerar en este cálculo de la señal de cavitación, como complemento o sustitución del área de las líneas espectrales bajo la curva de bandas espectrales. Las bandas espectrales Δf utilizadas para calcular estos componentes de frecuencia dependen de la frecuencia de emisión f_0 y de la frecuencia de muestreo del dispositivo de medición y de la duración de las ventanas temporales w_a . Los trabajos relacionados con esta invención muestran que el método se puede aplicar eficazmente para bandas espectrales Δf que van desde $0,04 * f_0$ a $0,5 * f_0$ con preferencia alrededor de $0,1 * f_0$. El ancho de la banda espectral debe adaptarse al número de ciclos de la ventana temporal para minimizar la medición de ruido. Cuando el número de ciclos n_c es grande, la banda espectral Δf debe ser pequeña, y a la inversa cuando el número de ciclos n_c es pequeño, la banda espectral Δf debe ser grande.

Cabe señalar que como variante es posible calcular la señal de cavitación por separado para cada uno de los componentes ultraarmónicos y/o subarmónicos y considerar de manera asociada estrategias de retroalimentación más complejas en un árbol de decisión. Por ejemplo, dependiendo del ancho de banda del sensor de cavitación y del ruido electrónico ambiental (más presente a baja frecuencia), si la amplitud del componente a $f_0/2$ "estalla", es decir es excesiva, pero la amplitud del componente a $3 f_0/2$ sigue siendo admisible, entonces en un intento de retroalimentación se reduce la amplitud del haz sin cortarlo a continuación si la amplitud del componente a $3 f_0/2$ termina por "estallar", por lo que el disparo está realmente cortado.

En una cuarta etapa 112 de cálculo de la evolución durante el disparo B_b de un marcador de cavitación $s(a)$, ejecutada después de la tercera etapa 110, para cada ventana w_a del disparo B_b , a que varía de 1 a k , el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad calcula un marcador de seguridad MDD_a , llamado "dosis de

cavitación MDD_a " (en inglés "Microbubble Destabilization Dose"), definido por un número MDD_a , igual a la relación entre la señal de cavitación $s(a)$ de la a -ésima ventana w_a y la señal de cavitación $s(1)$ de la primera ventana temporal w_1 , es decir $MDD_a = \frac{s(a)}{s(1)}$, estando la dosis de cavitación MDD_a expresada en una escala lineal o logarítmica.

- 5 De manera general, las ventanas de observación o análisis w_a son adyacentes o separadas o se superponen parcialmente por parejas.

La ejecución de las primera, segunda, tercera y cuarta se pueden implementar en cadena en modo en serie o en modo canalización.

- 10 Por ejemplo, en un primer modo de realización, el análisis de la señal de respuesta temporal se lleva a cabo en ventanas temporales adyacentes sucesivas.

- 15 En un segundo modo de realización, el análisis de la señal de respuesta temporal se lleva a cabo en ventanas temporales deslizantes siempre con normalización con respecto a la señal de cavitación $s(1)$ de la primera ventana.

- 20 En una quinta etapa 114 de cálculo de la evolución durante el disparo B_b de un primer parámetro de alerta AI_1 y/o un segundo parámetro de alerta AI_2 , ejecutada por el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad después de la cuarta etapa 112, el primer parámetro de alerta AI_1 se pone en un estado activo cuando el marcador de seguridad MDD_a supera un primer valor umbral de seguridad Th_1 predeterminado, y el segundo parámetro de alerta AI_2 se pone en un estado activo cuando el número de veces n_f donde el marcador de seguridad MDD_a ha superado el primer valor umbral Th_1 , ha superado un segundo valor umbral Th_2 predeterminado. Este número de veces n_f puede contarse para disparos consecutivos o, como variante, para disparos no necesariamente consecutivos.

- 25 En una sexta etapa 116, ejecutada después de la cuarta 112 o la quinta etapa 115, el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad transmite los siguientes datos al dispositivo de mando y control que interviene en un bucle de retroalimentación sobre los parámetros de disparo:

- 30 - las dosis de cavitación MDD_a , que evolucionan durante el disparo, suministradas en la cuarta etapa; y/o
- los estados $AI_1(a)$, $AI_2(a)$ del primer parámetro de alerta y/o del segundo parámetro de alerta determinados en la quinta etapa.

- 35 Por ejemplo, si la dosis de cavitación MDD_a supera un primer umbral de seguridad Th_1 que puede variar entre 6 y 22 dB según los datos y su postprocesamiento con un valor preferencial alrededor de 8 dB, la secuencia ultrasónica de disparos se puede ajustar en tiempo real mediante un bucle de retroalimentación, estando los parámetros de control comprendidos entre la disminución de la presión acústica, la reducción de la duración de disparos, y opcionalmente el espaciamiento de los disparos, o parada para evitar cualquier efecto indeseable relacionado con los ultrasonidos. También es posible definir un segundo umbral de seguridad Th_2 como un número máximo de disparos tolerables que pueden superar la dosis MDD umbral, es decir, el primer umbral de seguridad Th_1 , disparos consecutivos o no consecutivos.

- 45 A día de hoy, no se conoce ningún procedimiento ni sistema de asistencia ultrasónica de un tratamiento terapéutico utilizando el marcador MDD_a de la invención para controlar la seguridad de una secuencia ultrasónica terapéutica. En la actualidad, el análisis de frecuencia de la señal de cavitación se efectúa en toda la señal de respuesta emitida por las microburbujas en respuesta a cada disparo.

- 50 La descomposición de la señal de recepción de respuesta a un disparo en al menos dos ventanas temporales permite observar la aparición de las líneas correspondientes a componentes subarmónicas y/o ultraarmónicas durante el disparo. Este fenómeno de aparición no se puede observar ni cuantificar correctamente sin la descomposición de la señal de cavitación recibida en al menos dos ventanas temporales.

- 55 De manera ventajosa, el biomarcador de seguridad MDD_a según la invención, sus métodos de cálculo así como su uso en el marco de un bucle de retroalimentación sobre las propiedades acústicas del haz de disparo permiten evitar la desestabilización de la burbuja causada por la modificación de su envoltura y por la difusión del gas contenido inicialmente en el interior de esta, desestabilización que puede conducir a efectos físicos localmente violentos como posible causa de efectos biológicos nocivos.

- 60 De manera ventajosa nuevamente y aunque la principal motivación de la invención es la mejora de la seguridad del protocolo de tratamiento, el hecho de evitar la desestabilización de las microburbujas permite mantenerlas activas en el flujo sanguíneo durante más tiempo y aumentar así la duración total durante la cual se pueden solicitar dichas microburbujas para abrir la barrera hematoencefálica BHE y así aumentar la eficacia del tratamiento.

- 65 El uso del marcador de seguridad MDD según la invención puede permitir alargar los disparos, aumentar la amplitud del haz o aumentar el ciclo de trabajo de los disparos (en inglés "duty cycle") siempre que el umbral nocivo establecido,

por ejemplo un umbral de 8 dB, no se alcance durante el disparo. Al garantizar una menor desestabilización de las microburbujas, prolonga su tiempo de circulación en la sangre y por lo tanto su tiempo total de interacción posible con las paredes de los vasos. Por lo tanto, el marcador de seguridad MDD según la invención puede servir como herramienta de optimización de la eficacia, pudiendo combinarse esta herramienta con otras herramientas más convencionales como la de la dosis de cavitación armónica.

Según la figura 5, un ejemplo de una señal de respuesta acústica 202 de un medio formado por microburbujas, por tejido óseo y por tejido blando a un tren de ondas, es decir, un disparo, de 10 ms transmitido en el primate a una frecuencia f_0 de 0,5 MHz. La respuesta 202 de las microburbujas al disparo ultrasónico se dividió en 75 ventanas temporales 208 equivalentes w_i , a que varía de 1 a 75, de 128 μ s de duración.

Cabe señalar que la primera ventana w_1 no comienza necesariamente en el momento de inicio de la señal de respuesta adquirida. Aquí en la figura 5, se tomó un retraso de 160 μ s. Esto permite que la señal electrónica de medición se estabilice y hace posible la comparación con las otras ventanas.

La figura 6 muestra un ejemplo de la evolución 212 de la dosis de los componentes ultraarmónicos 214, 216, 218 a las respectivas frecuencias $1,5f_0$; $2,5f_0$; $3,5f_0$ entre una primera respuesta espectral 222 en trazo negro antes de la desestabilización de las microburbujas y una segunda respuesta espectral 224 en trazo gris después de la desestabilización de las microburbujas. Las primera y segunda respuestas espectrales 222, 224 se midieron en dos ventanas de observación temporales consecutivas durante un disparo de 10 ms a 500 kHz aplicado en el cerebro de primate para la apertura de la barrera hematoencefálica y a partir de la señal de respuesta de las microburbujas recibida por el sensor pasivo de cavitación. La señal de respuesta recibida se mide con un transductor acústico, que forma el sensor de cavitación, cuyo ancho de banda de recepción está centrado a 1,5 MHz.

El intervalo de tiempo que separa la medición de la primera respuesta espectral y la medición de la segunda respuesta espectral es igual a la duración de una ventana de observación temporal, es decir 128 ps.

La señal ultraarmónica a las frecuencias ultraarmónicas $1,5f_0$, $2,5f_0$, $3,5f_0$ que corresponde a una desestabilización de las microburbujas aparece claramente en el segundo espectro en comparación con el primer espectro con un claro aumento de la señal de cavitación $s(a)$ asociada.

Así, a partir del análisis espectral realizado en cada ventana temporal de la señal de respuesta al disparo, se puede detectar la desestabilización de las microburbujas.

Según la figura 7, se ilustra la evolución 252 de la dosis de componentes ultraarmónicos ($1,5f_0$; $2,5f_0$; $3,5f_0$) de la señal de microburbujas (SonoVue) durante un disparo de 10 ms a 500 kHz aplicado en el cerebro de primate, estando un primer ejemplo que conduce a la aparición de una hemorragia descrito mediante una primera curva 254 en trazo negro, y estando un segundo ejemplo sin la aparición de hemorragia descrito mediante una segunda curva 256 en trazo gris.

Las primera y segunda curvas 254, 256 de evolución demuestran que la aparición de los componentes ultraarmónicos es un fenómeno repentino que se produce después de un cierto tiempo en función de los parámetros ultrasónicos aplicados, del paciente y del medio sometido a los ultrasonidos. En efecto, una excitación prolongada provoca una oscilación repetida de las burbujas, lo que conduce a su potencial desestabilización después de varios ciclos de excitación. En las presentes condiciones ultrasónicas, es decir trenes de ondas de 10 ms a 500 kHz en el primate y a 650 kHz en la rata, los resultados del estudio relativo a la invención indican que el tiempo medio de aparición del fenómeno es de 5,4 ms en el cerebro de primate y de 3,2 ms en el cerebro de rata. En la práctica, un umbral MDD de 8 dB se consideró como un marcador de un evento de desestabilización de microburbujas.

Las figuras 8A y 8B muestran ejemplos de un caso (figura 8A) donde no se visualizó ningún efecto nocivo y un caso (figura 8B) donde se observó una hemorragia en el cerebro de primate.

La desestabilización de las microburbujas inducida por la secuencia ultrasónica se caracteriza por la aparición de frecuencias ultraarmónicas, claramente en la figura 8B durante el disparo ultrasónico. La visualización de este fenómeno específico está asociada a la observación de hemorragia en el primate, confirmada por resonancia magnética (RM).

Para estos ejemplos, durante un período de excitación ultrasónica de 30 s, la frecuencia de aparición del fenómeno es del 73,8 % en el caso hemorrágico y del 0,7 % en el caso no hemorrágico. La aparición repetida de este fenómeno, es decir más de dos eventos para disparos consecutivos, se asocia con la presencia de efectos indeseables (edema y hemorragias) en el animal.

Cabe señalar que este ejemplo se limita al estudio de frecuencias ultraarmónicas (tres primeros ultraarmónicos) porque el ancho de banda de recepción limitado del sensor ultrasónico de cavitación no permite una medición fiable del componente subarmónico en este ejemplo. Sin embargo, el uso de un transductor de detección de cavitación adaptado a la medición de la señal subarmónica permite realizar un estudio similar en el componente subarmónico.

En la figura 8B, se puede poner de manifiesto dos tiempos distintos: verticalmente, el número de disparos antes de que las burbujas comiencen a emitir ultraarmónicos durante el disparo. Después horizontalmente a partir de este tiempo, la duración al inicio del disparo antes de que estos comiencen a emitirse. Estos dos tiempos son importantes y proporcionan información sobre la calidad de las burbujas en el medio.

REIVINDICACIONES

1. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad (16), representativo de un estado de desestabilización de microburbujas (8) contenidas en una zona (4) de un tejido biológico (6) blando vascularizado, estando sometidas dichas microburbujas (8) a una señal de excitación ultrasónica a una frecuencia de emisión f_0 predeterminada para inducir una apertura localizada y reversible de las barreras biológicas en dicha zona (4), y siendo dicho estado de desestabilización de las microburbujas (8) perjudicial para el tejido biológico (6),
 - estando dicha señal de excitación ultrasónica formada por una secuencia ultrasónica compuesta por un número entero predeterminado N_b , superior o igual a 1 de tren(es) de ondas, llamados "disparo(s)"; y
 - estando el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad **caracterizado por que** está configurado para, después del desencadenamiento de cada disparo B_b , b comprendido entre 1 y N_b :
 - recibir una señal de respuesta detectada por un detector pasivo de cavitación que tiene un ancho de banda de detección predeterminado,
 - medir (106, 108) regularmente durante el disparo B_b en una serie de instantes t_a , la evolución temporal de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas recibida, y
 - determinar (110, 112), cuantificándola, la evolución temporal en los instantes t_a de un marcador de seguridad, definido en cada instante t_a por un número MDD_a igual a la relación de la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante t_a y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal recibida de respuesta acústica de las microburbujas, en la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el primer instante t_1 y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas en su estado inicial.
2. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la reivindicación 1, en el que la medición en cada instante t_a de las líneas espectrales correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas recibidas aprovecha la señal de respuesta recibida en una ventana de observación w_a que contiene el instante t_a e incluida en el intervalo temporal de recepción correspondiente al disparo considerado.
3. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la reivindicación 2, en el que las ventanas de observación o análisis w_a son adyacentes o separadas o se superponen parcialmente por parejas.
4. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, configurado para un disparo dado B_b , b comprendido entre 1 y N_b , en una primera etapa (104) de medición y segmentación, descomponer la señal de respuesta acústica de las microburbujas al tren de ondas B_b , recibida y medida por el detector pasivo de cavitación, según un número entero predeterminado k , superior o igual a 2, de ventanas temporales w_a , a que varía de 1 a k , de iguales duraciones que permiten determinar la evolución de los componentes de frecuencia durante el tren de ondas ultrasónicas B_b .
5. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la reivindicación 4, en el que el número k de ventanas y sus tamaños t_w dependen directamente de la duración y la frecuencia de excitación f_0 del disparo ultrasónico B_b , estando la duración del disparo ultrasónico comprendida entre unos pocos microsegundos y varios cientos de milisegundos.
6. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en el que la duración de las ventanas w_a está comprendida entre la duración de 8 ciclos de la señal de excitación y la mitad de la duración de un disparo; y/o el número k de ventanas w_a es superior o igual a 2 e inferior o igual a un octavo del producto de la duración de un disparo T_B por la frecuencia de excitación ultrasónica f_0 .
7. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, configurado para, estando dado un disparo B_b con b comprendido entre 1 y N_b , en una segunda etapa (106) de cálculo de espectros, ejecutada después de la primera etapa (104), calcular para cada ventana w_a del disparo B_b , a que varía de 1 a k , el espectro de frecuencia de la porción de la señal de respuesta acústica de las microburbujas al tren de ondas B_b , contenida en dicha ventana w_a .
8. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la reivindicación 7, en el que el cálculo de los espectros de frecuencia utiliza una transformada de Fourier.
9. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según una cualquiera de las

reivindicaciones 7 a 8, configurado para, estando dado un disparo Bb con b comprendido entre 1 y Nb, en una tercera etapa (108) de cálculo de la evolución durante el disparo de una señal de cavitación s(a), ejecutada después de la segunda etapa (106), calcular para cada ventana temporal wa, a que varía de 1 a k, la señal de cavitación s(a) como la suma de las áreas de las líneas espectrales, medidas en el instante ta y correspondientes a las frecuencias subarmónicas y/o ultraarmónicas de la señal de respuesta acústica de las microburbujas.

10. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la reivindicación 9, en el que el número de componentes ultraarmónicos y/o subarmónicos considerado para el cálculo de la señal de cavitación s(a) depende del ancho de banda de uno o más transductores utilizados para la detección de cavitación y que forman el detector pasivo de cavitación.

11. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según una de las reivindicaciones 9 a 10, en el que la amplitud de los picos medidos para los componentes ultraarmónicos y/o subarmónicos comprendidos en el ancho de banda del detector pasivo de cavitación se utilizan como complemento o como sustitución en el cálculo de la señal de cavitación s(a).

12. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, configurado para, estando dado un disparo Bb con b comprendido entre 1 y Nb, en una cuarta etapa (110) de cálculo de la evolución durante el disparo de una señal de cavitación s(a), ejecutada después de la tercera etapa (108), calcular para cada ventana temporal wa del disparo Bb, a que varía de 1 a k, un marcador de seguridad, llamado "dosis de cavitación MDDa", definido por un número MDDa, igual a la relación entre la señal de cavitación s(a) de la a-ésima ventana wa y la señal de cavitación s(1) de la primera ventana temporal w1, estando la dosis de cavitación MDDa expresada en una escala lineal o logarítmica.

13. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según la reivindicación 12, configurado para, estando dado un disparo Bb con b comprendido entre 1 y Nb,

en una quinta etapa (112) de cálculo de la evolución durante el disparo de un primer parámetro de alerta AI1(a) y/o un segundo parámetro de alerta AI2(a), ejecutada después de la cuarta etapa (110), poner el primer parámetro de alerta AI1 en un estado activo cuando el marcador de seguridad MDDa supera un primer valor umbral de seguridad Th1 predeterminado, y poner el segundo parámetro de alerta AI2 en un estado activo cuando el número de veces nf donde el marcador de seguridad MDDa ha superado el primer valor umbral Th1, ha superado un segundo valor umbral Th2 predeterminado.

14. Sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 13, configurado para, estando dado un disparo Bb con b comprendido entre 1 y Nb, en una sexta etapa (114), ejecutada después de la cuarta (110) o la quinta etapa (112), transmitir a un dispositivo de mando y control que interviene en un bucle de retroalimentación de los parámetros de disparo:

- las dosis de cavitación MDDa, que evolucionan durante el disparo, suministradas en la cuarta etapa; y/o
- los estados AI1(a), AI2(a) del primer parámetro de alerta y/o del segundo parámetro de alerta determinados en la quinta etapa.

15. Sistema de asistencia ultrasónica de un tratamiento terapéutico dirigido a una zona (4) de un tejido biológico (6) blando vascularizado que contiene microburbujas (8), que comprende:

- un dispositivo (12) de excitación y emisión de una secuencia terapéutica de disparos de excitación a una frecuencia de emisión predeterminada fo, enfocados en la zona (4) a tratar del tejido biológico (6),
- un sensor pasivo de cavitación (14) para detectar y medir la respuesta de las microburbujas (8) contenidas en la zona (4) en respuesta a los disparos de la secuencia,
- un sistema de análisis espectral y determinación (16) de un marcador de seguridad, representativo de un estado de desestabilización de las microburbujas (8), definido según una de las reivindicaciones 1 a 14,
- un dispositivo de mando y control (18) de los parámetros de disparo del dispositivo de excitación ultrasónica (12),

estando el sensor pasivo de cavitación (14), el sistema de análisis espectral y determinación de un marcador de seguridad (16), el dispositivo de comando y control (18) y el dispositivo de excitación ultrasónica (12) colocados en serie según una cadena para formar un bucle de retroalimentación de seguridad (20).

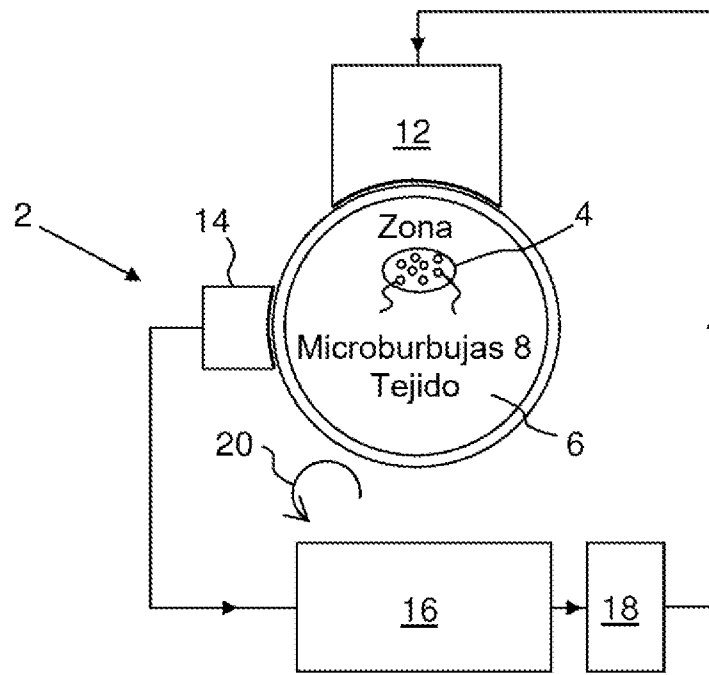


FIG.1

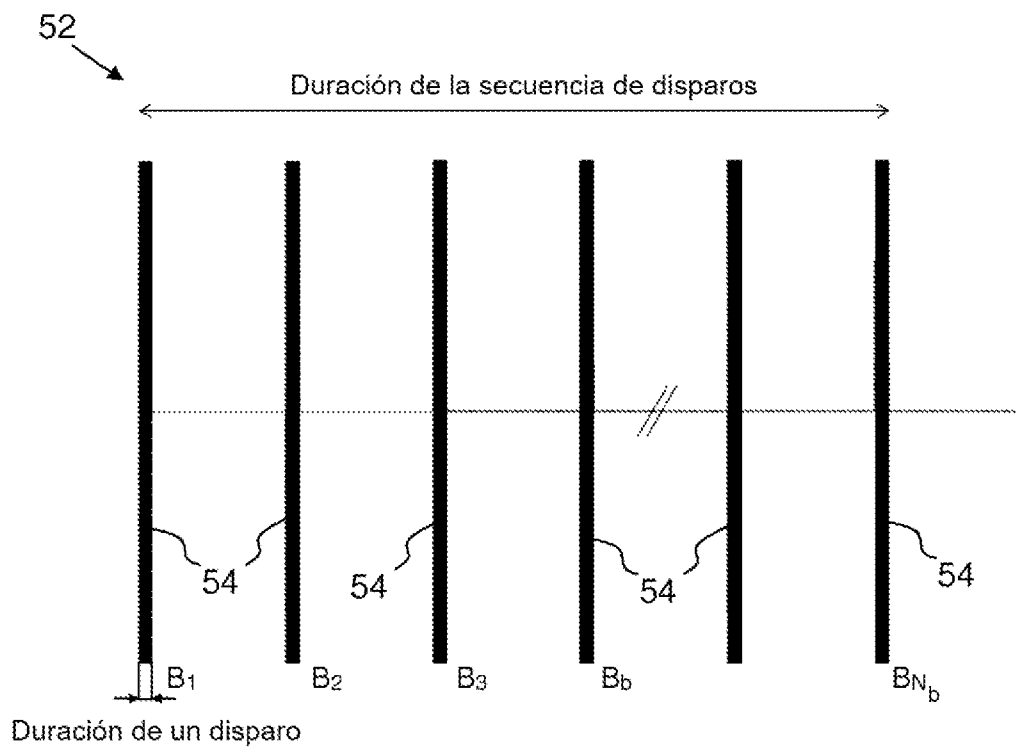


FIG.2

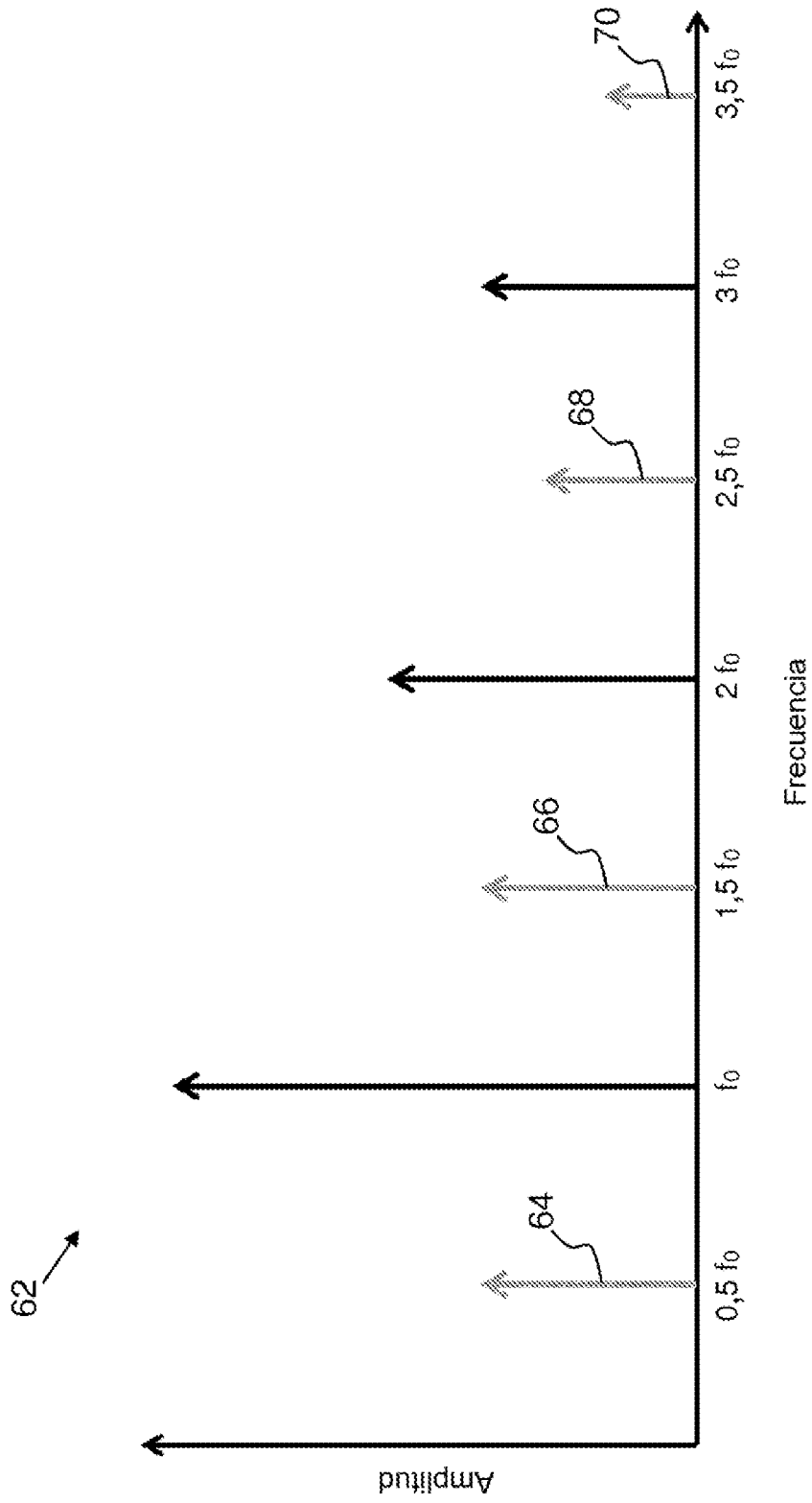


FIG.3

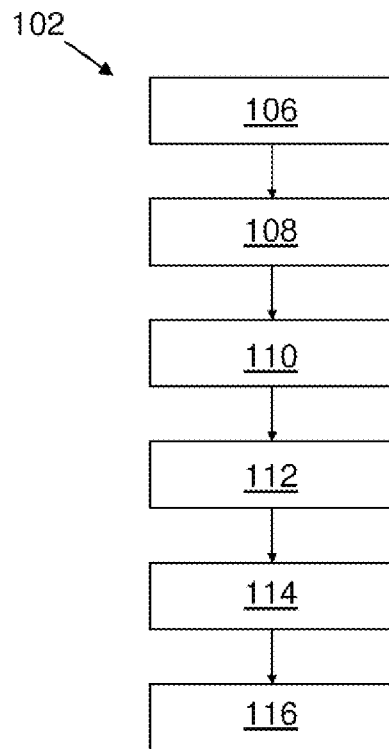


FIG.4

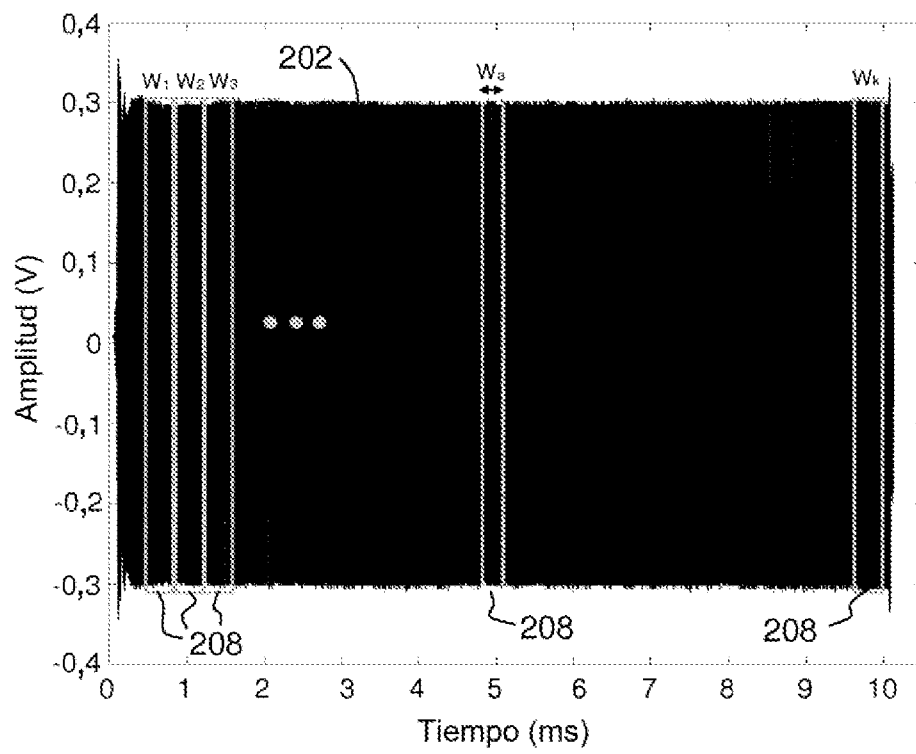


FIG.5

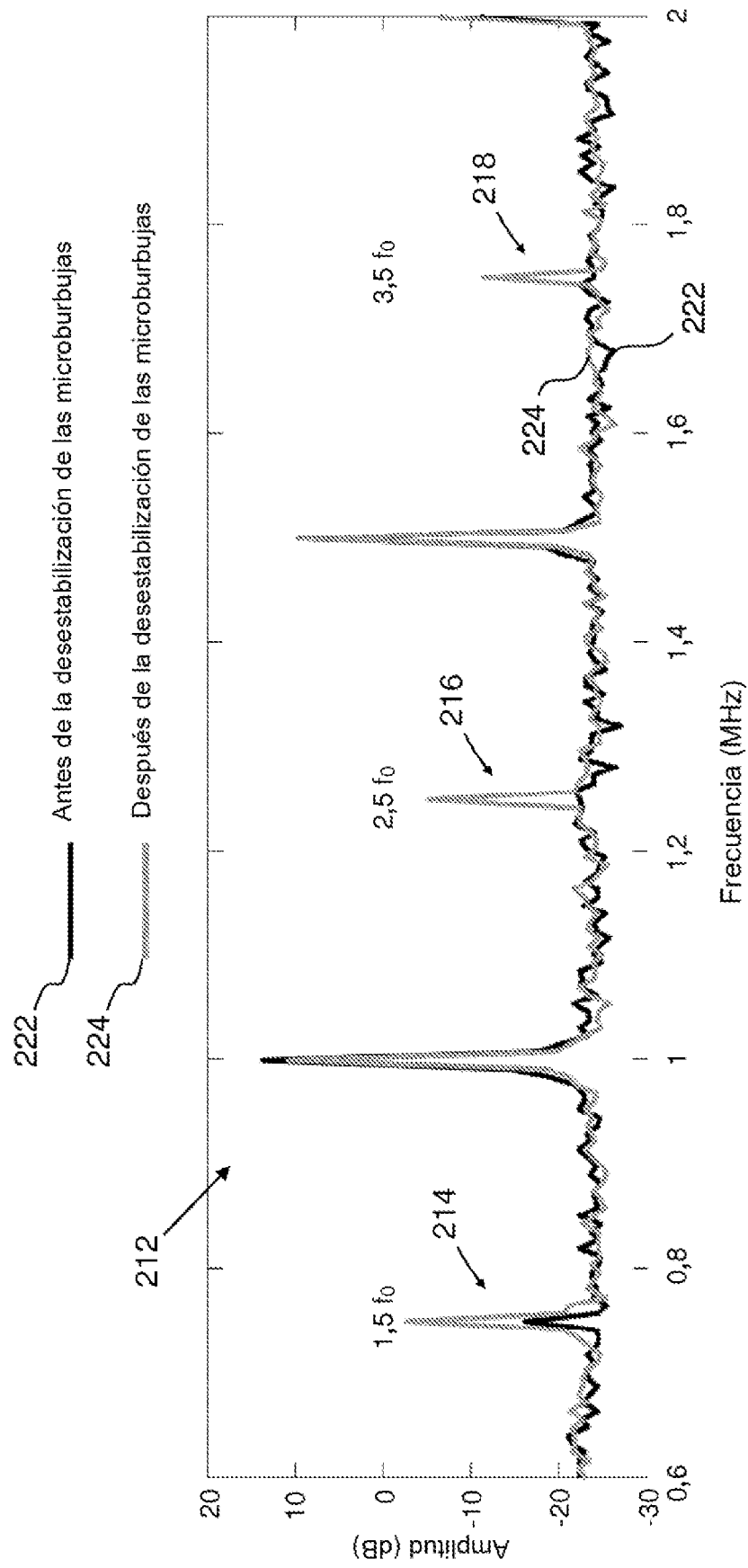


FIG.6

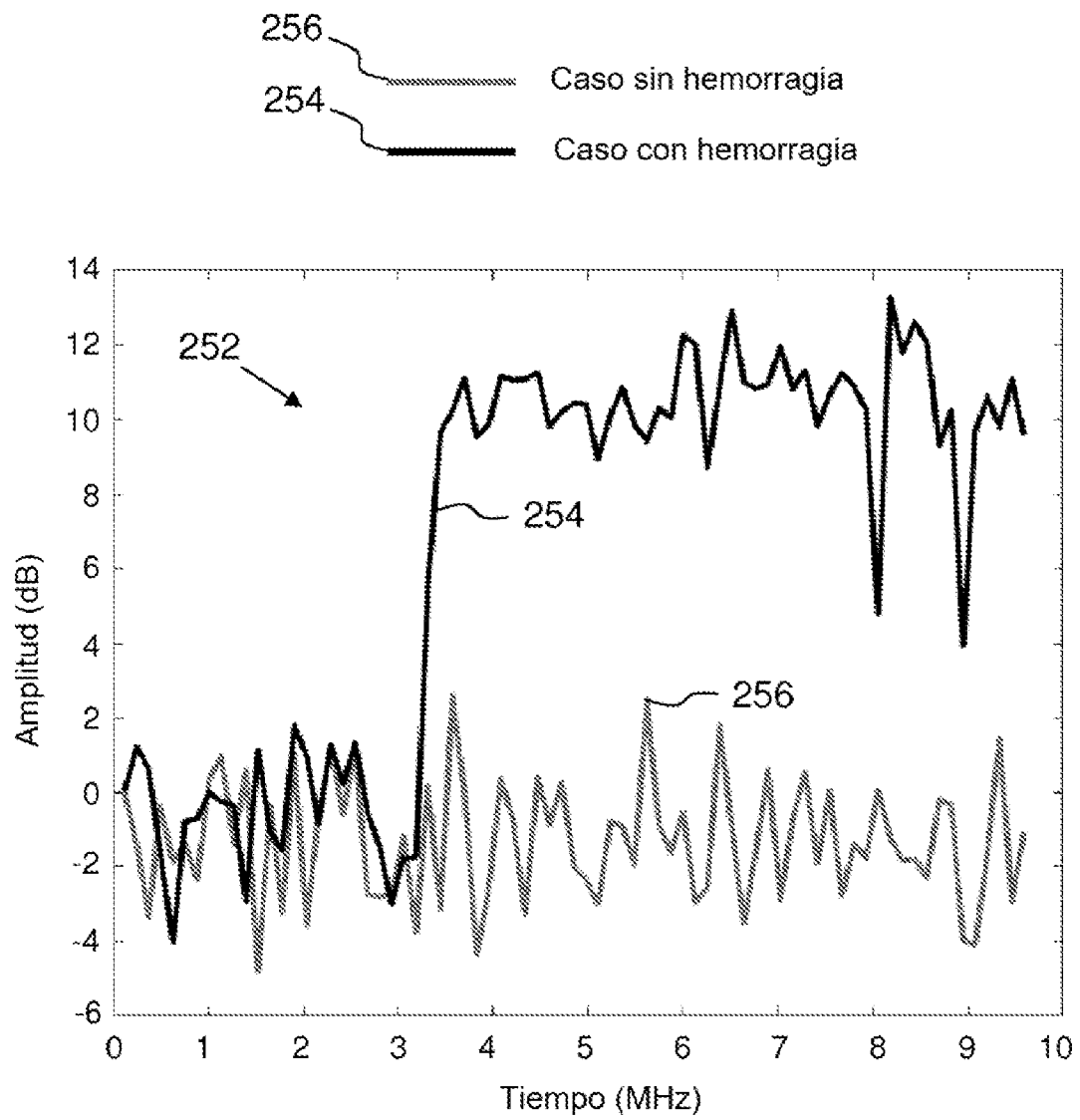


FIG.7

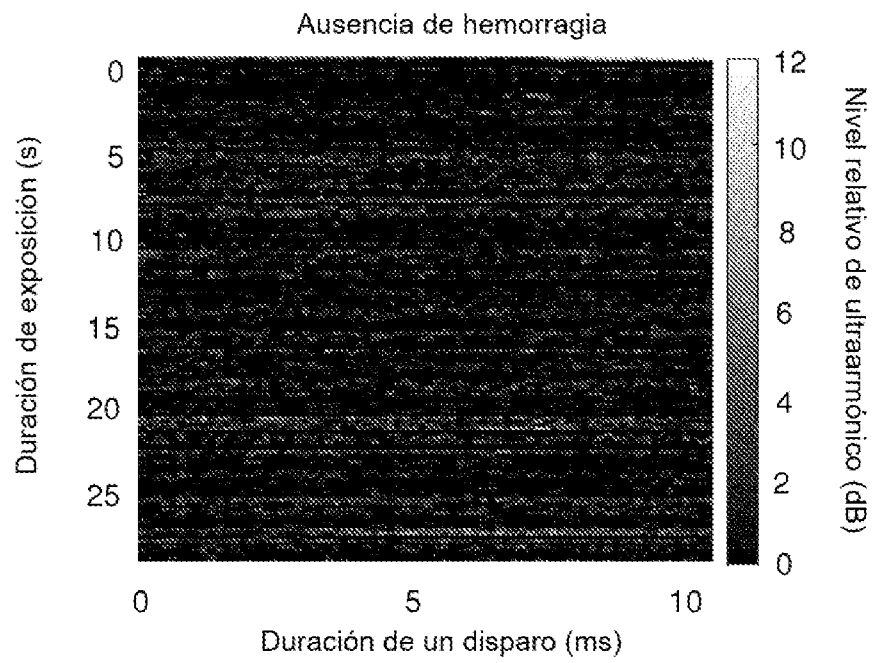


FIG.8A

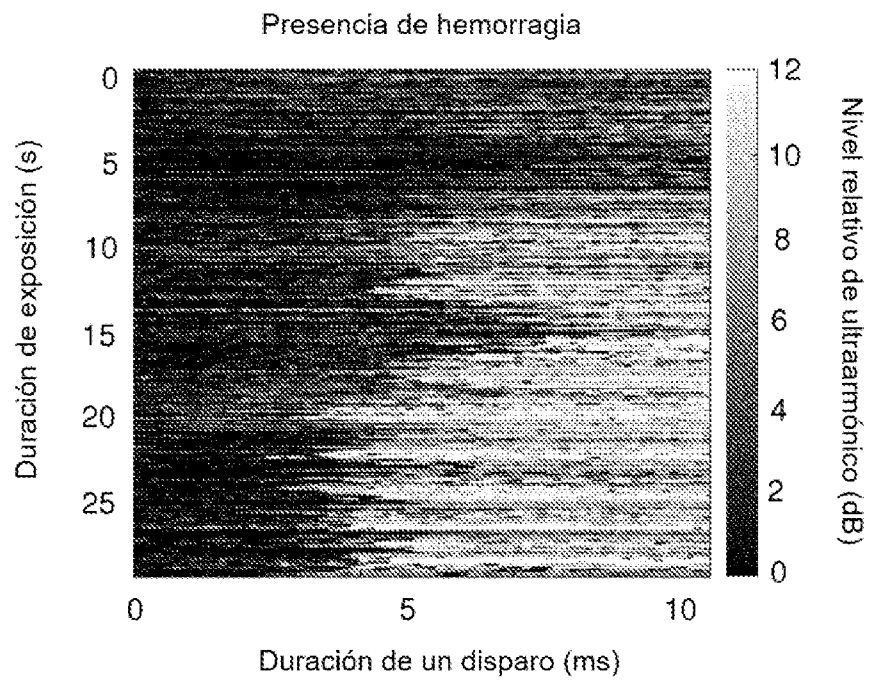


FIG.8B